



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

**ANAPLASMA PHAGOCYTOPHİLUM SEROPOZİTİF OLAN  
KÖPEKLERDE BAZI ANEMİ PARAMETRELERİ İLE HEPSİDİN  
DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ**

**Veteriner Hekim Menekşe DENİZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN**

**BURDUR-2020**



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

**ANAPLASMA PHAGOCYTOPHİLUM SEROPOZİTİF OLAN  
KÖPEKLERDE BAZI ANEMİ PARAMETRELERİ İLE HEPSİDİN  
DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ**

**Veteriner Hekim Menekşe DENİZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN**

Bu Araştırım Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0572-YL-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

**BURDUR-2020**

## KABUL VE ONAY

### SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

*Menekşe DENİZ* tarafından *Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN* yönetiminde hazırlanan "**ANAPLASMA PHAGOCYTOPHİLUM SEROPOZİTİF OLAN KÖPEKLERDE BAZI ANEMİ PARAMETRELERİ İLE HEPSİDİN DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ**" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından İç Hastalıkları Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Sınavı Tarihi**  
**20/01/2020**

Prof. Dr. Fatih Mehmet  
BİRDANE  
AKÜ Veteriner Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim  
Dalı  
**Başkan**

Prof. Dr. Şima  
ŞAHİNDURAN  
MAKÜ Veteriner Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim  
Dalı  
**Jüri**

Prof. Dr. Mehmet Çağrı  
KARAKUM  
MAKÜ Veteriner Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim  
Dalı  
**Jüri**

### ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 28.02.2020 Tarih ve 09... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğa  
TEMİZSOYLU  
Müdür  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

## TEŞEKKÜR

Lisanüstü eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan hocam ve danışmanım Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışma esnasında her zaman yanımda olan Vet. Hek. Doğa ÖZKUL ve Vetopya Veteriner Kliniği ailesine, Barıő DURUKAN'a her zaman gülümsememi sağlayan Nefes ÖZKUL'a, Vet. Hek. Akif UYSAL ve Vet. Hek. Tuğçe ZENGİN'e teşekkürü borç bilirim. Her zaman yanımda olan anne ve babama, Őenay ÖZEK, Lalifer DENİZ, Melek PAKER, Derya AZİZ ve Elif DENİZ'e sonsuz teşekkür ederim ve son olarak Gülsen KURT, Güleray KURT, Gülen DOğANCA, Türker DOğANCA, Hasan Ali TEBEROğLU, Yusuf YAMANTÜRK, Vural BAKAN'a destekleri için teşekkür ederim.

## ETİK BEYAN

*“Anaplasma Phagocytophilum Seropozitif Olan Köpeklerde Bazı Anemi Parametreleri İle Hepsidin Düzeyinin İlişkisi”* başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, (Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN) danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim

Öğrencinin Adı Soyadı: Menekşe DENİZ

Tarih: 20.01.2020

İmza:

## İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TÜRKÇE ÖZET	ix
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epidemiyoloji	3
2.2. Etiyoloji	4
2.3. Klinik Bulgular	6
2.3.1. Karaciğer ALT, AST ve ALP Enzimleri	7
2.3.2. Anemi	8
2.3.2.1. Demir Eksikliği Anemisi	9
2.3.3. Akut Faz Proteini	11
2.3.3.1. Hepsidin	12
2.4. Patogenez	14
2.5. Tanı	15
2.6. Tedavi ve Koruma	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Gereç	19
3.1.1. Gerecin Tanımı	19
3.1.2. Aranacak Klinik Belirtiler	19
3.1.3. Hayvan Materyali	21
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Testlerin Yapılış Prosedürü	23
3.2.1.1. CaniV-4 Test Kiti	23
3.2.1.2. ELISA Hepsidin Test Kiti	25
3.2.2. Deney ve Kontrol Grubunda Tam Kan ve Biyokimyasal Analiz	27
3.3. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Hematolojik İncelemeler	28
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	52

## ŞEKİLLER

Şekil 3.1. Hasta hayvanda anoreksi ve halsizlik.	19
Şekil 3.2. Hasta hayvanda anoreksi ve halsizlik.	20
Şekil 3.3. Hasta hayvanda ilerleyen kilo kaybı ve zayıflık.	20
Şekil 3.4. Hasta hayvanda ilerleyen kilo kaybı, zayıflık ve anemi.	21
Şekil 3.5. Hasta hayvandan kan örneğinin alınması.	22
Şekil 3.6. Hasta hayvandan kan örneğinin alınması.	23
Şekil 3.7. Kontrol grubunda <i>A.phagocytophilum</i> seronegatif sonuç.	24
Şekil 3.8. Kontrol grubunda <i>A.phagocytophilum</i> seronegatif sonuç.	25
Şekil 3.9. Toplanan serum örneklerinin tüplere konulması.	26
Şekil 4.1. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama lökosit değerleri.	29
Şekil 4.2. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama lenfosit değerleri.	29
Şekil 4.3. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama monosit değerleri.	30
Şekil 4.4. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama granülosit değerleri.	30
Şekil 4.5. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama eritrosit değerleri.	31
Şekil 4.6. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama hemoglobin değerleri.	31
Şekil 4.7. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama hematokrit değerleri.	32
Şekil 4.8. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama trombosit değerleri.	32
Şekil 4.9. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama demir değerleri.	33
Şekil 4.10. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama ALT değerleri.	34
Şekil 4.11. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama AST değerleri.	34
Şekil 4.12. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama ALP değerleri.	35
Şekil 4.13. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama Hepsidin değerleri.	35



## TABLULAR

- Tablo 4.1.** Kontrol ve çalışma grubuna ait bazı hematolojik parametrelerin değerleri. **28**
- Tablo 4.2.** Çalışma ve kontrol grubuna ait demir, hepsidin, ALT, AST, ALP parametrelerinin değerleri. **33**



## SİMGELER ve KISALTMALAR

±	Artı/Eksi işareti
µg/dL	Mikrogram/desilitre
µg/ml	Mikrogram/mililitre
µm	Mikrometre
aa	Amino Asit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFP	Akut faz proteini
ALP	Alkalin Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
CGA	Köpek Granülosit Anaplazmozisi
CRP	C-reaktif protein
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Fe	Demir
GRA	Granülosit
HCT	Hematokrit
HGA	İnsan Granülositik Anaplazmozisi
HGB	Hemoglobin
Hp	Haptoglobin
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
K3-EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
LYM	Lenfosit
MCHC	Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MID	Monosit
mRNA	Mesajcı RNA
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCV	Packed cellvolüme
PLT	Trombosit
RBC	Red blood cell
RES	Retiküloendotelyal sistem
TNF-α	Tümör nekrozis faktör alfa
WBC	Lökosit

## ÖZET

### ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM SEROPOZİTİF OLAN KÖPEKLERDE BAZI ANEMİ PARAMETRELERİ İLE HEPSİDİN DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ

Köpek anaplazmozisi; gram negatif, zorunlu hücre içi bir bakteri olan *Anaplasma phagocytophilum*'dan kaynaklanmaktadır. Bu bakteri bulaşıcı olmamakla birlikte vektör kene aracılığı ile bulaşma sağlanmaktadır. *Ixodidae* türü keneler köpeklerde hastalık için vektördür. Organizma köpekler, kediler, atlar, geviş getiren hayvanlar, insanlar ve birçok yabani hayvan türü de dahil olmak üzere çeşitli memelileri enfekte etmektedir. Duyarlı memeli konakçılara bulaşmanın, uzun süreli kene yapışması ve 24 saat veya daha uzun süre beslenmeyi gerektirdiği düşünülmektedir. Köpeklerde klinik hastalık en sık enfeksiyonun akut, bakteriyel fazı ile ilişkilidir. Akut enfeksiyona bağlı klinik hastalığı olan hayvanlarda genellikle ateş, uyuşukluk, halsizlik, istahsızlık ve genel kas ağrıları da dahil olmak üzere hastalığın belirsiz belirtileri görülmektedir. Laboratuvar test sonuçlarındaki anormallikler, hastalığın akut fazında değişken olabilmesinden kaynaklanmaktadır. Hepsidin ise son yıllarda keşfedilen, peptid yapıda hormondur. İlk rapor edilen çalışmalarda, insan kanında ve idrarında peptid yapıda bir antimikrobiyal olarak tanımlanmış, fakat daha sonra ki çalışmalarda tip II akut faz reaktanı olduğu ve demir metabolizmasında düzenleyici rol aldığı bildirilmiştir. Araştırmanın amacı *Anaplasma phagocytophilum* seropozitif köpeklerde bazı anemi parametreleri ile birlikte hepsidin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek ve hepsidinin biyomarker olarak kullanımı hakkında bilgi edinmektir. Bu amaçla araştırma materyali Antalya ilinde toplanmış olup çalışma grubunu oluşturmak üzere 20 köpekten kan örnekleri alınmıştır. Bu örnekleri 6' sını dişi, 14' ü erkek, yaşları 7 aylıktan 8 yaşına kadar değişen farklı ırk köpekler oluşturmaktadır. Kontrol grubu ise sağlıklı 10 köpekten oluşturulmuştur. Her iki gruptaki köpeklerden alınan kanlarda tam kan sayımı yapılmıştır. Ayrıca hepsidin, demir ALT, AST ve ALP değerleri toplanan serum örneklerinde ölçülmüştür. Sonuç olarak iki grup arasında hepsidin değerleri istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunarak, köpeklerde anaplazma enfeksiyonu teşhisinde hepsidinin diğer parametreler eşliğinde biyomarker olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Anaplazma, Anemi, Hepsidin, Köpek

## ABSTRACT

### THE RELATIONSHIP BETWEEN SOME ANEMIA PARAMETERS AND HEPCIDINE LEVEL IN ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM SEROPOSITIVE DOGS

Anaplasmosis in dog is caused by *Anaplasma phagocytophilum*, a gram-negative, mandatory intracellular bacteria. Although this bacterium is not contagious, it is transmitted through vector tick. The ticks of the genus *Ixodidae* are vector for disease in dogs. The organism infects a variety of mammals, including dogs, cats, horses, ruminants, humans and many wild animal species. Transmission to susceptible mammalian hosts is thought to require long-term tick adherence and 24-hour or longer feeding. In dogs, clinical disease is most often associated with the acute, bacterial phase of infection. Animals with clinical disease due to acute infection often have vague symptoms of the disease, including fever, drowsiness, weakness, loss of appetite, and general muscle pain. Abnormalities in laboratory test results are likely to be variable in the acute phase of the disease. Heparin is a peptide hormone that has been discovered in recent years. In the first reported studies, it has been identified as a peptide antimicrobial in human blood and urine, but in later studies it has been reported to be a type II acute phase reactant and play a regulatory role in iron metabolism. The aim of the study was to evaluate the relationship between hepcidin and some anemia parameters in *Anaplasma phagocytophilum* seropositive dogs and to learn about the use of hepcidin as a biomarker. Blood samples were obtained from 20 dogs with seopositive *Anaplasma phagocytophilum*. These samples consist of 6 female, 14 male, ages ranging from 7 months to 8 years old dogs. The control group consisted of 10 healthy dogs. In both groups, complete blood counts were performed. Heparin, iron ALT, AST and ALP values were also measured in serum samples collected. As a result, hepcidin values between the two groups were statistically significant ( $p < 0.05$ ) and it was concluded that hepcidin could be used as a biomarker in the diagnosis of anaplasma infection in dogs with other parameters.

**Keywords:** Anaplasma, Anemia, Dog, Heparin

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Tarihçe

*Anaplasma* familyası üyeleri gram negatif zorunlu hücre içi pleomorfik koklar olup hematopoetik kökenli spesifik konakçı hücrenin sitoplazmasında veya omurgasızlarda zara bağlı vakuoller (morula) içerisinde çoğalmaktadır (Lai ve ark., 2009; Metler ve ark., 2007). Bu bakteriler bulaşıcı olmamakla birlikte vektör kene veya trematodlar aracılığı ile bulaşma sağlanmaktadır (Rikihisa, 2006).

Köpeklerde hastalık oluşturan türler *A. phagocytophilum* ve *A. platys* olup *A. phagocytophilum* daha önce *granülositik ehrlichiosis* olarak bilinen, köpek *granülositik anaplazmosisinin* (CGA) etiyolojik ajanıdır (Cockwill ve ark., 2009; Tsachev, 2009; Tunç ve Aktaş, 2016). İlk olarak İskoçya’da bulunan koyunlarda *Ehrlichia phagocytophilum* ‘kene kaynaklı ateş’ olarak tanımlanmıştır daha sonra ise 1968 yılında atlarda hastalık rapor edilmiş olup 1971 yılında ise Arkansas’ta bir Alman Çoban köpeğinde hastalık tespit edilmiştir (Chen ve ark., 1994; Tsachev, 2009). İnsanda ilk *A. phagocytophilum* enfeksiyonu ise 1994 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde bildirilmiştir (Shaw ve ark., 2001).

2001 yılında 16S rRNA, groESL ve yüzey protein genlerinin genomik analizinden sonra sınıflandırmanın yanlış olduğu bildirilmiş ve *Rickettsiales* sırası yeniden düzenlenmiştir (Kirtz ve ark., 2005; Mazepa ve ark., 2010). Köpeklerde hastalık oluşturan etken ile atlarda hastalık etkeni olan *Ehrlichia equi* ve insan granülosit ehrlichiosis (HGE) türlerinin sinonim olduğu ortaya konulmuş olup anaplazma soyu altında sınıflandırılarak *A. phagocytophilum* olarak isimlendirilmiştir (Dumler ve ark., 2001; Kirtz ve ark., 2005; Plier ve ark., 2009). Ancak diğer anaplazma türlerinin enfekte ettikleri hücreler açısından farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir. Ehrlichia türlerinin virülensi arasındaki farklılıklar, Avrupa’daki *A. phagocytophilum* izolatının atlarda hastalık oluşturmaması ayrıca Amerika’da izole edilen insan izolatlarının sığırlarda

hastalık oluşturmaması gibi nedenler yeni sınıflandırmanın gerekliliği konusunda soru işareti barındırmaya devam etmektedir (Pusterla ve ark., 1999). Bununla birlikte bu farklılıkların nedeni olarak farklı coğrafi bölgelerin, *A. phagocytophilum* suşları arasındaki çeşitli fenotipik özelliklerden kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Carrade ve ark., 2009).



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Epidemiyoloji

*A. phagocytophilum* Ixodidae ailesine ait keneler tarafından vektörlenmiş zorunlu hücre içi patojendir (Foley ve ark., 2008). Amerika'da temel vektör *I. scapularis*, *I. pacificus* ve *I. dominis*, Avrupa'da *Ixodes ricinus*, Asya'da *I. perculcatus*, Türkiye'de ise *I. ricinus* birçok bölgede bulunan ve bulaşmadan sorumlu olan kene türleridir (Lee ve ark., 2003).

