

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**SIĞIRLARDA ŞAP HASTALIĞINA BAĞLI KALP KASI
HASARININ TEŞHİSİNDE SERUM KARDİYAK TROPONİN-I
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Proje No: TSY-09-670

Yüksek Lisans Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Vehbi GÜNEŞ
Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Veteriner Hekim Halim AKIN
Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Temmuz 2010

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tez projesinde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e, çalışmam sırasında KardiyakTroponin-I ELİSA analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Nurhan ERTAŞ'a, pratik cTn-I kit analizlerinin ve diğer analizlerde yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi İlknur Karaca BEKDİK'e, çalışmamın materyalinin toplanmasına yardımcı olan meslektaşlarıma, Şap virüs tiplendirmesi sonucu belirlenen virüs tipini gösteren Şap Enstitüsü raporunu temin ederek bu teze çok değerli katkıları söz konusu olan Elbistan tarım İlçe Müdürlüğü Veteriner Hekimlerine, projeyi maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine, çalışmalarım sırasında manevi desteğini esirgemeyen eşime ve ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
BOŞ SAYFA	1
TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	5
KISALTMALAR	6
ÖZET	7
ABSTRACT	8
 1. GİRİŞ VE AMAÇ	 9
2. GENEL BİLGİLER	12
2.1. ŞAP HASTALIĞI (DABAK, FOOT-AND-MOUTH DİSEASE, APHTOUS FEVER).....	12
2.1.1. Tanım.....	12
2.1.2. Etiyoloji	13
2.1.3. Duyarlı Türler	13
2.1.4. Coğrafi Dağılım	14
2.1.5. Bulaşma	15
2.1.6. Klinik Belirtiler.....	17
2.1.7. Post Mortem Lezyonlar	17
2.1.8. Morbidite ve Mortalite.....	18
2.1.9. Teşhis.....	18
2.1.9.1. Klinik ve Ayırıcı Tanı	18
2.1.9.2. Laboratuvar Testleri	18
2.1.10. Kontrol ve Alınması Gereken Önlemler.....	19
 2.2. VETERİNER HEKİMLİKTE KALP KÖKENLİ TROPONİNLERİN ÖNEMİ..	 20
2.2.1. Giriş	20
2.2.2. Troponinlerin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	21

	<u>Sayfa no</u>
2.2.3. Troponin Analizlerinin Önemi	21
2.2.3.1. Kardiyak Troponin-I.....	22
2.2.3.2. Kardiyak Troponin-T.....	22
2.2.4. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Troponinlerin Diagnostik Önemi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. GEREÇ.....	26
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar	26
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	27
3.2. YÖNTEM.....	27
3.2.1. Anamnezin Alınması	27
3.2.2. Klinik Muayene	28
3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması	28
3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi	28
3.2.5. Örnek Analizleri	29
3.2.5.1. Kardiyak Testlerin Değerlendirilmesi	29
3.2.5.2. cTn-I ELİSA Analizleri	29
3.2.5.2.1. Analiz Prensipli.....	29
3.2.5.2.2. Analiz Prosedürü	29
3.2.5.3. LDH ve CK-MB Analizleri	30
3.2.7. İstatistik Analizler.....	31
4. BULGULAR	31
4.1. KLİNİK MUAYENE SONUÇLARI	31
4.2. SERUM BİYOKİMYA SONUÇLARI.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
6. KAYNAKLAR.....	53
EKLER	
EK-1. E.Ü. DEKAM Etik Kurul Raporu.....	59
EK-2. Şap Enstitüsü Tahlil Sonuç raporu	60

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 4.1. Şap hastalıklı ve sağlıklı kontrol gurubundaki hayvanların yaş, vücut ısısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı ve rumen hareket sayısı.....	32
Tablo 4.2. Sağlıklı Sığırlardan elde edilen enzim aktiviteleri	37
Tablo 4.3. Şap hastalığı bulunan sığırların enzim aktiviteleri (n=45)	38
Tablo 4.4. Kontrol grubu verilerinin üzerinde değere sahip olan şap hastalıklı sığırlarda (n=24) CK-MB ve LDH aktiviteleri	40
Tablo 4.5. Şap hastalıklı grupların yeniden düzenlenmesi ile elde edilen grupların ve kontrol grubunun ortalama verileri	41
Tablo 4.6. Kontrol grubunun CK-MB ve LDH aktiviteleri üzerinde değerlere sahip ve cTn-I pozitif belirlenen şap hastalıklı sığırların ortalama verileri ve p değerleri	46
 Şekil 2.1. 2002 itibariyle dünya üzerinde şap mihrakları	15
Şekil 3.1. ELISA cTn-I analizleri için çizdirilen standart eğri.	30
Şekil 4.1. Şap hastalıklı bir sığırdan dil altında 3-4 cm çapında veziküller.	32
Şekil 4.2. Şap hastalıklı genç bir sığırdan veziküllere bağlı ağrı ve ödem sonucu dilin içeri alınamaması.....	33
Şekil 4.3. Şaplı genç bir sığırdan mermedeki lezyonlar, mukopurulent burun akıntısı ve ağızda iplik tarzında uzayan salivasyon	33
Şekil 4.4. Şaplı bir sığırdan mermede lezyonlar ve mukopurulent burun akıntısı.....	34
Şekil 4.5. Şaplı genç bir sığırdan mermede lezyonlar ve mukopurulent burun akıntısı	34
Şekil 4.6. Şap hastalıklı genç bir sığırdan koma hali.....	35
Şekil 4.7. Şap hastalıklı genç bir sığırın tırnak arası derisinde lezyon	35
Şekil 4.8. Şap hastalıklı genç bir sığırın tırnak arası derisinde lezyon	36
Şekil 4.9. Ölen bir danada burun mukozasında şap lezyonları	36
Şekil 4.10. Şap hastalıklı iki sığra ait cTn-I sonuçları: Okuma penceresinde çift hat pozitif	43
Şekil 4.11. Sağlıklı bir sığra ait cTn-I bulgusu: Okuma penceresinde tek hat pozitif	43
Şekil 4.12. İnterventriküler septumda myokard dejenerasyonu (Beyaz Ok; kalp kasında renk değişimi olan bölgeler)	44

KISALTMALAR

A	: Allemagne
AMI	: Akut Myokard Enfarktüsü
AST	: Aspartat Amino Transferaz
CFT:	: Komplement Fikzasyon Testi
CK	: Kreatin Kinaz
CK-MB	: Kreatin MB Mass
cTn-C	: Kardiyal Troponin-C
cTn-I	: Kardiyak Troponin-I
cTn-T	: Kardiyak Troponin-T
EKG	: Elektrokardiyografi
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
MI	: Myokardial Enfarktüs
O	: Oise (1922)
RPT	: Retiküloperitonitis Travmatica
RT-PCR	: Revers Transkript Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAT 1,2,3	: South African Territorier 1,2,3
TMB	: 3', 5, 5' Tetramethyl Benzidine

SIĞIRLARDA ŞAP HASTALIĞINA BAĞLI KALP KASI HASARININ TEŞHİSİNDE SERUM KARDİYAK TROPONIN-I DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Şap hastalıklı sığırlarda immünokromatografik test kitleri ile kardiyak Troponin-I (cTn-I) varlığını, ELİSA ile serum cTn-I düzeylerini ve bu parametre ile şekillenen miyokardiyal dejenerasyonların oranını belirlemektir. Bu amaçla, ortalama yaşları $12,4 \pm 3,1$ ay olan akut şap hastalıklı 69 adet besi sığırı (Grup I) ve ortalama yaşları $10,4 \pm 2,9$ ay olan 20 adet aynı ırklardan sağlıklı sığır (Grup II) kontrol için kullanıldı. Klinik muayeneler yapıldı. Toplanan kan serumu numunelerinde; otoanalizörde Kreatin kinaz-MB (CK-MB) ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktiviteleri, ELİSA ile cTn-I düzeyleri, pratik kardiyak kitler ile Tn-I varlığı belirlendi. Ölen hayvanların nekropsileri yapıldı. Grup I'de ortalama CK-MB, LDH ve cTn-I düzeyleri; sırasıyla $795,1 \pm 587,5$ IU/L $1305,9 \pm 427$ IU/L ve $3,6 \pm 2,7$ ng/ml idi. Grup II'de ise; $306 \pm 91,8$ IU/L, $1084,7 \pm 193,5$ IU/L ve $1,1 \pm 0,1$ ng/ml idi. İki grup arasında istatistikî olarak $p < 0,05$ düzeyinde fark belirlendi. Şaplı sığırlar (Grup I; n=69) içerisinde kontrol grubunun ortalama değerlerinden daha yüksek enzim aktivitesine sahip hayvanların verileri çıkarılarak ayrı bir grup oluşturuldu (Grup Ia, n=24). Bu gruptaki ortalama cTn-I düzeyleri 5 ± 4 ng/ml idi. Kardiyak Tn-I beş sığırdan pozitif çıkarken, sağlıklı sığırlardan alınan kan numunelerinde negatif olduğu görüldü. Kardiyak Troponin pozitif olan beş sığır, örnek alınımından sonraki çeşitli günlerde öldü. Grup I'de cTn-I pozitif ve ölen sığırların oranı % 7.24 (5/69) olarak belirlendi. Bu sığırların nekropsi bulgularında, kalp kasında gri ve boz renkli lekeler tarzında lezyonlar gözlemlendi. Pratik kit sonuçları pozitif belirlenen hayvanların (n=5) tamamı Grup Ia'da idi. Bu grupta cTn-I pozitif belirlenen sığırların ortalama LDH ve cTn-I düzeyleri ($2072,4 \pm 1186,1$ IU/L ve $10,7 \pm 5,4$ ng/ml) diğer gruplardan istatistiksel olarak önemli oranda yüksekti ($p < 0,05$). Kalp kasları ile ilgili makroskopik bulgular, serum cTn-I düzeyleri ve pozitif cTn sonuçları miyokard dejenerasyonu olan vakalarla ilişkiliydi. Sonuç olarak, gerek pratik kit gerekse kantitatif cTn-I analizlerinin, sığırlarda miyokardiyal hasar oluşturan enfeksiyöz hastalıklarda hassas ve kesin bir belirleyici olabileceğine ve bu kitler ile ölüm oranlarının önceden belirlenebileceğine karar verildi.

Anahtar kelimeler:Kardiyak Troponin, Kardiyak Troponin-I, Şap Hastalığı, Kuzu

THE INVESTIGATION OF SERUM CARDIAC TROPONIN-I LEVELS FOR DIAGNOSIS OF MYOCARDIAL DEGENERATION DUE TO FOOT AND MOUTH DISEASE IN CATTLE

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the expression of cTn-I with immunochromatographic strip kits, the levels of serum cTn-I and the rate of myocardial degeneration due to Foot and Mouth Disease (FMD) with this parameters in beef cattle. For this purpose sixtyeight cattle with acute FMD (Group I), mean age $12,4 \pm 3,1$ months old and 20 clinically healthy cattle (Group II), mean age $10,4 \pm 2,9$ months old were used. Clinical examinations, Creatine kinase-MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) activities by the use of an autoanalyzer, cTn-I levels by ELISA kit and expression of cTn-I by practice rapid test were detected in both groups. Necropsy were performed in the died cattle. Mean CK-MB, LDH activities and cTn-I level were found as $795,1 \pm 587,5$ U/L $1305,9 \pm 427$ U/L and $3,6 \pm 2,7$ ng/ml respectively in cattle with FMD. Same parameters were mean $306 \pm 91,8$ İÜ/L, $1084,7 \pm 193,5$ İÜ/L and $1,1 \pm 0,1$ ng/ml in Group II, respectively. These parameters in Group I were statistically higher than those of group II ($p < 0,05$). Cardiac Tn-I tests were determined as positive in the only five cattle with FMD, but these tests were negative in blood samples collected from healthy cattle. The data of cattles with the higher enzyme activity than the average value of the Group II were removed and a separate group was formed (Group Ia, $n = 24$). Five cattle (5/69) detected as cTn-I positive died a few days after sampling (Mortality Rate: 7.24%). Mean cTn-I level was $5,6 \pm 4,5$ ng/ml in Group Ia. In necropsy findings of the 5 cattle with FMD, chalky white lesions were observed in cardiac muscles. Five animal with positive cTn-I results were were obtained from Group Ia. Additionally mean LDH activitiy and cTn-I level were determined as $2072,4 \pm 1186,1$ U/L and $10,7 \pm 5,4$ ng/ml in cTn positive cases ($n=5$) respectively. These levels were statistically higher than the other groups ($p < 0,05$). Macroscopic findings, serum cTn-I levels and positive cTn-I results were correleted in FMD cases with myocardial degeneration. In conclusion, both quantitative cTn-I analysess and qualitative cTn-I expressions may be sensitive and specific marker for the determination of mortality rate in cattle with FMD, and can be used to predict the future cardiac disorders in cattle.

Keywords:Cardiac Troponin-I, ELISA, Foot and Mouth Disease, Cattle

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Bu tez çalışmasında, kalp kökenli Troponin-I'nın memeli türleri arasındaki benzerlikleri nedeniyle, sığırların şap hastalığı nedeniyle kalp kasında şekillenebilecek dejenerasyonlarda serum cTn-I düzeylerinin belirlenmesi ve klinik pratikte uygulama kolaylığı olan cTn-I kitleri ile oluşabilecek, kalp kası hasarlarının araştırılması amaçlanmıştır. Şap hastalığında genellikle bir yaş altı sığırlarda myokard dejenerasyonlarına bağlı ani ölümler oluşabilmektedir. Kalp Troponinleri (cTn) ile şap hastalığında myokard dejenerasyonuna bağlı ölüm oranlarının da belirlenmesi bu projenin bir diğer amacıdır. Erken dönemlerde kalp kasında çok küçük düzeylerdeki dejenerasyonları belirleyebilen bu parametre ile kalp kası dejenerasyonu yönünden, risk altındaki şaplı hayvanların belirlenip bu hastalığın destekleyici tedavisi yanında kalp ve dolaşım sisteminin de desteklenmesi ile erken ve ani buzağı ölümlerinin önüne geçilmesi beklenmektedir. Bu projenin ülkemizin farklı bölgelerinde zaman zaman endemik seyreden şap hastalığında başlıca ölüm nedeni olan myokard dejenerasyonlarının, hasta hayvanlar arasındaki ve sürüdeki oranları da ortaya konularak epidemiyolojik çalışmalarla ilgili literatüre kaynak teşkil etmesi planlanmaktadır. Bu proje ile, kalp kası hasarını belirleyen cTn-I parametresinin Kreatin Kinaz MB (CK-MB) ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) gibi diğer kalp kası enzimlerine göre muhtemel üstünlükleri ve klinik önemlerinin belirlenmesi de amaçlanmaktadır.

Şap Hastalığı; Asya, Doğu Avrupa, Güney Amerika ve Afrika'daki tüm yaşlardaki çift tırnaklı hayvanlarda enzootik seyreden viral bir hastalıktır. Bir ülkeye yeni bir sujun girmesi şiddetli seyreden salgınların oluşmasına yol açar. Özellikle ülkemizde zaman zaman yaptığı salgınlar nedeniyle önemli ekonomik kayıplara neden olur (1). Hastalık ağız mukozası, tırnaklar, memeler ve kısmen rumen mukozasında vezikül ve erozyonlar oluşturur. Enfeksiyon kaynağı; hasta hayvanların salya, idrar, dışkı, süt ve diğer ekstret ve sekretleridir. Çevreye yayılan virüslü materyal kuruyarak toz halinde hava hareketleri ile yayılım gösterir. Ayrıca hayvan nakil araçları, giysiler, malzemeler, yem, su ve insanlar aracılığı ile uzak mesafelere kadar yayılır. Hastalığın yayılmasında hayvan hareketlerinin, yabani çift tırnaklı hayvanların rolü de oldukça önemlidir (1, 2). Deri, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri hastalığın yayılmasında rol oynar. Hayvanlar virüsü solunum veya sindirim yolu ile alırlar. Bir ahıra veya sürüye hastalık girdiğinde bir iki gün gibi çok kısa bir süre içerisinde bütün hayvanlar enfekte olurlar. Hastalık bölgede de çok hızlı yayılma özelliği gösterir. Ayak lezyonları klinik açıdan önem taşır. Oluşan veziküllerin patlaması ile oluşan lezyonlar kolayca bakteriyel enfeksiyonlarla enfekte olurlar. Uzun süren topallık, panarisyum ve tırnak düşmeleri nedeniyle hayvanların elden çıkarılmasına yol açar (2, 3). Hastalık kültür ırkı ile bunların ve diğer hayvanların buzağuların da perakut seyredebilir. Hastalık viremi devresinde iken ve henüz ağızda sekonder lezyonlar oluşmadan myokarditis şekillenebilir. Hayvanlar akut kalp yetmezliği ve asfeksi sonucu ölürler. Kültür ırklarında hastalığın 5.-7. günleri arasında myokarditis şekillendiği belirtilmektedir. Hastalık çıkan ahırlarda eğer çok genç buzağular varsa bunların beklenmedik biçimde asfeksi belirtileri gösterdikleri ve kısa süre içinde öldükleri de belirtilmektedir (1-3). Batmaz (1) hastalıkta morbiditenin % 100'e ulaştığını, mortalite oranlarının ise erişkinlerde % 2, buzağularda % 20'nin üzerinde olduğunu rapor etmiştir. Genellikle vaka ölüm oranlarının % 5 i geçmeyeceği belirtilmekle birlikte, genç hayvanlarda bu oranların % 90 lara kadar yüksek oranlara ulaşabileceği de bildirilmektedir (4). Görüleceği üzere şap hastalığında özellikle gençlerdeki ölüm oranlarının oldukça farklı olması bu konuda net bilgilerin olmadığına bir göstergesidir. Bunun nedenleri arasında ani ölüm olaylarının görülmesi, ölen hayvanların otopsilerinin yapılmaması sayılabilir.

