

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YL-2023-0086

SAĞLIKLI VE AKUT İSHALLİ NEONATAL
BUZAĞILARDA TROMBOSİT İNDEKSLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

HAKAN ELMACI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN

AYDIN-2023

TEŞEKKÜR

2020 yılında başladığım yüksek lisans tezimi tamamlamanın heyecanını ve gururunu yaşıyorum.

Öncelikle bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen, danışmanlığımı üstlenen, arkadaşım, dostum, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e,

Yüksek lisans tez çalışma süresince değerli görüşleri ile araştırmanın şekillenmesini sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA, Prof. Dr. Serdar PAŞA, Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ, Prof. Dr. Kerem URAL, Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN, Doç. Dr. Songül ERDOĞAN ve Dr. Öğr. Üyesi Gülten Emek TUNA hocalarıma,

Laboratuvar analizleri gerçekleştirme sürecindeki yardımlarından dolayı Uzm. Biyolog Dr. Gamze GÜLTEKİN'e,

Bu süreçte; maddi ve manevi her türlü desteğini bana hissettiren, her zaman yanımda olan değerli eşim Meliha BABAYİĞİT ELMACI'ya ve varlığıyla hayatımıza renk katan biricik oğlum Kıvanç ELMACI'ya,

Her daim bana güvenen canım aileme,

En içten dileklerle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| KABUL VE ONAY | i |
| TEŞEKKÜR..... | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | vi |
| TABLolar DİZİNİ | vii |
| ÖZET..... | viii |
| ABSTRACT..... | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Buzağı ishalleri..... | 3 |
| 2.2. Trombositler..... | 9 |
| 2.2.1 Trombosit Yapısı..... | 10 |
| 2.2.2 Trombosit Üretimi..... | 11 |
| 2.2.3 Trombositopeni..... | 11 |
| 2.2.4 Trombosit Sayım Yöntemleri..... | 13 |
| 2.2.5 Plateletcrit (PCT)..... | 14 |
| 2.2.6 Ortalama Trombosit Hacmi (MPV)..... | 15 |
| 2.2.7 Trombosit Hacim Dağılım Genişliği (PDWc)..... | 15 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 16 |
| 3.1. Hayvan Materyali..... | 16 |
| 3.2 Örneklemeler ve Dışkı Analizi..... | 16 |

| | |
|--|----|
| 3.3 Hematolojik ve Kan Gazları Analizleri..... | 17 |
| 3.4 İstatistiksel Değerlendirme..... | 17 |
| 4. BULGULAR..... | 18 |
| 5. TARTIŞMA | 22 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 26 |
| KAYNAKLAR | 27 |
| EKLER..... | 39 |
| Ek 1 (ADÜ HADYEK)..... | 39 |
| Ek 2 (Bilgi Onam Formu)..... | 40 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI..... | 41 |
| ÖZ GEÇMİŞ | 42 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BE: Baz açığı

BNoV: Bovine Norovirus

BVDV: Bovine Viral Diarrhea- Mukozal Hastalığı

DIC: Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

ETEC: Enterotoksijenik *Escherichia coli*

GP: Glikoprotein

HCO₃: Bikarbonat

HCT: Hematokrit

K: Potasyum

mL: Mililitre

MPM: Ortalama trombosit kütlesi

MPV: Ortalama trombosit hacmi

Na: Sodyum

pCO₂: Parsiyel karbondioksit

PCT: Trombosit yüzdesi

PDWc: Trombosit dağılım genişliği

PLT: Trombosit

PMDW: Trombosit kütle dağılım genişliği

pO₂: Parsiyel oksijen

RBC: Eritrosit

RNA: Ribonükleik asid

TPO: Trombopoietin

vWF: von Willebrant faktör

WBC: Total lökosit sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sağlıklı ve akut ishallerli neonatal buzağlarda trombosit indeksi değerlerine ilgili parametreler20



TABLULAR DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1. Sağlıklı buzağlarda 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde trombosit indeksleri..... | 18 |
| Tablo 2. Sağlıklı ve akut ishallerli neonatal buzağlarda vital parametreler..... | 19 |
| Tablo 3. Sağlıklı ve akut ishallerli neonatal buzağlarda hematolojik parametreler..... | 19 |
| Tablo 4. Sağlıklı ve akut ishallerli neonatal buzağlarda kan gazları parametreleri..... | 21 |



ÖZET

SAĞLIKLI VE AKUT İSHALLİ NEONATAL BUZAĞILARDA TROMBOSİT İNDEKSLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Elmacı, H. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Bu çalışmada sağlıklı buzağılarda neonatal dönem süresince trombosit indekslerinin [trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDWc)] izlenmesi ve akut ishalleri neonatal buzağuların trombosit indekslerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 10 sağlıklı, 50 akut ishalleri olmak üzere toplamda 60 neonatal buzağı (<28 gün) kullanıldı. Örneklemeler sağlıklı buzağılarda neonatal dönemde gerçekleşen değişiklikleri yansıtması amacıyla 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde, ishalleri buzağılarda ise tek sefer yapıldı. İshalleri buzağılarda etiyolojik değerlendirme hızlı ticari test kiti (Bovid-5 Ag, Bionote, Kore) ile immunokromatografik yöntemle *Cryptosporidium parvum*, Rotavirus, Coronavirus, *E. coli* K99 ve *Giardia duodenalis* olmak üzere beş farklı etken antijenine yönelik gerçekleştirildi. Rutin klinik muayenede vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı değerlendirildi. Laboratuvar analizleri kapsamında tam kan sayımı [lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (HCT), trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDWc)] ve kan gazları (pH, PCO₂, PO₂, Na, K, HCO₃, BE) analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler uygun istatistiksel yöntemler ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Sağlıklı buzağılarda neonatal dönem süresince trombosit indekslerindeki değişimlerin anlamlı olmadığı belirlendi. Akut ishalleri neonatal buzağılarda hematolojik değerlendirmede WBC ve PLT sayıları ile PCT, MPV ve PDWc değerleri yüksek bulunurken, RBC sayısı ve HCT değeri düşük bulundu. Kan gazları analizinde ise pH ve BE değerleri ile Na konsantrasyonu düşük; pCO₂ düzeyi ve K konsantrasyonu yüksek belirlendi.

Sonuç: Araştırma sonuçları ile rutin hematolojik değerlendirme kapsamında analizi yapılan fakat klinik önemi yeterince değerlendirilmeyen trombosit indeks parametrelerinin akut ishalleri buzağılarda önemli değişiklikler gösterebileceği ortaya konuldu. Bu kapsamda, trombosit

indekslerinin akut ishallerde izlenmesi, buzağuların klinik yönetimi ve tedavisinde değerli bir bilgi kaynağı olabilir. Akut ishallerde buzağuların tedavi ve monitörizasyon sürecini de içeren daha kapsamlı çalışmaların yapılması fayda sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Buzağı, Trombosit, İshal.



ABSTRACT

EVALUATION OF PLATELET INDICES IN HEALTHY AND ACUTE DIARRHEA NEONATAL CALVES

Elmacı, H. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Internal Medicine (Veterinary) Program, Master Thesis, Aydın, 2023.

Objective: The aim of this study was to monitor platelet indices [platelet count (PLT), platelet percentage (PCT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDWc)] in healthy calves during the neonatal period and to determine the changes in platelet indices in neonatal calves with acute diarrhea.

Materials and Methods: A total of 60 neonatal calves (<28 days), 10 healthy and 50 with acute diarrhea, were used in the study. Sampling was performed on the 2nd, 7th, 14th, 21st and 28th days in healthy calves to reflect the changes in the neonatal period, and once in diarrhea calves. Etiologic evaluation in calves with diarrhea was performed by immunochromatographic method with a rapid commercial test kit (Bovid-5 Ag, Bionote, Korea) for five different causative antigens including *Cryptosporidium parvum*, *Rotavirus*, *Coronavirus*, *E. Coli* K99 and *Giardia duodenalis*. Body temperature, heart and respiratory frequency were evaluated in routine clinical examination. Laboratory analysis included complete blood count [leukocyte count (WBC), erythrocyte count (RBC), hematocrit (HCT), platelet count (PLT), platelet percentage (PCT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDWc)] and blood gases (pH, PCO₂, PO₂, Na, K, HCO₃, BE). The data obtained were compared with appropriate statistical methods.

Results: In healthy calves, the changes in platelet indices during the neonatal period were not significant. In hematologic evaluation, WBC and PLT counts, PCT, MPV and PDWc values were found to be high, while RBC and HCT values were found to be low in neonatal calves with acute diarrhea. In blood gas analysis, pH and BE values and Na concentration were low, while pCO₂ level and K concentration were high.

Conclusion: The results of the study revealed that platelet index parameters, which are analyzed within the scope of routine hematologic evaluation but whose clinical significance is not sufficiently evaluated, may show significant changes in calves with acute diarrhea. Monitoring of platelet indices in acute diarrhea may be a valuable source of information in the

clinical management and treatment of calves. More comprehensive studies including treatment and monitoring process in calves with acute diarrhea may be beneficial.

Keywords: Calf, Platelet, Diarrhea.



1. GİRİŞ

Buzağılarda neonatal dönemde sıkça karşılaşılan ishal, doğrudan ölümlere ve ülkemizde, dünyada önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Izzo ve diğerleri, 2011). İshalin, diğer tüm buzağı hastalıklarından daha fazla ekonomik kayba yol açtığı belirtilmektedir (Meganck ve diğerleri, 2015).

Neonatal buzağılarda, temel olarak nonenfeksiyöz ve enfeksiyöz nedenlerle oluşan ishal pek çok olguda birlikte görülmektedir. Nonenfeksiyöz nedenler, bakım ve besleme koşullarındaki olumsuzluklar ve çeşitli kalıtsal hastalıkların neden olduğu enzim eksiklikleri gibi etkenler sonucu ortaya çıkabilir. Enfeksiyöz ishaller ise çoğunlukla bakteriyel, viral ve paraziter etkenlerden kaynaklanır ve sıklıkla bir arada görülür. Birden fazla etkenin ishal oluşumuna katkıda bulunabilmesi, buzağılarda ishalin patogenezinin oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir (Foster ve Smith, 2009; Lorenz ve diğerleri, 2011; Smith, 2012; Izzo ve diğerleri, 2011).

Özellikle ozmotik ve sekretuar mekanizmalarla ishale neden olan enfeksiyöz etkenler, enterositler ve barsak mukozasında değişen derecede hasara yol açabilir (Foster ve Smith, 2009). Dehidrasyonun mukozal permeabiliteyi artırmasının yanı sıra, barsak mukozasındaki hasar bakteri ve endotoksinlerin dolaşıma geçişini kolaylaştırarak bakteriyemi ve sepsis oluşumuna zemin hazırlar (Wijnands ve diğerleri, 2015). İshalli buzağılarda sepsis genel durumun hızla bozulmasına ve akut ölüme neden olabilir (Fecteau ve diğerleri, 2009). Sepsis, enfeksiyon sonucu başlayan sistemik yangısal yanıt sendromu (SIRS) ile karakterize edilir. Vücut sıcaklığı, lökosit sayısı, solunum ve kalp frekansı gibi kriterlerle değerlendirilebilen SIRS, genel anlamda sepsis varlığını düşündüren en önemli bulgulardan biridir (Bone ve diğerleri, 1992; Wijnands ve diğerleri, 2015). Ancak, morbidite ve mortalitenin azaltılabilmesi için neonatal buzağı ishallerinde sepsis durumunun erken ve güvenilir bir şekilde tanımlanabilmesi için yeni biyobelirteçlere ihtiyaç duyulduğu önemle vurgulanmaktadır (Ballou ve diğerleri, 2011).