*Ixodes ricinus* grubundaki keneler, üç konaklı kenelerdir. Yetişkin formları memelilerden beslenirken olgun olmayan formları küçük memeliler, sürüngenler veya kuşları konak olarak kullanmaktadır. Vektör kene türleri, etkenleri transovarial naklemez ve transstadial nakil olmak zorundadır (Schorn ve ark., 2011). Vektör keneler hastalık etkenini daha önce enfeksiyona yakalanmış omurgalılar üzerinden beslenmeleri esnasında almaktadır. Bir sonraki yaşam dönemi için gömlek değiştirdikten sonra hastalık etkenini diğer memelilere kan emme yolu ile nakletmektedir (Massung ve ark., 2005; Schorn ve ark., 2011). Kenelerden memeli konakçılara *A. phagocytophilum*'un nakil süresi tam olarak bilinmemektedir ancak farelerde yapılan çalışmalarda kenelerin konağa tutunduktan sonraki ilk 24 saat içerisinde enfeksiyon elde edildiği rapor edilmiştir (Dumler ve ark., 2005). Etkenin bulaştırılmasında vektör keneler haricindeki başka bir iletim yolu da kan transfüzyonudur. Kan ürünlerinin güvenilirliğini sağlamak için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi ile bakteriyel DNA taraması yapılmalıdır (Sainz ve ark., 2015).

*A. phagocytophilum* seropozitif olarak bildirilen rezervuarlar, ABD doğusunda bulunan beyaz ayaklı fareler (*Peromyscus leucopus*), batı ABD'de orman fareleri (*Neotoma fuscipes*), sincaplar (*Sciurus spp.*) ve Avrupa'da çizgili orman faresi (*Apodemus agrarius*), kırmızı sırtlı fare (*Myodes glareolus*), Asya'da ise Douglas sincapları (*Tamiasciurus douglasii*) ile uçan sincaplar (*Glomys sabrinus*) dir (Nieto ve

Foley, 2009). Büyük Britanya’da yapılan bir çalışmada karacaların (*Capreolus capreolus*), Norveç’te yapılan bir çalışmada ise kara geyik ve kızıl geyiklerde *A. phagocytophilum*’a karşı antikor bulunmuş ve rezervuar oldukları düşünülmüştür. *A. phagocytophilum* Ocak ve Nisan ayları arasında tespit edilmezken en yüksek düzeyde enfeksiyon yaz sonunda ve sonbaharda rapor edilmiştir (Adamska ve Skotarczak, 2007). Köpekler, insanlara bulaşmada rezervuar rolü oynayabilmektedir çünkü derilerinde bulunan enfekte keneler insanlara geçebilmektedir (Sainz ve ark., 2015).

*A. phagocytophilum* ile enfekte köpeklerde herhangi bir cins yatkınlığı tespit edilmemiştir ancak birkaç çalışmada Retriever ırkları ön plana çıkmıştır. Nedenin ise bu köpeklerin dışarıda daha fazla zaman geçirmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (McClure ve ark., 2010). Klinik vakalarda cinsiyet veya yaş eğilimi belgelenmemiştir, ancak yaşlı köpeklerin zamanla kenelere maruz kalma süresi uzadığı için genç köpeklere göre daha sık seropozitif olmaktadır (Barth ve ark., 2012; Egenvall ve ark., 2000).

## 2.2. Etiyoloji

*Rickettsiales* dizisinde bulunan *Anaplasmataceae* ailesi, ökaryotik hücrelerin sitoplazma içerisinde membrana bağlı vakuollerin içinde çoğalan, Alpha-1 proteobakterileri içermektedir (Adamska ve Skotarczak, 2007). Anaplasma türlerinden biri olan *A. phagocytophilum* granülositleri (öncelikle nötrofil ve eozinofil) enfekte etmektedir (Trost ve ark., 2018). *A. phagocytophilum* geniş bir coğrafi dağılım göstermesine rağmen tanımlanan tüm suşlar önemli serolojik çapraz aktiviteye ve 16S, groESL, gltA, ank ve msp2 genlerinin nükleotit sekanslarında küçük değişim derecesine sahip görünmektedir (De La Fuente ve ark., 2005).

*Anaplasma phagocytophilum*; gram negatif, hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, 0.2-0.9 µm boyutlarında küçük, kokoid, yüzük şeklinde, etrafı membran ile çevrili vakuoller (morula) halinde kan hücreleri (nötrofil ve eozinofil) ya da kan damarlarındaki endotel hücrelerin sitoplazmalarına lokalize olmuş zoonoz karakterde olan bakterilerdir (Jensen



ve ark., 2007; Kybicova ve ark, 2009). Daha büyük bir retikülat formu ve yoğunlaştırılmış protoplazmayı içeren daha küçük yoğun çekirdekli form dahil olmak üzere iki farklı morfoloji gözlemlenmektedir. Memeli hücrelerinde, morulaların çapı genellikle 1-6 µm kadar olmaktadır (Popov ve ark., 1998). Bakteri hücreleri, her ikisi de aynı vakuolde bulunan yoğun çekirdekli ve retikülat olmak üzere iki tiptedir; ikisi de eşit veya eşit olmayan ikili bölünmeye maruz kalabilmektedir. Tek tek hücrelerin çapı 2 mikron büyüklüğündedir. Vakumlu boşlukta boş veziküller bulunabilir ancak fibriler matriksi yoktur. Periplazmik uzayan çıkıntılar oluşturan veya bakteriyel protoplazmaya yayılan bol miktarda sitoplazmik membran olabilir. Mitokondri, morulalar ile temas etmemekte veya kümelenmemektedir (Dumler ve ark.,2001; Hudson, 1950).

Giemsa-Romanovsky ile boyanmış preparatlardaki morulalar rengi koyu maviden pembeye kadar değişen dut salkımı şeklinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimlerine benzemektedir (Popov ve ark., 1995). *Anaplasma phagocytophilum*'un görülebileceği en erken süre, nötrofil sitoplazmalarında 0-6 µm boyutlarındaki temel organlar ve 4-6 µm'lik büyüklükteki morüller olarak enfeksiyondan 4 ila 18 gün sonradır. Mikroskopik olarak genellikle 4-8 gün gibi kısa bir sürede kaydedilebilirler (Cockwill ve ark., 2009; Shaw ve ark., 2001; Tsachev, 2009).

*A. phagocytophilum* enfeksiyonu için inkübasyon süresi 1-2 hafta sürmektedir. İnkübasyon süresinden sonra köpekte kendini sınırlayan ateşli hastalık gelişebilmektedir. *A. phagocytophilum* ile doğal olarak enfekte olmuş seropozitif köpeklerin çoğu klinik belirti göstermeden sağlıklı kalmaktadır (Kohn ve ark., 2011). *A. phagocytophilum* dokulara yayılım gösterip köpeklerde subklinik/kronik hastalık belirtilerine katkıda bulunma derecesi hakkında henüz kesin bir bilgi edinilmemiştir. *A. phagocytophilum* ile deneysel olarak enfekte edilmiş üç köpek 4-6 ay boyunca izlenmiştir. *Rickettsial* DNA, çalışma süresi boyunca kan numuneleri üzerinde PCR yapılarak incelenmiş ve iki köpekte aralıklı olarak tespit edilmiştir (Egenval ve ark., 2000).

Hamile köpeklerde enfeksiyon bildirilmemiştir ancak transplasental geçiş ineklerde belgelenmiştir. Deneysel olarak enfekte edilmiş sığırların sütündeki lökositlerde etken tespit edilmiştir (Plier ve ark., 2009).

### 2.3. Klinik Bulgular

*A. phagocytophilum* enfeksiyonları, temel olarak periferik kanda bulunan nötrofil granülositlerinin karakteristik kolonilerinin (morula) oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca sekonder enfeksiyonlara karşı direnç mekanizmalarının bozulması ile birlikte kemik iliğinde preküsörlerin ortaya çıkması ile birlikte akut, ateşli bir hastalık tablosu oluşturmaktadır (Munderloh ve ark., 2004). Doğal olarak enfekte olmuş köpeklerin çoğunlukla klinik belirti göstermediği ve hastalıkların kendi kendini sınırladığı bildirilmiştir (Berzina ve ark., 2014).

*A. phagocytophilum*'un en sık görülen klinik bulguları spesifik olmamakla beraber; uyuşukluk, anoreksi ve ateştir. Diğer bulgular ise soluk mukoza, gastrointestinal belirtiler (kusma, ishal), hafifçe büyümüş lenf bezleri, taşipne ve yüzey kanaması (peteşi, melena veya burun kanaması) dır. Nadir olarak kollaps, hafif öksürük, üveit, ekstremitte ödemi ve polidipsi/poliüri bildirilmiştir (Eberts ve ark., 2011; Sainz ve ark., 2015). Santral sinir sistemine ait belirtilerin bu hastalıkla ilişkili olup olmadığı tartışmalı olup birkaç vakada steroid uygulamasına yanıt veren menenjit/arterit ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu arasında ilişki olduğu öne sürülmüştür (Barber ve ark., 2010; Maretzki ve ark., 1994). *A. phagocytophilum* enfeksiyonu, immun aracılı trombositopeni/anemi gibi bazı immünopatileri tetikleyebilir ayrıca radyografi ve ultrasonografi aracılığı ile tanı konulan splenomegali yaygın bir bulgudur (Kohn ve ark.; 2008). Lyme hastalığının etiyolojik ajanı olan *Borrelia burgdorferi* gibi kene kaynaklı diğer hastalıklar ile birlikte koinfeksiyon durumunda, klinik bulgular ve tanı karmaşık bir hal almaktadır.

Kalıcı *A. phagocytophilum* enfeksiyonu köpeklerde, koyunlarda ve atlarda tespit edilmiştir (Chirek ve ark., 2017; Stuen ve Berström, 2001). Kalıcı *A. phagocytophilum* enfeksiyonun tanısı için aralıklı olarak pozitif PCR sonuçlarına ve periferik kan bulaşmalarında morulaların tekrar oluşup oluşmadığına bakılmaktadır ayrıca yapılan bir çalışmada *A. phagocytophilum* DNA'sı, kalıcı olarak enfekte olmuş köpeklerde sadece periferik kanda çoğaltılmıştır (Franzen ve ark., 2009; Scorpio ve ark., 2011; Woldehivet, 2010).

Granülositik anaplazmoziste klinik olarak şekillenen hematolojik değişiklikler; lökopeni, nadiren lökositoz, normositik normokromik anemi, trombositopeni, yüksek serum alkalen fosfataz aktivitesidir (Jensen ve ark., 2007; Tsachev, 2009). Trombositopeni *A. phagocytophilum* ile enfekte olmuş köpeklerin %100'ünde ve doğal olarak enfekte olmuş köpeklerin %80'inden fazlasında belgelenmiştir ancak trombositopeni ve diğer sitopenilerin mekanizması hala bilinmemektedir (Cockwil ve ark., 2009; Granick ve ark., 2008). Trombositopeni en yüksek parazitemi sırasında belirgin olup tedavi edilmeden bile trombosit sayıları 7 gün içerisinde normal değer aralığına dönmektedir (Cockwill ve ark., 2009).

### **2.3.1. Karaciğer ALT, AST ve ALP Enzimleri**

Alanin aminotransferaz (ALT), piruvat ve glutamat oluşturmak üzere transaminaz reaksiyonunu tersine katalize eden pridoksal ezimler olup öncelikle karaciğerde tespit edilmektedir. Ancak ALT aktivitesi böbrek, kalp, pankreas, iskelet kası, yağ ve beyin gibi organlarda da bulunabilmektedir. Amino asit (aa) metabolizmasında ve glukoneogenezde önemli rol oynamakta olan ALT, köpeklerde spesifik olarak karaciğere özgüdür (Gaskill ve ark., 2005). Baskın olarak hepatik orjinli olması nedeniyle, serum ALT seviyesinin yükselmesi sıklıkla karaciğer hasarı ile ilişkili olup hepatoselüller membran hasarına bağlı bozulma ile hepatositlerden enzimin sızması ile ilişkilidir (Gieger ve ark., 2000; Miyazaki ve ark., 2009).

Aspartat Aminotransferaz (AST) hepatosellüler bir enzim olmakla beraber karaciğere spesifik değildir. Kalp, iskelet kası, böbrek ve beyinde de bulunmaktadır. Serumdaki AST artışı hücreden sızdığını ve birçok türde akut yıkımı gösterebilir. AST enzimi sitoplazma ve mitokondriyumda bulunmaktadır, ALT enzimine oranla daha geç sızar ve enzim seviyesinin yükselmesi için şiddetli bir yıkımın olması gerekmektedir. AST enzim değerlerinin düşük seviyeleri önemsiz görülmektedir (Rosenfeld ve Dial, 2010).

Alkalin Fosfataz (ALP), çeşitli fosfat esterlerin hidrolizini katalize eden bir enzim grubunu oluşturmaktadır. ALP enzimi esas olarak zara bağlı bulunmaktadır ve hücrelerin salgılayıcı ve emici yüzeylerinde bulunarak hücre taşınmasında rol almaktadır (Mılne, 1985). Köpeklerde alkalin fosfataz enzimi kemik, bağırsak, karaciğer ve böbrek gibi birçok organda bulunmaktadır. Bağırsak ve böbrek izoenzimlerinin yarı ömürlerinin çok kısa (3 ila 6 dk) olması nedeni ile toplam serum ALP aktivitesine katkıda bulunmamaktadır. Kemik, karaciğer ve kortikosteroid kaynaklı ALP izoenzimleri total serum ALP değerine katkıda sağlamaktadır (Fernandez ve ark., 2007; Gaskill ve ark., 2005; Karayannopoulou ve ark., 2003).

### **2.3.2. Anemi**

Anemi; RBC (red blood cell) miktarı olarak ölçülen kırmızı hücre kitlesinde, hemoglobin (HGB) konsantrasyonunda ve hematokrit (HCT) diye de bilinen PCV (packed cel volüme)'deki belirgin azalış olarak tanımlanmaktadır. Veteriner Hekimlik pratiğinde en sık rastlanan hematolojik anormalliklerden birisi olup, hastalık durumunun önemli bir semptomudur. Aneminin klasifiye edilmesinde retikülosit sayımları, RBC indeksleri, kan sürme prepratlarında RBC morfolojisi, plazma protein konsantrasyonu, serum demir ve bilirubin konsantrasyonlarının değerlendirilmesi faydalıdır (Cheiver ve ark., 2012; Jones ve Gruffyddy-Jones, 1991).