Dolayısıyla bu durumda iki nokta bizlerce merak edilmektedir. Birincisi, şap hastalığına yakalanan hayvanlarda myokard dejenerasyonlarını önceden belirleyebilir miyiz? Diğeri ise şap hastalığına yakalanan hayvanların myokard dejenerasyonlarına bağlı gerçek ölüm oranlarını noninvaziv ve güvenilir testlerle ortaya koyabilir miyiz? Bu sorulardan hareketle şapın endemik olduğu sürülerden alınan örneklerde kalp Troponin-I (cTn-I) düzeylerinin

değerlendirilmesi, sonuçların pratik kitlerle uyumluluğunun araştırılması bu proje ile gerçekleştirilmiştir.

Sığırların çeşitli kalp hastalıklarında konvansiyonel biyokimyasal belirleyicilerden CK-MB, LDH ve Aspartat Amino Transferaz (AST) düzeylerindeki değişimler ortaya konulmuştur (5, 6). Bu enzim aktiviteleri özellikle tüm çizgili kas hasarlarının bir göstergesi olmakla birlikte özellikle kalp için spesifik göstergeler değildir. Özellikle CK ve LDH' ın kalp için spesifik izoenzimleri, CK-MB ve LDH₁'dir (7). Bu parametreler genellikle sadece kalp kasına özgü olmadıklarından ve kısa yarılanma zamanlarına sahip olmaları gibi dezavantajları nedeniyle değerlendirilmeleri esnasında çoğu zaman araştırmacıları yanıltabilmektedirler. Çiftlik hayvanlarında cTn'lerinin kullanıldığı çeşitli çalışmalar da yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (5, 6, 8, 9). Fakat bu çalışmalar; özellikle şap hastalığı geçirmekte olan yeterli sayıda vakanın kullanılmaması, örneklemelerin sadece şapta kalp kası dejenerasyonunun geliştiği ve koma halindeki hayvanlardan yapılması nedeniyle sınırlı bilgiler vermektedir.

Son zamanlarda en önemli kalp kası hasarlarının göstergesi olarak cTn'ler özellikle insan hekimliğinde kullanım alanına girmiştir. Hayvanlardaki cTn'lerin aminoasit dizilişlerinin, insan Troponin'leriyle yüksek düzeyde benzer yapıda olması nedeniyle; troponinlerin hayvanlarda da şekillenen miyokarditislerin teşhisinde bir belirleyici olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ŞAP HASTALIĞI (DABAK, FOOT-AND-MOUTH DISEASE, APHTOUS FEVER)

2.1.1. Tanım

Şap hastalığı başlıca evcil çiftlik hayvanları ve vahşi çift tırnaklıları etkileyen yüksek oranda bulaşıcı viral bir hastalıktır. Tarih boyunca birçok ülkede görülen şap hastalığı, genellikle ada ülkeleri dışında her yıl dünyanın çeşitli yörelerinde salgınlara yol açarak, önemli ekonomik kayıplara neden olmakta ve hastalıkla mücadele için büyük çabalar sarf edilmektedir (2). İlk olarak 16.Yüzyıl da İtalya’da tanımlanan hastalık daha sonra 19.Yüzyılda diğer bazı Avrupa ülkelerinde, Asya, Afrika ve Amerika’da gözlenmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında entansif yetiştiriciliğin gelişmesiyle, pek çok ülke hastalığı kontrol etme ihtiyacı hissederek, düzenleyici programlar oluşturmuşlardır (10). Hastalığın doğal konakçıları; sığır, koyun, keçi, domuz, manda, bizon, geyik, antilop, ayı, lama, deve, zürafa, fil ve ratlardır. Enfeksiyona atlar dirençlidir (11). Özellikle çiftlik hayvanlarında ağır seyreden bu hastalık, ağız mukozası, tırnak araları ile burun, meme ve koroner band üzerinde veziküler lezyon, erozyon ve ülserler ile

karakterizedir (1, 2, 11). Hastalığa özellikle sığır ve domuzlar daha çok duyarlıdır. Yetişkin koyun ve keçilerde hafif belirtiler bulunur. Bir Şap salgının başlaması ile birlikte çiftlik hayvanlarının tüm yaşlarında duyarlılık söz konusu iken, mortalite oranları kalp lezyonları nedeniyle gençlerde daha yüksektir. Yetişkin hayvanlar hastalığı genellikle atlatmasına rağmen hastalığın morbidite oranları duyarlı popülasyonlarda çok yüksektir. Hayvanlarda ağrı ve rahatsızlık oranları da yüksektir. Hastalıkta sekel olarak; azalmış süt verimi, kalıcı tırnak hasarı ve kronik mastitisler gelişebilir. Nadir vakalarda insanlara da hastalık bulaşma özelliği gösterebilmektedir (4, 11). Şap hastalığı tüm dünya üzerinde bulunmasına rağmen, Kuzey Amerikadan ve Kuzey Avrupa'nın pek çok bölgesinden eradike edilmiştir. Bu hastalığın endemik olduğu bölgelerde uluslar arası canlı hayvan ticaretine önemli sınırlamalar getirmektedir. Sıkı önlemler alınmadığı sürece, hastalık eradike edildiği ve şap hastalığından ari olan bölgelere yeniden kolayca girebilir. Hastalık ortaya çıktığı zaman, eğer tespit edilmesi gecikirse kolayca bir bölgeden diğerine yayılma gösterebilir. Hastalığın patlak vermesi şiddetli oranda hayvancılık üretimini ve verimini bozar. O ülkenin ticari ortaklarınca ambargo altına alınmasına neden olur. Hastalığın ülke içinde kontrol edilmesi için yüksek düzeyde kaynakların ayrılması zorunludur. Direk veya indirek ekonomik kayıplar çok önemli oranda zararlara yol açar. Özellikle 1997 den buyana tüm Asya menşeli bir virus; Asya, Afrika, Ortadoğu ve Avrupa'da bir seri salgına yol açmıştır. Tayvan ve İngiltere'deki gibi bazı ülkelerdeki salgınların yıkım gücü oldukça yüksek olmuştur (2-4).

2.1.2. Etiyoloji

Şap hastalığı virusu Picornaviridae familyasında *Aphtovirus* genusunun bir üyesidir. Yedi tane farklı immünolojik serotipi vardır. Bu serotipler; O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 ve ASYA1 dir, ve bu serotiplerin içinde 60'ın üzerinde alttipler bulunmaktadır. Yeni alt tipler de genellikle kendiliğinden gelişmektedir. Şap serotipleri ve alttipleri her bir coğrafik bölge içinde değişkenlik gösterir. O serotipi tüm dünyada en yaygın serotiptir. Bu serotip 1990 larda başlayan pan-Asya salgınından sorumlu olmuş ve dünya üzerinde pek çok ülkeyi etkilemiştir. Diğer türler de ciddi salgınlara sebep olur (12-14). Bir serotipe karşı gelişen immünite diğer bir serotipe karşı çapraz koruma sağlamaz. Diğer türlere karşı çapraz koruma antijenik benzerliklerine göre değişir. Bir alt türe karşı aşılama diğer bir türe karşı koruma sağlamaması ve immünitenin genellikle kısa süreli olması nedeniyle etkili aşılama programlarından sonuç almak oldukça güçtür. Virus yüksek veya düşük pH (nötr pH dan uzaklaştıkça), güneş ışığı ve çok yüksek ısılarda hızlıca inaktif olurken, normal, kuru çevre şartları ile merada düşük ısılarda oldukça dirençlidir (2, 3, 11). Dış ortamda haftalarca virülensini korur. Dondurulmuş

boğa spermasında (-79 °C) en az 1 ay, yapağıda 24 gün, sığır derisi ve toprakta 4 hafta, elbiselerde ve gıdalarda 10-12 hafta, lastik çizmelerde 14 hafta, samanda 15 hafta, kepekte 20 hafta, saç ve kılda 1 ay, kış aylarında sıvı hayvan dışkısında 3 ay, kuru ot ve dane yemde 5 ay canlılığını koruyabilir. Özellikle alkali dezenfektanlara karşı oldukça dayanıksızdır. Formalin (% 1-2), Sodyum hidroksit, sodyum karbonat (% 4), iyodoforlar, klorin dioksit ve asetik asit etkili dezenfektanlardır, fakat bir çok yaygın dezenfektan da etkisizdir (3, 4).

2.1.3. Duyarlı Türler

Şap virüsü çoğu Artiodactylaların (çift tırnaklı memeliler) tüm üyeleri ve yanı sıra diğer bazı bir kaç türe de bulaşma özelliği gösterebilir. Diğer hayvanlara virüsü bulaştırma yeteneğinde olduğu gibi, her türün enfeksiyona ve klinik hastalıklara duyarlılığı da değişmektedir. Şap hastalığına duyarlı hayvanlar; sığır, domuz, koyun, keçi, manda ve ren geyiğidir. Lama, alpaka ve develer deneysel olarak enfekte olabilir, ancak çok duyarlı oldukları görülmez. Şap virüsü aynı zamanda Afrika mandası, bizon, elk, geyik, dağ keçisi, zürafalar, antilop ve geyiklerin çeşitli türleri, antilop ve ceylan dahil olmak üzere vahşi hayvanların en az 70 türüne bulaşabilir. Çift tırnaklı olmayan duyarlı türler ise; kirpi, armadillo, Kanguru, kobay, sıçan ve farelerdir. Enfeksiyonlar Afrika ve Asya da hayvanat bahçeleri içindeki fillerde de bildirilmiştir, ancak Afrika fillerinin güney Afrika'da doğal koşullar altında şapa duyarlı oldukları kabul edilmemektedir. Bir çok kıtada, sığırlar şap hastalığı için genellikle en önemli konakçı türüdür (10-14). Ancak bazı virüs suşları öncelikle domuz, koyun veya keçide de bulunur. Sığır ve Afrika mandası normal konakçılardır. Afrika mandalarının şu anda sadece SAT serotipini taşıdıkları düşünülmektedir. Bu istisna ile birlikte, yabani hayvanların şap hastalığını naklettikleri mümkün görülmemektedir. Çoğunlukla şaplı evcil hayvan ile temas edilmesiyle bu hayvanlara bulaşma söz konusudur. Çok eski raporlarda, sığır ve Avrupa kirpileri arasında gerçekleşen bulaşmalar bildirilmesine rağmen, ancak daha sonraki önerilen raporlarda son 40 yıl içinde hiçbir kanıt bu türün şap hastalığının yayılmasına yardımcı olduğunu kanıtlamamıştır (4).

2.1.4. Coğrafi Dağılım

Şap hastalığı Asya, Afrika, Orta Doğu ve Güney Amerika bölgelerinde endemiktir. Afrika'nın bazı bölgelerinde vahşi Afrika mandalarında virüsün kalıcılık göstermesi enfeksiyonun eradikasyonunu olanaksız hale getirir. Kuzey Amerika, Yeni Zelanda, Avustralya, Grönland, İzlanda ve Avrupa'nın pek çok bölgesinde bu hastalık görülmemektedir. Yeni Zelanda, Grönland, İzlanda, Okyanusya ve küçük adalar hariç, sporadik salgınlar hastalıktan ari

bölgelerde de meydana gelebilmiştir (4, 10, 11). Son ABD salgını 1929 yılında meydana gelmiştir. Fakat İngilterede 1967 deki ilk salgından sonra 2001 yılında Fransa'yı da tehdit eden önemli bir salgın oluşmuştur (11). 2002 yılı itibariyle dünya üzerinde şap mihrakları şekil 2.1 de gösterilmiştir. Türkiye'de ilk istatistikî bilgiler 1914 yılında yayınlanan Tarım İstatistiklerinde verilmektedir.. Osmanlı döneminde özellikle Trakya bölgesinde olmak üzere birçok salgın görülmüştür. Bu bilgilere göre 1914 yılında Osmanlı ülkelerinde 9455 şap vakası tespit edilmiş ve hastalığa yakalanan hayvanlardan 4327'sinin öldüğü bildirilmektedir. Şap hastalığına karşı ilk aşılama 1942 yılında yapılmıştır. R.I. Enginer tarafından üretilen aşı Karacabey ve M. Kemalpaşa'da uygulanmıştır (15).

Türkiye'de ise şap hastalığının durumu aşağıda kronolojik olarak verilmiştir;

1957 yılı büyük salgın, O tipi

1962-1965, O1, SAT1 ve A22 tipi

1973-1978 ve 1983-1985, ASIA1 tipi

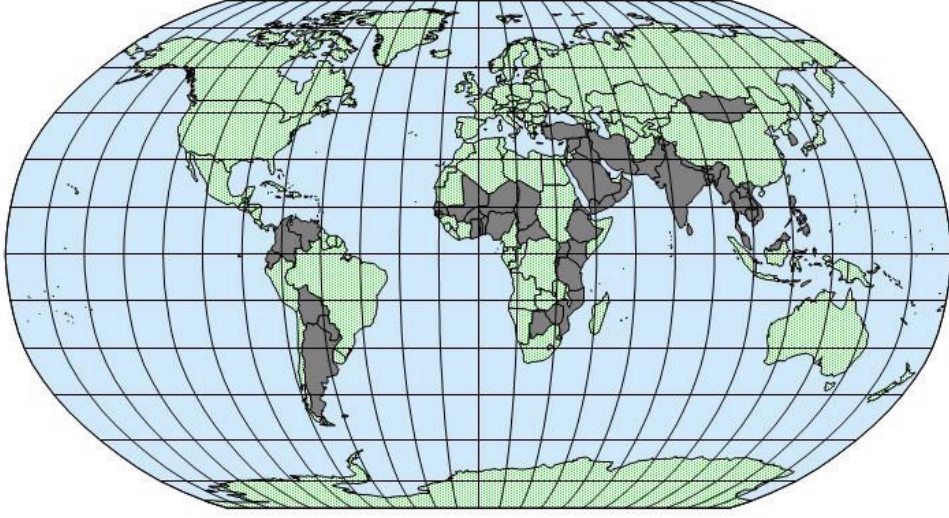
1985 den sonra O1 ve A 22 tipleri

1997 yılında İran'dan yurdumuza yeni bir A tipi girmiş ve A 22 tipine karşı dominant özellik kazanmıştır.

1999 yılında ise ASIA1 tipi

Şu anda O 1, A 22 ve ASIA1 tipi şap virusları ülkemizde şap hastalığına yol açmaktadır (16).

Şap Mihrakları 2002



Şekil 2.1. 2002 itibariyle dünya üzerinde şap mihrakları (Kaynak: Şap Enstitüsü Resmi İnternet Sitesi)

2.1.5. Bulaşma

Solunum ve sindirim yolu bulaşmada rol oynar. Akut enfekte hayvanlardan gelen; dışarı verilen hava, tükürük, süt, idrar, dışkı ve sperm dahil olmak üzere tüm sekret ve eksretlerde virus bulunabilir. Domuzlar özellikle, aerosolize edilmiş şekilde (damlacık) virüsü büyük miktarlarda üretirler. Hayvanlar başlangıç semptomları görülmeden önce dört güne kadar virusu yayabilirler. Bu virüs ayrıca vezikül sıvısında büyük miktarlarda bulunmakta ve genellikle vezikül yırtılmaları sonucunda bulaşma zirve yapmaktadır. Bulaşma enfekte hayvan ve kontamine araç gereçler ile doğrudan veya dolaylı temasla oluşabilir. Yayılma yolları damlacık enfeksiyonunun solunumla alınması, kontamine yem alımı, deri yaraları veya mukoza yoluyla virüs organizmaya girebilir. Bu yollarının önemi türlere göre değişir. Örneğin, damlacık enfeksiyonlarına karşı domuzlar daha az, sığır veya koyun daha çok hassastır. Koyunlarda daha az belirgin belirtiler olmakta ve bazı salgınlarda virusun yayılmasında önemli rol almışlardır. Cinsel yolla bulaşma Afrika mandaları için SAT türü virusun yayılmasında önemli bir yol olabilmektedir (1-4).