Günümüzde otomatik tam kan sayım cihazlarının yaygın kullanımı trombosit indekslerinin kolayca değerlendirilmesini sağlamaktadır. Trombosit indeksleri, trombositlerin hemostaz, inflamasyon, patojenlere karşı savunma, yara iyileşmesi ve anjiyogenezdeki temel

rolü nedeniyle çok sayıda araştırmanın konusudur. Ayrıca trombosit indekslerindeki değişikliklerin trombositopeni, sepsis, miyokardiyal iskemi, travma ve diğerleri gibi birçok hastalıkta önemli prognostik ve tanısal değere sahip olduğu doğrulanmıştır. Oldukça kolay erişilebilirlikleri ve ucuz ölçüm yöntemleri nedeniyle trombosit parametreleri, hem akut hem de kronik çok sayıda hastalığın potansiyel yeni biyobelirteçleri olarak yükselişte görünmektedir (Madani ve diğerleri, 2019; Pogorzelska ve diğerleri, 2020). Bununla birlikte, neonatal buzağılarda trombosit indekslerinin tanısal rolünü kapsamlı değerlendiren çalışma sayısı kısıtlıdır. Bu çalışmada sağlıklı buzağılarda neonatal dönem süresince trombosit indekslerinin [trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDWc)] izlenmesi ve akut ishelli neonatal buzağuların trombosit indekslerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Buzağı İshalleri

Buzağılarda ishal özellikle neonatal dönemde yaygın olarak karşılaşılan ve sığır üreticileri için önemli bir ekonomik kayıp nedenidir. 2007 yılında ABD’de Ulusal Hayvan Sağlığı İzleme Sistemi sütten kesilen buzağılarda ölümlerin %57’sinin ishalden kaynaklandığını ve vakaların çoğunun bir aylık yaştan küçük buzağılarda meydana geldiğini bildirmiştir. Kore’de buzağı ishaline bağlı süt buzağıları için benzer bir ölüm oranı (%53,4) rapor edilmiştir (Hur ve diğerleri, 2013). Yılda 280.000 baş buzağı üretiminin olduğu Norveç’te buzağı ölümleriyle ilgili ekonomik kaybın yıllık yaklaşık 10 milyon ABD dolar düzeyinde olduğu ifade edilmektedir (Østerås ve diğerleri, 2007). Ülkemizde buzağı ishalleri nedeni ile oluşan yıllık ekonomik kaybın 525 milyon Euro civarında olduğu tahmin edilmektedir (Şahal ve diğerleri, 2018).

Buzağı ishali hem enfeksiyöz hem de enfeksiyöz olmayan faktörlere bağlı ortaya çıkabilmektedir (Bartels ve diğerleri, 2010, Izzo ve diğerleri, 2011). Bu hastalığın gelişiminde birden fazla enterik patojen (ör. virüsler, bakteriler ve protozoa) rol oynar. Bazı vakalarda tek bir primer patojen neden olabilse de, ishali buzağılarda sıklıkla ko-enfeksiyon görülür. Her bir patojenin yaygınlığı ve hastalık insidansı çiftliklerin coğrafi konumuna, çiftlik yönetimi uygulamalarına ve sürü büyüklüğüne göre değişebilir (Cho ve Yoon, 2014).

Sığır endüstrisi; sürü sağlığı ve yönetimi, hayvan tesisleri ve bakımı, besleme ve beslenme, biyo-farmasötiklerin zamanında kullanımı ile büyük ilerlemeler göstermiş olsa da, buzağı ishali çok faktörlü yapısı nedeniyle hala önemli bir sorundur (Cho ve Yoon, 2014).

Bulaşıcı Etiyolojiler

Buzağı ishaline çok sayıda enfeksiyöz etken karışmıştır. Sığır yetiştiricileri ve sığır üreticileri birçok enterik patojenin farkındadırlar çünkü bu birincil etkenlerin buzağı ishaline karıştığı onlarca yıldır bilinmektedir. On farklı enterik patojen ya majör (BRV, BCoV, BVDV, *Salmonella* spp, *E. coli*, *C. perfringens* ve *C. parvum*) ya da yeni ortaya çıkan (bovine caliciviruses ve BToV) patojenler olarak kabul edilmektedir. Daha yeni bulgular da dahil olmak üzere farklı enterik patojenlerin (virüsler, bakteriler ve protozoa) özellikleri aşağıda kısaca açıklanmaktadır (Cho ve Yoon, 2014).

Virüsler

Sığır rotavirüsü, buzağı ishalinin birincil etiyolojik ajanıdır. Virüs, *Reoviridae* ailesi içinde *Rotavirüs* cinsine aittir. Rotavirüs zarfsız bir viriondur. 11 çift sarmallı RNA segmentine sahiptir ve ısı ile geniş bir pH aralığında çok kararlıdır (Fenner ve diğerleri, 2011). Virüsün kapsid proteininin antijenik ve genetik benzerliklerine dayanan yedi serogrubu vardır (Steele ve diğerleri, 2004). Evcil hayvanlarda rotaviral enfeksiyonun başlıca nedeni A grubu rotavirüslerdir (Steele ve diğerleri, 2004). BRV'lerin çoğu (%95) A grubuna aittir, ancak saha vakalarında B ve C grubu rotavirüsler de tespit edilmiştir (Ghosh ve diğerleri, 2007, Tsunemitsu ve diğerleri, 1992).

Sığır rotavirüsü genellikle 1 ila 2 haftalık buzağılarda ishale neden olur. Virüsün çok kısa bir inkübasyon süresi (12~24 saat) vardır ve etkilenen buzağılarda perakut ishale neden olur (Steele ve diğerleri, 2004). Buzağılar enfekte olduktan sonra, 5-7 gün boyunca virüsü dışkı yoluyla saçarlar ve diğer buzağılara bulaştırırlar. Virüs, ince bağırsak villuslarının epitel hücrelerinin sitoplazmasında çoğalır. Villuslardaki olgun enterositlerin yıkımı, hasarlı hücrelerden gelen vazoaktif bileşenlerin enterik sinir sistemini aktive etmesi ve viral bir enterotoksinin salgılanması maldigestif/malabsorptif ishale neden olabilir. Viral enfeksiyon villus atrofisine neden olur ve genellikle ince bağırsağın kaudal kısmını etkiler (Martella ve diğerleri, 2010).

Sığır *koronavirüsü*, pozitif anlamda zarflı bir virüstür, tek sarmallı RNA genomuna sahiptir (27-32kb). Sığır koronavirüsü *Betacoronavirus* ailesinin bir üyesidir (Decaro ve diğerleri, 2008). Enfeksiyon sığırlarda üç farklı klinik bulguyla ortaya çıkabilir: a) 1-2 haftalık buzağılarda ishal; b) yetişkinlerde kanlı ishal ile kış dizanterisi; ve c) her yaştaki sığırlarda

solunum yolu hastalıkları (Cho ve diğerleri, 2001, Liu ve diğerleri, 2006). Viral enfeksiyon ince bağırsakta başlar ve genellikle tüm ince bağırsak ve kolon boyunca yayılır. Mikroskopik olarak, etkilenen ince bağırsağın villusları ve kolon kriptleri atrofik hale gelir ve lamina propria nekrotik hale gelir. Başlangıçta, virüsün S proteini ve hemaglutinin- esteraz proteini bağırsak epitel hücrelerine bağlanır ve kaynaşır. (Schultze ve diğerleri, 1991). Virüs enterositlerde çoğalır ve yavru virüsler normal bir salgı mekanizması ve hücre lizisi yoluyla salınır. Olgun villöz epitel hücreleri virüsün birincil hedefidir, ancak kript enterositler de etkilenir. Etkilenen hayvanlardaki klinik belirtiler, virüsün kript enterositlerine verdiği hasar nedeniyle genellikle daha uzun sürelidir (Cho ve Yoon, 2014).

Bovine viral diarrhoea virus, zarflı, pozitif anlamlı, tek sarmallı bir RNA virüsüdür ve Flaviviridae familyasındaki Pestivirus cinsinin bir üyesidir (Flores ve diğerleri, 2002). Cins içerisinde yer alan üç tür bulunmaktadır: BVDV, border disease virus ve classic swine fever virüs. BVDV enfeksiyonunun klinik bulguları konağın bağışıklık durumuna, gebelik ve gebelik süresine ve diğer patojenlerle birlikte enfeksiyonun durumuna bağlı subklinik ya da ölümcül hastalık seyri gösterebilir. Enfekte hayvanların çoğunda düşük dereceli ateş, lökopeni, anoreksi ve süt üretiminde azalma gibi hafif klinik belirtiler görülür. Akut BVD enfeksiyonu ishal, pireksi, depresyon, anoreksi, süt üretiminde azalma, hemorajik sendrom, oral ülserasyonlar ve lenfopeni / lökopeni ile karakterizedir (Baker, 1995). Bağışıklığı baskılanmış sığırlar, diğer patojenlerle eş zamanlı enfeksiyon nedeniyle diğer hastalıklara karşı duyarlı hale gelir. Hayvanların çoğu sonunda virüsü temizleyip hastalıktan kurtulsa da, bazı enfekte sığırlar zaman zaman geçici olarak tespit edilebilir vireminin periyodik olarak ortaya çıkmasıyla virüsü uzun süre taşır. Buzağılar gebeliğin 45-125 günü boyunca sitopatik olmayan bir BVDV' ye maruz kalırlarsa, fetüs bağışıklık sistemi yeterli olmadığından buzağuların çoğu zayıf doğar ve diğer patojenlere karşı duyarlı hale gelir. BVDV iki ana yolla buzağı ishale neden olabilir: 1) enterositlerde birincil hasar ve ko-enfeksiyona yatkınlıkla sonuçlanan kalıcı enfeksiyon veya 2) kript enterositlerde replikasyon ve ishale katkıda bulunan lezyon oluşumu ile geçici enfeksiyon.

Bovine torovirus zarflı, pozitif sarmallı Nidovirales takımında, Coronaviridae ailesinde, Torovirus cinsine ait (Koopmans ve Horzinek, 1994) at torovirüsü, domuz torovirüsü ve insan torovirüsü ile birlikte bir RNA virüsüdür (25-30 kb). Torovirüsler, sığırlarda enfeksiyöz gastrointestinal ajanlardır ve domuz yavrularında ve çocuklarda akut enterik enfeksiyonun baskın bir nedenidir (Kroneman ve diğerleri, 1998, Lodha ve diğerleri, 2005). Sığır torovirüsleri, 3 haftadan küçük genç buzağılarda hafif ila orta şiddette ishale neden olabilir

(Hoet ve Saif, 2004). Virüsün oral veya nazal inokülasyonundan sonra, kript epiteline uzanan bağırsak villuslarının orta ve alt kısımlarındaki epitel hücreleri enfekte olur ve ince bağırsakta hücre ölümüne ve epitel deskuamasyonuna, kalın bağırsakta ise nekroza yol açar. (Fagerland ve diğerleri, 1986, Pohlenz ve diğerleri, 1984) Villöz ve kriptik enterositlerin hasar görmesi malabsorptif/maldigestif diyareye neden olur. Virüsün neden olduğu lezyonların %30 ila 50'si üst ince bağırsakta bulunur ve bu da etkilenen hayvanlardaki hafif ila orta dereceli ishali açıklayabilir (Woode ve diğerleri, 1985). BCoV'ye benzer şekilde, BToV antijeni ve viral RNA burun salgılarında tespit edilmiştir, ancak bu faktörlerin solunum yolu hastalığındaki rolü henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (Hoet ve diğerleri, 2002).

Sığır norovirüsü (BNoV), Caliciviridae ailesindeki Norovirüs cinsine ait zarfsız, tek sarmallı pozitif anlamlı bir RNA virüsüdür (7.4~8.3 kb) [20]. NoV'nin türler arası bulaşma olasılığı, gnotobiyotik domuzların bir insan NoV suşu ile enfekte olduğu ve bu virüsün dünya çapında zoonotik potansiyeli konusunda endişe uyandıran bir çalışma ile gösterilmiştir (Cheetham ve diğerleri, 2006). Bu patojenlerin sığır, domuz, köpek ve vizon gibi hayvanlarda da gastroenterik hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Scipioni ve diğerleri, 2008). Araştırmacılar virüsün ince bağırsağın epitel hücrelerini enfekte ettiğini ve villöz atrofiye (jejunum ve ileumda) neden olarak virüsün dökülmesiyle birlikte ishale yol açtığını göstermiştir. Klinik olarak sağlıklı sığırların dışkılarında da BNoV tespit edildiği bildirilmiştir ve bu durum BNoV'nin klinik önemi hakkında soru işaretleri yaratmaktadır.