Anemi oluşum nedenleri değerlendirilerek rejeneratif ve non-rejeneratif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Genellikle başka bir hastalığın yanında sekonder olarak gelişen non-rejeneratif anemi, kemik iliğinden eritroid elementlerinin az ya da etkisiz proliferasyonu ile karakterizedir (Ettinger ve Feldman, 2000). Non-rejeneratif anemi demir eksikliği, beslenme yetersizliği, B12 vitamini ve folik asit eksikliği, kronik enfeksiyon (kronik karaciğer hastalığı), aplastik anemi (trombositopeni, granülositopeni), kimyasal etkenler, radyasyon, eritrosit aplazisinde (immün ilişkili hastalıklar) gelişebilmektedir (Fry, 2011; McCown ve Specht, 2011).

### **2.3.2.1. Demir Eksikliği Anemisi**

Demir, organizmalar için oksijen taşıma, DNA sentezi ve elektron transportu gibi metabolik süreçte gerekli olan ve vücuttaki bütün hücreler tarafından kullanılan esas elementlerden biridir (Chikazawa ve ark., 2013). Ayrıca nörotransmitter madde ve myelin üretimi, immün sistem fonksiyonları, hemoglobin oluşumu, enerji metabolizması gibi birçok enzim sisteminin dahil olduğu biyokimyasal yollar için olmazsa olmaz bir bileşendir (Gurzau ve ark., 2003; Naigamwalla ve ark., 2012). Bununla birlikte vücutta aşırı demir hücre içi toksik etki oluşturmaktadır. Memelilerde demir atılımı için düzenlenmiş bir yol bulunmamaktadır bu yüzden demir dengesi bağırsaktan demir emiliminin sıkı bir şekilde düzenlenmesi ile korunmaktadır. Bağırsak demir emilimi dengesini, vücut demir depolarının seviyesi ve eritropoez için gerekli olan demir miktarına cevap olarak modüle etmektedir. Bu düzenlemenin iki regülatör aracılığı ile dengede tutulduğu düşünülmektedir. Vücut demir depolarındaki demir miktarı azaldığında, depo regülatörü rezervler doluncaya kadar demir emilimi artırır. Demir depolarındaki miktar arttığında ise bağırsak demir emilimini azaltır ve böylece aşırı demir yükü önlenmiş olur (Nicolas ve ark., 2002).

Vücudun temel ihtiyacını karşılamak için gerekli olan demirin büyük bir kısmı yaşlanan kırmızı kan hücrelerinden retiküloendotelial sistem (RES) tarafından dönüştürülmektedir (Wessling-Resnick, 2010). Kemik iliği, normal kırmızı kan

hücrelerini üretmek için sürekli demir kaynağına ihtiyaç duymaktadır. Bu demir ihtiyacı için birinci kaynağın küçük bir kısmını besinlerle vücuda alınan demirin bağırsaktan emilimi ile sağlanmış olur. Yaşlanan kırmızı kan hücrelerinde elde edilen demirin geri dönüşümü ise büyük kaynağı oluşturup yüksek fraksiyon elde edilmektedir. Bu demir geri dönüşümü, yaşlı eritrositlerin lizisine neden olan ve hemoglobinleri katalize eden retiküloendotelyal makrofajlar tarafından gerçekleşmektedir. Makrofajlar geri dönüşümünü sağladığı demirin bir kısmını depo eder ve geri kalan bölümü transferin tarafından alındığı plazmaya göndermektedir (Weinstein ve ark., 2002).

Demir metabolizmaları önemli ölçüde konakçı savunma yanıtları ile bağlantılıdır. İnflamatuar uyarılara cevap olarak makrofajlar, patojenlerden korunmak için demir emilimin azaltıp büyüme hızlarına etki ederler. TNF- $\alpha$  (tümör nekrozis faktör alfa), IL-1 (interlökin-1), IL-6 (interlökin-6) gibi sitokinler, demir alım ağı, demir depolama (H- ve L- ferritin) ve demir düzenleyici sistem içinde etki etmektedir (Falzacappa ve Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006).

Demir eksikliği, diyetle alınan demirin vücudun ihtiyacını karşılayamadığı zaman veya kan kayıplarında oluşmaktadır. Vücutta demir eksikliği kontrolü yapıldığında plazmadaki demir konsantrasyonu ile beraber plazma demir taşıma kapasitesinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Serum demir konsantrasyonları diyetle alınan demir yetersizliğinde azalmakla beraber, yangısal reaksiyonlarda, renal hastalıklarda ve kronik yangı durumlarında da azalmaktadır (Steinberg ve Olver, 2005).

Demir eksikliği nedeni ile şekilenen anemiler, demir depolayamama, düşük serum konsantrasyonları, düşük serum satürasyonu, düşük hematokrit ve hemoglobin değerleri ile karakterizedir. Demir eksikliği ile ilişki aneminin klinik belirtileri solgunluk, zayıflık, halsizlik, büyümede gerileme, taşipne ve taşikardidir. Demir eksikliği genellikle aylarca dayanan bir sürede yavaşça gelişmektedir, hastalar genellikle anemiye adapte olacak zamana sahiptir. Bu demir eksikliği anemisi, demir eksikliği ileri derece olana kadar rejeneratiftir (Beserab ve ark., 2009; Paltrinieri ve ark., 2010).

Demir eksikliği anemisi genellikle yavru köpeklerde ve kan emen parazitlerin enfestasyonunda, diyetin demir açısından eksik olduğu durumlarda ve kronik kan kayıplarında görülmektedir (McCown ve ark., 2011). Demir eksiliği nedeni bilinmemekle beraber reaktif trombozitozisin bir nedenidir. Demir eksikliğinin devam etmesine bağlı olarak anemi, normositik hipokromikten mikrositik hipokromik anemiye doğru ilerlediği görülmektedir. MCV (ortalama eritrosit hacmi) ve MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu) erken evrelerde normaldir fakat değerlerin biri yada ikisi daha sonra azalım göstermektedir (Bush, 1991)

### **2.3.3. Akut Faz Proteini**

Akut faz proteini (AFP); yangının akut dönemine kandaki seviyeleri belirgin şekilde değişiklik gösteren proteinler olup vücudun immun sisteminin, yangı ve travmaya karşı cevabını değerlendirmek için kullanılır (Petersen ve ark., 2004). AFP karaciğerden sentezlenip, çoğunlukla glikoprotein yapısındadır ve salgılanmaları özellikle IL-6 tarafından düzenlenir (Murata ve ark, 2004).

Dokular, mikroorganizmalar tarafından etkilendiğinde bu duruma karşı cevap başlatır. Pro-inflamatör sitokinler salınır, vasküler sistem ve yangısal hücreler aktive edilir (Dinarello, 1989; Gruys ve ark., 2006). Akut faz proteinlerinin en genel sınıflandırma biçimi “pozitif” ve “negatif” akut faz proteinleri şeklindedir. Pozitif AFP’lerini temel olarak hepatositlerden yangısal sitokinlerin uyarımıyla salınan glikoprotein yapısında maddeler oluşturur. Negatif AFP’leri ise kanda yaygın olarak bulunan yapısal plazma proteinleri oluşturur. Enfeksiyondan sonra, karaciğerden sentezlenen kortizol bağlayıcı protein, transferin, albumin gibi negatif AFP’lerde düşüş gözlenirken; C-reaktif protein (CRP), haptoglobin (Hp), fibrinojen gibi proteinler sitokinlerin meydana getirdiği uyarımlardan sonra pozitif AFP’lerde artış göstermektedir (Nukina ve ark.,2001; Murata ve ark., 2004).

### 2.3.3.1. Hepsidin

Hepsidin, N-terminal 24 aa (aminoasit) endoplazmik retikulum hedefleme sinyal dizisi içeren 84-aa propeptid olarak kodlanan hormon olup başlangıçta karaciğerde antimikrobiyal peptid olarak tanımlanmış ve özellikle IL-6' ya cevap olarak salınan ara ürün olarak ortaya çıkmıştır (Dzikaite ve ark., 2006; Valore ve Ganz, 2008). Hepsidin ve demir hemeostazı arasındaki ilk bağlantı, hepsidin mRNA seviyelerinin aşırı demir yüküne maruz kalan farelerde arttığı tespit edilerek belirlenmiştir. Hepsidini aşırı eksprese eden farelerin doğumdan birkaç saat sonra öldüğü ve yaşayanların ciddi demir eksikliği anemisi yaşadığı ortaya konulmuştur. Bununla uyumlu olarak hepsidin peptidinin farelere enjekte edilmesi, serum demir seviyelerinde hızlı düşüşe neden olduğu görülmüştür. Birlikte ele alındığında tüm bulgular, hepsidinin demir emilimini ve makrofaj demir salımını azalttığını göstermektedir (Pigeon ve ark, 2001). Hepsidin demir emiliminin temel düzenleyicisi olup ağırlıklı olarak karaciğer hepatositlerinde sentezlenir ancak makrofajlar, adipositler ve beyin de dahil olmak üzere diğer hücrelerde ve dokularda da düşük ekspresyon seviyeleri, yerel seviyede demir miktarını sabit tutmak için önemlidir (Valore ve Ganz, 2008).

Yapısal olarak hepsidin peptid, dört disülfid bağı ile bir arada tutulan bükülmüş bir saç tokasına benzetilmektedir. İki bağı antiparalel tabakayı stabilize ettiğini ve ikisinin de peptidin bükülmüş konformasyonunu sabitlediğini göstermektedir. Hepsidinin reseptöre bağlanabilmesi için disülfid bağlarından birinin tutulması gerekmektedir. Bununla birlikte, tek tek bağların çıkarılmasının, in vitro ortamda hepsidin aktivitesinin önemli ölçüde azaltmadığı göz önüne alındığında, çoklu disülfid bağlarının ferroportin ile temas oluşturması için önemli olduğu düşünülmektedir (Nemeth ve ark., 2006). Hepsidin, ferroportin yolu ile plazmada hücrel demir salınımını modüle ederek etki göstermektedir. Ferroportin hem hepsidin reseptörüdür hem de omurgalılar da bilinen tek hücrel demir taşıyıcısı rolünü üstlenmektedir (Donovan ve ark., 2005).



Hepsidin, plazma demir konsantrasyonlarının ana düzenleyicisidir. Hepsidin aşırı ekspresyonunda tipik olarak mikrositik hipokromik anemi şekillenmektedir. Eksikliğinde ise karaciğer ve diğer parankimlerde demir birikimi ve makrofajlar bakımından zengin dalağın aşırı demir yüklemesine neden olmaktadır (Nicolas ve ark., 2002). Hepsidin, hemostatik olarak demir ve eritropoietik aktivite ile düzenlenmektedir. Demir miktarının fazla olduğu durumlarda hepsidin üretimini artırır ve hormonun artan konsantrasyonlarında demir yüklenmesi önlenmiş olmaktadır. Aksi olarak demir eksikliği durumlarında ise hepsidin baskılanır bu da diyet demir emilimi ile demir depolarının yenilenmesini sağlamış olur. Artan eritropoetik aktivite ise, hepsidin üretimini baskılayıp demir emilimini arttırmaktadır. Ayrıca, depolanmış demirin makrofajlardan ve hepatositlerden salınımını sağlayarak eritropez için gerekli olan demir ihtiyacını karşılamış olmaktadır (Donovan ve ark., 2005). Hepsidin ayrıca üretildiği dokularda da lokal demir metabolizması üzerinde kontrol sağlamaktadır. Merkezi sinir sistemi kan-beyin bariyeri ile plazmadan ayrılmaktadır ve dolaşımdaki hepsidin bu bariyer engeline takılmaktadır, beyin dokusu sistemik kontrolden bağımsız olarak ürettiği hepsidin ile demir regülasyonunu düzenlemektedir (Nemeth ve Ganz, 2009).

Hepsidin, bağışıklık sisteminin bir parçası olup enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattında rol oynamaktadır. Pozitif toplam yük ve amfipatik ikincil yapıları üstlenme eğilimi veren temel aminoasitleri içermektedir. Bu özellik antimikrobiyal peptidler ile sekans benzerliği göstermemektedir ancak dört disülfid köprüsünden dolayı yapısal olarak defensin ailesine benzemektedir. Hepsidin sentezi, enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında hızla artış göstermekte olup IL-6 hepsidinin önde gelen indükleyicisi rolünü üstlenmektedir (Nemeth ve ark., 2004). Antimikrobiyal aktivitesine ek olarak bağırsaktan demir emilimini ve makrofaj demir salınımını negatif olarak düzenleyerek bakterilere karşı iki yönlü etki etmektedir; patojenler için demir miktarını azaltır ve doğrudan saldırma görevlerini üstlenir (Park ve ark., 2001).

## 2.4. Patogenez

*Anaplasma phagocytophilum* enfekte olan *Ixodidae* ailesine ait kenelerin konak memeliyi ısırması ile yayılım göstermektedir. Aynı kene türleri Lyme hastalığının etiyolojik etkeni olan *Borrelia burgdorferi*'yi de iletmektedir (Granick ve ark, 2009). *A. phagocytophilum*'un keneden memelilere geçişi, kene ısırmasından yaklaşık olarak 24-48 saat sonrasında gelişmekte olup memelilerde kan veya lenf yolu ile dağılım göstermektedir. İnkubasyon süresi ise 1-2 hafta arasında değişmektedir (Kohn ve ark., 2008).

Keneler doğrudan kan damarlarına ulaşım gösteremez bu nedenle hasarlı kılcal damarlardan beslenirler, bu esnada *Anaplasma phagocytophilum* kene tükürüğü aracılığı ile kan hücrelerine geçmektedir (Munderloh ve ark., 2004). Organizma granülositleri enfekte etmekte olup yapısında bulunan P-selektin glikoprotein-1 ile hücre yüzey reseptörleri ve glikanlara bağlanarak konakçı hücrenin granülositlerinde sitoplazmik vakuoller içerisinde bulunmaktadır (Goodman ve ark., 1999; Webster ve ark.,1988;).

Nötrofilik vakuoller içinde bulunan *A. phagocytophilum*, hücre araçlı tahribatı engellemek için fagosom-lizozom füzyonunu inhibe etmeyi de içeren çeşitli stratejilere sahiptir (Rejmanek ve ark 2011). *A. phagocytophilum* değişken antijenler üretmek ve bağışıklıktan kaçmak için farklı mekanizmalar geliştirmektedir. Antijen değişimi parazitlerin konak savunmasını aşabilmek için kullandıkları yaygın bir stratejidir. Bunlardan biri, ana yüzey antijeni olan msp2 (p44) geninin korunmuş ekspresyon bölgesinin hiperdeğişken bölgeye karıştırılmasıdır. Mutasyon msp2 ekspresyon bölgesinde yaklaşık 100 allel genin örnekleme yolu ile varyasyon yaratması ile konak savunma sisteminden kaçıışı sağlanmış olup gen dönüşüm stratejisi kullanılmış olmaktadır (Rejmanek ve ark., 2011).