Bazı akut hastalıklı hayvanlar uzun süre iyileşme sonrası dahi virüs taşırlar. Daha sonra virüse maruz kalan, doğal ya da aşı ile bağışıklık indüklenen hayvanlar da taşıyıcı olabilir; bu hayvanlar asemptomatiktir. Şap virüsü sığırlarda dokuz ay, koyun ve keçilerde dört ay kadar persiste kalabilir (Virüs olmasına rağmen antikor yoktur).

Sığırlarda altı ay veya daha az, bu virüs taşıyan bazı hayvanlar 3,5 yıl persiste enfekte kalırlar. Afrika bufalolarında en az beş yıl taşıyıcılık gösterilmiş ve virüs Afrikalı bir bufalo sürüsünde en az 24 yıl persiste kalabilmiştir. Lamalar taşıyıcı olmazlar. Tek bir çalışmada domuzların taşıyıcı olduğu gösterilmesine rağmen, diğer tüm çalışmalarda, bu türün 3-4 hafta içinde enfeksiyondan temizlendiği gösterilmiştir (4). Virus sadece özofagus-faringeal sıvıda bulunur.

Şap hastalığı mekanik olarak araçların yanısıra, hayvanlar ve diğer canlı vektörler tarafından bir yerden başka bir yere nakledilebilir. Hava yoluyla iletim elverişli iklim koşulları altında oluşabilir. Amerika'da yaklaşık 30 mil veya 48 km ve yaklaşık 70 mil veya 113 km için hava yoluyla bulaşmalar bildirilmiştir (1, 4, 11). Ortamda virus üç ay veya daha az kalabilir. Çok soğuk iklimlerde, hayatta kalma altı aya kadar mümkün olabilir. Düşük sıcaklıklarda virüs daha istikrarlı kalabilmektedir. Hücre kültürü ortamında bu virüs 4 °C de (39 °F), bir yıl için geçerli kalabilir. Virüsün kepek ve samanda bir laboratuvar ortamında üç ay boyunca hayatta kaldığı bildirilmiştir. Ayrıca 4 °C'de yünde yaklaşık iki ay kalmıştır. Organik malzemelerin kuruması virüsü korur ve malzemeler üzerindeki dayanıklılığını artırır. Virusun güneş ışığından korunması direncini arttırmaktadır. Aynı zamanda pH 6.5 in altı ve 11'in üzerinde inaktive olur. Bu virüs ette pH 6 nın üzerinde olursa hayatta kalabilir. Bununla birlikte et ve diğer hayvansal ürünlerde rigor mortis sırasında kasların asitleşmesi ile inaktive olur. Uzun süre soğutulmuş veya dondurulmuş lenf düğümleri ve kemik iliğinde virus kalabilir. İnsanlarda şap virusunun bir süre için burun pasajları yapılabilir. Bir çalışmada, bu virüs ile enfekte hayvanlara maruz bırakılan sekiz kişinin birinin burun pasajında 28 saat sonra virus tespit edilmiş, fakat 48 saat sonra hiçbirinde belirlenememiştir. Son çalışmalarda insanların kişisel hijyen ve biyogüvenlik protokolleri takip ettikleri sürece virusu nakletmedikleri ve nazal taşımanın önemsiz olabileceği belirtilmektedir (2, 15, 16).

Sığırlarda inkübasyon süresi iki ile ondört gün arasındadır. Virüs dozu ve enfeksiyon yoluna bağlı olarak değişir. Domuzlarda kuluçka dönemi genellikle iki gün veya daha fazladır. Ancak 18-24 saat kadar da kısa olabilir. Koyunlarda kuluçka dönemi genellikle 3-8 gündür. 24 saat veya 12 gün olarak da deneysel enfeksiyondan sonra bildirilmiştir (2, 3).

2.1.6. Klinik Belirtiler

Şap hastalığı; başlıca ağız mukozası, ayak ve memede veziküller ve ateş ile karakterizedir. Bazen veziküller ayağın üzerinde vulva, sünnat derisi olmak üzere diğer yerlerde de oluşabilir. Veziküller genellikle kısa sürede parçalanıp, eroziv bölgeler oluşturur. Lezyonlara bağlı ağrı, rahatsızlık depresyon, iştahsızlık, aşırı salya akması, topallık ve isteksiz hareket etme gibi belirtilere yol açar. Koroner bandında lezyonları olabilir. Ciddi durumlarda tırnağın düşmesi de görülebilir. Virus plasentayı geçmemesine rağmen abortlar oluşturabilir. Çoğu yetişkin iki üç hafta içinde iyileşmesine rağmen, ikincil enfeksiyonlar daha uzun bir süre kalıcı olur. Olası komplikasyonlar; süt üretiminde geçici veya kalıcı düşüş, kronik topallık, mastit, kilo kaybı ve kondüsyon kaybını içerir (11-14). Ölümler genellikle sadece genç hayvanlarda multifokal miyokardit sonucu ortaya çıkar. Bu hayvanlarda veziküller her zaman bulunmazlar. Bazı salgınlarda genç hayvanlarda ölüm oranı yüksek olabilir. Ağır hastalık da büyük hayvanlar arasında ani ölümler nadiren de olsa bildirilmiştir (14, 17). FMD belirtileri ve hastalığın şiddeti; hayvan türü, virüs suşu ve serotipine göre değişir Sığırlarda genellikle 1-2 gün süren 40-41 °C de yüksek ateş ve lezyonlar genellikle; dil, dental kemer, diş eti, yumuşak damak, burun deliklerinde veziküllerle başlar. Veziküller sık sık bir araya gelir, birleşir, hızlıca veziküllerin yırtılması ve son derece ağrılı bir tablo ve hayvan yemeye isteksizliği oluşur. Ağızdan sicim tarzında uzayan yoğun salya ve burun akıntısı yaygındır. Dudak şapırtısı ve çiğneme güçlüğü oluşur. Burun akıntısı ilk olarak sümüksüdür, daha sonra mukopurulent olur. Gebe hayvanlarda abort olabilir. Sekonder bakteriyel pneumoniler, ayak hastalıkları yaygındır (1-4).

2.1.7. Post Mortem Lezyonlar

Karakteristik lezyonlar tekli veya çoklu sayıda içi sıvı dolu 2-10 cm çapında veziküller veya bulla formlarıdır. İlk lezyonlar küçük solgun alanlar veya veziküller halindedir. Kısa sürede yırtılan veziküllerin yerinde kırmızı alanlar veya ülserler oluşacaktır. Bu lezyonlar gri bir fibrinle kaplı olabilir. Yeni epitelin gelişimi nedeniyle demarkasyon hattı belirlenir. Sığırlarda ağız lezyonları daha sık görülürken, koyunlarda ise ayak lezyonları daha sıktır. Ayrıca lezyonlar meme başı ve memede, ayakların basınç noktalarında, rumen pilalarında, prepisium ve vulvada da bulunur. Gençlerde kalp kası dejenerasyonu ve nekrozis gri veya sarı renkli alanlara neden olur (4, 11, 16).

2.1.8. Morbidite ve Mortalite

Morbidite oranları türe, immüniteye ve diğer faktörlere göre değişir. Hastalıktan düzelmeye virüse karşı bağışıklığa yol açar, fakat diğer serotiplere karşı çok az veya hiç immünite

gelişmez. Bölgede bir kaç serotip yaygınsa hastalığın periyodik dönemleri görülebilir. Sadece bir persiste serotip popülasyonda dolaşırsa klinik semptomlar hafif seyrederek veya sadece maternal antikorlardan korunma kaybı sonucu gençlerde görülür. Taşıyıcılık oranları sığır ve koyunlarda % 15 den % 50 lere kadar değişim gösterir. Hastalığın endemik olmadığı bölgelerde morbidite % 100 lere ulaşabilir. Aynı zamanda hastalıktan arı olan bir bölgeden hastalığın endemik olduğu bir bölgeye getirilen hayvanlarda da morbidite oranları % 100 olacaktır. Bütün duyarlı türler salgınlarda etkilenmeyebilir. Yetişkin çiftlik hayvanlarında mortalite genellikle % 1 den daha az veya % 2, buzağılarda ise % 20 nin üzerindedir (2-4, 10, 11, 17) .

2.1.9. Teşhis

Özellikle bir sürüde topallık ve ağızda iplik tarzında salivasyonların görülmesi ile hastalıktan şüphelenilmelidir. Detaylı klinik muayene ve epidemiyolojik verilerle hastalık kolayca teşhis edilir. Etkenin tip tayini için laboratuvar işlemleri gereklidir. Koyunlarda yoğun salivasyon yaygın değildir, fakat ayak lezyonlarına bağlı toplallıklar daha yaygındır (1-3).

2.1.9.1. Klinik ve Ayırıcı Tanı

Veziküler stomatitis ve veziküler exantem gibi diğer veziküler hastalıklardan ayrımı kolay olmayabilir. Evcil hayvanlarda semptomlar; ayak problemleri, travmatik stomatit, kimyasal veya termal yanıklara benzeyebilir. Sığırlardaki oral lezyonlar; sığır vebası, enfeksiyöz bovine rinotrakeitis, viral diyare, koriza gangrenoza bovum, epizootik hemoraji hastalığı ile karıştırılabilir. Koyunlardaki lezyonlar ise mavi dil, ektima kontagioza, dudak ve ayak ülserleri ile karıştırılabilir (4).

2.1.9.2. Laboratuvar Testleri

Hasta hayvanlarda kan bulgusu olarak; başlangıçta lökopeni, sekonder etkenlerle komplike olursa lökositosis oluşabilir. Komplikasyon sonucu kronikleşen olaylarda anemi gözlenebilir (1)

Virüs izolasyonları, viral antijenlerin veya nükleik asitin belirlenmesi ve seroloji ile hastalığın teşhisi mümkündür. Şap hastalığı virüsü başlıca sığır troid hücrelerinde veya domuz, buzağı ve kuzu böbrek hücrelerinden izole edilebilir. Eğer gerekirse süten kesilmemiş farelerde virüsle inokule edilebilir. Hücre kültürlerinde izole edilen virüs; ELISA, komplement fiksasyon (CFT) veya revers transkript polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testleri ile tanımlanabilir. ELISA ile dokudan viral antijenler belirlenebilir. ELISA veya RT-PCR ile virus serotipleri de

belirlenebilir. Lezyonlardaki diğer virüslerden Şap virüsünü ayırt etmek için elektron mikroskopi teknikleri de kullanılır (4, 10, 11).

Hastalığın teşhis edilmesi kadar ithal edilecek hayvanlara sertifika vermek amacıyla serolojik testler de kullanılır. Aşılanmamış hayvanlarda önceki veya geçerli enfeksiyonları teşhis etmek için virus yapısal proteinlerine karşı oluşan antikorlar kullanılır. Bu testler ELISA ve virus nötralizasyon testleridir, ve serotip spesifiktir. Serolojik testler aşılı hayvanlarda, yapısal olmayan proteinlere karşı gelişen antikorları belirleyen testlerdir. Taşıyıcı olan hayvanlar da özefagal veya faringeal sıvılardan virusu izole ederek tanımlanabilirler (4, 17).

2.1.10. Kontrol ve Alınması Gereken Önlemler

Şap hastalığı ortaya çıktığı zaman sorumlulukla ve hızlıca edilmesi hayati önem taşır. Şüpheli bir veziküler hastalık durumu söz konusu olursa hükümet veteriner hekimleri derhal bilgilendirilmelidir. Hastalığın kontrolü; virus girişinin, diğer hayvanların enfekte olmasının ve enfekte hayvanlardan virusun yayılmasını önlemek suretiyle yapılır. Bütün hayvan hareketleri önlenmeli, hayvanların bir araya getirildiği yerlerde başlıca Pazar ve mezbahalar kapatılmalıdır (1, 16).

Hastalığın çok sık görüldüğü yerlerde, aşısız bir anneden doğan buzağı 4 aylık olduğunda ilk aşının ve 8 aylık olduğunda ikinci aşının ve 12. ayında üçüncü aşının yapılması tavsiye edilirken, aşılı bir anneden doğan buzağıya ilk aşının 6 aylık olduğunda ve ikinci aşının 10 aylık olduğunda yapılması tavsiye edilir. Buzağılar

kolosturumdan sağladıkları maternal antikorları taşıdıkları dönemde (ilk 5 ay) aşılamadan kaçınılmalıdır (1, 10, 18).

Hastalığın görüldüğü işletmelerde; dezenfeksiyon amacıyla, % 2 sodyum hidroksit, formalin veya % 5 lik sodyum karbonat kullanılabilir (1, 15).

2.2. VETERİNER HEKİMLİKTE KALP KÖKENLİ TROPONİNLERİN ÖNEMİ

2.2.1. Giriş

Kardiyak hastalıkların klinik değerlendirilmesi ve teşhisinde fiziksel muayeneler, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi bulguları ile bazı serum biyokimyasal parametrelerin analizleri önemli bir yer tutar. Bu parametreler arasında özellikle kalp kası hastalıklarının teşhisinde, myoglobin, CK-MB, LDH ve AST enzimlerinden sıkça faydalanılır. Bu teşhis metodları özellikle akut koroner sendromlu hastaların değerlendirilmesi ve sınıflandırılması için gereklidir. Çoğu zaman klinisyenler tarafından koroner sendromun tipik klinik belirtileri görülmeyebilir veya göz ardı edilebilir. Örneğin, miyokard enfarktüsü hastaların 1/3'ünde işemi belirtileri bulunmayabilir (19). Ayrıca akut miyokard enfarktüsü birçok hasta atipik belirtilere de sahip olabilir (20). Kalp hastalıklarında yukarıda bahsedilen teşhis metodlarının da yetersiz kaldığı bazı durumlar bulunabilir. Myokardiyal enfarktüsün (MI) değerlendirilmesinde EKG bulguları gereklidir. Buna rağmen MI'lı hastaların % 45'i EKG ile teşhis edilebilir. Ayrıca, MI nedeniyle hospitalize edilmiş hastaların yaklaşık % 60'ında ST segmentinde uzamanın görülmeyebileceği de bildirilmiştir (19). Kalp hastalıklarının teşhisinde bir takım serum biyokimyasal belirleyiciler uzun bir süredir insan hekimliğinde kullanılmaktadır. İlk olarak 1979 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından total CK aktivitesi, LDH ve AST'nin akut koroner sendromlu hastaların belirlenmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise myoglobin, CK-MB, LDH ve AST insan hekimliğinde kullanım alanına girmiştir. Akut koroner sendromlu hastaların teşhisinde özellikle myoglobin ve CK-MB rutin olarak kullanılan iki biyokimyasal belirleyicidir (21). Özellikle CK-MB düzeylerindeki tipik artış ve azalmalar, 1980'li yıllardan 1995 yılına kadar kabul edilen bir teşhis markası olarak kalmıştır. Myoglobin ilk olarak 1970'lerde akut MI teşhisi için kullanıldı. Fakat acil klinik pratikte yavaş ilerleyen analiz metodları ve kullanımındaki yetersizlikler nedeniyle çok fazla popülerite kazanamadı. Bununla birlikte son yıllarda ise myoglobin için hızlı assay teknikleri de geliştirilerek kullanıma sunulmuştur. Myoglobin sadece kalp için spesifik bir belirleyici değildir. Aynı zamanda iskelet kasları için de spesifik bir ajandır. Fakat bu belirleyicinin MI'lı hastaların teşhisinde kullanılan diğer belirleyicilerden daha erken bir duyarlılığa sahip olduğu da bildirilmiştir (7, 22).

Son yıllarda, koroner sendrom vakalarının değerlendirilmesi için serum kalp troponinleri özellikle troponin-I (cTn-I) ve troponin-T (cTn-T) kalp hastalıklarında yeni bir gösterge olarak kullanılmaya başlanmıştır. Serum kalp troponinlerinin insanlarda akut koroner hastalıkların teşhisinde en erken dönemde belirlenebilen biyokimyasal belirleyici olduğu klinik denemelerle gösterilmiştir (23-25).