Nebovirüsler, Caliciviridae familyasında yeni kurulan Nebovirüs cinsine aittir (Carstens, 2010). İshalli buzağılarda bildirilen Nebovirüs prevalansı, coğrafi konuma bağlı olarak %7 ila %28,0 arasında değişmektedir (Cho ve Yoon, 2014). Zoonotik bulaşmaya dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır. Yeni bir genotipin tanımlanmasıyla birlikte Nebovirüsler arasında genetik çeşitlilik olduğu bildirilmiştir (Kaplon ve diğerleri, 2011). BNoV'lara benzer şekilde, Nebovirüs'ün neden olduğu lezyonlar, gnotobiyotik buzağılar virüsle karşı karşıya kaldığında villus atrofi, villus enterosit kaybı ve kript hiperplazisi ile birlikte esas olarak jejunum ve ileumda görülür (Hall ve diğerleri, 1984, Smiley ve diğerleri, 2002).

Bakteriler

Salmonella enterica çeşitli konakçılarda gastrointestinal sistemde kolonize olur. Sığırlarda salmonelloza neden olan en yaygın etiyolojik ajanlardır *S. enterica serovar Typhimurium* (*S. typhimurium*) ve serovar *Dublin* (*S. dublin*) olarak bildirilir (Hughes ve

diğerleri, 1971, Sojka ve diğerleri, 1977). *S. typhimurium*, ABD'de buzağuları etkileyen en yaygın serotiptir (Rothenbacher, 1965).

Salmonella enfeksiyonu, çok çeşitli klinik semptomlara sahiptir. Akut ishal en sık *S. typhimurium* ile, sistemik hastalık durumu ise *S. dublin* ile ilişkilidir. Üç haftalıktan küçük buzağular genellikle Salmonella ile enfekte olur. Enfekte sığırlar, gıda kaynaklı yollarla veya doğrudan temas yoluyla zoonoz kaynağı olarak hizmet edebilir (Mead ve diğerleri, 1999). Salmonella virülansının altında yatan temel mekanizma, bağırsak mukozasını tahrip etme, lenfoid dokularda çoğalma ve konak savunma sistemlerinden korunarak sistemik hastalığa yol açabilir. Salmonella patogenezi için organizmanın bağırsak epitel hücrelerini istila edebilmesi, makrofajlar içinde hayatta kalabilmesi ve enteropatojeniteye neden olabilmesi gerekmektedir (Tsolis ve diğerleri, 1999). Salmonellozun klinik görünümü, fibrin ve kan varlığıyla birlikte sulu ve mukoid ishal ile karakterizedir (Fossler ve diğerleri, 2005). Salmonella hem yetişkin sığırlarda hem de buzağularda ishale neden olabilese de, enfeksiyon 10 günlük ila 3 aylık buzağularda çok daha yaygındır ve genellikle ciddi semptomlara neden olur (Fossler ve diğerleri, 2005).

Escherichia coli virülans yapısına göre altı farklı grupta sınıflandırılabilir: enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), shiga toksini üreten *E. coli*, enteropatojenik *E. coli*, enteroinvazif *E. coli*, enteroagresif *E. coli* ve enterohaemorajik *E. coli* (Kaper ve diğerleri, 2004, Nataro ve Kaper, 1998). Bu bakteriler arasında yeni doğan ishalinin en yaygın nedeni, K99 (F5) yapışma antijeni ve ısıya dayanıklı enterotoksin üreten ETEC suşlarıdır (Nataro ve Kaper, 1998). Tanı yalnızca *E. coli* K99+ 'a odaklanırsa, genellikle histopatoloji ile tanımlanan diğer *E. coli* patojen gruplarının gözden kaçabileceği unutulmamalıdır. Yeni doğan buzağular ETEC enfeksiyonuna en çok doğumdan sonraki ilk 4 gün boyunca duyarlıdır ve enfekte olmaları halinde sulu ishal geliştirirler (Foster ve Smith, 2009). Etkenin alınmasını takiben, ETEC bağırsak epiteline geçer ve bağırsak villuslarının enterositlerinde çoğalır. İnce bağırsağın distal kısmı, düşük pH (6,5'ten az) nedeniyle ETEC kolonizasyonu için en uygun ortamı sağlar. Enfekte hücrelerin kaybına bağlı villöz atrofi ve laminer propriyada oluşan hasar ince bağırsakta yaygın olarak gözlenir. Bakteriler tutunmak için K99 antijenini eksprese eder. Bağırsak epitelinin kolonizasyonundan sonra, ısıya dayanıklı toksin ETEC tarafından indüklenen üretim, bağırsağa klorür salgılanmasının yukarı regülasyonuna yol açar. Bu durum ozmotik olarak suyu bağırsak lümenine çeker ve buzağularda salgısal ishalin gelişmesine yol açar (Francis ve diğerleri, 1989).

Clostridium perfringens, memelilerde ve kuşlarda çok çeşitli hastalıklara neden olan Gram-pozitif, spor oluşturan anaerobik bir bakteridir (Van Immerseel ve diğerleri, 2004). Bu mikroorganizmalar, dört ana toksinin üretimine dayalı olarak beş toksin tipine (A, B, C, D ve E) ayrılabilir toksinler: alfa (α), beta (β), epsilon (ϵ) ve iota (ι) (Petit ve diğerleri, 1999). A tipi suşlar tek başına α toksini üretirken, B tipi suşlar α , β ve ϵ toksinlerini; C tipi suşlar α ve β toksinlerini; D tipi suşlar α ve ϵ toksinlerini; E tipi suşlar ise α ve ι toksinlerini üretmektedir. Bu gruplar arasında tip C sıklıkla birlikte rapor edilmiştir ancak BRV, BCoV, E. coli, *Salmonella* spp. ve *C. parvum* gibi diğer bazı enterik patojenler kadar yaygın değildir. α toksini ana öldürücü toksindir ve membran fosfolipidlerinin hidrolizi yoluyla hücre lizisine neden olur (Pérez ve diğerleri, 1998, Songer, 1997). β toksini tripsine oldukça duyarlıdır ve mukozal nekrozu indükler (Petit ve diğerleri, 1999). ϵ toksini evcil hayvanlarda ölümcül enterotoksemiye neden olur (Petit ve diğerleri, 1999). Enterotoksin, epitelyal sıkı bağlantı proteini üzerindeki etkileri nedeniyle ishale ve bağırsak kramplarına neden olur (McClane, 2001). Tüm *C. perfringens* türleri tarafından üretilen Beta-2 toksininin yakın zamanda enterotoksin ile sinerjik olarak işlev gördüğü öne sürülmüştür (Gurjar ve diğerleri, 2008).

Bakterinin çevrede her yerde bulunması nedeniyle evcil hayvanların çoğu *C. perfringens*'in tüm türlerine karşı hassastır. Yeni doğan buzağuların gastrointestinal sisteminde proteolitik enzim (örn. tripsin) düşük seviyede üretildiği için *C. perfringens* tarafından kolayca enfekte edilebilirler. Bu bakteriden etkilenen hayvanlarda görülen klinik belirtilerden sorumlu ana virülans faktörü olarak *C. perfringens* tip C'nin β toksini kabul edildiler. Bu toksin enfekte hayvanlardaki bağırsak lezyonları, yaygın veya çok odaklı hemorajik nekrotizan enterit ve kanlı sıvı distansiyonu ile ilişkilendirilir (Barker ve diğerleri, 1993).

Protozoa

Cryptosporidium parvum, insanlarda ve neonatal buzağularda gastrointestinal sistem hastalıklarıyla sıklıkla ilişkilendirilen bir protozoan parazittir. *C. parvum* ile enfekte buzağular asemptomatik olabilir veya dehidrasyonla birlikte şiddetli ishal geliştirebilir (Fayer ve diğerleri, 1998, Fayer ve diğerleri, 2009). *Cryptosporidium*'un yaklaşık 24 türü bulunmaktadır (Fayer, 2010). Sığırlar yaygın olarak *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* ve *C. andersoni* ile enfekte olur. *C. parvum* buzağı ishalinin birincil nedeni olarak kabul edilir ve potansiyel bir zoonotik ajandır (Chalmers ve diğerleri, 2011).

C. parvum'un enterositlere invazyonu sonrası mikrovillus kaybı ve kolumnar epitel hücrelerinin kısalması gibi bağırsak hücre yapılarındaki değişiklikler, enfekte hayvanlarda ciddi villöz atrofiye yol açar (Heine ve diğerleri, 1984). Bağırsak epitelinde hasar oluşumu süt emilim bozukluğu ve fermantasyonu nedeniyle buzağılarda uzun süreli yetersiz beslenmeye ve büyüme oranlarının düşmesine neden olur. Bu da sığır işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Nydam ve Mohammed, 2005).

2.2 Trombositler

Kanamamanın kontrolü (hemostaz) yaşamın sürdürülmesi için esastır. Hemostaz, bir trombosit tıkaçının (birincil hemostaz) gelişmesi ve ardından stabil bir fibrin pıhtısının (ikincil hemostaz) birikmesiyle sonuçlanan karmaşık bir dizi yol aracılığıyla gerçekleşir. Trombositler, birincil hemostazda ve damar bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynayan disk şeklinde, anükleat sitoplazmik parçalardır (Barger, 2003; Drachman, 2004).

Primer hemostazın aynı anda gerçekleşen üç ana bileşeni vardır: adezyon, aktivasyon ve agregasyon (Kelley, 2013). Primer hemostaza ilgili aşağıda kısa bir genel bakış sunulmaktadır.

Damar hasarını takiben, dolaşımdaki trombositler açıkta kalan subendotelial kolajen ve membran tarafından eksprese edilen doku faktörü ile temas eder (Tvedten, 2012). Daha sonra, glikoprotein (GP), VWF, trombositlerin subendotelial kolajene ve birbirlerine yapışmasına yardımcı olur (Tvedten, 2012). Ayrıca trombositlerin integrin $\alpha 2\beta 1$ ve GP VI reseptörleri aracılığıyla subendotelial kolajene doğrudan bağlanması söz konusudur (Brass ve diğerleri, 2013; Kelley, 2013).

Trombositlerin subendotelial kolajene yapışması trombosit aktivasyonunu başlatır (Kamath ve diğerleri, 2001). Trombosit yüzey kolajen reseptörü GP IIB-IIIa'nın aktivasyonu, trombosit şeklinin diskten küreye değişmesi ve yalancı ayak oluşumu ile alfa ve yoğun trombosit granüllerinden depolanmış içeriklerin salınımı söz konusudur. Aktivasyonla birlikte trombositler tromboksan A2 sentezler ve salgılar. Tromboksan A2 ile alfa ve yoğun granül içerikleri büyüyen trombosit tıkaçına daha fazla trombosit çeker (Tvedten, 2012; Brass ve diğerleri, 2013). Trombosit sinyalizasyonu trombosit şekil değişikliğine aracılık ederek trombositin açıkta kalan subendotelial kolajen üzerine yayılmasını sağlar (Kelley, 2013).

Plazma VWF, fibrinojen ve fibrinin aktive GP IIB-IIIa'ya bağlanması nedeniyle trombosit agregasyonu artar (Brass ve diğerleri, 2013). Trombositlerin agregasyonu trombosit tıkaçı oluşumuna ve kanamanın kontrolüne yol açar. Fibrin pıhtısı oluşum sürecinin herhangi bir aşamasındaki bir anormallik hemostazın başarısız olmasına neden olabilir (Kelley, 2013).

2.2.1 Trombosit Yapısı

Trombosit yapısı dört bölüme ayrılabilir: periferik bölge, yapısal bölge, organel bölgesi ve membranöz sistem (Kelley, 2013; White, 2013). Periferik bölge en dış trombosit tabakasını oluşturur (Kelley, 2013; White, 2013). Bu bölüm, özelleşmiş proteinler ve trombosit fonksiyonuna entegre GP reseptörleri ile serpiştirilmiş bir fosfolipid çift tabakadan oluşan dış trombosit membranını içerir (Boudreaux, 2008). Trombositin yapısal bölgesi periferik bölgenin altında yer alır ve dolaşım sırasında sakın trombositlerin disk şeklindeki formunu korumak ve trombosit aktivasyonu sırasında trombosit şeklini değiştirmek için gerekli yapıları içerir (Kelley, 2013; White, 2013). Genel olarak, yapısal bölge hem mikrotübülleri hem de bir hücre iskeleti ağını içerir. Aktin ve miyozin dahil olmak üzere hücre iskeleti ağı, mikrotübül kasılmasından (ve dolayısıyla trombosit şekil değişikliği ve proplatelet oluşumuna yardımcı olur), granül hareketi ve salınımından ve trombosit aktivasyonu sırasında trombüsün geri çekilmesinden sorumludur (Kelley, 2013).