*A. phagocytophilum* nötrofillerden çoğalırken hücre fonksiyonlarını değiştirip, endotel hücrelerin yapısını ve geçişini azaltarak hareket etmektedir. Nötrofillerde

çoğalma esnasında lipopolisakkarit ve peptidoglikanı konakçıdan tedarik etmekte ve diğer bakterilerden farklı olarak konaktan kolestrol alarak bariyer oluşturmaktadır. Konakçıdan temin edilen kolestrol aynı zamanda *A. phagocytophilum* girişi ve hücre içi enfeksiyon için önem taşımaktadır (Rikihisa, 2006). Ayrıca degranülasyonun ve kemokin sentezinin arttırılmasını sağlayarak apoptozu geçiktirmektedir. Genel olarak bu nötrofil değişiklikleri ile enfekte nötrofillerin dolaşım süresi uzatılmış ve bakterilerin sağ kalımı arttırılmıştır. Konak nötrofillerinde çoğaldıktan sonra ise sitoliz yolu ile serbest bırakılıp başka hücreleri enfekte etmektedir (Chirek ve ark., 2018). Bunlarla birlikte konakçı inflamasyon ve düzensiz mikrobisidal aktiviteyi düzenleme ile hastalığa katkı sağlamış olmaktadır (Garyu ve ark., 2005).

Granülositik anaplazmoziste en tutarlı klinopatolojik bulgu trombositopeni olup mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Endotel hücrelerinin *A. phagocytophilum* ile enfekte olması ile trombosit aktivasyonunu ve tüketiminin artması ile şekillendiği düşünülmektedir. Megakaryositlerin *A. phagocytophilum* ile enfeksiyonu, hücre kültüründe trombosit üretimini değiştirmemektedir (Granick ve ark., 2009).

## 2.5. Tanı

*A. phagocytophilum*'un köpeklerde tespiti doğrudan kan yayma metodu ile yapılmakta olup nötrofil içinde bulunan morulalar klinik vakaların %60'ına kadar görülmektedir (Kohn ve ark., 2008). Deneysel olarak enfekte edilmiş köpeklerde morulaların, aşılamaadan 4 gün sonra ortaya çıktığı ve 4-8 gün süre içinde devam ettiği bildirilmiştir. Morulalar, nötrofilleri enfekte eden *E. ewengii*'de de görülebilmektedir. Bu nedenle iki organizmanın da meydana gelebileceği alanlarda dolaylı immünofloresans, PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ve izolasyon gibi ek analizlerin yapılması önerilmektedir. 2006'dan bu yana, ELISA SNAP 4Dx test kiti pratikte kullanılmakta olup *A. phagocytophilum*'a karşı IgM ve IgG antikorlarını tespit etmektedir (Egenvall ve ark., 2000; Shaw ve ark., 2001). PCR tespiti kan yayma metoduna göre daha hassastır, spesifik bir patojen için DNA tespiti aktif bir

enfeksiyonun varlığını düşündürmelidir ve gerçek zamanlı PCR bakteri yükünün de ölçülmesine izin vermektedir. Bakılan numunede patojen bulunmaması halinde yanlış negatif sonuçlarda oluşabilmektedir. Buna neden olabilecek nedenler ise; bakteriyeminin aralıklı olması, testin minimal tespit seviyesinin altında bulunması veya doksisisiklin gibi önceki uygulamalardan kaynaklı bakterinin mevcut olmamasıdır (Sainz ve ark., 2015).

Pozitif serolojik sonuç elde edildiğinde bu geçmiş veya mevcut olan enfeksiyonu göstermektedir ancak her zaman devam eden bir hastalık durumunu göstermez. Tek bir pozitif titre sonucu, çözülebilen geçmiş bir enfeksiyonun varlığını yansıtır bunun nedeni ise antikor titrelerinin birkaç ay veya yıl boyunca sürebilmesidir. Vakaların 2-4 hafta aralıklarla iki veya daha fazla serolojik testin performansına göre değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir (Gaunt ve ark., 2010; Kohn ve ark., 2011). Seropozitif sonuçlar, anaplazmoza ait klinik belirtiler göstermeyen köpeklerde, kalıcı enfeksiyon veya eskiden kalıcı antikorlardan kaynaklanabilmektedir (Jensen ve ark., 2007). Bunların haricinde bir köpek enfeksiyon barındırmasına rağmen seronegatif olabilmektedir. Bu özellikle inkubasyon süresinde ve akut hastalığın erken evrelerinde, bakteri yükünün düşük olduğu durumlarda yaygın olmaktadır. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada *A. phagocytophilum* ile deneysel olarak enfekte edilen köpeklerde, IgG antikorları ilk mazuriyetten 8 gün sonra ve moruların görülmesinden 2-5 gün sonra tespit edilmektedir (Egenvall ve ark., 2000).

## **2.6. Tedavi ve Koruma**

*A. phagocytophilum* ile enfekte köpekler genellikle tetrasiklin grubuna ait antibiyotiklerle başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Tercih edilen tedavi prosedürü ise, günde iki kez 5 mg/kg veya 4 hafta boyunca günde bir kez 10 mg/kg olan doksisisiklidir. Bazı vakalarda, köpeklerin önerilen dozlarda doksisisiklin kullanımından sonra enfekte olduklarını bildirmiştir, bu nedenle 4 hafta süreli tedavi önerilmektedir (Breitschwerdt ve ark., 1998; McClure ve ark., 2010). Ayrıca, tetrasiklin grubu antibiyotiklerin en yaygın yan etkilerinden biri olan kusma, antibiyotik dozunun her 12

saatte bir iki yarım doza bölünmesi veya yemekten sonra antibiyotiğin uygulanması ile elimine edilebilmektedir. Antibiyotik tedavisine başlamadan öncesi ve sonrasında karaciğer fonksiyon testleri yapılmalı ve karaciğer problemlerinde doksisisiklin kullanımı yeniden düşünülmelidir (Little, 2010; Neer ve ark., 2002).

Tetrasiklin grubu antibiyotikler haricinde Rifampin ve Levofloksasin'de *A. phagocytophilum*'a karşı in vitro etkiler göstermiş olup Kloramfenikol ise yavru köpeklerin tedavisinde alternatif olarak belirlenmiştir (Maurin ve ark., 2003). Orta ile şiddetli hastalığa sahip köpeklerde doksisisiklin tedaviye yanıt vermediğinde, diğer kene kaynaklı hastalıklar için testler yapılmalıdır. Genel olarak, klinikte belirlenen ciddiyete göre, PCV değeri çok düşük olduğunda kan transfüzyonuna ihtiyaç olabilmektedir. Dehidrasyon veya sekonder olarak böbrek hastalığı mevcut ise sıvı tedavisi veya analjezik ve antipirietik ilaçlar kullanılabilir (Little, 2010).

*A. phagocytophilum* seropozitif köpeklerde antibiyotiklerle birlikte glukokortikoidler kullanılmamalıdır. Yapılan bir çalışmada, subklinik olarak enfekte olmuş köpeklerde immunsupresif dozlarda glukokortikoid veya diğer ilaçların verilmesi durumunda köpekte klinik belirtiler görülmemesine rağmen bakteriyeminin yeniden ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Steroidler tatmin edici bir cevap alınmadığında veya immun aracılı komplikasyonlar ortaya çıktığında düşünülmelidir. Anaplasma türleri tipik olarak, hemolitik anemi, trombositopeni, glomerülonefrit ile kendini gösteren immun tepkiye aracılık edebilmektedir. Bu durumlarda, glukokortikoid ile tedavi prosedürü; prednizon dozları 0.5 ila 2 mg/kg/gün arasında değişmeli ve tedavi süresi bağışıklık durumuna göre değiştirilmelidir (Heeb ve ark., 2003; Kohn ve ark., 2008; Varela ve ark., 1997). *A. phagocytophilum*'un terapötik olarak ortadan kaldırılması sonrasında tekrarlayan enfeksiyon köpeklerde bildirilmemiştir, ancak insan tıbbında tekrarlayan enfeksiyon rapor edilmiştir (Horowitz ve ark., 1998).

Anaplasmozis enfeksiyonun önlenmesinde öncelikle kene kontrolüne odaklanılmalıdır. Uygun epidemiyolojik önlemlerin ardından köpekleri kene istilasına

karşı korumada en etkili yol ektoparazit ilaçların kullanımınıdır. Permethrin, amitraz ve fibronil içeren ürünlerin kullanımı ile kene kontrolünün sağlanması, hastalıktan korunmadaki en etkili yöntemler arasında bulunmaktadır Genel olarak bu ilaçlar, kenelere karşı etki eden aktif moleküllerdir ve kısa süre içerisinde uygun kontrolü sağlamaları gerekmektedir, böylelikle kenelerin patojenleri aktarabilmesi için gerekli olan süre önlenmiş olmaktadır. Ayrıca köpeklerin düzenli olarak taranması, kenelerin aktif olduğu dönemde önem taşımaktadır (Straubinger ve ark., 2002).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Gerecin Tanımı

Araştırma materyalini Antalya Döşemealtı İlçesinde bulunan Vetopya Veteriner Kliniğine aşı, muayene, tedavi ve kontrol için getirilen köpekler oluşturdu. Bu araştırma çalışma grubunu oluşturan hayvanlarda aşağıda belirtilen klinik belirtiler ve kriterler göz önünde bulundurularak kan örnekleri toplandı.

##### 3.1.2. Aranacak Klinik Belirtiler

- Halsizlik (Resim 3.1. ve 3.2.)
- Anoreksi (Resim 3.1. ve 3.2.)
- Kilo kaybı ve zayıflık (Resim 3.3.)
- Polidipsi/ Poliüri ve anemi (Resim 3.4.)



**Şekil 3.1.** Hasta hayvanda anoreksi ve halsizlik.



**Şekil 3.2.** Hasta hayvanda anoreksi ve halsizlik.



**Şekil 3.3.** Hasta hayvanda ilerleyen kilo kaybı ve zayıflık.





**Şekil 3.4.** Hasta hayvanda ilerleyen kilo kaybı, zayıflık ve anemi.

### **3.1.3. Hayvan Materyali**

Yukarıda belirtilen kriterlere göre toplanan kanlardan sadece anaplazma pozitif 20 köpekten kan örneği toplandı. Bu örneklerin 6'sı dişi, 14'ü erkek, yaşları ise 7 aylıktan 8 yaşına kadar değişen farklı ırk köpekler oluşturdu. Kontrol grubunu ise aşı için kliniğe getirilen sağlıklı 10 hayvan oluşturdu.

### **3.2. Yöntem**

Bütün köpeklerden kan örnekleri *Vena Cephalica Antebrachii*'den tek kullanımlık steril enjektör kullanılarak negatif basınçlı tüplere alındı (Resim 3.5. ve 3.6.). Hemogram örnekleri için EDTA'lı (2.5 ml), serum örnekleri için pıhtı aktivatörlü silikon tabanlı plastik tüpler (5 ml) kullanıldı. Hemogram örneğinin pıhtılaşmasını ve

hemolizi engellemek için tüpler dikkatle alt üst edilerek EDTA'nın tüm kana karışması sağlandı.

Toplanan kan örneklere önce 30 dakika port pte bekletilerek kanın pıhtılaşması sağlandı. Ardından santrifüj cihazında 3500 devirde 10 dk'da serumları çıkarıldı.  ıkan serum örneklere otomatik pipet yardımı ile eppendorf tüplere (1.5 ml) aktarıldı.  zerine numune numaraları yazılarak kayıt altına alınan tüpler -20 C'de serolojik analizleri yapılana kadar saklandı.



**Şekil 3.5.** Hasta hayvandan kan örneğinin alınması.



**Şekil 3.6.** Hasta hayvandan kan örneğinin alınması.

### **3.2.1. Testlerin Yapılış Prosedürü**

#### **3.2.1.1. CaniV-4 Test Kiti**

*Anaplasma phagocytophilum* seropozitif köpeklerin belirlenmesinde Antibody immünokromatografik assay CaniV-4 (*Dirofloria immitis* antijeni, *Ehrlichia canis* antikor testi, *Borrelia burgdorferi* antikor testi ve *Anaplasma phogocytophilum* antikor tespiti) Kiti (BioNote, Inc. Republic of Korea) kullanıldı. Çalışmaya sadece *A. phagocytophilum* seropozitif olan köpekler dahil edildi.

### **CaniV-4 Test Kitinde bulunan malzemeler:**

1. Bir adet Anigen 5 Hızlı CaniV-4 test kiti
2. Bir adet test çözücüsü(3 ml) (Lyme AB, Anaplasma Ab, E.Canis An için)
3. 5 adet Antikoagulantlı tüp
4. 5 adet tek kullanımlık kapiler tüp
5. 5 adet tek kullanımlık damlatıcı

Test ekipmanları folyolanmış paket içerisinde çıkarılıp kan örneklerinin alındığı EDTA'lı tüplerden, tek kullanımlık kapiller tüplere tam kan numunesi alınarak test ekipmanının sağında bulunan 'S' kutucuğuna damlatıldı ve üzerine 3 damla assay diluent (120µl) damlatıldı. Test çalışmaya başlarken test cihaz merkezinde bulunan test penceresinde mor rengin hareket ettiği görülüp test sonuçları 10 dk içerisinde yorumlandı.

**Negatif Sonuç:** Test merkezinde bulunan test penceresinde tek mor renk (C) bandında belirmesinde testin negatif olduğu belirlenir (Resim 3.7.).



**Şekil 3.7.** Kontrol grubunda *A. phagocytophilum* seronegatif sonuç.

**Pozitif Sonuç:** Test merkezinde bulunan test penceresinde iki mor çizgi T ve C (test ve kontrol) bandında belirmesi testin pozitif olduğu belirlenir (Resim 3.8.).



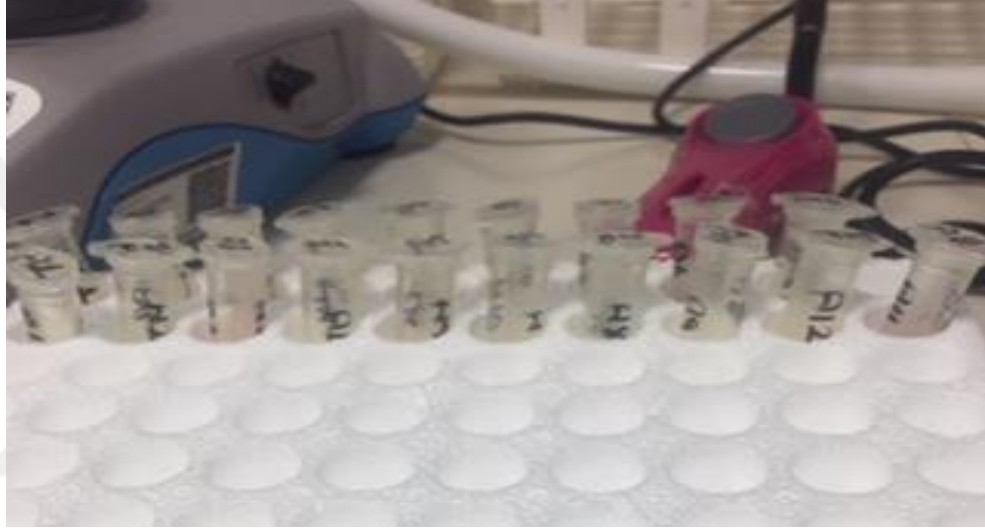
**Şekil 3.8.** Kontrol grubunda *A. phagocytophilum* seronegatif sonuç.