2.2.2. Troponinlerin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Kalp kasının miyofibrilleri aktin ve myozin isimli iki alt üniteden oluşur. Aktin filamentini oluşturan başlıca yapılardan birisi troponin kompleksidir. Bu kompleks zayıf aktin flamenti boyunca düzenli aralıklarla yerleşmiştir. Troponinler vücutta çizgili kaslar üzerinde yer alan globüler yapıdaki proteinlerdir. Üç temel üniteden oluşurlar. Bunlar Tn-I, Tn-T ve Tn-C olarak isimlendirilirler (7, 26). Bu üç protein troponin kompleksini oluşturur. Troponin-T tropomyozine troponin kompleksini bağlayan ve tropomyozin için güçlü bir affiniteye sahip olan proteindir. Troponin-I ise aktin flamenti için güçlü bir affiniteye sahiptir ve aktomyozin ATPaz aktivitesinin bir inhibitörü olarak rol oynar, aktin ve myozin arasındaki ilişkiyi düzenler (27, 28). Troponin-C ise troponin kompleksinin kalsiyumu bağlayan bir ünitesidir (30). Kalsiyum iyonları kalp kasının kontraksiyonlarını takiben troponin kompleksine bağlandığı takdirde aktin ve tropomyozin arasında uyumlu bir değişiklik meydana gelir. Her üç troponin proteini de myofibrillerin gerilme ve gevşeme süreci içerisinde tamamlayıcı olarak yer alırlar (20, 29). Her bir troponin proteininin de yine alt üniteleri bulunmaktadır. Sığır kalp kasında bulunan Tn-T'nin TnT-1 ve TnT-2 olmak üzere iki alt ünitesi olduğu tespit edilmiştir. Leszky (30) tüm yapının amino asit dizilişini ortaya koyarak, TnT-1 izoformunun daha bol olduğunu vurgulamıştır. İzole edilen total Tn-T'nin yaklaşık % 75'ni TnT-1'in oluşturduğunu rapor edilmiştir. Çalışmaların sonucunda TnT-1 ve TnT-2 arasındaki farklılığın amino terminal bölgelerindeki farklılıktan kaynaklandığı da ortaya konulmuştur (30, 31).

Troponin kompleks proteinlerinin farklı izoformları hem Tn-T hemde Tn-I için kalp ve iskelet kaslarında bulunur. Kalp formları cTn-T ve cTn-I olarak gösterilir. Aminoasit farklılıkları özellikle kalp formlarını tanımlamaya yardımcı olan antikorların üretimine neden olur. Troponin-C kalp için spesifik bir belirleyici değildir. Çünkü Tn-C'nin aminoasit dizilişi hem iskelet ve hem de kalp kaslarında benzerdir (7, 31).

2.2.3. Troponin Analizlerinin Önemi

Kalp hücrelerinin ölümlerini belirlemek amacıyla hem cTn-T hem de cTn-I'nın faydalı bir biyokimyasal gösterge olduğu rapor edilmiştir. Akut miyokardiyal sendrom ve nekrozis sonucunda cTn-T ve cTn-I dolaşıma salınmaktadır (20, 28, 32).

2.2.3.1. Kardiyak Troponin-I

Miyokardiyal dejenerasyonların belirlenmesinde cTn-I'nın önemli bir serolojik ve yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğu bulunmuştur (8, 33). Tek bir aminoasit zincirine sahip kalp için spesifiktir. Troponin-I aynı zamanda infarktüslerin ileri dönemleri veya kardiyak hücre ölümleri için de prognostik bir göstergedir. Bilhassa kardiyak işeminin, kardiyak kontüzyon ve düzensiz angina pectorisin spesifik bir belirleyicisidir (33, 34). Çok küçük kardiyak hasarların belirlenmesinde üst düzeyde duyarlı bir gösterge olduğu bulunmuştur. Troponin I'nın sensitivitesi CK-MB'ninkine eşit veya daha yüksektir. Kalp kökenli Tn-I'nın serumda belirlenme zamanı da CK-MB'ninkine eşittir. Fakat serumda Tn-I düzeyi akut MI'nın başlamasını takiben hızlıca yükselir (5-7 saat) ve yaklaşık 12. saatte serum düzeyleri en üst noktaya ulaşarak, CK-MB'ye göre belirgin şekilde daha yüksek oranda yüksek kalır. Troponin-I birkaç gün sonra ikinci bir pik de yapar. İlk pik sentezlendiği yer olan miyokardiyal sitozolden serbest troponinlerin salınımı nedeniyle şekillenirken ikinci pik dejenere olmuş miyofibrillere bağlı troponin'lerin serbest bırakılması ile oluşur. Troponin-I akut MI'dan sonraki 8. güne kadar yükselmiş olarak kalır. Daha sonraki infarktüslerin veya kardiyak ölümlerin bir göstergesi olabileceği rapor edilmiştir (20). Christenson ve ark. (23) MI'lı hastaların teşhisi için ACCESS adı verilen yeni bir cTn-I analiz metodu geliştirmişlerdir. Bu metodun sensitivitesi %88.9 ve spesifitesi %91.8 olarak bulunmuştur. Troponin-I düzeyleri miyokardiyal dejenerasyonların büyüklüğü ve şiddeti ile doğrudan ilişkilidir. Buna ilaveten anormal Tn-I düzeyleri akut MI'lı 32 hastanın tamamında göğüs ağrısının başlangıcını takiben 12 saat içerisinde yüksek bulunmuştur (23).

2.2.3.2. Kardiyak Troponin-T

Miyokardiyal hasarlar süresince dolaşıma salınan diğer bir kalp yapısı proteini de cTn-T'dir. Troponin-T faydalı bir kardiyak gösterge olmasına rağmen insanlarda akut MI için CK-MB'den daha duyarlı değildir. Tn-T'nin spesifitesi aynı olaylarda da sınırlıdır. Çünkü bu protein kalp kası kadar iskelet kası hastalıklarında da dolaşıma salınır. Ayrıca nefritli hastaların serumlarında da Tn-T'nin yükseldiği bildirilmiştir (35). Bu bilgiler ışığında CK-MB ile karşılaştırıldığında cTn-T'nin diagnostik bir avantaja sahip olmadığı görülmektedir. Fakat faydalı bir prognostik göstergedir (19). Bertsch ve ark (36) orciprenaline sulphat vererek ratlarda indükledikleri miyokardiyal hasarın oluşmasından 2 saat sonra hızlı bir cTn-T'yi serumda belirlemişlerdir (36). Hastalardaki Tn-T düzeyindeki yükselmeler akut MI'lı hastalar için yüksek oranda risk taşır (37). Kliniğe oldukça geç getirilen akut MI'lı hastaların teşhisi için cTn-T ile birlikte CK-MB'nin belirlenmesinin de çok daha faydalı olabileceği belirtilmektedir (38).

2.2.4. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Troponinlerin Diagnostik Önemi

Miyokardiyal hasarlı hastaların değerlendirilmesi için kardiyak göstergelerin yalnız başına veya birlikte belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu göstergeler insan ve hayvanlardaki kardiyak hücre ölümünün veya nekrozun en önemli belirleyicileridir. Özellikle kardiyak nekrozun delilleri arasında son yıllarda cTn-I ve cTn-T analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir (39).

Kardiyak hasarlı hayvanların teşhisi için kan testleri henüz yeterince tatminkar değildir. Hayvanlarda troponin kompleks proteinlerinin belirlenmesine rağmen, onların klinik kullanımları hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Hayvanlardaki çalışmalar özellikle insanlardaki miyokardiyal enfarktüslerin belirlenmesi için laboratuvar hayvanları kullanılarak dizayn edilmiştir (23, 39-44). O'Brien ve ark (45) insan cTn-I'ni belirlemek amacıyla yeni bir immunoassay metoduyla çeşitli türlerdeki cTn-I'nın doku reaktivitelerini karşılaştırmışlardır (43-45). Onların verileri, tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmalarının mükemmel bir aday biyogöstergesi olduğunu göstermiştir. Kardiyak Tn-I'nın immunoassay reaktivitesi miyokardium için iskelet kasındakinden daha yüksektir. Ayrıca hayvanlar arasında kardiyak reaktivite belirli oranda farklılık göstermektedir. Büyük memeli hayvanların küçük memeli hayvanlardan 1.7 kat, kuşlardan 10 kat ve balıklardan 100 kat daha büyük bir reaktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık, iskelet kaslarındaki reaktivite de ise memeli hayvanlar ve kuşlar arasında bir fark bulunmamıştır. Büyük memeli hayvanlarda kalp kasının reaktivitesi küçük memelilerdekinden 2 kat, kuşlardakinden ise 8 kat büyük olduğu bulunmuştur (44). Köpeklerde plazma cTn-I düzeyleri 0.03 ng/ml ile 0.07 ng/ml arasında (ortalama 0.02 ng/ml) olarak belirlenmiştir. Kedilerde ise 0.03 ng/ml ile 0.16 ng/ml arasında (ortalama 0.04 ng/ml) bir düzeyde olduğu bildirilmiştir (42-46). Hayvanlarda miyokardial hücre hasarını güvenilir bir şekilde belirleyecek yeterli biyokimyasal analizler yoktur. Fakat insanlarda kalp hastalıklarının araştırılmasında hayvan modelleri önemlidir. Aynı zamanda bu testlerin sensitivitesi ve spesifitesi de belirlenmemiştir. Buna rağmen laboratuvar hayvanlarında miyokardiyal hasarın indüklendiği bir kaç deneysel çalışma vardır (31, 32, 41, 47, 48). Fredericks ve ark (41) köpek, maymun, domuz ve ratlardan topladıkları kalp ve iskelet kaslarında kardiyak troponinleri ve CK izoenzimlerini analiz etmişlerdir. Bu çalışma da iskelet kaslarındaki cTn-T ve cTn-I içeriği tüm hayvan türleri için kalp kasındakinden %0.6 düşük bulunmuştur. Aynı şekilde tüm hayvan türleri için iskelet kasındaki CK içeriği kalp kasındakinden daha yüksek bulunmuştur ve onlar çeşitli laboratuvar hayvanlarındaki cTn-T ve

cTn-I'nın, miyokardiyal hasarın spesifik belirleyicisi olduğuna karar vermişlerdir (41). Diğer bir çalışmada O'Brien ve ark (31) cTn-T immunoassayının farklı türlerdeki kardiyak reaktivitesini analiz etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu cTn-T immunoassayının diagnostik kullanımı serum CK ile eş zamanlı yapılması gerekliliğini göstermiştir (48). Çapraz reaksiyon ve iskelet kasının kalpten daha büyük olan kısmi kütlesi nedeniyle kardiyak hasarlarda belirlenen cTn-T iskelet kasının belirgin yaralanmalarında da hatalı pozitif sonuçlara yol açabilir (31). Koyunlarda deneysel oluşturulan reperfüzyonlu ve reperfüzyonsuz miyokardiyal infarktüslerin kreatin kinaz ve Tn-T düzeylerinde belirgin artışlara neden olduğu da bulunmuştur (37).

Memeli hayvanların miyokardiumu cTn-I immunoassay için yüksek oranda reaktiviteye sahiptir ve bu reaktivite miyokardium için yüksek oranda seçicidir.

İskelet kasındakinden 1000 kat daha yüksektir. Aminoasit dizilişi açısından insan ve hayvanlardaki troponin proteinleri arasında yapısal benzerlikler vardır. Ayrıca hayvanlar arasında da aminoasit dizilişleri benzerdir. Sığır, tavşan ve tavuk cTn-T aminoasit dizilişleri karşılaştırıldığında amino-terminal 13 aminoasit kısmına (tavukların kalp geninin exon 2 ve 3) yakın bir benzerliği olduğu bulunmuştur ve C-terminal 230 kısmına (exon 9-18) büyük oranda benzerdir (47, 49). Bir çalışma da insanlarda kardiyak hasarların teşhisi için geliştirilen cTn-I immunoassay tekniği farklı hayvan türleri arasında test edilmiştir. Bu testle çeşitli türlerdeki kalp ve iskelet kaslarının farklı reaktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmanın verileri; insanlardaki cTn-I ile sığır kalp kasındaki cTn-I % 96.4, fare ve rat kalbindeki ile % 92.8, tavşan kalbindeki ile %91.4, tavuk kalbindeki ile %71.5 oranında benzer dizilişe sahip olduğunu göstermiştir. Sağlıklı kontrol köpekleriyle karşılaştırıldığında kalp yetmezlikli köpeklerde kardiyak reaktivitede % 32'lik bir azalma olduğu belirtilmiştir ve tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmanın mükemmel bir göstergesi olarak cTn-I bildirilmiştir (9, 50, 51).

Sonuçta, gerek cTn-T gerekse cTn-I analizleri, miyokardiyal hasarlı hayvanlar için duyarlı ve spesifik bir belirleyici olabilir. Ayrıca şekillenecek kalp kası hastalıklarının başlangıçtan itibaren tahmin edilmesinde kullanılabilir. Evcil hayvanlarda çok çeşitli nedenlerle kalp kasında dejenerasyonlar meydana gelmektedir. Bu nedenlerin başında kardiyotoksik ilaçlar (doxorubicin, isoprenalin), retiküloperitonitis travmatika (RPT), bakteriyel (pastörella, stafilokok, streptokok) ve viral enfeksiyonlar (şap hastalığı), mineral ve vitamin eksiklikleri (kuzuların beyaz kas hastalığı) sayılabilir (8, 11, 52). Güvenilir metodlarla miyokart

bozukluklarının belirlenmesi önemlidir. Sığırlarda RPT olaylarının önemli bir kısmında perikarditis komplikasyonu ile karşılaşmaktadır (8). Bu durum miyokarditislere de yol açmaktadır. Sığırların RPT gibi mekanik etkilerle oluşan kalp kası dejenerasyonlarında olduğu gibi, Şap hastalığı gibi viral-enfeksiyöz kökenli myokarditislerin teşhis ve prognozunda cTn-I etkili bir parametre olabilir. Erken dönemlerde pratik testlerle troponin düzeylerinin belirlenmesi hayvanların daha fazla verim kaybına uğratılmadan kesime sevk edilmesi ekonomik yönden oldukça önemlidir. İnsanlarda MI teşhisinde troponinlerin; CK-MB, myoglobin, LDH ve AST'ye göre önemli avantajları bulunduğu için, myokardiyal hastalıklı hayvanların belirlenmesinde de bu parametreden faydalanılabilir. Ruminantlarda cTn-T ve cTn-I'nın spesifitesi ve sensitivitesi henüz belirlenmemiştir. Bu nedenle ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır. Veteriner hekimlikte troponinlerin diagnostik ve prognostik avantajlarının belirlenmesi de gereklidir. Ayrıca kalp kası hasarlarında uygulanacak tedavilerin etkinlik oranlarının belirlenmesinde de kullanılabilecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar

Bir saha araştırması olan bu projede; Elbistan/Kahramanmaraş yöresinde şap hastalığı görülen dört farklı işletmeden ve aynı bölgelerdeki şap hastalığına yakalanmamış ve şap geçirmemiş, yaklaşık aynı yaşlardaki sağlıklı sığırlardan toplanan kan örneklerinden elde edilen serumlarda pratik kardiyak Troponin-I kitleri ile kalp kökenli troponinler belirlendi. Aynı serum örneklerinde cTn-I ELISA kitleri ile aynı parametrenin serum konsantrasyonları da ölçüldü.

Araştırmanın çalışma grubunu (Grup I) 2008 yılı Aralık ve 2009 yılı Ocak aylarında Elbistan bölgesinde çıkan bir salgında, klinik olarak şap hastalığı olduğu klinik olarak teşhis edilen bir yaş altı (n=39) ve bir yaş üzeri (n=30) toplam 69 adet şap hastalıklı montefon, simental, holştayn ırklarında sığırlar oluşturdu.

Kontrol grubunu (Grup II) ise; yine aynı yöredeki aynı ırk ve yetiştirme şartları altındaki, aynı yaş gruplarındaki, bir yaş altı ve bir yaş üzeri, 10'ar adet toplam 20 adet daha önce ve halen

şap enfeksiyonu söz konusu olmayan sağlıklı montofon, simental, holştayn ırklarında sığırlar oluşturdu.