Trombosit sitoplazması içinde yapısal bölgenin altında yer alan organel bölgesi mitokondri, glikojen depoları ve depolama granülleri (üç ana tipi vardır: alfa, yoğun ve lizozomal) içerir (Boudreaux, 2008; Kelley, 2013; White, 2013). Alfa granülleri en büyük ve çok sayıda olanlardır ve β -tromboglobulin, trombosit faktörü 4, fibrinojen ve VWF gibi proteinleri içerirler (Boudreaux, 2008). Dördüncü trombosit bölgesi, kanaliküler ve yoğun tübüler sistemden oluşan membranöz sistemdir (Kelley, 2013; White, 2013). Kanaliküler sistem, trombosit yüzeyine açılan ve trombosit aktivasyonu sırasında trombosit granül içeriğinin dışarı salınmasına izin veren bir dizi birbirine bağlı kanaldan oluşur. Düz endoplazmik retikulumdan türeyen yoğun tübüler sistem, trombosit prostaglandin sentezinden sorumludur ve bir kalsiyum depolama bölgesidir (Boudreaux, 2008).

2.2.2 Trombosit Üretimi

Olgun megakaryositler, proplatelet oluşum süreci yoluyla trombosit üretir (Kelley, 2013). Proplatelet oluşumu başlamadan önce endomitozis dahil olmak üzere megakaryosit olgunlaşması ve demarkasyon sisteminin oluşması gerekir. İkincisi, trombosit sisternalarını oluşturmak için megakaryosit plazma membranının içe katlanmasını içerir (Boudreaux, 2010c). Sonunda megakaryosit sitoplazması proplatelet süreçlerinden oluşan bir kütleyle andırır (Italiano ve Hartwig, 2013). Olgun megakaryositler, proplatelet süreçlerinin ilik sinüzoidlerine ulaşmasına izin veren endotelyal hücrelerin yakınında bulunur (Boudreaux, 2010b). Proplateletler kan dolaşımına salınır ve ardından proplatelet uçlarından tek tek trombositler serbest kalır (Italiano ve Hartwig, 2013). Primer hemostaz, yeterli bir dolaşımdaki trombosit kütleleri gerektirir (Kelley, 2013). Trombosit kütleleri, yalnızca trombositlerden oluşan kan hacmi olarak tanımlanır. Trombosit kütleleri, mevcut trombopoietin (TPO) reseptörlerinin sayısının dolaylı bir ölçüsüdür. Trombosit kütleleri öncelikle TPO/TPO-reseptör sistemi tarafından korunur (Kuter, 1996; Kelley, 2013). Trombopoietin öncelikle karaciğer ve daha az oranda böbrek tarafından üretilen bir sitokindir (Boudreaux, 2010b). Reseptörleri hem megakaryositler hem de trombositler üzerinde bulunur. TPO megakaryositlere bağlandığında trombopoiez meydana gelir. Sağlıklı durumda trombosit sayıları dar bir aralıkta tutulur, TPO' nun çoğu trombositler tarafından parçalanır ve düşük bazal konsantrasyonlar trombosit üretimini sürdürür (Kelley, 2013). Trombosit kütlelerinde azalma ile (trombosit sayısında azalma veya trombosit TPO reseptörlerinin sayısında/işlevinde azalma ile ortaya çıkar), TPO konsantrasyonunda bir artış olur ve bunun sonucunda megakaryosit stimülasyonu ve trombopoiez artar (Kuter, 1996; Kelley, 2013).

2.2.3 Trombositopeni

Periferik dolaşımda trombosit sayısının düşük olması olarak tanımlanan trombositopeni, azalmış veya kusurlu trombosit üretimi, artmış trombosit tüketimi veya kaybı, artmış trombosit yıkımı veya anormal dağılım (sekestrasyon) ile ortaya çıkar. Azalmış veya kusurlu trombosit üretimi, sitotoksikiteye veya kendine özgü bir reaksiyona neden olan ilaç, kimyasal veya toksin maruziyeti; hücre ölümüne ve kemik iliği baskılanmasına neden olan ışınlanma; viral veya

riketsiyal enfeksiyonlar; neoplazi veya fibroze bağı miyelopthisis; miyelonekroz veya genetik β -tubulin defektlerinden kaynaklanabilir (Boudreaux, 2010b). Artan trombosit tüketimi pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu ile ilgilidir ve örneğin dissemine intravasküler pıhtılaşmada ortaya çıkabilir. Artan trombosit kaybı, geniş çaplı travma veya dış kanamadan kaynaklanabilir (Boudreaux, 2010b). Artan trombosit yıkımı en yaygın olarak immün aracılı mekanizmalar nedeniyle meydana gelir. Trombositlerin immün aracılı yıkımı primer (idiyopatik) veya enfeksiyöz ajanlar, neoplazi veya ilaç uygulamasına bağı olarak sekonderdir (Boudreaux, 2010b). Trombosit sekestrasyonu, splenomegali ile ilişkili hastalıklarda veya daha az yaygın olarak karaciğer veya kemik iliği hastalığında ortaya çıkar (Boudreaux, 2010b).

Uygun olmayan kan örneği toplama ve işleme teknikleri, *in vitro* trombosit aktivasyonuna ve trombosit agregasyonuna neden olabilir (Tvedten, 2012). Artefakt trombosit agregasyonu, trombositlerin kan örneği içinde eşit olmayan dağılımına ve tüm trombosit sayım metodolojilerinde (manuel sayım, kan yayması tahmini ve otomatik sayım) analiz öncesi hataya neden olabilir (Tvedten, 2012). Trombosit sayısında artefakt bir azalma, yani psödotrombositopeni ortaya çıkabilir (Zelmanovic ve Hetherington, 1998). Trombosit aktivasyonu, numune alımı sırasında küçük periferik venlerden veya kan akışı azalmış venlerden kan örneği alınması, küçük delikli iğneler veya aşırı şırınga basıncı kullanılarak kan örneği alınması, karıştırma sırasında numunelerin nazikçe ters çevrilmesi yerine aşırı çalkalanması, kan alma tüplerinin aşırı doldurulması veya numunenin antikoagülan ile yetersiz karıştırılması, uzun süreli kan saklama süresi nedenleriyle de meydana gelebilir (Pewarchuk ve diğerleri, 1992). Buna ek olarak, kan belirli antikoagülanlarla temas ettiğinde bazı bireylerde *in vitro* trombosit agregasyonu meydana gelir (Boudreaux, 2010b). Etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA) bağımlı psödotrombositopeni insanlarda iyi tanımlanmıştır (Bizzaro, 1995), köpek (Wills ve Wardrop, 2008), at (Hinchcliff ve diğerleri, 1993) ve minyatür domuzda (Ragan, 1972) nadirdir. İnsanlarda, EDTA ile indüklenen psödotrombositopeni, trombositlerin otoantikör aracılı aglütinasyonunu içerir (Casonato ve diğerleri, 1994). EDTA kalsiyum şelasyonunu indükler ve trombositler üzerindeki GP IIb/IIIa'da konformasyonel bir değişikliğe neden olarak, daha sonra anti-trombosit antikör bağlanması ve trombosit agregasyonu ile kriptik bir antijenin açığa çıkmasına yol açabilir (Casonato ve diğerleri, 1994; Fiorin ve diğerleri, 1998). Geleneksel olarak, trombosit kümelenmesinin sitrat da dahil olmak üzere diğer antikoagülanlarla nadiren meydana geldiğine inanılır (Shreiner ve Bell, 1973; Önder ve diğerleri, 1980; Payne 1985). Sitratlı insan kanı örneklerinde EDTA ile antikoagüle edilmiş örneklere göre daha düşük trombosit sayıları (artan trombosit agregasyonu nedeniyle)

bildirilmiştir (Macey ve diğerleri, 1999; Ahnadi ve diğerleri, 2004). Benzer şekilde, neoplazili 50 köpekte ortanca trombosit sayısının, sitrat içeren örneklerde trombosit agregasyonunun daha sık meydana gelmesi nedeniyle, EDTA-antikoagüle kana kıyasla sitratta önemli ölçüde daha düşük olduğunu bildirilmiştir (Stokol ve Erb, 2007).

2.2.4 Trombosit Sayım Yöntemleri

Trombositleri saymak için dört ana laboratuvar yöntemi vardır: 1) mikroskopi kullanılarak manuel yöntemler, 2) a) empedans analizi ve b) optik ışık saçılımı/floresan analizi dahil olmak üzere ticari analizörler kullanılarak otomatik yöntemler, 3) doğrudan ölçülen plateletcrit (PCT) (trombosit sayısının türetildiği) (Tvedten ve diğerleri, 2008; Tvedten ve diğerleri, 2012) ve 4) akış sitometrisi ile immünoplatelet sayımı (Harrison ve Briggs, 2013).

Trombosit sayısını değerlendirmenin manuel yöntemleri manuel sayım ve mikroskopi ile kan yayması tahminidir (Briggs ve diğerleri, 2007). Yakın zamana kadar insanlarda elle sayım altın standart olarak kabul edilmekteydi (Lancé ve diğerleri, 2012). Bu yöntemde, belirli bir sıvı hacmindeki trombositlerin sayısını saymak için (eritrosit lizis ajanları eklendikten sonra) mikroskop sahnesinin üzerine yerleştirilmiş bir hemositometre kullanılır ve sıvıdaki trombosit konsantrasyonunun hesaplanması sağlanır (Tvedten, 2012). Ancak manuel sayım zahmetli ve subjektif bir işlemdir ve yüksek derecede kesin değildir. Gözlemciler arası varyasyon katsayısının tipik olarak yaklaşık %10-25 olduğu bildirilmektedir (Harrison ve diğerleri, 2000; Briggs ve diğerleri, 2007). İkinci manuel yöntem olan kan yayması tahmini, boyanmış bir kan yaymasının incelenmesi sırasında trombosit sayılarının tahmin edilmesini içerir. Kan yayması tahminleri, manuel sayımlarla karşılaştırıldığında, nispeten basit ve hızlı bir şekilde elde edilir ve trombosit sayılarının yaklaşık bir tahminini sağlar (Tvedten, 2012).

Otomatik hücre sayımı empedans ya da optik metodolojiye dayanmaktadır. Empedans prensibi (veya Coulter prensibi) 1950'lerde kan sayımını dönüştürmüş ve 1970'lerin sonunda empedans tabanlı otomatik trombosit sayımları ticari olarak kullanılabilir hale gelmiştir (Harrison ve Briggs, 2013). Günümüzde birçok modern cihazda yaygın bir yöntem olmaya devam etmektedir ancak yerini büyük ölçüde optik sayaçlara bırakmıştır. Optik tabanlı hücre sayım yöntemleri 1970'lerde ortaya çıkmıştır (Lancé ve diğerleri, 2012). Optik sayaçlar sadece boyutu (hacmi) değil, aynı zamanda farklı açılardaki ışık saçılımının (kırılma indisi) veya hücre

floresan yoğunluğunun değerlendirilmesine dayalı olarak hücrelerin iç karmaşıklığını da ölçer. Bu, hücrelerin yalnızca hacme dayalı olarak ayırt edilmesiyle ilişkili analitik hatayı azaltmıştır (Moritz ve Becker, 2010).