### 3.2.1.2. ELISA Hcpidin Test Kiti

#### **ELISA Hcpidin Test Kitinde bulunan malzemeler:**

1. Tahlil plakası (12x8 kaplamalı Mikrokuyu)
2. Standart (dondurularak kurutulmuş)
3. Biotin-antikoru (100 × konsantre)
4. HRP-avidin (100 × konsantre)
5. Biotin-antikor Seyreltici
6. HRP-avidin Seyreltici
7. Örnek Seyreltici
8. Yıkama Tamponu (25× konsantre)
9. TMB Yüzey
10. Durdurma Çözümü
11. Yapışkan Şerit (96 kuyucuk için)
12. Kullanım klavuzu

Toplanan serum örneklerinin ölçümlerinden bir gün önce  $-20^{\circ}\text{C}$ 'den  $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye aktarılarak yavaşça çözülmesi sağlandı. 1 gece  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekleyen numuneler ölçüm yapılmadan 1 saat önce oda ısısına çıkarılarak ortam sıcaklığına adapte olması sağlandı (Resim 3.9.). Aynı şekilde ELISA kiti de ölçüm yapılacak günün sabahı oda ısısına gelmesi sağlandı.



**Şekil 3.9.** Toplanan serum örneklerinin tüplere konulması.

Numuneler tek kanallı ayarlanabilir otomatik pipetler yardımıyla ELISA kuyucuklarına yerleştirildi, daha sonra yıkama ve stop solüsyonları 8 kanallı ayarlanabilir otomatik pipet yardımıyla yapıldı. Testlerin güvenilirliğini arttırmak için numuneler duplike çalışıldı.

Araştırmada alınan serum örnekleri YL-Biont firmasının kitleri ile değerlendirildi. ELISA kiti üzerindeki kullanım talimatlarına uygun olarak saklanıp, çalışıldı. ELISA ölçümü sonrası hesaplamalarda Microsoft Office® Excel programı kullanıldı. İşlem sonunda elde edilen veriler kit içerisindeki hesaplama yöntemi ile hesaplanarak eğim grafikleri oluşturuldu ve numuneler bu eğime uygun şekilde hesaplandı.

### **3.2.2. Deney ve Kontrol Grubunda Tam Kan ve Biyokimyasal Analizler**

Deney grubunda 20, kontrol grubunda ise 10 hayvan değerlendirildi. Hayvanların tümünden EDTA'lı tüplere alınan kanların tam kan sayımları Abacus JuniorVet (Hungary) marka tam kan analiz cihazında yapıldı. Ayrıca Fe, ALP, AST ve ALT değerleri toplanan serum örneklerinde ölçüldü. Elde edilen sonuçlarda deney ve kontrol grubunda bulunan hayvanların Fe, ALP, AST ve ALT değerleri karşılaştırıldı. Biyokimyasal analizleri ise Gesan Chem 200-1102422 (İtalia) otoanalizör cihazı ile yapıldı.

Kan serumunda hepsidin değerleri, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle ölçüldü. Araştırmada köpek spesifik hepsidin ELISA kitleri (YL-Biont, Shanghai yl Biotech Co., Ltd. (China) kullanıldı.

### **3.3. İstatiksel Analiz**

Elde edilen bulgular IBM SPSS 22.0 for Windows paket programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygulandığında Shapiro- Wilk testi kullanıldı. Verilerin normal dağılmaması nedeniyle ikili grup karşılaştırmaları Mann Whitney U testi ile belirlendi.  $p < 0,05$  değeri önem sınırı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hematolojik İncelemeler

Hem kontrol grubu (n=10), hem deney grubundaki (n=20) *Anaplasma phagocytophilum* seropozitif hayvanlardan EDTA'lı tüplere alınan 2 ml kan örnekleri toplandıktan sonra hiç bekletmeden kan sayım cihazında analiz edilerek hematoloji sonuçları elde edildi.

Kontrol ile deney grubunun hematolojik parametreleri değerlendirildiğinde lökosit ( $p<0.05$ ), lenfosit ( $p<0.05$ ), monosit ( $p<0.05$ ), eritrosit ( $p<0.05$ ) ve trombosit ( $p<0.05$ ) değerleri arasındaki fark önemli bulunurken, granülosit, hemoglobin ve hematokrit değerleri arasındaki fark önemli bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.1.** Kontrol ve çalışma grubuna ait bazı hematolojik parametrelerin değerleri.

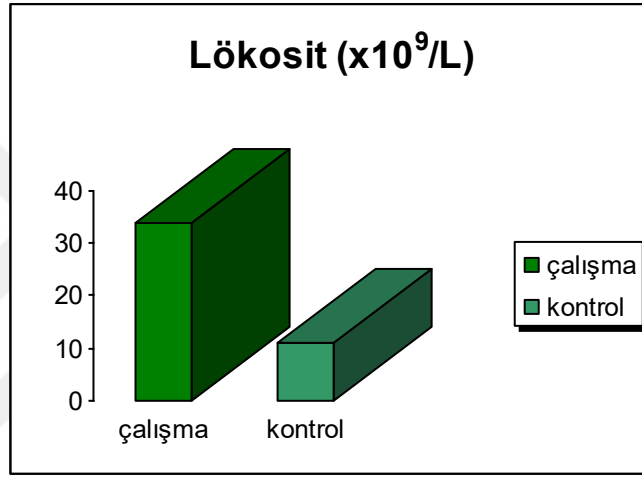
GRUP	HASTA (n=20)	KONTROL(n=10)	p
Parametre	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	
WBC ( $10^9/L$ )	34.48 $\pm$ 30.07 <sup>a</sup> 25.22 (9.60-117.50)	11.24 $\pm$ 2.43 <sup>b</sup> 10.71 (8.40-17.30)	0.000
LYMPH# ( $10^9/L$ )	14.42 $\pm$ 30.07 <sup>a</sup> 25.22 (9.60-117.50)	2.40 $\pm$ 1.62 <sup>b</sup> 2.07 (0.00-6.10)	0.000
MON# ( $10^9/L$ )	1.56 $\pm$ 1.56 <sup>a</sup> 1.00 (0.12-6.20)	0.28 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup> 0.30 (0.00-0.70)	0.000
GRAN# ( $10^9/L$ )	18.23 $\pm$ 15.50 <sup>a</sup> 16.45 (0.00-66.40)	9.73 $\pm$ 3.98 <sup>a</sup> 10.57 (0.00-14.90)	0.061
RBC ( $10^9/L$ )	4.52 $\pm$ 1.50 <sup>a</sup> 4.24 (2.36-8.33)	6.27 $\pm$ 2.39 <sup>b</sup> 6.96 (00.00-8.51)	0.003
HGB (g/dL)	5.66 $\pm$ 4.20 <sup>a</sup> 4.75 (0.00-11.70)	5.91 $\pm$ 7.66 <sup>a</sup> 0.00 (0.00-15.67)	0.645
HCT (%)	8.62 $\pm$ 12,25 <sup>b</sup> 0.00 (0.00-30.02)	18.49 $\pm$ 23,99 <sup>b</sup> 0.00 (0.00-50.87)	0.422
PLT ( $10^9/L$ )	285.00 $\pm$ 122,00 <sup>a</sup> 264.00 (90.00-657.00)	451.00 $\pm$ 127.41 <sup>a</sup> 468.50 (275.00-689.00)	0.001

Farklı harf içeren sütunlar arasında istatistiksel fark vardır ( $p<0,05$ ).

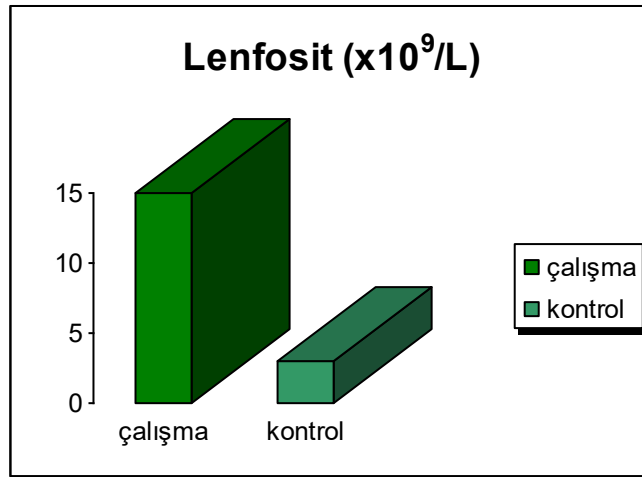


Hasta ve kontrol gruplarında WBC, LYMPH#, MON#, RBC ve PLT değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel fark ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. Yine hasta ve kontrol gruplarında GRAN#, HGB ve HCT değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır.

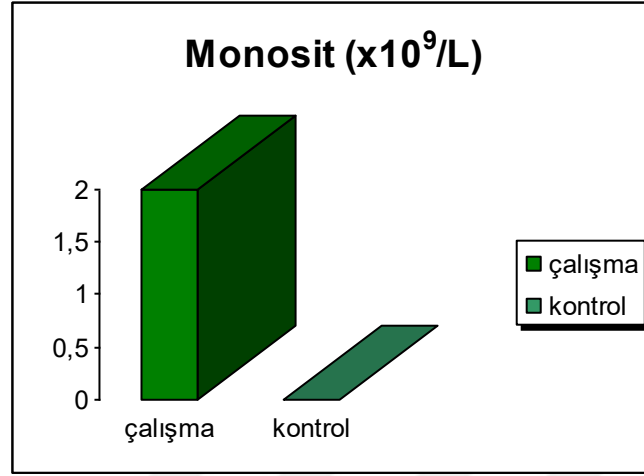
Her iki gruba ait lökosit (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MID), granülosit (GRA), eritrosit (RBC), hemogloblin (HGB), hematokrit (HCT) ve trombosit (PLT) parametrelerinin grafik değerleri şekil 4.1-4.8 arasında verilmiştir.



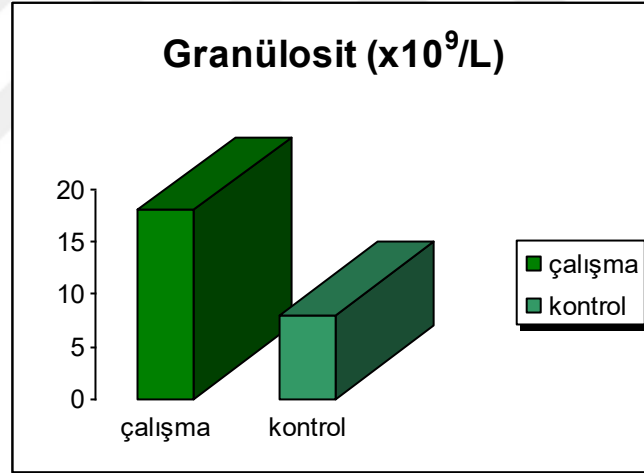
şekil 4.1. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama lökosit değerleri.



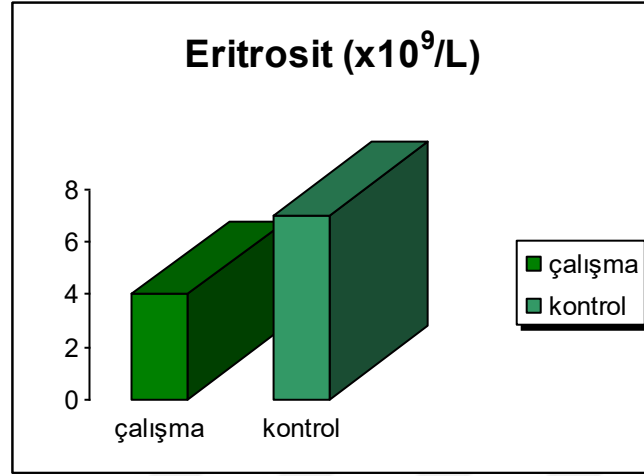
şekil 4.2. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama lenfosit değerleri.



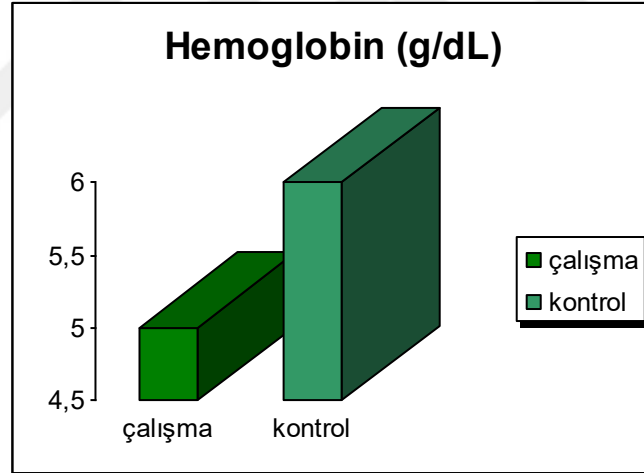
Şekil 4.3. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama monosit değerleri.



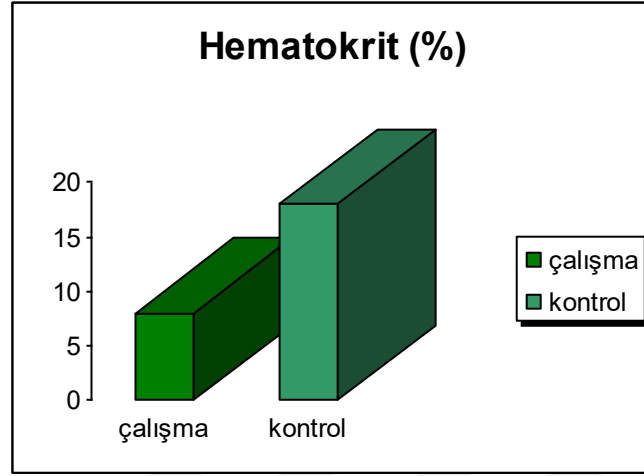
Şekil 4.4. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama granülosit değerleri.



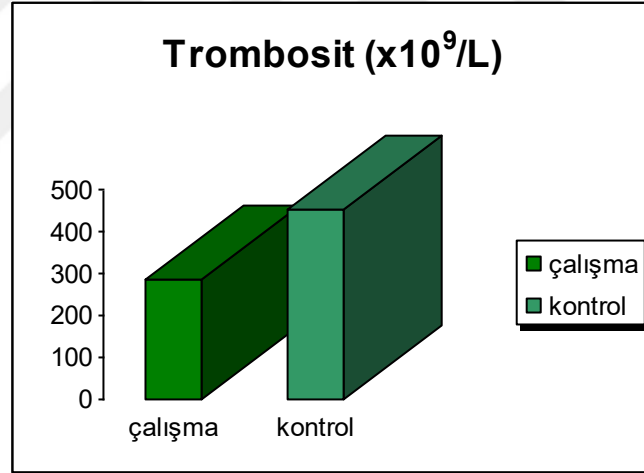
Şekil 4.5. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama eritrosit değerleri.