Anamnez ve klinik muayenelere göre belirlenen şap hastalığının, kesin tanısı ve virüs tipi tayini için gliserin bufferlı tüplere steril bistüri uçları ile kesilip konulan ağızdaki aftlardan alınan sıyrıntılar ve salya örneklerinde virüsün izolasyonu ve serotipinin belirlenmesi amacıyla, Şap Enstitüsüne (Ankara/Türkiye), Elbistan Tarım İlçe Müdürlüğü kanalıyla gönderilerek kesin tanı sağlandı.

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

İmmunoassay cTn-I Pratik Kardi Kit (In vitro Nano-Check AMI cTnI Cardiac marker Test; Nano-Ditech Corp., USA): Sağlıklı ve şap hastalıklı sığırlardan toplanan antikoagulantsız kan örneklerinden elde edilen serumlarda kalp kasına özgü Tn-I varlığını belirlemek amacıyla kullanılan immünokromatografik kit.

Troponin I ELİSA 96 testlik Plate (Calbiotech, USA): Sağlıklı ve şap hastalıklı sığırlardan toplanan antikoagulantsız kan örneklerinden elde edilen serumlarda kalp kasına özgü cTn-I konsantrasyonlarını ng/ml düzeyinde belirlemek amacıyla kullanılan ELİSA kiti.

ELISA okuyucusu (Multiscan Spectrum Thermo, Finlandiya): cTn-I konsantrasyonlarını hasta ve sağlıklı sığırların serumlarında ng/ml düzeyinde belirlemek için kullanılan cihaz.

Olympus AU 2700 marka Otoanalizör ve Kitleri: Çalışma gruplarından elde edilen serumlarda CK-MB, LDH analizlerinin yapıldığı otoanalizör ve orijinal ticari kitleri.

CK-MB ve LDH kitleri (Olympus otoanalizöre ait): Serum örneklerinde söz konusu enzim aktivitelerini belirlemek için kullanılan ve reaktifleri içeren kitler.

100 ve 1000 µl'lik Otomatik Pipetler: Troponin ELİSA kitindeki analizlerde kullanıldı.

Ependorf Tüpü (1,5 ml): Serum ve heparinli kan örneklerinin analiz işlemlerine kadar saklandıkları tüpler.

Holder ve Uygun İğne: Sığırların vena jugularisinden kan almak amacıyla kullanılan iğne takımları.

Plazma İçin Vakumlu Heparinli Tüp (10 ml): Heparin içeren kan alma tüpleri

Serum Tüpü Cam Vakumlu Antikoagulantsız (10 ml): Antikoagulant içermeyen kan alma tüpleri

Santrifüj (10 mlx20 Tüplük): Antikoagulantsız kan örneklerinde serum çıkarılması için kullanılan santrifüj.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Anamnezin Alınması

Hayvan sahiplerinin yaptığı hastalık ihbarı üzerine şap salgının çıktığı ahırlardaki hastalığın anamnez bilgileri alındı. Anamnez bilgilerinde, hayvanların yaşı, ırkı, barınma koşulları, yeme içme davranışları, hayvanların yakın bir zamanda nakledilip edilmedikleri, sürüye yakın bir tarihte katılımların olup olmadığı belirlendi.

3.2.2. Klinik Muayene

Klinik muayene amacıyla sürünün genel görünümü,

Hayvanlarda vücudun tutuluşu,

Kıl örtüsünün muayenesi

Lenf yumrularının muayenesi

Mukozaların muayenesi (ağız, konjunktiva, vajina)

Vücut ısısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı, rumen hareketleri sayısı ve kalp oskültasyon bulguları belirlendi.

Tüm bulgular bir protokole kaydedildi. Tüm sistemlerin detaylı muayeneleri yapıldı. Hayvanlar bulundukları ortamda belirgin klinik bulguları fotoğraflandı.

3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması

Hayvanların vena jugularisinden serum CK-MB, LDH, ve cTn-I analizleri için vakumlu antikoagulantsız cam tüplere holder ve uygun iğne yardımı ile 9 ml kan örnekleri alındı.

Anamnez ve klinik muayenelere göre belirlenen şap hastalığının, kesin tanısı ve virüs tipi tayini için gliserin bufferlı tüplere steril bistüri uçları ile kesilip konulan ağızdaki aftlardan alınan sıyrıntılar ve salya örnekleri Ankara'da bulunan Şap Enstitüsüne Elbistan Tarım İlçe Müdürlüğü kanalıyla gönderilerek kesin tanı sağlandı. Hayvanların serum örneklerinde Kreatin Kinaz-MB ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktiviteleri Erciyes Üniversitesi Merkez laboratuvarında uygun ticari kitler ile Olympus AU 2700 (New York, USA) marka otoanalizörde belirlendi. Hayvanlara ilaç, serum ve aşı gibi herhangi bir uygulama yapılmadan numuneler toplanarak, hayvanların kulak numaraları yazıldı.

3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi

Vakumlu antikoagülsiz tüplere alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Daha sonra örnekler enzim analizleri yapılana kadar -20 °C’ de derin dondurucuda saklandı.

3.2.5. Örnek Analizleri

3.2.5.1. Kardiyak Testlerin Değerlendirilmesi

Kalp kökenli Troponin-I’nın kan serumlarında varlığını belirlemek amacıyla; ticari, pratik, hasta başı İmmunoassay cTn-I Pratik Kardi Kit (In vitro Nano-Check AMI cTnI Cardiac marker Test; Nano-Ditech Corp., USA) test kitlerinden yararlanıldı. Serumlar elde edildikten hemen sonra yaklaşık 30 dakika içerisinde pratik kitlerin örnek kuyucuğuna 80 µl her bir örnekten konuldu. Sonuçlar kitlerin okuma penceresinde 15 dakika içerisinde çift renkli hattın görülmesi ile kalp kası hasarı yönünden pozitif olarak değerlendirildi. Okuma penceresinde tek renkli hat, negatif olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar kitlerin fotoğraflanmasından sonra kaydedildi. Yukarıdaki aynı işlemler çalışmanın kontrol grubunu oluşturan sağlıklı hayvanlar için de yapıldı. Şap belirlenen sürülerdeki ölüm oranları; ölen hayvanların yaş, cinsiyet, ırk gibi bilgileri, troponin düzeyleri ile birlikte kaydedilip değerlendirildi.

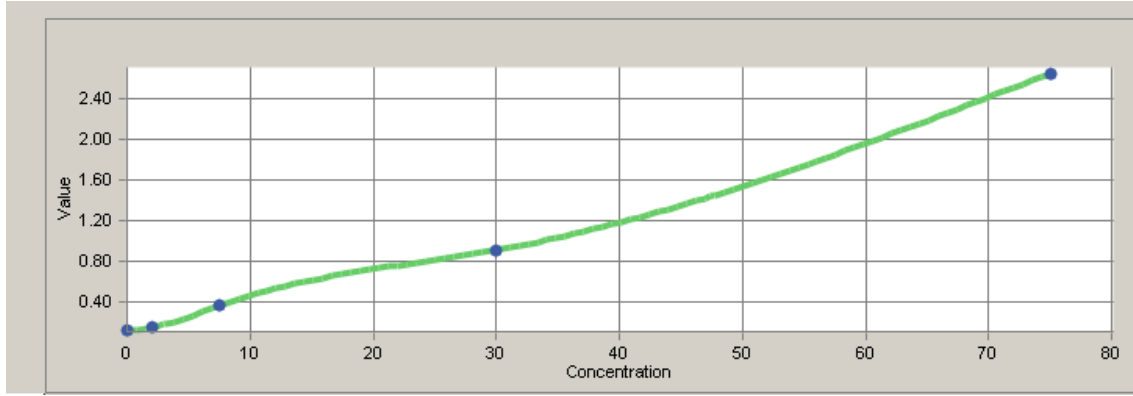
3.2.5.2. cTn-I ELİSA Analizleri

3.2.5.2.1. Analiz Prensipi

Bu analiz yöntemi, molekül üzerinde farklı antijenik belirleyicilere karşı yönlendirilen dört farklı monoklonal antikorları kullanmaktadır. Üç adet fare monoklonal anti-troponin I antikorları solid faz immobilizasyonu için kullanılır. Dördüncü antikor ise antikor-enzim konjugat solusyonundaki antikordur. Test örnekleri bu dört antikorla birlikte reaksiyona maruz bırakılır. Solid faz (Plate üzerindeki kuyucuklar) üzerindeki antikorlar ve enzim bağlı antikorlar arasında Troponin I molekülleri sandviç modeli halini alır. İnkübasyon ve yıkamaları takiben stop solusyonları ilavesi ile uygun dalga boyundaki Optik dansitelerin okunması ile sonuçlanır.

3.2.5.2.2. Analiz Prosedürü

Kitin prosedüründe belirtildiği üzere, özel tutucuya tüm kuyucuklar yerleştirildi. Bir ml distile su ile liyofilize standartlar sulandırıldı. Yavaşça 20 dakika karıştırıldı. Yıkama tamponu bulunan şişe 475 ml distile suya ilave edildi. Standartlar ve örnekler 100 µl olacak şekilde belirlenen kuyucuklara dağıtıldı. Her bir kuyucuğa enzim 100 µl enzim konjuge ayıracağı konuldu. 30 sn süresince tamamen karışması sağlandı. Oda ısısında 90 dakika inkübasyona bırakıldı. Plate çöpe hafifçe vurularak bu karışımın boşalması sağlandı. 300 µl 1x yıkama solusyonu ile 3 kez yıkandı ve kurutma kâğıdı ile kurutuldu. Her bir kuyucuğa 100 µl TMB ayıracağı konuldu ve nazikçe 5 saniye karıştırıldı. Oda ısısında 20 dakika tabi tutuldu. 100 µl stop solusyonu her bir kuyucuğa eklenerek 30 saniye hafifçe karıştırıldı ve oluşan mavi renklerin sarıya dönüşümü gözlemlendi. Onbeş dakika içerisinde ELİSA okuyucusunda 450 nm okuma yapıldı. Standart eğrisi çizdirildi (Şekil 3.1) ve sonuçlar ng/ml düzeyinde belirlendi.



Şekil 3.1. ELISA cTn-I analizleri için çizdirilen standart eğri.

3.2.5.3. LDH ve CK-MB Analizleri

Konvansiyonel biyokimya analizlerinden daha çok kalp kasına özgü enzimlerden LDH ve CK-MB aktiviteleri şaplı hastalıklı ve sağlıklı sığırlardan toplanan serum örneklerinde belirlendi. Bu amaçla Erciyes Üniversitesi Merkez Biyokimya laboratuvarında bulunan Olympus AU 2700 marka Otoanalizör ile örnekler analiz edildi.

3.2.6. İstatistik Analizler

Elde edilen tüm veriler SPSS 16.0 programında bilgisayara yüklenerek gruplar arasındaki verilerin istatistiksel analizleri yapıldı. Verilerin öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadıkları Kolmogrov-Simironov testi ile belirlendi. Veriler normal dağılmadığı için

Friedman testi uygulandı ve verilerin istatistiksel önemi “Tukey testi” aracılığıyla tespit edildi. Veriler tablolarda ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK MUAYENE SONUÇLARI

Şap salgını geçirmekte olan Grup I'deki hayvanlarda başlıca ağız mukozası (Şekil 4.1) ve ayaklarda veziküller ile yüksek ateş karakteristik bulguları. Hayvanlarda belirgin durgunluk, ağrı, rahatsızlık depresyon, iştahsızlık bazısında ağızda iplik tarzında uzayan salya (Şekil 4.3), dudak şapırtısı ve çiğneme güçlüğü (Şekil 4.2) belirlendi. Bir çoğunda ise ayağı ürkekçe yere basma, hareketsizlik ve topallık belirlendi. Tipik veziküllere ağızın yanısıra tırnak arası bölgede de rastlandı (Şekil 4.4). Veziküller parçalanması ile eroziv bölgeler ve mukoza kayıpları oluştu. Koroner bandda lezyonlar belirlendi. Süt veren iki inekte ise süt üretiminde geçici bir düşüş, kilo kaybı ve kondüsyon kaybı belirlendi. Hayvanlarda önceleri seröz burun akıntısı belirlenirken, zamanla akıntının mukopurulent olduğu görüldü (Şekil 4.5). Bu hayvanlarda hırıltı solunum, taşipne belirlendi. Beş adet sığırdada ölümler şekillendi (Şekil 4.6). Şap hastalıklı sığırların ortalama yaşı $12,44 \pm 3,08$ ay, sağlıklı sığırların yaşı $10,36 \pm 2,87$ ay olarak

kaydedildi. Yaşlar arasında istatistiki farklılık belirlenmedi. Şap Enstitüsüne gönderilen örneklerde A Tipi şap virüsünün söz konusu hayvanlarda şap hastalığına neden olduğu Elbistan Tarım İlçe Md. Tarafından rapor edildi (Rapor Tarih-No:22/12/2008-3613). Grup II de bulunan hayvanların klinik muayenelerinde tamamen sağlıklı oldukları belirlendi.

Grup I de ortalama vücut ısısı, kalp atım sayısı ve solunum sayıları, sağlıklı sığırlardan istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek bulunurken, rumen hareketlerinin sayısı sağlıklılardan önemli oranda düşük belirlendi. Bu veriler tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Şap hastalıklı ve sağlıklı kontrol gurubundaki hayvanların yaş, vücut ısısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı ve rumen hareket sayısı

Parametreler	Grup I	Grup II	P değeri
Yaş (Ay)	12,4±3,1	10,4±2,9	0,212
Vücut Isısı (⁰ C)	39,3±0,5	38.1±0.2	0,02
Kalp Atım Sayısı (adet/dk11)	94,5±8,6	60,3±5,2	0,006
Solunum Sayısı adet/dk	35,3±5,4	24,8±4,1	0,03
Rumen Hareketleri adet / 5'	3,7±0,5	8,6±1,5	0,003



Şekil 4.1. Şap hastalıklı bir sığırdan dil altında 3-4 cm çapında veziküller.



Şekil 4.2.Şap hastalıklı genç bir sığırdan veziküllere bağlı ağrı ve ödem sonucu dilin içeri alınamaması.



Şekil 4.3.Şaplı genç bir sığırdan mermedeki lezyonlar, mukoprulent burun akıntısı ve ağızda iplik tarzında uzayan salivasyon.



Şekil 4.4. Şaplı bir sığırdan mermede lezyonlar ve mukoprulent burun akıntısı.



Şekil 4.5. Şaplı genç bir sığırdan mermede lezyonlar ve mukoprulent burun akıntısı.



Şekil 4.6. Şap hastalıklı genç bir sığırda koma hali.



Şekil 4.7. Şap hastalıklı genç bir sığırın tırnak arası derisinde lezyon.



Şekil 4.8.Şap hastalıklı genç bir sığırın tırnak arası derisinde lezyon



Şekil 4.9.Ölen bir danada burun mukozasında şap lezyonları

4.2. SERUM BİYOKİMYA SONUÇLARI

Projeye dahil edilen şap hastalıklı ve sağlıklı sığırların ortalama serum CK-MB ve LDH bulguları aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Tablo 4.1’ de Kontrol grubu, Tablo 4.2’ de şap hastalıklı, Tablo 4.3’ de ise enzim düzeylerinden biri veya her ikisinin kontrol grubunun üst sınır değerlerinden yüksek olan hayvanlara ait bulgular verilmiştir. Kalp kası hasarının en önemli iki göstergesi olan CK-MB ve LDH aktiviteleri şap hastalıklı sığırlarda sırasıyla ortalama $795,1 \pm 587,5$ IU/L ve $1305,9 \pm 427$ IU/L ve sağlıklı sığırlarda ortalama $306 \pm 91,8$ IU/L ve $1084,7 \pm 193,5$ IU/L olarak bulundu. İki grup arasında istatistikî olarak $p < 0,05$ düzeyinde fark belirlendi. Ancak grup I’deki ortalama ve bireysel veriler incelendiğinde her iki parametre için standart sapma değerinin yüksek olduğu ve bireysel verilerin geniş bir aralıkta (CK-MB için 89-3691 IU/L, LDH için 492-3556 IU/L) seyrettiği belirlendi.