2.2.5 Plateletcrit (PCT)

Trombosit sayısı PCT' den de elde edilebilir. PCT, yalnızca plateletlerden oluşan kan hacmini ifade eder ve yüzde olarak raporlanır (Tvedten, 2012). Önemli olarak, PCT fizyolojik olarak en uygun trombosit parametresidir (Northern ve Tvedten, 1992; Butkiewicz ve diğerleri, 2006) çünkü trombosit fonksiyonu trombosit sayısından ziyade toplam trombosit kütesine bağlıdır (Thompson ve Jakubowski 1988; Smedile ve diğerleri, 1997). Plateletcrit, doğrudan yöntem (trombosit sayısının türetildiği) veya hesaplanan yöntem olmak üzere iki farklı yöntemle ölçülür. Doğrudan yöntemle, Kantitatif Buffy Coat analizi yapmak için IDEXX VetAutoread Hematoloji analizörü (IDEXX Laboratories, Westbrook, ME, ABD) kullanılabilir. PCT, kanla doldurulan ve santrifüj edilen Kantitatif Buffy Coat tüplerindeki trombosit tabakasının genişliğinden doğrudan ölçülür (hematokritin [HCT] değerlendirilmesine benzer şekilde). Hesaplanan yöntemle, Advia 120/2120 trombosit sayısı ve ortalama trombosit hacminin [MPV] çarpımından elde edilen hesaplanmış bir PCT elde edilebilir (Tvedten ve diğerleri, 2012). Advia 120/2120 tarafından rapor edilen PCT yüzde olarak ifade edilir. Öte yandan Sysmex XT-2000iV, MPV'yi (ve dolayısıyla PCT'yi) belirlemek için empedans kanalını kullanır ve bu nedenle makrotrombositopenisi olan vakalarda doğru bir PCT sağlayamaz (Lilliehöök ve Tvedten 2009). Advia 120/2120, yaygın olarak bildirilen trombosit sayımına ek olarak MPV, trombosit hacim dağılım genişliği (PDWc), MPC konsantrasyonu, ortalama trombosit kütesi (MPM), trombosit kütle dağılım genişliği (PMDW) ve trombosit kümesi ve büyük trombosit endeksleri gibi ek trombosit endeksleri sağlar (Tvedten, 2012). Bu indekslerden birkaçının trombosit aktivasyonunun belirteçleri olduğu öne sürülmüştür. Aktivasyon sırasında trombositler sıvı alımına bağlı olarak şişer ve degranüle olur (Macey ve diğerleri, 1999), bu da MPV'de artışa, MPC konsantrasyonunda ve MPM'de düşüşe neden olur (Park ve diğerleri, 2002). Buna her bir indeksin (PDWc ve PMDW) dağılım genişliğinde bir artış eşlik edebilir (Chapman ve diğerleri, 2003; Stokol ve Erb 2007).

2.2.6 Ortalama Trombosit Hacmi (MPV)

Ortalama trombosit hacmi, trombositlerin ortalama hacmini ifade eder (Bommer ve diğeri, 2008). Trombosit boyutundaki bir artış gerçek veya artefakt olabilir: Trombosit aktivasyonu ile MPV'de bir artış meydana gelebilir (Park ve diğeri, 2002). Bununla birlikte, MPV çeşitli başka nedenlerle de artabilir. Irka bağımlı makrotrombositozis artmış bir MPV ile ilişkilidir (Tvedten ve diğeri, 2012). Ayrıca, trombopoezin artışıyla (örneğin trombosit tüketiminin/kaybının veya trombosit yıkımının arttığı durumlarda) MPV'de de artış meydana gelir (Brown ve diğeri, 1994; Wiwanitkit 2004; Boudreaux 2010b). Antikoagülan türü, saklama süresi, sıcaklık ve ozmotik ortamın da trombosit boyutunu ve şeklini etkilediği bildirilmektedir (Boudreaux, 2010b). Trombosit boyutunun değerlendirilmesi için yalnızca sitratlı köpek kanı örneklerinin uygun olduğu, çünkü EDTA'ya maruz kalan trombositlerin ışık mikroskobu ile değerlendirildiğinde boyutlarında artefakt bir artış olduğu öne sürülmüştür (Handagama ve diğeri, 1986). Daha sonra 69 sağlıklı köpekte yapılan bir çalışma, 22 köpeğin hem EDTA'lı hem de sitratlı örneklerinde makrotrombositozun (mikroskopik incelemede trombositlerin %30'undan fazlasının en az 3 µm çapa sahip olması olarak tanımlanmıştır) tutarlı bir şekilde tespit edildiğini gösterse de, her iki örnekte MPV arasındaki uyum değerlendirilmemiştir (Cowan ve diğeri, 2004).

2.2.7 Trombosit Hacim Dağılım Genişliği (PDWc)

Trombosit hacmi dağılım genişliği, trombosit boyutundaki varyasyonun bir göstergesini sağlar (Russell, 2010). PDWc'yi hesaplamak için trombosit hacminin standart sapması MPV'ye bölünür ve 100 ile çarpılır (Brummitt ve Barker, 2000). İnsanlarda PDWc, yıkıcı trombositopeni (immün aracılı trombositopeni) ve hipoprodüktif trombositopeni (aplastik anemi) arasında ayırım yapmak için kullanılmıştır; bunlar için sırasıyla PDWc'de artış ve azalma vardır (Kaito ve diğeri, 2005). PDWc ve MPV'nin köpeklerde potansiyel kullanımına rağmen, şu anda veteriner hekimlik kliniğinde rutin olarak kullanılmamaktadır (Moritz ve diğeri, 2004), ancak bu hacim endekslerinin trombosit sayısı ile doğrusal olmayan ilişkisi nedeniyle, PDWc ve MPV'deki değişikliklerin yorumlanması, hastanın trombosit sayısının dikkate alınmasını gerektirir (Bommer ve diğeri, 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Bu araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.10.2021 tarih ve 64583101/2021/151 sayılı iznine dayanarak gerçekleştirildi.

Çalışmada 10 sağlıklı, 50 akut ishalli olmak üzere toplamda 60 neonatal buzağı (<28 gün) kullanıldı. Proje kapsamına alınacak olan tüm buzağular hasta sahipleri bilgi onam formu ile bilgilendirilerek elde edildi.

İshalli buzağular Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Büyük Hayvan Kliniğine muayene ve tedavi amacıyla getirilen buzağulardan, sağlıklı buzağı grubu ise fakültemizde rutin bakım-yönetim koşulları altında gözetilen buzağulardan oluşturuldu.

Akut ishal (<iki gün) dışkı kıvamı, içeriği ve rengi, dışkılama sıklığı (günde dörtten fazla) ve yoğunluğu (bol sulu, mukuslu, kanlı) değerlendirilerek ortaya konuldu (Izzo ve diğerleri, 2011). Rutin klinik muayenede deri elastikiyeti, göz küresinin orbita çukurluğundaki konumu, vücudun tutuluşu, emme refleksi, vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı değerlendirildi (Izzo ve diğerleri, 2011). Vital parametreler kayıt altına alındı.

3.2 Örneklemeler ve Dışkı Analizi

Örneklemeler sağlıklı buzağularda 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde, ishalli buzağularda ise ilk tanı konulduğunda tek sefer yapıldı. Kan örnekleri *Vena jugularis*'ten antikoagulanlı (EDTA, heparin) tüplere toplam 5 ml alındı. Tam kan ve kan gazları analizleri örneklerin alınımını takiben iki saat içerisinde gerçekleştirildi. Dışkı örnekleri yeterli miktarlarda steril dışkı saklama kaplarına alındı.

İshalli buzağlarda etiyolojik değerlendirme hızlı ticari test kiti (Bovid-5 Ag, Bionote, Kore) ile immunokromatografik yöntemle *Cryptosporidium parvum*, Rotavirus, Coronavirus, *E. Coli* K99 ve *Giardia duodenalis* olmak üzere beş farklı etkene yönelik gerçekleştirildi.

3.3 Hematolojik ve Kan Gazları Analizleri

Laboratuvar analizleri kapsamında tam kan sayımı [lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (HCT), trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDWc)] ve kan gazları (pH, PCO₂, PO₂, Na, K, HCO₃, BE) analizleri gerçekleştirildi.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

Gruplarda hematolojik parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart hataları ile minimal ve maksimal değerleri belirlendi. Parametrelerin gruplarda dağılımı kontrol edilerek normal dağılım göstermeyen parametrelere dönüşüm uygulanarak normal dağılım gösteren parametreler uygun parametrik, normal dağılım göstermeyenler ise nonparametrik testlerle SPSS paket programında değerlendirildi. Sağlıklı buzağların verileri 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde yapılan analizlerin ortalaması alınarak belirlendi ve ishallerle karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

Çalışmada 10 sağlıklı, 50 akut ishallerli olmak üzere toplamda 60 Holstein ırkı neonatal buzağı (<28 gün) kullanıldı. Sağlıklı buzağılarda cinsiyet dağılımı 6 erkek, 4 dişi; akut ishallerli buzağılarda ise 24 erkek, 26 dişi olarak not edildi. Akut ishallerli buzağuların yaş ortalaması 17,6 gün olarak saptandı. Sağlıklı buzağılardan ise 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde örneklemeler yapıldı ve akut ishallerli buzağular ile veriler karşılaştırılırken bu günlerin ortalaması alındı. Çalışma kapsamında değerlendirilen 50 akut ishallerli buzağının 44'ü en az bir etken yönünden pozitif belirlendi. Neonatal buzağılarda ishale neden olan enfeksiyöz etkenler değerlendirildiğinde mono ya da koenfekte olmalarına bakılmaksızın yaygınlık sırasıyla *Cryptosporidium* spp. (n=28), Rotavirus (n=19), Coronavirus (n=14), *Giardia* spp. (n=7) ve *E. coli* K99 (n=6) tespit edildi.

Sağlıklı buzağılarda neonatal dönemde trombosit indekslerinde gerçekleşen değişiklikleri yansıtması amacıyla 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde yapılan analiz sonuçları Tablo 1'de sunuldu. Yapılan istatistiksel değerlendirmede sağlıklı buzağılarda neonatal dönem süresince trombosit indekslerindeki değişimlerin anlamlı olmadığı belirlendi.

Tablo 1. Sağlıklı buzağılarda 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde trombosit indeksleri.

| Parametre | Günler | | | | | P |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------|
| | 2 | 7 | 14 | 21 | 28 | |
| PLT (x10 ⁹ /L) | 389 ± 58 (146-763) | 358 ± 47 (135-584) | 398 ± 58 (160-680) | 420 ± 54 (168-695) | 405 ± 53 (133-706) | 0,579 |
| PCT (%) | 0,22 ± 0,03 (0,08-0,49) | 0,20 ± 0,03 (0,07-0,35) | 0,23 ± 0,03 (0,09-0,44) | 0,24 ± 0,03 (0,07-0,45) | 0,23 ± 0,03 (0,07-0,45) | 0,557 |
| MPV (fL) | 5,67 ± 0,10 (5,40-6,50) | 5,58 ± 0,12 (5,20-6,60) | 5,75 ± 0,14 (5,20-6,20) | 5,56 ± 0,14 (5,30-6,50) | 5,59 ± 0,11 (5,20-6,40) | 0,761 |
| PDWc (%) | 30,1 ± 0,9 (26,7-36,9) | 29,6 ± 0,9 (26,7-36,9) | 30,3 ± 1 (26,7-36,9) | 29,9 ± 1 (26,7-36,9) | 29,5 ± 0,9 (26,7-36,9) | 0,727 |

Akut ishalleri neonatal buzağlarda klinik vital parametrelerde T değeriindeki değışiklikler anlam ifade etmezken, P ve R sayılarının yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 2).