Şekil 4.6. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama hemoglobin değerleri.



Şekil 4.7. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama hematokrit değerleri.



Şekil 4.8. Kontrol ve çalışma grubunun ortalama trombosit değerleri.

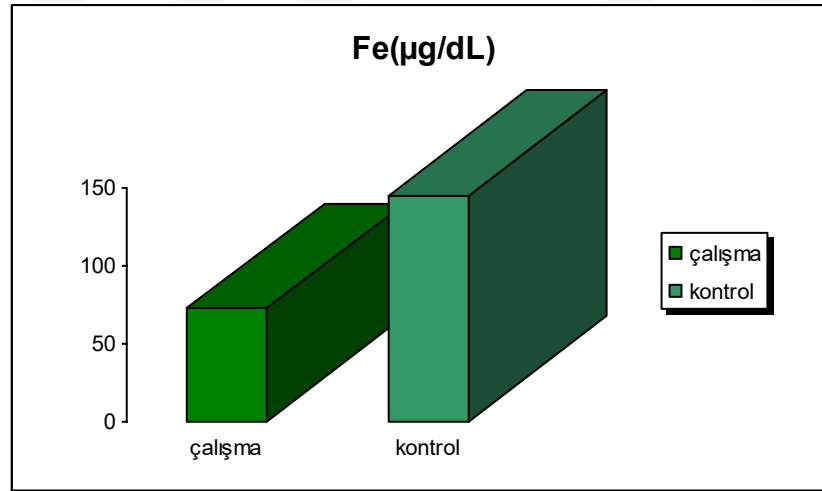
Kontrol ve deney grubunun parametreleri değerlendirildiğinde demir ( $p<0.05$ ), hepsidin ( $p<0.05$ ), ALT ( $p<0.05$ ), AST ( $p<0.05$ ), ALP ( $p<0.05$ ) değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tablo 4.2.'de demir, hepsidin, ALT, AST ve ALP değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** Çalışma ve kontrol grubuna ait demir, hepsidin, ALT, AST, ALP parametrelerinin değerleri.

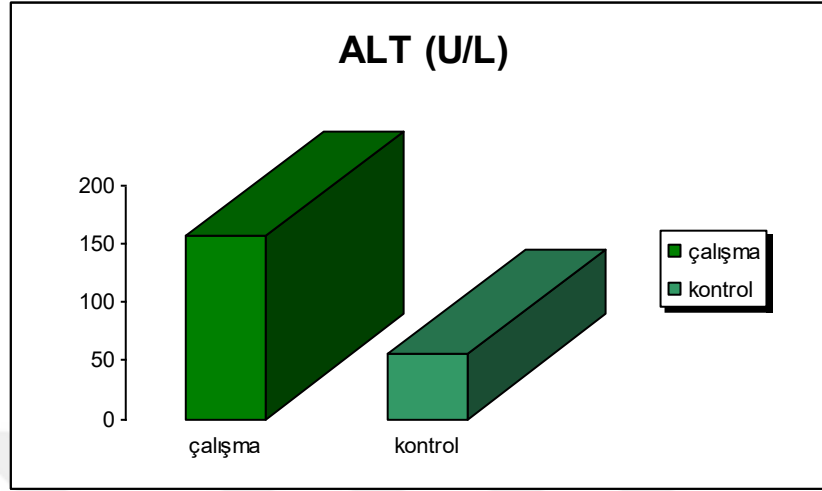
GRUP	HASTA (n=20) $\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	KONTROL(n=10) $\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	p
Fe (µg/dL)	72.50±17.02 <sup>a</sup> 74.50 (52.00-101.00)	145.70±56.51 <sup>b</sup> 130.00 (85.00-251.00)	0.000
ALT (U/L)	157.00±62.91 <sup>a</sup> 176.00 (31.00-281.00)	55.64±13.23 <sup>b</sup> 54.10 (38.00-79.10)	0.000
AST (U/L)	171.10±98.43 <sup>a</sup> 131.00 (46.50-395.20)	37.01±14.09 <sup>b</sup> 32.60 (24.60-65.00)	0.000
ALP (U/L)	423.23±243.92 <sup>a</sup> 350.00 (71.00-1015.00)	153.80±52.02 <sup>b</sup> 123.00 (112.00-270.00)	0.000
Hepsidin (ng/ml)	36.16±12.99 <sup>a</sup> 35.41 (10.28-62.14)	11.83±3.09 <sup>b</sup> 11.34 (7.84-16.71)	0.000

Farklı harf içeren sütunlar arasında istatistiksel fark vardır (p<0,05).

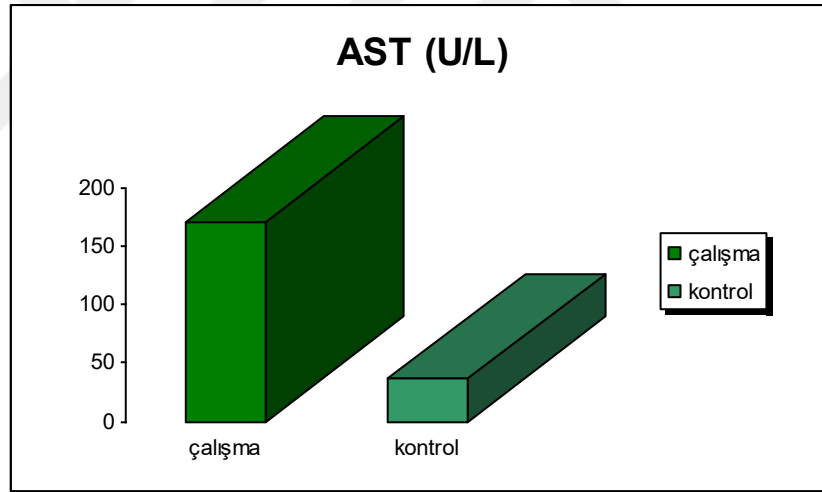
Her iki grupta ilgili demir (Fe), ALT, AST, ALP ve Hepsidin parametrelerinin grafik değerleri şekil 4.9.-4.13. arasında verilmiştir.



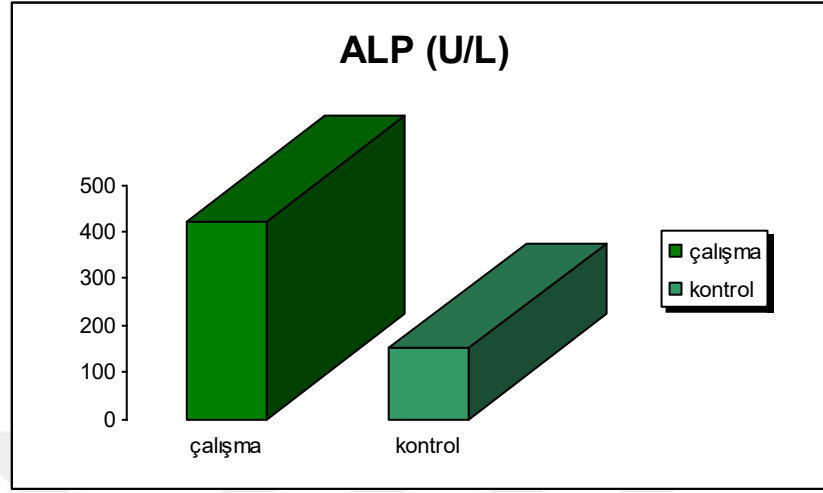
**Şekil 4.9.** Kontrol ve çalışma grubunun ortalama demir değerleri.



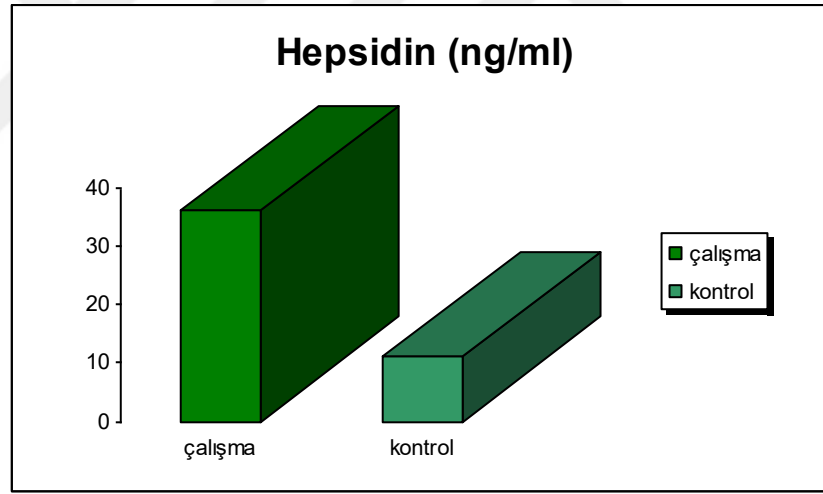
**Şekil 4.10.** Kontrol ve çalışma grubunun ortalama ALT değerleri.



**Şekil 4.11.** Kontrol ve çalışma grubunun ortalama AST değerleri.



**Şekil 4.12.** Kontrol ve çalışma grubunun ortalama ALP değerleri.



**Şekil 4.13.** Kontrol ve çalışma grubunun ortalama Hepsidin değerleri.

## 5. TARTIŞMA

Köpek granülosit anaplazmozisi (CGA), *Anaplasmataceae* familyasında bulunan zorunlu hücre içi bakteri olan *Anaplasma phagocytophilum*'un neden olduğu vektör kaynaklı bulaşıcı bir hastalıktır (Chirek ve ark., 2018). *Anaplasma phagocytophilum* için inkübasyon süresi 1-2 hafta sürmektedir bundan sonra ise kendini sınırlayan ateşli bir hastalık gelişebilmektedir (Egenvall ve ark., 1998). Klinik bulgular spesifik olmamakla beraber uyuşukluk, anoreksi, soluk mukoza, kusma, poliüri, polidipsi görülebilmektedir (Eberts ve ark., 2011). Çalışmadaki tüm hasta hayvanlarda kilo kaybı, ateş, anoreksi, poliüri, polidipsi geçmişi mevcuttur. Anaplasma hastalığının eradike edilmesi enfekte hayvanların saptanması ve hastalığın yayılmasını önlemeye dayanmaktadır. Hastalığın tespiti doğrudan kan yayma metodu ile yapılmakta olup nötrofil içinde bulunan morulalar klinik vakaların %60'ına kadar görülmektedir (Kohn ve ark., 2008). Ancak morulalar, nötrofilleri enfekte eden *Ehrlichia ewingii*'de de görülebilmektedir bu yüzden kesin tanı amaçlı başka yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. 2006'dan bu yana, ELISA SNAP 4Dx test kiti pratikte kullanılmakta olup *A. phagocytophilum*'a karşı IgM ve IgG antikorlarını tespit etmektedir (Egenvall ve ark., 2000; Shaw ve ark., 2001). Bunların haricinde köpek enfeksiyon barındırmasına rağmen seronegatif olabilmektedir. Bu özellikle inkubasyon süresinde ve akut hastalığın erken evrelerinde, bakteri yükünün düşük olduğu durumlarda yaygın olmaktadır. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada *A. phagocytophilum* ile deneysel olarak enfekte edilen köpeklerde, IgG antikorları ilk bulaşmadan 8 gün sonra ve morulaların görülmesinden 2-5 gün sonra tespit edilmektedir (Egenvall ve ark., 2000).

Çalışmanın amacı doğal olarak enfekte olmuş köpeklerde, *Anaplasma phagocytophilum* etkeninin hayvanların kan parametreleri ve hepsidin üzerindeki etkisini araştırıp, hepsidinin biyomarker olarak kullanımını sorusuna cevap bulmaktır.

Granick ve ark. (2009) yaptıkları bir çalışmada *Anaplasma phagocytophilum* seropozitif köpeklerde ilk klinik bulgular içerisinde ateş, yüksek solunum hızı, kusma, ishal gözlemlenmiştir. Hematolojik değerlendirmede trombositopeni, lökopeni, lenfopeni



ve nötropeni tespit etmiştir. Biyokimyasal analizlerinde ise yüksek serum ALT, AST değerlerini elde etmişlerdir.

Melter ve ark. (2007) yaptığı çalışmada hematolojik değerlendirmede şiddetli trombositopeni, lenfopeni gözlenmiş, hemoglobin ve hematokrit değerleri normal referans aralığı içinde bulunmuştur. Biyokimyasal analizde ise yüksek serum ALP değeri ile normal değer aralığında ALT ve AST değerleri elde edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada benzer bulgular haricinde serum biyokimya analizinde yüksek ALP, AST ve ALT değerleri elde edilmiş olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Ayrıca bu çalışmadan farklı olarak trombositopeni hafif şiddette olup normal değerler içerisinde azalma şekillenmektedir. Trombositopeni mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber endotel hücrelerde şekillenen yangıya bağlı olarak trombosit aktivasyonu ve tüketiminin artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (Bexfield ve ark., 2005).

Lester ve ark. (2005) *Anaplasma phagocytophilum* seropozitif köpeklerde yapmış oldukları çalışmada; halsizlik, yürümede zorluk, anoreksi, taşikardi, pyrexia gibi semptomlar gözlemlemişlerdir. Hematolojik bulgular arasında ise trombositopeni, lenfopeni tespit edilmiş ve diğer parametrelerin normal değerler içerisinde olduğu bildirilmiştir. Biyokimyasal bulgular içerisinde dikkat çeken parametrenin ise ALP olduğu ve normal değer aralığından yüksek bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda lenfopeni haricindeki diğer bulgular bu çalışma ile paralellik göstermekte olup farklı olarak lökositoz gözlemlenmiştir. Bulduğumuz ortalama lökosit değeri istatistik olarak önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

Başka bir çalışmada ise halsizlik, yüksek ateş, poliüri, polidipsi, merkezi sinir sistemi belirtileri gibi semptomlar görülen köpeklerde *Anaplasma phagocytophilum* yönünden değerlendirmeye alınmış ve seropozitif oldukları rapor edilmiştir. Hematolojik bulgularda belirgin olarak trombositopeni, lökositoz ve anemi gözlemlenmiş olup lökopeninin daha az rastlanan bir bulgu olduğu rapor edilmiştir. Yapılan serum

biyokimyasal analiz sonuçlarında ALT ve ALP değerlerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Jensen ve ark., 2007). Bu çalışmadaki bulgular ile yapmış olduğumuz çalışmadaki bulgular benzerlik göstermektedir. Serum biyokimya değerlendirmesinde elde edilen ALP, ALT, AST değerlerinde artış gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ). Karaciğer transaminazlarında şekillenen artışların mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Transaminaz değerlerindeki artışın *A. phagocytophilum* enfeksiyonuna bağlı olarak şekillenen immun sistemin baskılanması sonucu oluşan sekonder enfeksiyonların neden olduğu septisemi ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Melter ve ark.; 2007). Ayrıca hastalığın bir semptomu olan anemi sonucu oluşan hipoksi nedeni ile karaciğer, böbrek, kas dokusu hücrelerinde hasar meydana gelmekte ve bunun enzim değerlerinde artışa neden olabileceği bildirilmiştir (Costa ve ark., 2012).