Tablo 4.2. Sağlıklı Sığırlardan elde edilen enzim aktiviteleri

Hayvan No	Parametreler	
	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)

1	285	899
2	187	961
3	409	792
4	216	947
5	155	1079
6	300	1094
7	327	1349
8	320	1238
9	454	1204
10	357	1126
11	350	1082
12	261	1179
13	356	1246
14	188	994

Tablo 4.2. Sağlıklı Sığırlardan elde edilen enzim aktiviteleri (**devamı**)

Hayvan No	Parametreler	
	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)
15	495	1595
16	281	904
17	281	1130
18	211	1153
19	336	912
20	365	811
X±SS	306±91,8	1084,7±193,5

Tablo 4.3. Şap hastalığı bulunan sığırların enzim aktiviteleri (n=45)

Hayvan No	Parametreler
-----------	--------------

	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)
1	202	1031
2	252	1025
3	192	1175
4	152	902
5	303	1135
6	355	1318
7	148	917
8	89	1244
9	471	1406
10	373	1257
11	109	1018
12	165	1069
13	89	707
14	182	921
15	155	1019
16	347	1133
17	374	1076

Tablo 4.3. Şap hastalığı bulunan sığırların enzim aktiviteleri (n=45) (devamı)

Hayvan No	Parametreler	
	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)
18	173	1164
19	138	916
20	211	838
21	128	1115
22	366	1256
23	218	1098
24	332	1455
25	298	1195
26	505	1079

27	330	1151
28	331	1304
29	222	1067
30	249	1008
31	118	962
32	192	993
33	156	1006
34	365	1336
35	134	908
36	134	1123
37	189	844
38	324	1155
39	152	832
40	182	492
41	280	1080
42	262	675
43	184	1185
44	145	903
45	179	875
X±SS	232,3±102,1	1052,6±191,8

Şaplı sığırlar (Grup I; n=69) içerisinde kontrol grubunun ortalama değerlerinden daha yüksek enzim aktivitesine sahip hayvanların verileri çıkarılarak ayrı bir grup oluşturuldu (Grup Ia, n=24). Bu gruptaki cTn-I düzeylerinin de yüksek olduğu görüldü. Aynı zamanda pratik kit sonuçları pozitif belirlenen hayvanların (n=5) tamamı bu grup içerisinde idi. Grup Ia'nın geri kalanı ise (n=19) cTn-I negatif idi (Tablo 4.3). Grup I in değerleri yüksek olan hayvanlar çıkarıldıktan sonra elde edilen grupta (Grup Ib) ise hayvan sayısı 45 olarak kaldı. Tüm şaplı sığırlardaki cTn-I pozitif ve ölen sığırların oranı % 7,24 (5/69), enzim düzeyleri yüksek sığırlardaki cTn-I pozitif olanların oranı ise % 20,8 (5/24) olarak belirlenmiştir. Yeni oluşturulan gruplara göre istatistik analizler uygulandı. Buna göre yeni oluşan grupların ortalama verileri Tablo 4.4 de verilmiştir.

Tablo 4.4. Kontrol grubunun üzerinde değere sahip olan şap hastalıklı sığırlarda (n=24) CK-MB, LDH aktiviteleri, cTn-I düzeyleri ve pratik cTn-I sonuçları

No	Parametreler			
	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)	cTn-I (ng/ml)	Pratik Kit Sonucu
1	374	1947	6,00	I
2	660	952	2,40	I
3	729	1075	3,60	I
4	3644	1658	6,20	II
5	332	1455	3,60	I
6	981	2266	3,50	I
7	3691	1800	2,80	I
8	1421	1151	3,70	I
9	380	1310	4,30	I
10	2295	1503	3,50	I
11	199	1724	3,78	I
12	3175	1862	3,40	I
13	1066	1165	2,65	I
14	2856	1421	2,30	I
15	2015	3055	5,60	II
16	1162	1300	1,80	I
17	396	1350	17,25	II

Tablo 4.4. Kontrol grubu verilerinin üzerinde değere sahip olan şap hastalıklı sığırlarda (n=24) CK-MB ve LDH aktiviteleri (**devamı**)

No	Parametreler			
	CK-MB (IU/L)	LDH (IU/L)	cTn-I (ng/ml)	Pratik Kit Sonucu
18	1053	1930	5,30	I
19	851	956	2,50	I

20	666	743	9,24	II
21	952	1120	4,40	I
22	902	1202	3,60	I
23	2228	3556	15,80	II
24	564	919	3,60	I
X±SS	1358±1073,6	1559,1±662,3	5,03±3,9	5 (+) ve 19 (-)

I: pratik cTn-I kit negatif, II: pratik cTn-I kit pozitif

Tablo 4.5. Şap hastalıklı grupların yeniden düzenlenmesi ile elde edilen grupların ve kontrol grubunun ortalama verileri.

Parametreler	Gruplar		
	Grup Ia (n = 24) (X±SS)	Grup Ib (n= 45) (X±SS)	Grup II (n=20) (X±SS)
CK-MB (IU/L)	1358±1073,6 ^B	232.3±102,1 ^A	306±91,8 ^A
LDH (IU/L)	1559.1±66,3 ^B	1052.6±191,7 ^A	1084.7±193,5 ^A
cTroponin (ng/ml)	5.03±3,9 ^B	1.56±0,85 ^A	1,11±0,15 ^A

^{A, B}: Aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Grup Ia'nın verileri incelendiğinde bu grupta da özellikle cTn-I konsantrasyonlarının geniş bir aralıkta olduğu görüldü. Aynı zamanda 5 adet sığıra ait pratik kit sonuçlarının da pozitif olduğu görüldü. Bu nedenle aynı grup içinde cTn-I pozitif olanlar ile olmayanların verileri de karşılaştırıldı. Buna göre elde edilen bulgular Tablo 4.5 de verilmiştir. Kardiyak Tn-I pozitif belirlenen sığırların ortalama CK-MB değerleri cTn-I negatif olanlardan sayısal olarak yüksek olmasına rağmen, istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Bununla birlikte ortalama LDH ve cTn-I düzeyleri istatistiksel olarak önemli oranda yüksekti (Tablo 4.5.)

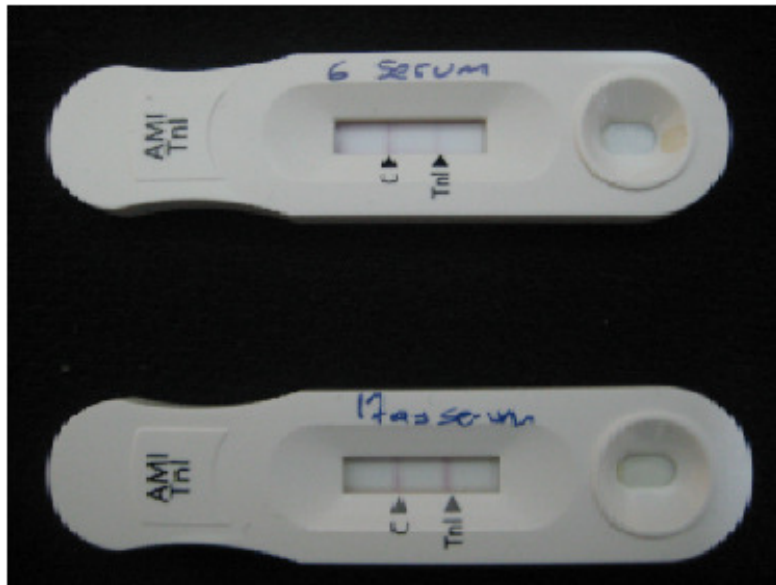
Tablo 4.6. Kontrol grubunun CK-MB ve LDH aktiviteleri üzerinde değerlere sahip ve cTn-I pozitif belirlenen şap hastalıklı sığırların ortalama verileri ve p değerleri

Parametreler	Gruplar
--------------	---------

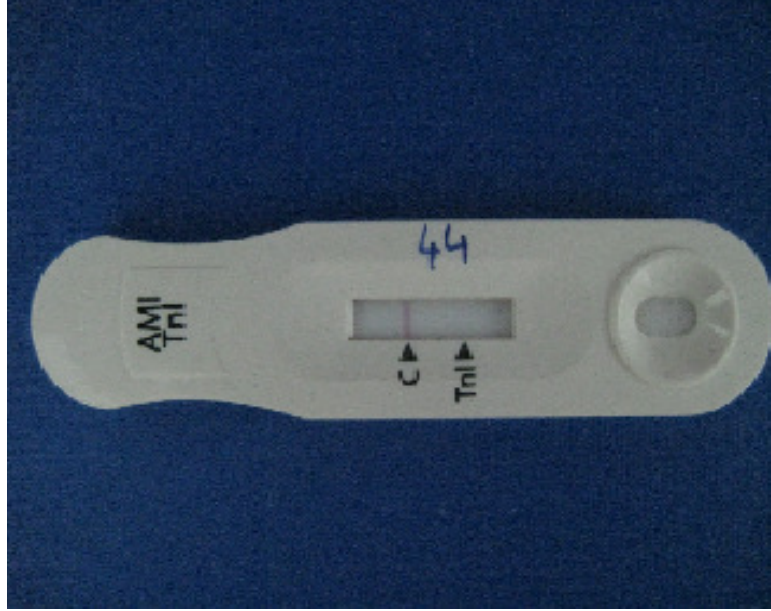
	Grup Ia, cTn-I (-) (n=19) (X±SS)	Grup Ia, cTn-I (+) (n=5) (X±SS)	P değerleri
CK-MB (IU/L)	1244,3±1012,3	1789,8±1312,1	0,323
LDH (IU/L)	1424,1±394,3	2072,4±1186,1	0,049
cTroponin I (ng/ml)	3,8±2,8	10,7±5,4	0,003

Grup I de 5 adet sığırdan pratik kitler ile cTn-I'nin pozitif olduğu belirlendi (Şekil 4.10.). Bu sığırların ortalama enzim aktiviteleri ve cTn-I konsantrasyonlarının Şap hastalığı geçirmekte olan fakat cTn-I negatif (Şekil 4.11) belirlenen hayvanlardan ve diğer gruplardan yüksek olduğu bulundu. Bununla birlikte cTn-I pozitif olan hayvanların, cTn-I negatif belirlenen hasta grubundan sadece cTn-I konsantrasyonlarının istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek olduğu bulunurken ($p<0,01$), diğer verilerin istatistiki önemi olmadığı belirlendi (Tablo 4.4.). Grup II deki hayvanların pratik kit bulgularında okuma penceresinde tek bandın görülmesi ile tüm hayvanlar negatif değerlendirildi (Şekil 4.11.).

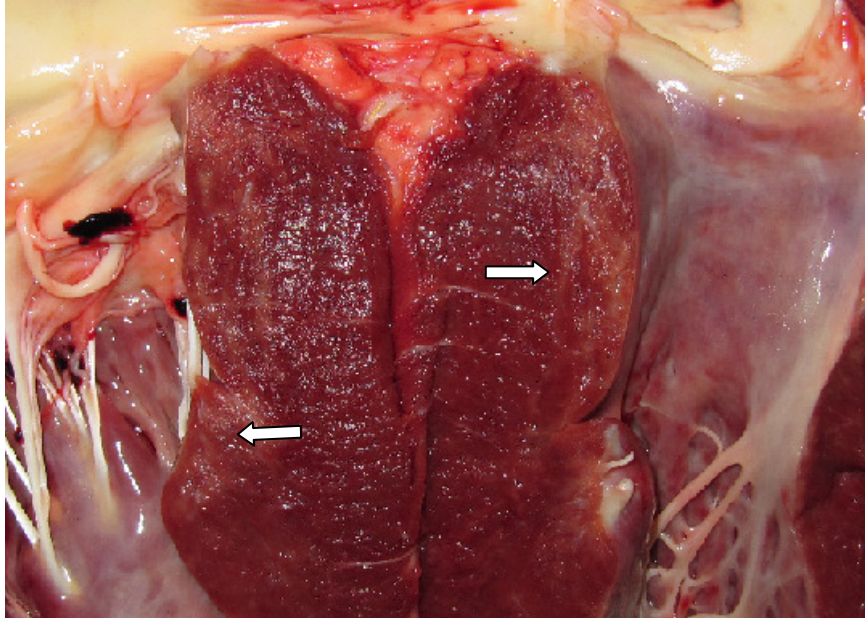
Grup I de cTn-I pozitif belirlenen bu hayvanlar diğer hayvanlara uygulanan tedavilerin yapılmasına rağmen daha sonraki günlerde öldüğü belirlendi. Bu hayvanların yapılan nekropsilerinde kalp kasında çeşitli derecelerde dejenerasyona bağlı myokardoz tablosu gözlemlendi (Şekil 4.12).



Şekil 4.10. Şap hastalıklı iki sığıra ait cTn-I sonuçları: Okuma penceresinde çift hat pozitif.



Şekil 4.11. Sağlıklı bir sığıra ait cTn-I bulgusu: Okuma penceresinde tek hat negatif



Şekil 4.12. İnterventriküler septumda myokard dejenerasyonu (Beyaz Ok; kalp kasında renk değişimi olan bölgeler)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu proje ile amaçlanan, kalp kökenli Troponin-I'nın memeli türleri arasındaki benzerlikleri nedeniyle, sığırların şap hastalığında kalp kasında şekillenebilecek dejenerasyonlarda serum cTn-I düzeylerinin belirlenmesi ve klinik pratikte uygulama kolaylığı olan cTn-I kitleri ile

oluşabilecek, kalp kası hasarları araştırıldı. Erken dönemlerde kalp kasında çok küçük düzeylerdeki dejenerasyonları belirleyebilen bu kitler ile kalp kası dejenerasyonu yönünden, risk altındaki şaplı hayvanların belirlendi. Ayrıca ülkemizde zaman zaman endemik olan şap hastalığında ölüm nedeni olan myokard dejenerasyonlarının, bu çalışma ile hasta hayvanlar arasındaki ve sürüdeki oranları da ortaya konuldu. Bu projenin diğer bir amacı da, kalp kası hasarını belirleyen cTn-I parametresinin CK-MB ve LDH gibi diğer kalp kası enzimlerine göre üstünlükleri ve klinik önemleri ortaya konularak bu proje ile hedeflenen temel amaçlara ulaşılmıştır.

Şap hastalığı geçirmekte olan sığırlarda, kaynaklarda bildirilen tipik klinik belirtiler gözlemlenmiştir (10-14). Bununla birlikte dişilerde meme lezyonları, erkeklerde prepişium mukozasına ait lezyonlar görülmemiştir. Bu durumun örneklemelerin ve gözlemlerin yapıldığı dönemin hastalığın erken dönemlerine rastlamasıyla ve bu tür lezyonların henüz gelişmemesi ile açıklanabilir. Elde edilen klinik muayene bulguları, vücut ısısı artışı, taşikardi, taşipne ve ruminal hipomatilite bulguları önceki bildirilerle uyumludur (1, 2, 11).

Miyokardial hasarlı hastaların değerlendirilmesi için kardiyak göstergelerin yalnız başına veya birlikte belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu göstergeler insan ve hayvanlardaki kardiyak hücre ölümünün veya nekrozisin en önemli belirleyicileridir.

Kardiyak hastalıkların klinik değerlendirilmesi ve teşhisinde fiziksel muayeneler, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi bulguları ile bazı serum biyokimyasal parametrelerin analizleri önemli bir yer tutar. Bu parametreler arasında özellikle kalp kası hastalıklarının teşhisinde, myogloblin, kreatin kinaz-MB (CK-MB), laktat dehidrogenaz (LDH) ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitelerindeki değişimlerden sıkça faydalanılır (19). Bu projede kalp kası hasarının klasik ve konvansiyonel enzimatik göstergeleri olarak CK-MB ve LDH aktiviteleri analiz edilmiştir.

Laktat dehidrogenaz, tüm vücut dokularında bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Glikoliz sonunda oluşan pirüvatın anaerobik ortamda laktata dönüşümünü katalizler (7). Aktivitesi, akut kalp kası enfarktüsünden (AMI) sonra 24-48 saatte yükselmeye başlar, 3-6 günde pik yapar ve 8-14 günde normale döner. Kendisi veya izoenzimleri, CK aktiviteleri normale dönmüş hastalarda önemlidir. Hemoliz, megaloblastik anemi, lösemi, karaciğer hastalığı, hepatik konjesyon, renal hastalık, neoplazm, pulmoner embolizm gibi durumlarda da total LDH aktivitesi yüksek bulunur. Genellikle toplam LDH düzeyindeki 3-4 kat yükselmeler kalp

kası hasarı ile ilişkilendirilir. Laktat dehidrogenaz düzeyi hemolizi belirlemek açısından da önemlidir. Karaciğer tahribatında da LDH aktivitesinde yükselmeler görülür, fakat bu yükselme aminotransferazlar kadar büyük değildir. Toksik hepatitte üst sınırın on katı kadar yükselebilir. LDH/AST oranı hemoliz veya diseritropoez kaynaklı prehepatik sarılığı hepatik sarılıktan ayırt etmede kullanılabilir. Kronik glomerülo nefrit, diyabetik nefroskleroz ve mesane ile böbrek malignitelerinde idrar LDH aktivitesinde üç ile altı kat artış görülür. Malign hastalıklarda da serum LDH aktivitesi artar (7, 53).