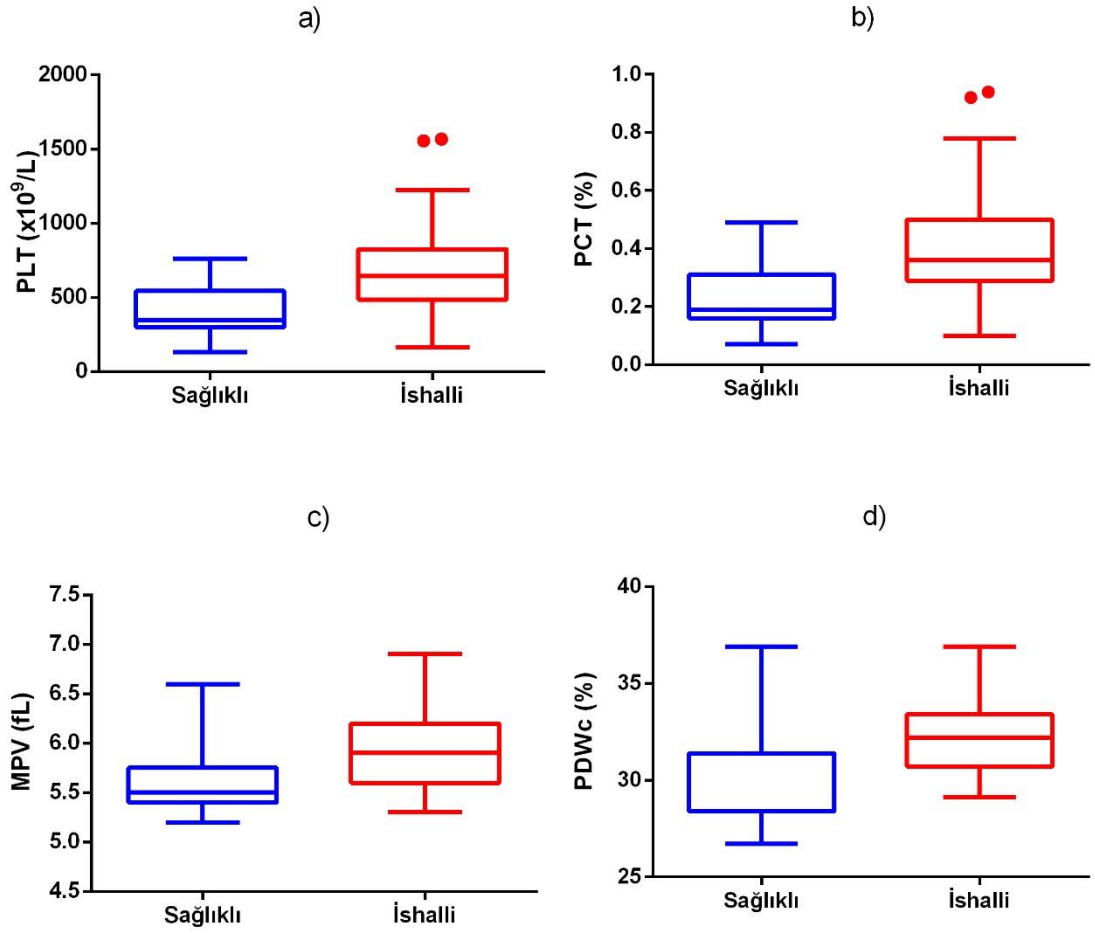
Tablo 2. Sağlıklı ve akut ishalleri neonatal buzağlarda vital parametreler.

| Parametre | Sağlıklı (n=10) | İshalleri (n=50) | P |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------|
| T (°C) | 38,77 ± 0,05 (38,0-39,5) | 38,72 ± 0,14 (34,0-40,9) | 0,144 |
| P (sayı/dk) | 111,59 ± 3,77 (69-201) | 127,90 ± 3,16 (60-180) | 0,000 |
| R (sayı/dk) | 38,85 ± 2,06 (24-92) | 49,74 ± 2,50 (12-140) | 0,000 |

Akut ishalleri neonatal buzağlarda hematolojik değeriendirilmede tüm parametrelerde anlamlı değışiklikler belirlendi. Bu kapsamda WBC ve PLT sayıları ile PCT, MPV ve PDWc değeri yüksek bulunurken, RBC sayısı ve HCT değeri düşük bulundu (Tablo 3). Sağlıklı ve akut ishalleri neonatal buzağlarda trombosit indeksi değeriilerine ilgili parametrelerdeki değışiklikler Şekil 1’de gösterildi.

Tablo 3. Sağlıklı ve akut ishalleri neonatal buzağlarda hematolojik parametreler.

| Parametre | Sağlıklı (n=10) | İshalleri (n=50) | P |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------|
| WBC (x10 ⁹ /L) | 7,92 ± 0,38 (3,2-13,1) | 10,99 ± 0,9 (1,8-59,3) | 0,010 |
| RBC (x10 ¹² /L) | 8,76 ± 0,13 (6,6-10,3) | 7,07 ± 0,19 (3,3-15,01) | 0,000 |
| HCT (%) | 28,18 ± 0,60 (18,8-34,07) | 24,64 ± 0,7 (11-50) | 0,000 |
| PLT (x10 ⁹ /L) | 396,32 ± 24,11 (133-763) | 687,92 ± 31,70 (165-1568) | 0,000 |
| PCT (%) | 0,22 ± 0,01 (0,07-0,49) | 0,40 ± 0,019 (0,10-0,94) | 0,000 |
| MPV (fL) | 5,65 ± 0,05 (5,2-6,6) | 5,94 ± 0,04 (5,3-6,9) | 0,000 |
| PDWc (%) | 29,97 ± 0,43 (26,7-36,9) | 32,28 ± 0,23 (29,1-36,9) | 0,000 |



Şekil 1. Sağlıklı ve akut ishalleri neonatal buzağlarda trombosit indeksi değerleri ile ilgili parametreler. (a) PLT sayısı, (b) PCT yüzdesi, (c) MPV değeri, (d) PDWc yüzdesi. Parametreler gruplara göre kutu ve bıyık grafiği olarak sunulmuştur. Kutular yüzde 25 ve 75'lik dilimi, bıyıklar yüzde 10 ve 90'lık dilimi gösterir. Her bir kutunun içindeki çizgi ortanca değeri gösterir. Noktalar dilim dışında kalan sonuçları temsil eder.

Kan gazları parametrelerinin karşılaştırılmasında pO₂ ve HCO₃ düzeyleri dışındaki değişiklikler anlamlı bulundu (Tablo 4). Akut ishallerde pH ve BE değerleri ile Na konsantrasyonu düşük; pCO₂ düzeyi ve K konsantrasyonu ise yüksek belirlendi.

Tablo 4. Sağlıklı ve akut ishallerde neonatal buzağlarda kan gazları parametreleri.

| Parametre | Sağlıklı (n=10) | İshallerde (n=50) | P |
|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------|
| pH (-log H⁺) | 7,42 ± 0,006 (7,33-7,57) | 7,22 ± 0,01 (6,71-7,44) | 0,000 |
| pCO₂ (mmHg) | 45,78 ± 0,78 (30,9-57,4) | 55,52 ± 1,53 (29,1-89,4) | 0,000 |
| pO₂ (mmHg) | 37,48 ± 1,31 (24,0-77,0) | 37,34 ± 2,14 (20-177) | 0,250 |
| Na (mmol/L) | 136,06 ± 0,27 (131-139) | 131,68 ± 1,04 (114-154) | 0,001 |
| K (mmol/L) | 4,44 ± 0,04 (3,66-5,35) | 4,99 ± 0,12 (2,75-8,8) | 0,000 |
| HCO₃ (mmol/L) | 28,6 ± 0,2 (23,4-32,2) | 24,8 ± 1,2 (4-47) | 0,098 |
| BE (mmol/L) | 5,35 ± 0,2 (-0,9-9,1) | -1,82 ± 1,52 (-30 - +22) | 0,003 |

5. TARTIŞMA

Trombosit indeksleri olan PLT (trombosit sayısı), MPV (ortalama trombosit hacmi), PCT (trombosit yüzdesi) ve PDWc (trombosit dağılım genişliği), hematolojik parametreler arasında önemli bir yere sahiptir ve kanın pıhtılaşma ve hemostaz süreçlerinin değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Sığırlarda trombosit indekslerinin araştırıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Bu çalışmada, sağlıklı ve akut ishalleri neonatal buzağılarda bu trombosit indekslerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçlar, sağlıklı ve akut ishalleri buzağılar arasında belirgin farklılıkların olduğunu göstermiştir.

Laboratuvar kan testleri, hayvanların genel sağlığının değerlendirilmesinde ve çeşitli hastalıkların erken teşhisinin kolaylaştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ancak modern buiatride, ekonomik kaygılar nedeniyle genellikle seçilen biyokimyasal testler yoluyla metabolik profillerin analizine odaklanılmakta, teşhis kabiliyetlerini önemli ölçüde artıracak hematolojik testlerin potansiyel faydaları göz ardı edilmektedir. Kan ve hematopoetik sistemle ilgilenen hematoloji, vücut içi homeostazdaki bozukluklara ilişkin değerli bilgiler sunar ve tanı sürecinde ve tedavi değerlendirmesinde veteriner hekimlere yardımcı olabilir (Abramowicz ve diğerleri, 2019).

Trombositler, memelilerde bulunan küçük, yuvarlak ve çekirdeksiz elementlerdir. Kemik iliğinde megakaryositlerin sitoplazması aracılığıyla oluşurlar. Sığırlarda trombositler diğer hayvan türlerine kıyasla nispeten daha küçüktür ve ortalama hacimleri 4,0-4,8 femtolitredir. Bu trombositlerin periferik kanda yaklaşık 10 günlük bir ömrü vardır. Trombositlerin yaklaşık %30'u dalakta depolanırken, karaciğer ve kemik iliğinde de ilave depolama gerçekleşir. Epinefrin tarafından uyarıldıklarında, trombositler bu depolama bölgelerinden kan dolaşımına salınmaktadırlar (Roland ve diğerleri, 2014). Trombositlerin ana işlevi kan hemostazına katılmalarıdır. Buzağılar genellikle yetişkinlere kıyasla daha yüksek trombosit sayısına sahiptir. Çalışma kapsamında sağlıklı buzağılarda yapılan izlemelerde, trombosit indekslerinde neonatal dönem süresince istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Elde edilen sonuçlar, sağlıklı buzağuların trombositlerinin stabil değerlerde olabileceğini göstermektedir. Trombositlerin kanın pıhtılaşma süreçlerinde aktif rol oynadığı ve vücutta homeostazın sağlanmasında kritik bir işleve sahip olduğu bilinmektedir. Sağlıklı buzağuların trombosit indekslerindeki sabitlik, bu süreçlerin düzenli ve sağlıklı bir şekilde

işlediğine işaret edebilir. Bununla birlikte daha önce gerçekleştirilen bazı çalışmalarda yaşamın ilk iki haftası izlendiğinde ilk beş günlük yaştaki buzağılardan alınan sayımlarda, beş günden büyük buzağılardan alınanlara kıyasla daha düşük trombosit sayıları gözlenmiştir. Yaşamın ilk haftası içinde trombosit sayısında artış olabileceği önce başka araştırmacılar tarafından da tanımlanmıştır (Brun-Hansen ve diğerleri, 2006; Egli ve Blum 2010; Jezek ve diğerleri, 2011; Mohri ve diğerleri, 2007). Bu çalışmada 2. ve 7. günlerdeki trombosit sayıları daha düşük belirlenmekle birlikte diğer günlerle olan farklılık istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Bu durum çalışmamızda takip edilen sağlıklı buzağı sayısının görece az olmasıyla açıklanabilir.

Trombositoz veya artmış PLT sayısı, trombositleri dalaktan dolaşıma salan epinefrin kaynaklı dalak kontraksiyonunun bir sonucu olarak fizyolojik olarak ortaya çıkabilir. Temel veya birincil trombositoz, kemik iliğinin bariz bir neden olmaksızın çok fazla trombosit ürettiği, nadir görülen bir miyeloproliferatif durumdur. Bu durum kan pıhtısı oluşumu veya kanama olayları riskini artırabilir. Öte yandan, reaktif veya sekonder trombositoz, bağışıklık, yangısal durum ve sitokinlerin salınmasıyla indüklenir. Bu tip trombositoz sıklıkla stres, kronik kan kaybı, yangısal hastalıklar, neoplazi (kanser oluşumu veya varlığı) veya demir eksikliği ile birlikte görülür. Bu koşullar, vücudun artan talebini karşılamak için trombosit üretimini uyarır. Yeni trombosit üretme süreci olan gelişmiş trombopoez, kalıtsal megakaryosit bozukluklarında da ortaya çıkabilir. Megakaryositler, trombosit üretiminden sorumlu büyük kemik iliği hücreleridir. Bu bozukluklarda, kemik iliği çok fazla megakaryosit veya trombosit üreterek trombosit sayısında anormal bir artışa neden olabilir. Yüksek trombosit sayısı tromboz riskini artırabilir. Buna karşılık, PLT sayısındaki azalma olan trombositopeni, trombosit tüketiminin artmasına (örn. kan kaybı, DIC - yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu) veya kemik iliğinde üretimin azalmasına (kemik iliği hipoplazisi), toksik kemik iliği hasarına (toksinler, ilaçlar, enfeksiyonlar, kanser nedeniyle) bağlanabilir (Roland ve diğerleri, 2014). Sığırlarda genel itibariyle PLT sayısına ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Sığırlarda trombosit sayısında azalma bakteriyel enfeksiyonlar (örn. salmonelloz, leptospiroz, anaplazmoz), thelerioz, babesioz, mikotoksikoz ve BVD virüs enfeksiyonlarında bildirilmiştir (Jones ve Allison, 2007; Kocatürk ve diğerleri, 2010; Weiss ve Wardrop, 2010; Bell, 2011; Roland ve diğerleri, 2014). Bu çalışmada akut ishelli buzağılarda PLT sayıları $165-1568 \times 10^9/L$ aralığında ve ortalama $687 \times 10^9/L$ ile sağlıklı buzağılara göre yüksek bulunmuştur. Ancak, (Strous ve diğerleri, 2021) tarafından yapılan 6-60 günlük yaştaki sağlıklı buzağı PLT sayısı değerlendirme çalışmasında referans aralık $287-1372 \times 10^9/L$ olarak verilmiştir. Bu anlamda akut ishelli buzağılarda elde edilen sonuç “trombositoz” olarak tanımlanamayabilir.