Plier ve ark. (2009) ise yapmış oldukları çalışmada ateş, halsizlik, anoreksi, toraks oskültasyonda bronkoveziküler sesler ile birlikte aralıklı öksürük tespit etmiştir. Kan parametrelerinde şiddetli trombositopeni, normositik normokromik anemi ve lökositoz görüldüğü bildirilmiştir. Serum biyokimya analizinde orta derecede artmış ALP rapor edilmiştir. Öksürük, *Anaplasma phagocytophilum* ile hem doğal hem de deneysel olarak enfekte edilmiş köpeklerde tanımlanmış olmasına rağmen bu çalışmada pnömoni ilk defa belgelenmiştir. Akciğerden alınan örneklerde pnömoniyeye neden olan herhangi bir organizmanın bulunmaması ancak akciğerlerden elde edilen nötrofillerde etkenin morullarının tespit edilmesi, pnömoninin *A. phagocytophilum*'dan kaynaklandığını düşündürmektedir.

Chirek ve ark. (2018) kliniğe gelen hastalarda halsizlik, ateş ve benzer bulgular haricinde palpasyonda eklem ağrısı, dışkıda taze kan gözlemlenmişlerdir. Eklem ağrısı bulunan köpeklerden sinoviyal sıvı alınıp incelenmiştir. Elde edilen sinoviyal sıvının viskozitesinin düşük ve protein içeriğinin fazla olduğu bildirilmiştir. Bu sıvıda nötrofil sayısında artış gözlenmiş ve yapılan PCR sonucunda *A. phagocytophilum* pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu gözlemler sonucunda *Anaplasma phagocytophilum*'un poliartrite neden olabileceği düşünülmektedir. Hematolojik bulguların değerlendirmesinde ise en

yaygın bulgunun trombositopeni olduğunu rapor edilmiş bunun yanında anemi ve lökositozda bildirilmiştir. Biyokimyasal değerlendirmede ALT, AST ve ALP değerlerinde artış şekillendiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda bu çalışma ile benzer bulgulara rastlanılmıştır. Ancak anamnez doğrultusunda yapılan genel muayenede bacak kemiklerinin, kasların ve eklemlerin palpasyasyonunda herhangi bir ağrı bulgusuna rastlanılmadı. Spesifik bir nörolojik ve kas-iskelet sistemi muayenesi yapılmasada seropozitif hayvanlarda gözlemlenen durgunluğun nedeni; inflasmasyon sonucu oluşan homeostaz dengesindeki bozulmaya bağlı stresten kaynaklandığını düşündürmektedir.

Hepsidin, peptid yapıda bir hormondur. Antibakteriyel ve antifungal özelliklerinden dolayı, hepsidin başlangıçta karaciğerde üretilen antimikrobiyal peptid olarak tanımlanmıştır (Krause ve ark., 2000; Park ve ark., 2001). Ancak yapılan çalışmalarda tip II akut faz reaktan olduğu ve demir metabolizmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Frazer ve ark., 2002; Nicolas ve ark., 2002). Hepsidin, demirin geri dönüşümü ve demir dengesinin düzenlenmesinden sorumludur. Aşırı demir fazlalığı, hepsidin üretimini uyarır ve hormonun artışı ile demir konsantrasyonu azaltılır, böylece fazla demir yüklenmesi önlenmiş olmaktadır. Aksi durumda ise hepsidin, demir eksikliğinde baskılanmaktadır. Bu durum diyet demir emilimini ve demir depolarının yenilenmesini sağlamaktadır (Zhang ve ark., 2009). Juan ma ve ark. (2014) fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada demir eksikliği olan farelerde tedavi sonrası demir seviyeleri normale döndürülmesi ile beraber hepsidin seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. Cai ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada yeni doğan ve demir eksikliği anemisi olan bebeklerde tedavi sonrasında hepsidin düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Park ve ark. (2006) anemik fareler ile yaptıkları bir çalışmada, kemoterapi ile tedavi sonrası eritropoietik aktivite baskılanması sonucu hepsidin düzeylerinde artış olduğu görülmüştür. Park ve ark. (2001) yapmış oldukları başka bir çalışmada, anemik farelerde demir replasmanı sonrası hepsidin düzeylerinde anlamlı artış olduğunu rapor etmişlerdir. Hepsidin üretimi, aşırı demir varlığında ve iltihaplanma ile uyarılırken; anemi ve hipoksi sonucu oluşan eritropoez ihtiyacı durumlarında ise inhibe edilir (Falzacappa ve Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006;). Kali ve ark. (2015) yangı sırasında

hepsidinin IL-6 tarafından tetiklendiğini, sepsiste ve yangısal reaksiyonlarda önemli bir belirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Nemeth ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada transfüzyona bağlı demir yüklenmesi, enfeksiyonu ve inflamatuvar hastalığı olan hastalarda idrarda hepsidin atılımının belirgin olarak arttığı, in vitro IL-6 ile hepsidin mRNA'sının belirgin olarak indüklendiği gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada ise Huang ve ark. (2017), çalışmada lipopolisakkarit enjeksiyonu yaparak endotoksemi modeli oluşturulan farelerin karaciğer dokusunda hepsidin salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Spoottiswoode ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada ise deneysel olarak sıtma oluşturulan farelerde hepsidin salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Şahinduran ve ark. (2016) hepsidin değerinin parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde sağlıklı olanlara göre istatistiksel olarak ( $p<0.001$ ) önemli fark gösterdiğini ilk defa bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise ilk defa *A. phagocytophilum* seropozitif köpeklerde bazı anemi parametreleri ile hepsidin düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonucunda serum biyokimya analizinde sağlıklı köpeklerde demir değeri  $85.00\pm 251.00$  ( $\mu\text{g/dL}$ ) olarak bulunurken, *A. phagocytophilum* seropozitif köpeklerde  $52.00\pm 101.00$  ( $\mu\text{g/dL}$ ) olarak tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Hepsidin değerleri ise sağlıklı köpeklerde  $11.83\pm 3.09$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) olarak bulunurken, *A. phagocytophilum* seropozitif köpeklerde  $36.16\pm 12.99$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) olarak tespit edilmiştir. İki grup arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede aralarındaki fark önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). *Anaplasma phagocytophilum* enfeksiyonunun neden olduğu inflamasyon sırasında IL-6 başta olmak üzere çeşitli sitokinler hepsidin üretimini arttırmaktadır (Kemna ve ark., 2005; Wessling-Resnick, 2010). Artan hepsidin seviyeleri; demirin makrofaj ile hepatosit hücrelerinden salınımını ve demir emilimini azaltarak serum demir düzeyinde azalmalara neden olmaktadır (Orro ve ark., 2008). Serum demir düzeyindeki azalmalar eritropoetik hücrelerde eritropoezin azalmasına sebep olarak non-rejeneratif anemiye neden olduğu düşünülmektedir (Weinstein ve ark., 2002).

## 6. SONUÇ

*A. phagocytophilum*, *Ixodidae* ailesine ait keneler tarafından vektörlenene zoonoz karakterde dünyada yaygın olarak görülen bir patojendir. Etkenin insanlarda HGA'e neden olduğu tespit edildikten sonra önem kazanmış ve bu konuda yapılan araştırmalar artmıştır.

Türkiye'de özellikle Akdeniz bölgesinde yaygın olarak görülen *A. phagocytophilum* köpeklerde spesifik olmamakla beraber anemi, anoreksi, halsizlik, ateş gibi semptomlara neden olmaktadır. Hastalığın tespitinde ilk akla gelen doğrudan kan yayma metodu. Ancak kan yayma metodu ile nötrofil içerisinde bulunan morulaların kısa bir dönemde görülmesi tanıyı zorlaştırmaktadır. Klinikte pratikte kullanılmakta olan ELISA SNAP 4Dx test kiti ile tanı konulmaktadır. Bunların haricinde PCR tanı amaçlı kullanılabilir. Fakat laboratuvar ekipmanları gerektirmesi ve maliyetin yüksek olması nedeni ile pratikte tercih edilmemektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada *A. phagocytophilum* ile enfekte anemik köpeklerde kandaki anemi parametreleri ile demir ve hepsidin arasındaki ilişkiyi araştırdık. Çalışma sonuçlarında elde ettiğimiz veriler hepsidinin diğer parametreler eşliğinde etkili bir biyomarker olarak kullanılabilir ve tanıda yardımcı olabileceğini tespit ettik.

## KAYNAKLAR

**Adamska M, Skotarczak B (2007).** Wild game as a reservoir of *Anaplasma phagocytophilum* in north-western Poland. *Wiad. Parazytol.*, **53**, 103-107.

**Barber RM, Li Q, Diniz PP, Porter BF, Breitschwerdt EB, Claiborne MK, Birkenheuer AJ, Levine JM, Levine GJ, Chandler K, Kenny P, Nghiem P, Wei S, Greene CE, Kent M, Platt SR, Greer K, Schatzberg SJ (2010).** Evaluation of brain tissue or cerebrospinal fluid with broadly reactive polymerase chain reaction for *Ehrlichia*, *Anaplasma*, spotted fever group *Rickettsia*, *Bartonella*, and *Borrelia* species in canine neurological diseases (109 cases). *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 372-378.

**Barth C, Straubinger RK, Sauter-Louis C, Hartmann K (2012).** Prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* and their clinical relevance in dogs in Munich, Germany. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **125**, 337-344.

**Berzina I, Krudewig C, Silaghi C, Matise I, Ranka R, Müller N, Welle M (2014).** *Anaplasma phagocytophilum* DNA amplified from lesional skin of seropositive dogs. *Ticks Tick Borne Dis.*, **5**, 329-335.

**Besarab A, Hörl WH, Silverberg D (2009).** Iron metabolism, iron deficiency, thrombocytosis, and the cardiorenal anemia syndrome. *Oncologist.*, **14**, 22-33.

**Bexfield NH, Villiers EJ, Herrtage ME (2005).** Immune - mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. *J. Small Anim. Pract.*, **46**, 543-548.

**Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI (1998).** Doxycycline Hyclate Treatment of Experimental Canine Ehrlichiosis Followed by Challenge Inoculation with Two *Ehrlichia canis* Strains. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 362-368.

**Bush BM (1991).** *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians.* Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd., p: 61-66

**Cai HJ, Wang NL, Liu KK, Chu JH, Wang Y, Yang LH, Wu ZY (2016).** Clinical Significance of Hepcidin in the Diagnosis of Infant Iron Deficiency Anemia. *Zhongguo Shi. Yan. Xue. Ye. Xue. Za. Zhi.*, **24**, 546-550.

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

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

**Chervier C, Cadoré JL, Rodriguez-Piñeiro MI, Deputte BL, Chabanne L (2012).** Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. *J Small. Anim. Pract.*, **53**, 223-227.

**Chikazawa S, Hori Y, Kanai K, Ito N, Hoshi F, Orino K, Watanabe K, Higuchi S (2013).** Factors influencing measurement of serum iron concentration in dogs: diurnal variation and hyperferritinemia. *J. Vet. Med. Sci.*, **75**, 1615-1618.

**Chirek A, Silaghi C, Pfister K, Kohn B (2018).** Granulocytic anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. *J. Small. Anim. Pract.*, **59**, 112-120.

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

**Costa MM, França RT, Da Silva AS, Paim CB, Paim F, Amaral CHD, Dornelles GL, Cunha JPMCMC, Soares JF, Labruna MB, Mazzanti CMA, Silvia Gonzalez Monteiro GG, Lopes STAL, (2012).** *Rangelia vitalii*: changes in the enzymes ALT, CK and AST during the acute phase of experimental infection in dogs. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **21**, 243-248.

**De La Fuente J, Massung RF, Wong SJ, Chu FK, Lutz H, Meli M, von Loewenich FD, Grzeszczuk A, Torina A, Caracappa S, Mangold AJ, Naranjo V, Stuen S, Kocan KM (2005).** Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains. *J. Clin. Microbiol.*, **43**, 1309-1317.

**Dinarelo CA (1989).** *Interleukin-1 and its biologically related cytokines*. In *Advances in immunology*, Vol. **44**, Academic Press, pp: 153-205

**Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, Andrews NC (2005).** The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab.*, **1**, 191-200.

**Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR (2001).** 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. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **51**, 2145-2165.

**Dumler JS, Choi KS, Garcia-Garcia JC, Barat NS, Scorpio DG, Garyu JW, Grap JD, Bakken JS (2005).** Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerg. Infect. Dis.*, **11**, 1828-1834.

**Dzikaite V, Holmström P, Stål P, Eckes K, Hagen K, Eggertsen G, Gåfväls M, Melefors O, Hultcrantz R (2006).** Regulatory effects of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 on HAMP expression in iron loaded rat hepatocytes. *J. Hepatol.*, **44**, 544-551.

**Eberts MD, Vissotto de Paiva Diniz PP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB (2011).** Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **47**, e86-e94.

**Egenvall A, Bjöersdorff A, Lilliehöök L, Engvall EO, Karlstam E, Artursson K, Hedhammar A, Gunnarsson A (1998).** Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish Ehrlichia species isolate. *Vet. Rec.*, **143**, 412-417.

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

**Egenvall A, Lilliehöök I, Bjöersdorff A, Engvall EO, Karlstam E, Artursson K, Heldtander M, Gunnarsson A (2000).** Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Vet. Rec.*, **146**, 186-190.

**Falzacappa MVV, Muckenthaler MU (2005).** Heparin: iron-hormone and anti-microbial peptide. *Gene*, **364**, 37-44.

**Fernandez NJ, Kidney BA (2007).** Alkaline phosphatase: beyond the liver. *Vet. Clin. Pathol.*, **36**, 223-233.

**Foley JE, Nieto NC, Adjemian J, Dabritz H, Brown RN (2008).** *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal hosts of Ixodes ticks, western United States. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**, 1147-1150.

**Franzén P, Aspan A, Egenvall A, Gunnarsson A, Karlstam E, Pringle J (2009).** Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. *J. Vet. Intern. Med.* **23**, 636-642.

**Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM, Vulpe CD, Mckie AT, Trinder D, Anderson GJ (2002).** Heparin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology*, **123**, 835-844.