Bu çalışmanın kontrol grubundan elde edilen CK-MB ve LDH aktiviteleri önceki bazı çalışmalarda sığırlar için rapor edilen düzeylerle uyumlu bulunmuştur (7, 54, 55). Utlu ve ark'nın (54) sağlıklı Holştayn ve Montefon ırkı 11-12 aylık sığırlarda çeşitli enzim düzeylerini belirledikleri çalışmalarında ortalama LDH aktivitelerini dişilerde 997 ± 86 İÜ/L ve erkeklerde 1022 ± 86 IU/L düzeylerinde enzim aktivitelerini belirlemişlerdir. Sonuçlarda ırk ve cinsiyete bağlı bir farklılık belirlenmemiştir. Bazı çalışmalarda ise; 12-18 aylık Holştaynlarda serum LDH aktiviteleri 1010 ± 60 IU/L (55), Hassawi ırkı sığırlarda $250 \pm 15,6$ İÜ/L düzeyinde LDH aktivitesi (56), sağlıklı buzağılardaki düzeylerin ise 109 ± 23 IU/L olduğu ortaya konulmuştur (9). Bu proje ile belirlenen ortalama LDH aktiviteleri ($1084,7 \pm 193,5$ IU/L), Utlu ve ark'nın (54) sonuçları, Doornenbal ve ark (57)'nin bildirdikleri değerler ve Kaneko (7)'nin referans değerleri ile uyumludur. Fakat diğer çalışmalardan farklıdır. Bu farklılıkların; yaş, genetik, iklimik, beslenme ve çevresel bazı faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kreatin kinaz, iskelet kası, kalp kası, beyin, prostat ve uterusda bulunan sitoplazmik ve mitokondriyal bir enzimdir. Transport sistemi ve kontraktilite için gerekli olan ATP oluşum reaksiyonunu katalizler; aynı zamanda geriye dönüşümlü olarak, fosfat vericisi ATP'yi kullanarak kreatini fosfatlar (7, 53). Kreatin kinaz-MB fraksiyonunda görülen artış miyokard tahribatının boyutuna ve daha önceki miyokard tahribatı geçmişine bağlıdır. İnsanlarda toplam aktivitesinin %6'sından fazla bir CK-MB fraksiyonu miyokard infarktüsü tanısı olarak kabul edilir. Bu orandan daha az bir fraksiyon, iskelet kası tahribatına işaret eder (7, 53). Bademkiran ve ark (58) sağlıklı Holştaynlarda CK-MB aktivitelerini $267 \pm 108,22$ IU/L, Tunca ve ark (9) 61 ± 16 IU/L olarak belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan sağlıklı sığırlardan elde edilen ortalama CK-MB aktivitesi ($306 \pm 91,8$ IU/L) Bademkiran ve ark'nın (58) çalışma ile paralellik göstermesine rağmen diğer çalışmalardan farklıdır. Bu farklılık LDH aktivitelerinde belirtilen gerekçelerle açıklanabilir.

Her iki grupta da 1 yaş öncesi ve sonrası aktiviteler arası farkın gözlenmemesi bu projede kullanılan çalışma gruplarındaki yaşlarda aktivitelerin aynı düzeyde seyrettiğini göstermiştir. Şap hastalığı geçirmekte olan sığırlardaki enzim düzeylerinin kontrol grubu değerlerinden yüksek belirlenmesinin bu gruptaki bazı enzim aktivitelerinin grup ortalamalarının çok üzerinde ve geniş aralıklarda olmasından kaynaklanmaktadır. Bu yüksek düzeylerin de özellikle CK-MB için kalp kası hasarının, LDH için ise tüm çizgili kas hasarlarının oluşması olarak yorumlanabilir. Bu ayrımı daha açık şekilde belirleyebilmek için, özellikle kontrol grubu değerlerinin ortalamasından daha yüksek olan değerleri olan sığırların tüm verileri alınarak ayrı bir grup oluşturulmuş ve bu grubun diğer gruplarla aralarındaki istatistikî farklar belirlenmiştir. Buna göre şaplı sığırlardaki yüksek ortalama enzim aktiviteleri ilk etapta tüm hayvanlarda bir kalp kası hasarını işaret etse de cTn-I sonuçları ile enzim aktivitelerinin uyumlu olmadığı belirlenmiştir. Bu farklılık; enzimlerin özellikle CK-MB için cTn-I ya göre kısa yarılanma zamanının olması, LDH için bu enzimin akciğer hastalıklarına bağlı da artabileceğini düşündürmüştür. Zira şaplı sığırlardaki anormal solunum sesleri, taşipne ve mukopurulent burun akıntısı bu görüşümüzü doğrulamaktadır.

Özellikle kardiyak nekrozisin delilleri arasında son yıllarda cTn-I ve cTn-T analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir. Hayvanlardaki çalışmalar özellikle insanlardaki miyokardial enfarktüslerin belirlenmesi için laboratuvar hayvanları kullanılarak planlanmıştır (23, 39, 41). Memeli hayvanların miyokardiyumu cTn-I immunoassay için yüksek oranda reaktiviteye sahiptir ve bu reaktivite miyokardium için yüksek oranda seçicidir. İskelet kasındakinden 1000 kat daha yüksektir. Aminoasit dizilişi açısından insan ve hayvanlardaki troponin proteinleri arasında yapısal benzerlikler vardır. Ayrıca hayvanlar arasında da aminoasit dizilişleri de benzerdir. Sığır, tavşan ve tavuk cTn-T aminoasit dizilişleri karşılaştırıldığında amino-terminal 13 aminoasit kısmına (tavukların kalp geninin exon 2 ve 3) yakın bir benzerliği olduğu bulunmuştur ve C-terminal 230 kısmına (exon 9-18) büyük oranda benzerdir (51). Bir çalışmada (45) insanlarda kardiyak hasarların teşhisi için geliştirilen cTn-I immunoassay tekniği farklı hayvan türleri arasında test edilmiştir. Bu testle çeşitli türlerdeki kalp ve iskelet kaslarının farklı reaktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmanın verileri; insanlardaki cTn-I ile sığır kalp kasındaki bu parametrelerin yüksek oranda benzerlikleri olduğunu da göstermiştir. Kalp yetmezliği bulunan köpeklerle sağlıklı kontrol köpekleri karşılaştırıldığında hasta köpeklerde kardiyak reaktivitede %32'lik bir azalma olduğu tespit edilmiş ve tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmanın mükemmel bir göstergesi olarak cTn-I bildirilmiştir.

O'Brien ve ark. (45) insan cTn-I'ni belirlemek amacıyla yeni bir immunoassay metoduyla çeşitli türlerdeki cTn-I'nın doku reaktivitelerini karşılaştırmışlardır. Onların verileri, cTn-I'nın tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmalarının mükemmel bir aday biyogöstergesi olduğunu göstermiştir (45). Daha sonraları veteriner sahada yapılan çalışmalarla kalp kökenli troponinler (cTn) daha iyi tanınmış ve günümüzde özellikle evcil küçük hayvan kliniklerinde rutin kullanım alanı bulmuştur (44). Bununla birlikte çiftlik hayvanlarında halen araştırmalar devam etmektedir. Bu hayvanların kalp kasını etkileyen çeşitli hastalıklarında cTn'lerin de analiz edilebileceği ortaya konulmuştur (9, 11, 37, 59). Küçük ruminantlarda şekillenen besine bağlı veya diğer nedenli myokardiyopati durumlarında (9, 60) ve deneysel olarak oluşturulmuş myokardiyal enfarktüsli koyunlarda yapılan çalışmada CK ile birlikte Troponin-T düzeylerinde önemli artışlar olduğu kaydedilmiştir (37). Sugan ve Güneş (60) ilk kez beyaz kas hastalıklı kuzularda klinik pratikte kullanılan cTn-T ve cTn-I pratik kitleri ile patolojik olarak oluşan myokardiyopatileri doğrulamışlardır. Tunca ve ark (8) beyaz kas hastalığına tutulan kuzuların kalplerinde cTn-I ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz düzeylerini belirlemişlerdir (8). Ayrıca bu kuzuların serumlarında cTn-I konsantrasyonlarının $10,49 \pm 0,25$ ng/ml'ye ulaştığını ve aynı kuzuların myositlerinde de cTn-I kaybını tanımlamışlardır.

Kardiyak Tn-I'nın immunoassay reaktivitesi miyokardium için iskelet kasındakinden daha yüksektir. Ayrıca hayvanlar arasında kardiyak reaktivite belirli oranda farklılık göstermektedir. Büyük memeli hayvanların küçük memeli hayvanlardan 1.7 kat, kuşlardan 10 kat ve balıklardan 100 kat daha büyük bir reaktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşılık, iskelet kaslarındaki reaktivite karşılaştırmasında ise memeli hayvanlar ve kuşlar arasında bir fark bulunmamıştır. Büyük memeli hayvanlarda kalp kasının reaktivitesi, küçük memelilerdekinden 2 kat, kuşlardakinden ise 8 kat büyük olduğu ortaya konulmuştur (45). Köpeklerde plazma cTn-I düzeyleri 0,03 ng/ml ile 0,07 ng/ml arasında (ortalama 0,02 ng/ml) belirlenmiştir. Kedilerde ise 0,03 ng/ml ile 0,16 ng/ml arasında (ortalama 0,04 ng/ml) bir düzeyde olduğu bildirilmiştir (52). Laboratuvar hayvanlarında miyokardiyal hasarın indüklendiği bir kaç deneysel çalışma vardır (31, 36, 41, 47, 48). Fredericks ve ark. (41) köpek, maymun, domuz ve ratlardan topladıkları kalp ve iskelet kas örneklerinde kardiyak troponinleri ve CK izoenzimlerini analiz etmişlerdir. İdiopatik perikarditisli sığırlardaki 0.89 ng/ml ve sağlıklılarda 0-0.04 ng/ml düzeylerinde cTn-I belirlenmiştir (5). Mellanby ve ark (59), cTn-I konsantrasyonlarının perikarditisli, diğer kardiyak hastalıklı ve nonkardiyak intratorasik hastalıklı sığırlarda yüksekselebileceğini belirtmişlerdir. Viral myokarditisli sığırlarda

cTn-I ve cTn-T değerlerinin yükselebileceğini ise ilk kez Güneş ve ark (8), bir vaka raporunda şap hastalığına bağlı myokard dejenerasyonunu pratik kardiyak kitlerle belirlemişlerdir.

İskelet kaslarındaki cTn-T ve cTn-I içeriği tüm hayvan türleri için kalp kasındakinden %0,6 oranında daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Aynı şekilde tüm hayvan türleri için iskelet kasındaki CK içeriği kalp kasındakinden daha yüksek bulunmuştur ve çeşitli laboratuvar hayvanlarında cTn-T ve cTn-I'nın miyokardiyal hasarın spesifik belirleyicisi olduğuna karar vermişlerdir (41). Bu proje ile birlikte şap hastalıklı sığırlarda kalp kası hasarını gösteren enzimlerdeki aşırı yükselmelere paralel olarak cTn-I sonuçlarının pozitif olması ve bu hayvanların da ölmesi, bu parametrenin sığırlardaki kalp kası hasarı için çok yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğunun göstergesidir. Bu sayede cTn-I'nın önemli bir diyagnostik gösterge olduğu belirlenmiştir. Miyokardiyal dejenerasyonların ortaya konulmasında cTn-I önemli bir serolojik ve yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğu için (33), bu çalışmada cTn-I konsantrasyonları ölçülmüş ve pratik kitleri kullanılmıştır. Troponin-I tek bir aminoasit zincirine sahip olduğundan kalp için spesifiktir ve aynı zamanda infarktüslerin ileri dönemleri veya kardiyak hücre ölümleri içinde prognostik bir göstergedir. Özellikle kardiyak işeminin, kardiyak kontüzyon ve düzensiz angina pectorisin spesifik bir belirleyicisidir. Çok küçük kardiyak hasarların belirlenmesinde üst düzeyde duyarlı bir gösterge olduğu bulunmuştur (33). Bu proje sonuçlarına göre toplam 69 şap hastalıklı sığırdan 24 tanesinde enzim düzeyleri çok yüksek olmasına rağmen bunlardan sadece 5 tanesinde cTn-I konsantrasyonları diğerlerinden önemli oranda yüksek bulunmuş ve bu sığırlarda cTn-I varlığı pratik kitlerle de ortaya konulabilmiştir. Troponin pozitif belirlenen hayvanlar örneklemelerden sonraki birkaç gün içinde ölmüşlerdir. Yapılan otopsilerinde kalp kası dejenerasyonları makroskopik olarak belirlenmiştir. Tüm şaplı sığırlardaki cTn-I pozitif ve ölen sığırların oranı % 7.24 (5/69), enzim düzeyleri yüksek sığırlardaki cTn-I pozitif olanların oranı ise % 20.8 (5/24) olarak belirlenmiştir. Bu oranlar enzim düzeyleri ile cTn-I düzeylerinin paralel olmadığını göstermektedir. Kalp kökenli Tn-I'nın serumda belirlenme zamanı da CK-MB'ninkine eşittir. Fakat serumda Tn-I düzeyi akut miyokard enfarktüsünün başlamasını takiben hızlıca yükselir (5-7 saat). İlk pik sentezlendiği yer olan miyokardiyal sitozolden serbest troponinlerin salınımı nedeniyle şekillenir ve yaklaşık 12. saatte serum düzeyleri en üst noktaya ulaşarak, CK-MB'ye göre belirgin bir şekilde daha yüksek kalır. Ayrıca ortalama 11 saatte pik yapan cTn-I düzeyinin 100 saat civarında sabit kaldığı belirlenmiştir. Dolayısıyla kalp kası hasarına bağlı gerçek ölüm oranlarının belirlenmesinde kalp kası için spesifik olması, erken dönemde yükselip, uzun süre kanda kalması gibi avantajları ile cTn-I çok daha faydalı bir parametredir.

Bu proje ile viral myokarditislerde kalp kası hasarları için çok spesifik bir belirleyici olan cTn-I testinin önemini ortaya konulmuştur. Troponin I'nın sensitivitesi CK-MB'ninkine eşit veya daha yüksektir.

Bu çalışmada elde edilen cTn-I ile CK-MB ve LDH düzeyleri karşılaştırıldığında bu parametrelerin paralel seyretmediği görülmüştür. Çünkü cTn-I konsantrasyonları, cTn-I pozitif vakalarda negatiflere oranla önemli oranda yüksek olmasına rağmen, enzimler arasında bir fark belirlenmemiştir (Tablo 4.6). Kanda Troponin-I ilk salınmasından birkaç gün sonra ikinci bir pik de yapar. ikinci pik dejenere olmuş miyofibrilere bağlı troponinlerin serbest bırakılması ile oluşur. Troponin-I akut miyokard enfarktüsünden sonraki 8. güne kadar yüksek olarak kalması nedeniyle daha sonraki enfarktüslerin veya kardiyak ölümlerin bir göstergesi olabileceği rapor edilmiştir. Fakat CK-MB için bu durum söz konusu değildir (20). Christenson ve ark (23) miyokard enfarktüslü hastaların teşhisi için ACCESS adı verilen yeni bir cTn-I analiz metodu geliştirmişlerdir. Bu metodun sensitivitesi %88,9 ve spesifitesi %91,8 olarak bulunmuştur. Troponin-I düzeyleri miyokardiyal dejenerasyonların büyüklüğü ve şiddeti ile doğru orantılıdır. Ayrıca anormal Tn-I düzeyleri akut miyokard enfarktüslü 32 hastanın tamamında göğüs ağrısının başlangıcını takiben 12 saat içerisinde yüksek bulunduğu bildirilmiştir (23).

Bu çalışmada cTn konsantrasyonları, ve vakaların 5 tanesinde pozitif cTn-I kit sonuçlarının belirlenmesi sıgırlar üzerinde daha önce yapılan çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir (9, 11). Elde edilen pozitif kit sonuçları şap hastalığı sonucu şekillenen miyokardiyal dejenerasyona bağlı kan dolaşımına salınan cTn-I düzeyleri ile ilişkilidir. Bu sonuçlar, yüksek cTn-I bulgularıyla da uyumludur. Tunca ve ark. (9) tarafından da rapor edildiği gibi kalp kasındaki mikro düzeylerdeki yaralanmalarda dahi troponinler belirli düzeylerde dolaşıma salınmaktadır. Bu nedenle diğer konvansiyonel testlerden daha güvenilir bir kalp kası testi olduğu da belirtilmektedir (21, 28, 36).