Trombositler, endotoksemili ve sepsisli hastalarda, patogeneizde oynadıkları rolleri ve diğer hematolojik parametreler üzerindeki etkileri nedeniyle büyük öneme sahiptir (Yılmaz ve diğerleri, 2008). Sepsisli hastalarda, immün sistemin neden olduğu hemodilüsyon, trombosit tüketim hızındaki artış ve trombosit yıkımı trombositopeniye yol açmaktadır (Grainacher ve Selleng, 2010). Aynı zamanda kandaki trombosit düzeyleri, sepsisin erken tanısı değerlendirilmesi ve prognozu açısından da önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Yılmaz ve diğerleri, 2008). Bu çalışma kapsamında değerlendirilen 50 akut ishallerli buzağının 44'ü en az bir etken yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. Etkenlerin mono ya da koenfekte olmalarına bakılmaksızın yaygınlıkları sırasıyla *Cryptosporidium* spp. (n=28), Rotavirus (n=19), Coronavirus (n=14), *Giardia* spp. (n=7) ve *E. coli* K99 (n=6) olarak tespit edilmiştir. Değerlendirilen her bir enfeksiyöz etkenin etki mekanizmaları göz önüne alındığında hastalıkların şiddeti ile endotoksemi ve sepsis durumu da farklılık gösterebilmektedir. Literatürde sepsis durumunda daha çok trombositopeni görüldüğü belirtilmesine rağmen bu çalışmada PLT sayılarının sağlıklılara göre yüksek bulunması çeşitli sebeplerle açıklanabilir. Sepsis ve endotoksemi sürecinin ilk aşamasında azalan PLT sayısının daha sonra kemik iliği yanıtına bağlı olarak artış gösterebileceği ifade edilmektedir. Bunun yanında sepsis tablosu oluşmaya akut ishallerli buzağılarda yangısal yanıtla bağlı sekonder trombopoezisin uyarılması PLT sayılarında artış sağlayabilir. Bu çalışmada akut ishallerli buzağılardan tek bir defa örneklemeye yapılması nedeniyle yangısal sürecin hangi aşamada olduğunun değerlendirilmesi güçtür.

MPV değeri, kemik iliğinde megakaryositlerden trombosit oluşumu sırasında belirlenir. Bu nedenle enfeksiyon gibi kemik iliğini uyarıcı durumlar, MPV değeri ve PLT sayısında değişikliklere neden olabilir. PLT üretimi kemik iliği uyarılınca artar ve ortaya çıkan genç trombositlerin çapı, olgun trombositlere göre daha büyük olur. Bu durum, MPV ve PDWc değerlerinde artışa yol açar (Klein, 2001). MPV değerindeki bu değişiklikler, sayısal değişimden daha önce görülebilir. Bu nedenle, inflamasyonun erken döneminde MPV değişiminin saptanmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir (Klein, 2001; Nalbantoğlu ve diğerleri, 2011). Bu çalışmada akut ishallerli buzağılarda MPV ve PDWc değerlerindeki artış ishale neden olan enfeksiyöz etkenlerin oluşturduğu kemik iliğini uyarıcı etkilerle açıklanabilir. MPV ve PDWc değerlerindeki artışlar ise trombositlerin aktivasyonunu ve büyümesini yansıtabilir. Akut ishallerli durumda, trombositlerin hızla aktive olduğu ve büyüdüğü düşünülebilir. Trombositlerin aktivasyonu, vücuttaki inflamasyon ve doku hasarı ile ilişkili

olabilir ve trombositlerin hemostatik yanıtları etkileyerek kan pıhtılaşması süreçlerini değiştirebilir.

Akut ishalleri neonatal buzağlarda hematolojik değerlendirmede WBC sayısı yükselme, RBC sayısı ve HCT değerinde ise düşüş bulunmuştur. WBC sayısındaki artış ishalleri tetikleyen etkenlerin neden olduğu inflamatuvar süreçlerle ilişkilendirilebilir. İshalleri buzağlarda etiyolojik etken ve yangısal sürecin durumuna göre lökopeni ya da lökositoz şekillenebileceği bilinmektedir. RBC sayısı ve HCT değerinde düşüş de ishalleri bağı sıvı ve elektrolit kaybı yanında oluşabilecek gastrointestinal kanamalarla ilişkilendirilebilir (Foster ve Smith, 2009).

Kan gazları analizinde ise akut ishalleri buzağlarda pH ve BE değerleri ile Na konsantrasyonunun düşük, pCO₂ düzeyi ve K konsantrasyonunun yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, asidozun ve elektrolit dengesizliklerinin ishalleri buzağlarda sık görülen komplikasyonlar olduğunu düşündürmektedir. Asidoz, vücuttaki pH dengesinin bozulması ve kanın asit-baz dengesinin değişmesi olarak tanımlanır. Trombositlerin, asidoz durumunda da etkilenmesi muhtemeldir ve trombosit fonksiyonlarındaki değişikliklerin asidozla birlikte daha da belirgin hale gelmesi mümkündür. Bu durum, trombosit indekslerindeki değişikliklerin, ishalleri buzağların genel sağlık durumunu yansıtan önemli göstergeler olduğunu düşündürülebilir (Foster ve Smith, 2009).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, sağlıklı buzağılarda neonatal dönem süresince trombosit indekslerindeki değişimlerin anlamlı olmadığını, akut ishallerde neonatal buzağılarda ise PLT sayısı ile PCT, MPV ve PDWc değerlerinin yüksek olduğunu ve bu nedenle önemli değişimler gözlemlenebileceğini göstermektedir.

Trombositler, kanın pıhtılaşması ve damar yaralanmalarının onarımı gibi hayati süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle trombosit indekslerinin izlenmesi, akut ishallerde buzağıların tanı ve tedavi sürecinde değerli bir araç olabilir. Ancak, daha fazla ve kapsamlı çalışmaların yapılması, trombosit indekslerinin akut ishallerde buzağılardaki klinik önemini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abramowicz, B., Kurek, Ł., & Lutnicki, K. (2019). Haematology in the early diagnosis of cattle diseases-a review. *Veterinarski Arhiv*, 89, 579-590.
- Ahnadi, C., F. F. Boughrassa, E. S. Chapman-Montgomery, V. Poisson, A. Gervais, D. Okrongly, and A. M. Grant. (2004). Comparison of two methods to assess variability of platelet response to anti-platelet therapies in patients with acute coronary syndrome undergoing angioplasty. *Thrombosis and Haemostasis*, 92:1207-1213.
- Baker, J.C. (1995). The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 11:425–445.
- Barger, A. M. (2003). The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. *The Veterinary clinics of North America-Small Animal Practice*, 33 (6):1207-1222.
- Barker, I.K., van Dreumel, A.A., Palmer, N. (1993). The alimentary system. In : Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, editors. *Pathology of domestic animals*. 4th ed. Vol. 2. San Diego (pp. 1–300). Academic Press.
- Ballou, M.A., Cobb, C.J., Hulbert, L.E., Carroll, J.A. (2011). Effects of intravenous *Escherichia coli* dose on the pathophysiological response of colostrum-fed Jersey calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141(1-2):76-83.
- Bartels, C.J., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W.A., Lam, T.J. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 93:162–169.
- Bell, C. (2011). Bleeding disorders in cattle. *In Practice*, 33, 106-115.
- Bizzaro, N. (1995). EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *American Journal of Hematology*, 50 (2):103-109.
- Bommer, N., D. Shaw, E. Milne, and A. Ridyard. (2008). Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 49 (10):518-524.

- Bone, R.C., Balk, R.A., Cerra, F.B., Dellinger, R.P., Fein, A.M., Knaus, W.A., Schein, R.M.H., Sibbald, W.J. (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis, *Chest*, 101 (6), 1644-1655.
- Boudreaux, M. K. (2008). Characteristics, diagnosis, and treatment of inherited platelet disorders in mammals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233 (8):1251-1259.
- Boudreaux, M. K. 2010b. Platelets. In D.J Weiss and K. J Wardrop (Eds.) *Schalm's veterinary hematology*, (pp. 561-631). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Boudreaux, M. K. 2010c. Thrombopoiesis. In D.J Weiss and K. J Wardrop (Eds.) *Schalm's veterinary hematology*, (pp. 56-60). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Brass, L. F., S. T.J., L. Zhu, D. S. Woulfe. (2013). Signal transduction during platelet plug formation. In (Ed A.D. Michelson) *Platelets*, (pp. 367-398). Amsterdam: Academic Press/Elsevier.
- Briggs, C., P. Harrison, S. Machin. (2007). Continuing developments with the automated platelet count¹. *International Journal of Laboratory Hematology*, 29 (2):77-91.
- Brown, S. J., K. W. Simpson, S. Baker, M. A. Spagnoletti, C. M. Elwood. (1994). Macrothrombocytosis in Cavalier King Charles spaniels. *Veterinary Record*, 135 (12):281-283.
- Brummitt, D. R., H. F. Barker. (2000). The determination of a reference range for new platelet parameters produced by the Bayer ADVIA120 full blood count analyser. *Clinical and Laboratory Haematology*, 22 (2):103-107.
- Brun-Hansen H.C., Kampen A.H., Lund A. (2006). Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Veterinary Clinical Pathology*, 35:182–187.
- Butkiewicz, A. M., H. Kemon, V. Dymicka-Piekarska, J. Matowicka-Karna, P. Radziwon, A. Lipska. (2006). Platelet count, mean platelet volume and thrombopoietic indices in healthy women and men. *Thrombosis Research*, 118 (2):199-204.
- Carstens, E.B. (2010). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology*, 155:133–146.
- Casonato, A., A. Bertomoro, E. Pontara, D. Dannhauser, A. Lazzaro, and A. Girolami. (1994). EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the

cytoadhesive receptor of platelet gpIIb-IIIa. *Journal of clinical pathology*, 47 (7):625-630.

Chalmers, R.M., Smith, R., Elwin, K., Clifton-Hadley, F.A., Giles, M. (2011). Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human cryptosporidiosis in England and Wales, 2004-2006. *Epidemiology and Infection*, 139:700–712.

Chapman, E. S., M. Sorette, E. Hetherington, D. Zelmanovic, G. Kling, J. Dugailliez, N. Pujol-Moix, D. Okrongly. (2003). A rapid, automated flow cytometric method to measure activated degranulated platelets by density determination. *Thrombosis and Haemostasis*, 89 (6):1004-1015.

Cheetham, S., Souza, M., Meulia, T., Grimes, S., Han, M.G., Saif, L.J. (2006). Pathogenesis of a genogroup II human norovirus in gnotobiotic pigs. *Journal of Virology*. 80:10372–10381.

Cho, K.O., Hasoksuz, M., Nielsen, P.R., Chang, K.O., Lathrop, S., Saif, L.J. (2001). Cross-protection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strains in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Archives of Virology*, 146:2401–2419.

Cho, Y. I., Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 1-17.

Cowan, S. M., J. W. Bartges, R. E. Gompf, J. R. Hayes, T. D. Moyers, C. C. Snider, D. A. Gerard, R. A. Craft, R. A. Muenchen, R. C. Carroll. (2004). Giant platelet disorder in the Cavalier King Charles Spaniel. *Experimental Hematology*, 32 (4):344-350.

Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Campolo, M., Mari, V., Desario, C., Lucente, M.S., Lorusso, A., Greco, G., Corrente, M., Tempesta, M., Buonavoglia, C. (2008). Biological and genetic analysis of a bovine-like coronavirus isolated from water buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Virology*, 370:213–222.

Drachman, J. G. (2004). Inherited thrombocytopenia: when a low platelet count does not mean ITP. *Blood*, 103 (2):390-398.