**Fry, M.M. (2011).** Nonregenerative Anemia: Recent Advances in Understanding Mechanisms of Disease. American College of Veterinary Pathologists: <http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2011/5m/Fry.pdf?LA=1>. (Erişim 07.10.2019)



**Ganz, T (2006).** *Hepcidin—a peptide hormone at the interface of innate immunity and iron metabolism.* In *Antimicrobial Peptides and Human Disease*, Berlin: Heidelberg Springer, pp: 183-198.

**Garyu JW, Choi KS, Grab DJ, Dumler JS (2005).** Defective phagocytosis in *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils. *Infect Immun.*, **73**, 1187-1190.

**Gaskill CL, Miller LM, Mattoon JS, Hoffmann WE, Burton SA, Gelens HC, Ihle SL, Miller JB, Shaw DH, Cribb AE (2005).** Liver histopathology and liver and serum alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities in epileptic dogs receiving phenobarbital. *Vet. Pathol.*, **42**, 147-160.

**Gaunt SD, Beall MJ, Stillman BA, Lorentzen L, Diniz PPVP, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB (2010).** Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasite vector.*, **3**, 33-43.

**Gieger TL, Hosgood G, Taboada J, Wolfsheimer KJ, Mueller PB.B (2000).** Thyroid function and serum hepatic enzyme activity in dogs after phenobarbital administration. *J. Vet. Intern. Med.*, **14**, 277-281.

**Goodman JL, Nelson CM, Klein MB, Hayes SF, Weston BW (1999).** Leukocyte infection by the granulocytic ehrlichiosis agent is linked to expression of a selectin ligand. *J. Clin. Invest.*, **103**, 407-412.

**Granick JL, Armstrong PJ, Bender JB (2009).** *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000–2007). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **234**, 1559-1565.

**Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ, Van Dijk E, Meloen RH (2006).** Monitoring health by values of acute phase proteins. *Acta Histochem.*, **108**, 229-232.

**Gurzau ES, Neagu C, Gurzau AE (2003).** Essential metals--case study on iron. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**, 190-200.

**Heeb HL, Wilkerson MJ, Chun R, Ganta RR (2003).** Large granular lymphocytosis, lymphocyte subset inversion, thrombocytopenia, dysproteinemia, and positive Ehrlichia serology in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **39**, 379-384.

**Horowitz HW, Aguero-Rosenfeld M, Dumler JS, McKenna DF, Hsieh TC, Wu J, Schwartz I, Wormser GP (1998).** Reinfection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Ann. Intern. Med.*, **129**, 461-463.

**Huang P, Wang J, Lin X, Yang FF, Tan JH (2017).** Effects of IL-10 on iron metabolism in LPS-induced inflammatory mice via modulating hepcidin expression. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, **21**, 3469-75.

**Hudson JR (1950).** The recognition off tick-borne fever as a disease of cattle. *Br. Vet. J.*, **106**, 3-17.

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

**Jones DRE, Gruffydd-Jones TJ (1991).** The haematological consequences of immune-mediated anaemia in the dog. *Comp. Haematol. Int.*, **1**, 83-90.

**Kali A, Charles MVP, Seetharam RSK (2015).** Hepcidin-A novel biomarker with changing trends. *Pharmacogn. Rev.*, **9**, 35.

**Karayannopoulou M, Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Roubies N, Fytianou A, Saridomichelakis MN, Kaldrymidou E (2003).** Total serum alkaline phosphatase activity in dogs with mammary neoplasms: a prospective study on 79 natural cases. *J Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, **50**, 501-505.

**Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D (2005).** Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood*, **106**, 1864-1866.

**Kirtz G, Meli M, Leidinger E, Ludwig P, Thum D, Czettel B, Kölbl S, Lutz H (2005).** Anaplasma phagocytophilum infection in a dog: identifying the causative agent using PCR. *J. Small Anim. Pract.*, **46**, 300-303.

**Kohn B, Galke D, Beelitz P, Pfister K (2008).** Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **22**, 1289-1295.

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

**Krause A, Neitz S, Mägert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe, P, Adermann K (2000).** LEAP - 1, a novel highly disulfide - bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.*, **480**, 147-150.

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

**Lai TH, Kumagai Y, Hyodo M, Hayakawa Y, Rikihisa Y (2009).** The Anaplasma phagocytophilum PleC histidine kinase and PleD diguanylate cyclase two-component system and role of cyclic Di-GMP in host cell infection. *J. Bacteriol.* **191**, 693-700.

**Lee SH, Lee JH, Jang WJ, Koh SE, Yang YM, Kim BJ, Kook YH, Park KH (2003).** Differentiation of Borrelia burgdorferi sensu lato through groEL gene analysis. *FEMS Microbiol. Lett.*, **222**, 51-57.

**Lester SJ, Breitschwerdt EB, Collis CD, Hegarty BC (2005).** Anaplasma phagocytophilum infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. *Can. Vet. J.*, **4**, 825.

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

**Ma J, Wen X, Mo F, Wang X, Shen Z, Li M (2014).** Effects of different doses and duration of iron supplementation on curing iron deficiency anemia: an experimental study. *Biol. Trace Elem. Res.*, **162**, 242-251.

**Maretzki CH, Fisher DJ, Greene CE (1994).** Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **205**, 1554-1556.

**Massung RF, Courtney JW, Hiratzka SL, Pitzer VE, Smith G, Dryden RL (2005).** Anaplasma phagocytophilum in white-tailed deer. *Emerg. Infect. Dis.*, **11**, 1604.

**Maurin M, Bakken JS, Dumler JS (2003).** Antibiotic susceptibilities of Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum strains from various geographic areas in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 413-415.

**Mazepa AW, Kidd LB, Young KM, Trepanier LA (2010).** Clinical presentation of 26 Anaplasma phagocytophilum-seropositive dogs residing in an endemic area. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **46**, 405-412.

**McClure JC, Crothers ML, Schaefer JJ, Stanley PD, Needham GR, Ewing SA, Stich RW (2010).** Efficacy of a doxycycline treatment regimen initiated during three different phases of experimental ehrlichiosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**, 5012-5020.

**McCown JL, Specht AJ (2011).** Iron homeostasis and disorders in dogs and cats: a review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **47**, 151-160.

**Melter O, Stehlik I, Kinska H, Volfova I, Ticha V, Hulinska D (2007).** Infection with Anaplasma phagocytophilum in a young dog: a case report. *Vet. Med.(Praha)*, **52**, 207-212.

**MILNE EM (1985).** The diagnostic value of alkaline phosphatase in canine medicine: a review. *J. Small. Anim. Pract.*, **26**, 267-278.

**Miyazaki M, Rosenblum JS, Kasahara Y, Nakagawa I, Patricelli MP (2009).** Determination of enzymatic source of alanine aminotransferase activity in serum from dogs with liver injury. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **60**, 307-315.

**Munderloh UG, Lynch MJ, Herron MJ, Palmer AT, Kurtti TJ, Nelson RD, Goodman JL (2004).** Infection of endothelial cells with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum*. *Vet. Microbiol.*, **101**, 53-64.

**Murata H, Shimada N, Yoshioka M (2004).** Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.*, **168**, 28-40.

**Naigamwalla DZ, Webb JA, Giger U (2012).** Iron deficiency anemia. *Can. Vet. J.*, **53(3)**, 250-256.

**Neer TM, Breitschwerdt EB, Greene RT, Lappin MR (2002).** Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *J. Vet. Intern. Med.*, **16**, 309-315.

**Nemeth E, Ganz T (2009).** The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol.*, **122**, 78-86.

**Nemeth E, Preza GC, Jung CL, Kaplan J, Waring AJ, Ganz T (2006).** The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure-function study. *Blood*, **107**, 328-333.

**Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T (2004).** IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.*, **113**, 1271-1276.

**Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S (2002).** Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 4596-4601.

**Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S (2002).** The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J. Clin. Invest.*, **110**, 1037-1044.

**Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S (2002).** Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol. Dis.*, **29**, 327-335.

**Nieto NC, Foley JE (2009).** Reservoir competence of the redwood chipmunk (*Tamias ochrogenys*) for *Anaplasma phagocytophilum*. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **9**, 573-577.

**Nukina H, Sudo N, Aiba Y, Oyama N, Koga Y, Kubo C (2001).** Restraint stress elevates the plasma interleukin-6 levels in germ-free mice. *J. Neuroimmunol.*, **115**, 46-52.

**Orro T, Jacobsen S, LePage JP, Niewold T, Alasuutari S, Soveri T (2008).** Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet. J.*, **176**, 182-187.

- Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S (2006).** Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood.*, **108**, 3730-3735.
- Paltrinieri S, Preatoni M, Rossi S (2010).** Microcytosis does not predict serum iron concentrations in anaemic dogs. *Vet. J.*, **185**, 341-343.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T (2001).** Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.*, **276**, 7806-7810.
- Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PM (2004).** Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.*, **35**, 163-187.
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loréal O (2001).** A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J. Biol. Chem.*, **276**, 7811-7819.
- Plier ML, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Kidd LB (2009).** Lack of evidence for perinatal transmission of canine granulocytic anaplasmosis from a bitch to her offspring. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **45**, 232-238.
- Popov VL, Chen SM, Feng HM, Walker OH (1995).** Ultrastructural variation of cultured Ehrlichia chaffeensis. *J. Med. Microbiol.*, **43**, 411-421.
- Popov VL, Han VC, Chen SM, Dumler JS, Feng HM, Andreadis TG, Tesh RB Walker DH (1998).** Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus Ehrlichia. *J. Med. Microbiol.*, **47**, 235-251.
- Pusterla N, Pusterla JB, Braun U, Lutz H (1999).** Experimental cross-infections with Ehrlichia phagocytophila and human granulocytic ehrlichia-like agent in cows and horses. *Vet. Rec.*, **145**, 311-314.
- Rejmanek D, Foley P, Barbet A, Foley J (2011).** Evolution of antigen variation in the tick-borne pathogen Anaplasma phagocytophilum. *Mol. Biol. Evol.*, **29**, 391-400.
- Richter Jr PJ, Kimsey RB, Madigan JE, Barlough JE, Dumler JS, Brooks DL (1996).** Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) as a vector of Ehrlichia equi (Rickettsiales: Ehrlichieae). *J. Med. Entomol.*, **33**, 1-5.
- Rikihisa Y (2003).** Mechanisms to create a safe haven by members of the family Anaplasmataceae. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **990**, 548-555.
- Rikihisa Y (2006).** New findings on members of the family Anaplasmataceae of veterinary importance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1078**, 438-445.
- Rosenfeld AJ, Dial SM (2010).** *Clinical pathology for the veterinary team.* John Wiley & Sons, p: 93-105.

**Sahinduran S, Albay MK, Karakurum MC, Ozmen O, Kale M (2016).** Investigation of some cytokines, acute phase proteins and hepcidin levels before and after treatment in dogs with parvoviral gastroenteritis. *Pak. Vet. J.*, **36**, 487-492.

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

**Schorn S, Pfister K, Reulen H, Mahling M, Silaghi C (2011).** Occurrence of Babesia spp., Rickettsia spp. and Bartonella spp. in Ixodes ricinus in Bavarian public parks, Germany. *Parasites Vectors.*, **4**, 135.

**Scorpio DG, Dumler JS, Barat NC, Cook JA, Barat CE, Stillman BA, DeBisceglie KC, Beall MJ, Chandrashekar R (2011).** Comparative strain analysis of Anaplasma phagocytophilum infection and clinical outcomes in a canine model of granulocytic anaplasmosis. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **11**, 223-229.

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

**Spottiswoode N, Armitage AE, Williams AR, Fyfe AJ, Biswas S, Hodgson SH, Llewellyn D, Choudhary P, Draper SJ, Duffy PE, Drakesmith H (2017).** Role of activins in hepcidin regulation during malaria. *Infect. Immun.*, **85**, 191-217.

**Steinberg JD, Olver CS (2005).** Hematologic and biochemical abnormalities indicating iron deficiency are associated with decreased reticulocyte hemoglobin content (CHr) and reticulocyte volume (rMCV) in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, **34**, 23-27.

**Straubinger RK, Rao TD, Davidson E, Summers BA, Jacobson RH, Frey AB (2001).** Protection against tick-transmitted Lyme disease in dogs vaccinated with a multiantigenic vaccine. *Vaccine*, **20**, 181-193.

**Stuen S, Bergström K (2001).** Persistence of Ehrlichia phagocytophila infection in two age groups of lambs. *Acta Vet. Scand.*, **42**, 453-458.

**Syed S, Michalski ES, Tangpricha V, Chesdachai S, Kumar A, Prince J, Ziegler TR, Suchdev PS, Kugathasan S (2017).** Vitamin D Status is associated with hepcidin and hemoglobin concentrations in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, **23**, 1650-1658.

**Taylor SM (2000).** Selected disorders of muscle and the neuromuscular junction. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.*, **30**, 59-75.

**Trost CN, Lindsay LR, Dibernardo A, Chilton NB (2018).** Three genetically distinct clades of Anaplasma phagocytophilum in Ixodes scapularis. *Ticks Tick Borne Dis.*, **9**, 1518-1527.

- Tsachev I (2009).** Canine granulocytic anaplasmosis. *Trakia J. Sci.*, **7**, 68-72.
- Tunç HÖ, Aktaş MS (2016).** Türkiye’de Köpeklere Kene Aracılığıyla Bulaşan Hastalıklar. *Erciyes Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, **13**, 223-230.
- Valore EV, Ganz T (2008).** Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells Mol. Dis.*, **40**, 132-138.
- Varela F, Font X, Valladares JE, Alberola J (1997).** Thrombocytopenia and light - chain proteinuria in a dog naturally infected with Ehrlichia canis. *J. Vet. Intern. Med.*, **11**, 309-311.
- Webster P, IJdo JW, Chicoine LM, Fikrig E (1998).** The agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis resides in an endosomal compartment. *J. Clin. Invest.*, **101**, 1932-1941.
- Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews NC (2002).** Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood*, **100**, 3776-3781.
- Wessling-Resnick M (2010).** Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu. Rev. Nutr.*, **30**, 105-122.
- Woldehiwet Z (2010).** The natural history of Anaplasma phagocytophilum. *Vet. Parasitol.*, **167**, 108-122.
- Zhang DL, Hughes RM, Ollivierre-Wilson H, Ghosh MC, Rouault TA (2009).** A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal and erythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metab.*, **9**, 461-473.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Menekşe Deniz  
Doğum Yeri ve Yılı : Zonguldak / 1990  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
Uyruğu : T.C.  
Telefon No : 05075934897  
Elektronik Posta : denizmen\_80@hotmail.com  
İletişim Adresi : Müftü Mah. Çetin Apatay Bulvarı  
Topçuoğlu Apt. B/ blok No:101  
Kdz.Ereğli/ ZONGULDAK



### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans:Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2011- 2016)

Yüksek Lisans:MAKÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Vetopya Veteriner Kliniği (2016- 2018)