Bu projedeki vakaların hastalığa tutulma dönemleri ve oranları farklılıklar gösterebileceği için enzim aktivitelerinde de değişiklikler beklenebilir (41). Özellikle CK enzim aktivitesi ilerleme göstermeyen kalp kası hasarlarında başlangıçtan itibaren 6–12 saatte maksimum yüksekliğe çıkar ve 24–48 saat içinde normal düzeyine iner. LDH aktivitesi de serum CK aktivitesine paralel seyrederek 48–72 saatte pik yapar. Bu özellikler söz konusu parametrelerin troponinlere göre önemli dezavantajı sayılabilir. Ayrıca enzim analizlerinin yapılabilmesi için laboratuvar şartlarına ihtiyaç vardır. Şap hastalığına bağlı miyokard dejenerasyonu gelişen

buzagalarda kalp kasında cTn-I varlığı azalmasına rağmen, serumdaki konsantrasyonlarının arttığı belirlenmiştir (61). Bu çalışma Tunca ve ark (61) nın çalışmalarından farklıdır. Zira araştırmacılar çalışmalarında sadece şap hastalığına bağlı kalp kası hastalığı gelişen ve patoloji bölümüne gönderilen buzağlar üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmada ise tüm şaplı sürülerde gerçek anlamda kalp kası hasarına bağlı mortalite oranlarının cTn-I kitleri ile belirlenebilirliği ortaya konulmuştur. Bir diğer fark ise çalışma gruplarının yaş ortalamasının söz konusu projede daha yüksek olmasıdır. Buna göre yüksek ağırlık ve yaş cTn-I düzeylerinde de farklılıklar oluşturur.

Çiftlik hayvanlarında herediter, vitamin-E ve selenyum eksikliği, enfeksiyonlar, travmatik yaralar ve kalp parazitleri nedeniyle oluşmuş kalp kası hasarlarının teşhisi önemlidir (62), çünkü böyle vakalar belirlenecek olursa ani ölümden önce gerekli tedaviler uygulanabilir veya en azından ölümden önce kesim sağlanabilir. Şap hastalıklı sığırlarda tüm hayvanlarda ölüm görülmemektedir. Yetişkin çiftlik hayvanlarında mortalite genellikle % 1 den daha az veya % 2, buzağlarda ise % 20 nin üzerindedir. Bu çalışmadaki tüm şaplı sığırlardaki cTn-I pozitif ve ölen sığırların oranı % 7,24 dir. Bu oran 6 ila 12 ay arası yaşlarda idi, bu yaşlardaki ölüm oranları yukarıdaki verilen oranlardan farklı bulunmuştur.

Kardiyak Tn'ler; yüksek duyarlılık yaklaşık ve mutlak özgünlüğe sahip olmaları, mikro düzeydeki yaralanmalarında dahi kan dolaşımına salındıkları için (21, 23, 28, 43) çiftlik hayvanlarındaki viral miyokarditislerde de teşhis ve prognoz amacıyla kullanılabilir. Troponinlerin yüksek düzeyleri ile hastalığın klinik şiddeti ve yaşam süresi arasındaki yüksek korelasyon nedeniyle, sadece miyokardial yaralanmaların ayırımı için değil, risk belirlenmesi için de kullanılabilir (63). Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda çiftlik hayvanlarındaki kalp hastalıklarının daha erkenden belirlenmesi, mümkün olan tedavilerin yapılması ve tedavi sürecinin izlenmesinde etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmalıdır.

Şap hastalıklı sığırlarda miyokardiyal dejenerasyonların saha şartlarındaki teşhisi klinik belirtiler ve histopatoloji ile yapılabilmesine rağmen, miyokard dejenerasyonlarını belirlemek zordur, fakat bu çalışma ile görülmüştür ki insanlar için üretilen cTn kitleri ile şap hastalığında kalp kası hasarları laboratuvar ortamına gerek kalmadan güvenli bir biçimde belirlenebilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen cTn sonuçları aynı zamanda fiziksel muayene ve biyokimyasal bulguların etkinliğini arttırmıştır. Sonuçta cTn analizleri (cTn-T and cTn-I) ruminantlar için de sensitiv ve spesifik bir marker olabilir, gelişecek kalp kası bozukluklarının tahmin edilmesinde veteriner sahada kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Batmaz H. Şap, Viral Hastalıklar, Sığırların İç Hastalıkları, (2. Baskı), F. Özsan Mat. San. ve Tic. Ltd. Şti., Bursa, 2010: ss 305
2. Aytuğ CN. Viral Enfeksiyonlar, Sığır Hastalıkları (2. Baskı), TÜM VET Hayvancılık Hizmetleri, Teknografik Matbaası, İstanbul, 1991: ss 310
3. Gül Y. Enfeksiyon Hastalıkları, Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları, (2. Baskı), Medisan Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya, 2006: ss 157
4. Foot and Mouth Disease, Fiebre Aftosa, Last Updated: September 24, 2007 http://www.avma.org/reference/backgrounders/fmd_bgnd.pdf erişim: 01.03.2010.
5. Jesty SA, Sweeney RA, Dolente BA, Reef BA. Idiopathic and cardiac tamponade in two cows. Journal Of American Veterinary Medical Association 2005; (226): 1555-1558.
6. Gunes V, Atalan G, Citil M, Erdogan HM. Use of cardiac troponin kits for the qualitative determination of myocardial cell damage due to traumatic reticuloperitonitis in cattle. Vet Record 2008 Apr 19; 162 (16): 514-7.
7. Kaneko JK. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th ed, Academic Press, San Diego, pp , 1997: 413
8. Gunes V, Erdogan HM, Citil M, Ozcan K. Assay of cardiac troponins in the diagnosis of myocardial degeneration due to foot-and-mouth disease in a calf. Vet Rec 2005; 156: 714-715.
9. Tunca R. ve ark. Evaluation of cardiac troponin I and inducible nitric oxide synthase expressions in lambs with White Muscle Disease. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science 2008b.
10. Radostits, O.M. : Veterinary Medicine, 8th ed. W.B. Saunders, London, 1994; pp. 965-974
11. Smith BP. Large Animal Internal Medicine, Mosby-year book, inc, 3 th ed. Philadelphia/USA, 2002: pp 718.
12. Yang, P.C., Chu, R.M., Chung, W.B., Sung, H.T.: Epidemiological characteristic and financial costs of the 1997 foot-and-mouth disease epidemic in Taiwan. Vet. Rec. 1999; 145: 731-734
13. Barnett, P.V., Cox, S.J.: The role of small ruminants in the epidemiology and transmission of Foot-and-Mouth Disease. Vet. J. 1999; 158: 6-13
14. Mezencio, J.M.S., Babcock, G.D., Kramer, E., Brown, F.: Evidence for the pesistence of Foot-and-Mouth Disease virus in pigs. Vet. J. 1999; 157: 213-217

15. Şap Hastalığı : Türkiye'de Durum, Son Güncelleme Tarihi: 10 Nisan 2003, www.sap.gov.tr, Erişim tarihi 08.03.2010
16. Maden M. İhbarı Mecburi Hastalıklar, Veteriner Adli Tıp, Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti., Konya, 2007: ss 102
17. Lubroth, J.: Foot-and-Mouth disease a review for the practitioner. Vet. Clin. N. Am: Food Anim. Pract. 2002; 18: 475-499
18. Doel TR, Williams R, Barnet PV. Emergency vaccination against foot-and-mouth disease:Rate of development of immunity and its implicationsfor the carrier stat. Vaccine 1994; 12: 592-600.
19. Jurlander B, Clemensen P, Wagner GS, Grande P. Very early diagnosis and risk stratification of patients admitted with suspected acute myocardial infarction by the combined evaluation of a single serum value of cardiac troponin-T, myoglobin and creatine kinase MB. Eur Heart J 2000; 21: 382-389.
20. Rice MS. Appropriate roles of cardiac troponins in evaluating patients with chest pain. J Am Board Fam Pract 1999; 12(3): 214-218.
21. Azzazy HME, Christenson RH. Cardiac markers of acute coronary syndrome: Is there a case for point-of-care testing. Clin Biochem 2002; 35: 13-27.
22. Panteghini M. Present issues in the determination of troponins and other markers of cardiac damage. Clin Biochem 2000; 33: 161-166.
23. Christenson RH, Apple FS, Morgan DL, Alonsozona GL, Mascotti K. et al Cardiac troponin-I measurement with the Access immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. Clin Chem 1998; 44: 52-60.
24. Boccara G, Pouzeratte Y, Troncin R, Bonardet A, Boularan AM. et al The risk of cardiac injury during laparoscopic fundoplication. Cardiac troponin I and ECG study. Acta Anaesthesiol Scand 2000; 44: 398-402.
25. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of Antemortem serum creatine kinase-MB, troponin-I and troponin-T with cardiac pathology. Clin Chem 2000; 46(3): 338-344.
26. O'brien PJ, Smith DE, Knechtel TJ, Marchak MA, Pruimboom-Brees I. et al. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. Lab Anim 2006 Apr; 40(2): 153-71.
27. Klaus U. Vergleichende Biochemie Der Tiere, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1990: 306-307.

28. M-Bardorff M, Hallermayer K, Schro A, Ebert C. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1999; 43(3): 458–466.
29. Reece WO. *Physiology of Domestic Animals*, 2nd Ed., A Williams and Wilkins, USA, pp 1997: 72-92.
30. Leszyk J, Dumaswala R, Potter JD, Gusev NB, Verin AD, et al Bovine cardiac Troponin-T: Amino acid sequences of the two isoforms. *Biochemistry* 1987; 26(22): 7035-7042.
31. O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in two generations of cardiac troponin-T immunoassays. *Res Vet Sci* 1998; 65: 135-137.
32. Bertsch T, Bleuel H, Aufenanger J. et al Comparison of cardiac troponin-T and cardiac troponin-I concentrations in peripheral blood during orciprenaline induced tachycardia in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1997; 49, 467-468.
33. Giuliani I, Bertinchant JP, Lopez M, Coquelin H, Granier C, et al Determination of cardiac troponin-I forms in the blood of patients with unstable angina pectoris. *Clin Biochem* 2002; 32: 111-117.
34. Adin DB, Oyama MA, Sleeper MM, Milner RJ. Comparison of canine cardiac troponin i concentrations as determined by 3 analyzers. *J Vet Intern Med* 2000; 11:36-42.
35. Möckel M, Schindler R, Knorr L, Müller C, Heller G. et al. Prognostic value of cardiac troponin T and I elevations in renal disease patients without acute coronary syndromes: a 9-month outcome analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1489-1495.
36. Bertsch T, Bleuel H, Deschl U, Rebel W. A new sensitive cardiac Troponin T rapid test (TROPT) for the detection of experimental acute myocardial damage in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 51: 565-569.
37. Charles CJ, Elliott JM, Nicholls MG, Rademaker MT, Richards M. Myocardial infarction with and without reperfusion in sheep: early cardiac and neurohumoral changes. *Clinical Science* 2000; 98: 703-711.
38. Koukkunen H, Penttilä K, Kemppainen A, Penttilä I, Halinen M, et al Ruling out myocardial infarction with troponin T and creatine kinase MB Mass: Diagnostic and prognostic aspects. *Scand Cardiovasc J* 2001; 35: 302-306.
39. McAuliffe JJ, Robbins J. Troponin T expression in normal and pressure-loaded fetal sheep Heart. *Pediatr Res* 1991; 29: 580-585.

40. Ricchiuti V, Sharkey SW, Murakami MM, Voss EM, Apple FS. Cardiac troponin I and T alterations in dog hearts with myocardial infarction: correlation with infarct size. *Am J Clin Pathol* 1998; 110(2): 241-247.
41. Fredericks S, Merton GK, Lerena MJ, Heining P, Carter ND, et al. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. *Clin Chim Acta* 2001; 304: 65-74.
42. Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Winand NJ, Wootton JA, Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. *Am J Vet Res* 2004 Jan; 65(1):53-8.
43. [Oyama MA](#), [Sisson DD](#). Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. *J Vet Intern Med* 2004 Nov-Dec; 18(6): 831-9.
44. Braun JP, Diquelou A, Trumel C, Lefebvre H. Biochemical markers of cardiac damage and dysfunction in dogs and cats; 1st TSAVA “Anadolum” Continuing Education Congress, 10-11 November 2006, İstanbul.
45. O’Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997a; 43: 2333–2338.
46. Sleeper MM, Clifford CA, Laster LL. Cardiac troponin-I in the normal dog and cat. *J Vet Intern Med* 2001; 15(5): 501-503.
47. Bleuel H, Deschl U, Bertsch T, Bolz G, Rebel W. Diagnostic efficiency of troponin T measurement in rats with experimental myocardial cell damage. *Exp Toxicol Pathol* 1995; 47(2-3): 121-127.
48. O’Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, et al. Cardiac troponin T is a sensitive specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci* 1997b; 47(5): 486-495.
49. Burgener IA, Kovacevic A, Mauldin GN, Lombard CW. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *J Vet Intern Med*. 2006 Mar-Apr; 20(2): 277-83.
50. Chema AH, Gilani SH. Cardiac myopathies in neonatal lambs: Histological and histochemical studies. *Biol Neonate* 1978; 34: 84-91.
51. Cooper TA and Ordahl CP. A single cardiac troponin-T gene generates embryonic and adult isoforms via developmentally regulated alternate splicing. *J Biol Chem* 1985; 260: 11140-11148.
52. Hungerford TG. Diseases of Livestock, 9th ed. Mc Graw-Hill book Company, Sydney/Australia, 1990: pp 487.

53. Turgut K. Klinik Enzimoloji, Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis (2. Baskı) Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş. Konya, 2000; s 185-189
54. Utlu N, Yücel O, Kaya N. Farklı Irk Sığırlarda bazı Serum Enzim Aktiviteleri. Kafkas Üniv Vet fak Derg 2005; 11: 39-41
55. Bilal T, Uysal A, Bilal T, Tan H. Şeker Pancarı Posası ile Beslenen ve Beslenmeyen Besi Danalarının Bazı Kan Parametreleri Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniv Vet fak Derg 1995; 21: 272-281
56. Al Shami SA. Studies on Normal Haematological and Biochemical Parameters of Hassawi cattle Breed in Saudia Arabia. Pakistan Journal of Biological Science 2003; 6: 1241-1242
57. Doornenbal H. Tong AKW, Murray N.L. Reference Values of Blood Parameters in Beef Cattle of Different Ages and Stages of Lactation. Can J Vet Res 1988; 52: 99-105
58. Bademkiran S, Yokuş B, İçen H, Cakir DU, Kurt D. Assesment of Serum Mineral and Certain Biochemical Variables in Self-Sucking Dairy Cows. Journal of Animal and Veterinary Advances 2008; 7: 717-722
59. Mellanby RJ, Henry JP, Cash R et al. Serum Cardiac Troponin I Concentrations in Cattle with Cardiac and Noncardiac Disorders. J Vet Intern Med 2009; 23: 926-930
60. Sugun B ve Güneş V. Beyaz kas hastalıklı kuzularda kalp kası hasarının teşhisinde Kardiyak troponin kit analizleri ve serum enzim Aktivitelerinin önemi. Sağlık Bil Derg (Journal of Health Sciences) 2008; 17: 144-149,
61. Tunca R, Sozmen M, Erdogan HM ve ark. Determination of cardiac troponin I in the blood and heart of calves with foot-and-mouth disease. J Vet Diagn Invest 2008; 20: 598-605
62. Van Vleet JF, Ferrans VJ. Myocardial disease of animals. Am J Pathol 1986; 124 (1): 98-178.
63. O'Brien P J. Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity Toxicology. 2008; 245: 206-218

EKLER

EK 1:

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 15.10.2008

Toplantı Sayısı: 09

Karar No: 08/46

Etik kurul toplantısı

15.10.2008

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç.Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yard.Doç.Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Halit Erkiletlioğlu	Diş Hekimi		
Halil Tekiner	Eczacı		

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr. Vehbi Güneş'in "Sığırlarda Şap Hastalığına bağlı kalp kası hasarının teşhisinde kardiyak tropanin-I Düzeylerinin araştırılması" adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

Dosyada sunulan dokümanlar;

Tarih : 15.10.2008

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

Etik Kurul Başkanı İmzası

EK 2:



T . C . TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI
Ş A P E N S T İ T Ü S Ü M Ü D Ü R L Ü Ğ Ü