Egli C.P., Blum J.W. (2010). Clinical, Haematological, Metabolic and Endocrine Traits During the First Three Months of Life of Suckling Simmentaler Calves Held in a Cow-Calf Operation. *Journal of Veterinary Medical Science*, 45:99–118.

- Fagerland, J.A., Pohlenz, J.F., Woode, G.N. (1986). A morphological study of the replication of Breda virus (proposed family Toroviridae) in bovine intestinal cells. *Journal of Genetics and Virology*, 67:1293–1304.
- Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S., Zarlenga, D. (1998). *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal Parasitology*, 28:49–56.
- Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M. (2009). Cryptosporidium in cattle: from observing to understanding. In : (Eds Ortega-Pierres, M.G., Cacció, S., Fayer, R., Mank, T., Thompson, R.C.A.) *Giardia and Cryptosporidium: from molecules to disease*. (pp. 12–24) Wallingford: CABI Publishing.
- Fayer, R. (2010) Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124:90–97.
- Fecteau, G., Smith, B.P., George, L.W. 2009. Septicemia and Meningitis in the Newborn Calf, *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 25 (1), 195-208.
- Fenner, F., MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J. (2011) editors. In: *Fenner's Veterinary Virology*. 4th ed. Burlington: Academic Press.
- Fiorin, F., A. Steffan, P. Pradella, N. Bizzaro, R. Potenza, V. De Angelis. (1998). IgG platelet antibodies in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein IIb. *American Journal of Clinical Pathology*, 110 (2): 178-183.
- Flores, E.F., Ridpath, J.F., Weiblen, R., Vogel, F.S., Gil, L.H. (2002). Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus Research*, 87:51–60.
- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Bender, J.B., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W. (2005). Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms II. *Salmonella* shedding in calves. *Preventative Veterinary Medicine*, 70:279–291.
- Foster, D.M., Smith, G.W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 25:13–36.

- Francis, D.H., Allen, S.D., White, R.D. (1989). Influence of bovine intestinal fluid on the expression of K99 pili by *Escherichia coli*. *American Journal of Veterinary Research*, 50:822–826.
- Ghosh, S., Varghese, V., Sinha, M., Kobayashi, N., Naik, T.N. (2007). Evidence for interstate transmission and increase in prevalence of bovine group B rotavirus strains with a novel VP7 genotype among diarrhoeic calves in Eastern and Northern states of India. *Epidemiology Infections*. 135:1324–1330.
- Greinacher, A., Selleng, K. (2010). Thrombocytopenia in the intensive care unit patient. Hematology, *American Society of Hematology Education Program Book*, (1), 135-143. doi:10.1182/asheducation-2010.1.135
- Gurjar, A.A., Hegde, N.V., Love, B.C., Jayarao, B.M. (2008). Real-time multiplex PCR assay for rapid detection and toxintyping of *Clostridium perfringens* toxin producing strains in feces of dairy cattle. *Molecular Cell Probes*, 22:90–95.
- Hall, G.A., Bridger, J.C., Brooker, B.E., Parsons, K.R., Ormerod, E. (1984). Lesions of gnotobiotic calves experimentally infected with a calicivirus-like (Newbury) agent. *Veterinary Pathology*, 21:208–215.
- Handagama, P., B. Feldman, C. Kono, and T. Farver. (1986). Mean platelet volume artifacts: the effect of anticoagulants and temperature on canine platelets. *Veterinary Clinical Pathology*, 15 (4):13-17.
- Harrison, P., A. Horton, D. Grant, C. Briggs, S. Machin. (2000). Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. *British Journal of Haematology*, 108 (2):228-235.
- Harrison, P., C. Briggs. (2013). Platelet counting. In *Platelets*, edited by A.D Michelson, (pp. 547-557). Third edition. Academic Press.
- Heine, J., Pohlenz, J.F., Moon, H.W., Woode, G.N. (1984). Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *Journal of Infectious Diseases*. 150:768–775.
- Hinchcliff, K., G. Kociba, L. Mitten. (1993). Diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203 (12):1715.

- Hoet, A.E., Cho, K.O., Chang, K.O., Loerch, S.C., Wittum, T.E., Saif, L.J. (2002). Enteric and nasal shedding of bovine torovirus (Breda virus) in feedlot cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 63:342–348.
- Hoet A.E., Saif, L.J. (2004). Bovine torovirus (Breda virus) revisited. *Animal Health and Research Reviews*, 5:157–171.
- Hughes, L.E., Gibson, E.A., Roberts, H.E., Davies, E.T., Davies, G., Sojka, W.J. (1971). Bovine salmonellosis in England and Wales. *British Veterinary Journal*, 127:225–238.
- Hur, T.Y., Jung, Y.H., Choe, C.Y., Cho, Y.I., Kang, S.J., Lee, H.J., Ki, K.S., Baek, K.S., Suh, G.H. (2013) The dairy calf mortality : the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. *Korean Journal of Veterinary Research*, 53:103–108.
- Italiano, J. E., J. H. Hartwig. (2013). Megakaryocyte development and platelet formation. In *Platelets*, edited by A.D. Michelson, 27-49. Amsterdam: Academic Press.
- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Mohler, V.L., Perkins, N.R., Gunn, A.A., House, J.K. (2011). Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*, 89:167–173.
- Ježek, J., Nemeč, M., Starič, J., Klinkon, M. (2011). Age Related Changes and Reference Intervals of Haematological Variables in Dairy Calves. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 55:471–478.
- Jones, M. L., R. W. Allison. (2007). Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 23, 377-402.
- Kaito, K., H. Otsubo, N. Usui, M. Yoshida, J. Tanno, E. Kurihara, K. Matsumoto, R. Hirata, K. Domitsu, M. Kobayashi. (2005). Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *British Journal of Haematology*, 128 (5):698-702.
- Kamath, S., Blann, A. D., Lip, G. Y. H. (2001). Platelet activation: assessment and quantification. *European Heart Journal*, 22(17), 1561-1571.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nature reviews. Microbiology*, 2:123–140.
- Kaplon, J., Guenau, E., Asdrubal, P., Pothier, P., Ambert-Balay, K. (2011). Possible novel nebovirus genotype in cattle, France. *Emerging Infectious Diseases*. 17:1120–1123.

- Kelley, J. A. (2013). Platelet count and plateletcrit in Cavalier King Charles Spaniels and Greyhounds using the Advia 120/2120 (Masters thesis). University of Minnesota.
- Klein, M., Brown, L., Tucker, R. W., Ashbolt, N. J., Stuetz, R. M., & Roser, D. J. (2010). Diversity and abundance of zoonotic pathogens and indicators in manures of feedlot cattle in Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(20), 6947-6950.
- Kocatürk, M., Yeşilbağ, K., & Yılmaz, Z. (2010). Evaluation of red blood cell and platelet indices in cattle naturally infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV). *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(1), 17-22.
- Koopmans, M., Horzinek, M.C. (1994). Toroviruses of animals and humans: a review. *Advances in Virus Research*, 43:233–273.
- Kroneman, A., Cornelissen, L.A., Horzinek, M.C., de Groot, R.J., Egberink, H.F. (1998). Identification and characterization of a porcine torovirus. *Journal of Virology*, 72:3507–3511.
- Kuter, D. J. (1996). The physiology of platelet production. *Stem Cells*, 14 (S1):88-101.
- Lancé, M. D., M. Sloep, Y. M. Henskens, M. A. Marcus. (2012). Mean Platelet Volume as a Diagnostic Marker for Cardiovascular Disease Drawbacks of Preanalytical Conditions and Measuring Techniques. *Clinical and Applied Thrombosis/hemostasis*, 18 (6):561-568.
- Lilliehöök, I., H. Tvedten. (2009). Validation of the Sysmex XT-2000iV hematology system for dogs, cats, and horses. I. Erythrocytes, platelets, and total leukocyte counts. *Veterinary Clinical Pathology*, 38 (2):163-174.
- Liu, L., Hägglund, S., Hakhverdyan, M., Alenius, S., Larsen, L.E., Belák, S. (2006). Molecular epidemiology of bovine coronavirus on the basis of comparative analyses of the S gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 44:957–960.
- Lodha, A., de Silva, N., Petric, M., Moore, A.M. (2005). Human torovirus: a new virus associated with neonatal necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatrica*, 94:1085–1088.
- Lorenz, I., Fagan, J., More, S.J. (2011). Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves, *Irish Veterinary Journal*, 64 (1), 9.

- Macey, M., E. Carty, L. Webb, E. Chapman, D. Zelmanovic, D. Okrongly, D. Rampton, and A. Newland. (1999). Use of mean platelet component to measure platelet activation on the ADVIA 120 haematology system. *Cytometry*, 38 (5):250-255.
- Madani, S. H., Amiri, S., Khazaei, S., Erfan, M. B. K., Rostami-Far, Z., Tarlan, M., Shaveisi-Zadeh, J. (2019). Platelet indices as useful indicators of neonatal sepsis. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 8, 1612-7.
- Martella, V., Bányai, K., Matthijnsens, J., Buonavoglia, C., Ciarlet, M. (2010). Zoonotic aspects of rotaviruses. *Veterinary Microbiology*, 140:246–255.
- McClane, B.A. (2001). The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions. *Toxicon*, 39:1781–1791.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5:607–625.
- Meganck, V., Hoflack, G., Piepers, S., Opsomer, G. (2015). Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds, *Preventive Veterinary Medicine*, 118 (1), 64-70.
- Mohri, M., Sharifi, K., Eidi, S. (2007) Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. *Research in Veterinary Science*, 83:30–39. doi: 10.1016/j.rvsc.2006.10.017.
- Moritz, A., M. Becker. (2010). Automated hematology systems. In *Schalm's Veterinary hematology*, edited by B. Feldman, J. G. Zinkl and N. C. Jain, (pp. 1054-1066). Blackwell Publishing.
- Moritz, A., Y. Fickenscher, K. Meyer, K. Failing, D. J. Weiss. (2004). Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Veterinary Clinical Pathology*, 33 (1):32-38.
- Nalbantoğlu, B., Bozan, H. İ., Nalbantoğlu, A., Demirsoy, U., Uysalol, M., Şirenci, R. (2011). Yenidoğan Sepsisi Tanısında Trombosit Sayısı ve Ortalama Trombosit Hacminin Prediktif Değeri. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. doi:10.16948/zktb.64691
- Nataro, J.P., Kaper, J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11:142–201.

- Northern, J., H. Tvedten. (1992). Diagnosis of microthrombocytosis and immune-mediated thrombocytopenia in dogs with thrombocytopenia: 68 cases (1987–1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200 (3):368-372.
- Nydam, D.V., Mohammed, H.O. (2005). Quantitative risk assessment of *Cryptosporidium* species infection in dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 88:3932–3943.
- Onder, O., A. Weinstein, L. W. Hoyer. (1980). Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood*, 56 (2):177-182.
- Østerås, O., Gjestvang, M.S., Vatn, S., Sølverød, L. (2007). Perinatal death in production animals in the Nordic countries -incidence and costs. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 49: Suppl 1. 14.
- Park, Y., N. Schoene, W. Harris. (2002). Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets*, 13 (5-6):301-306.
- Payne, B. (1985). EDTA-induced pseudothrombocytopenia. Recognizing a laboratory artifact. *Postgraduate medicine*, 77 (8):75-76.
- Pérez, E., Kummeling, A., Janssen, M.M., Jiménez, C., Alvarado, R., Caballero, M., Donado, P., Dwinger, R.H. (1998). Infectious agents associated with diarrhoea of calves in the canton of Tilarán, Costa Rica. *Preventive Veterinary Medicine*. 33:195–205.
- Petit, L., Gibert, M., Popoff, M.R. (1999). *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in Microbiology*, 7:104–110.
- Pewarchuk, W., J. VanderBoom, M. Blajchman. (1992). Pseudopolycythemia, pseudothrombocytopenia, and pseudoleukopenia due to overfilling of blood collection vacuum tubes. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 116 (1):90-92.
- Pogorzelska, K., Krętowska, A., Krawczuk-Rybak, M. and Sawicka-Żukowska, M., (2020). Characteristics of platelet indices and their prognostic significance in selected medical condition—a systematic review. *Advances in Medical Sciences*, 65(2), 310-315.
- Pohlenz, J.F.L., Cheville, N.F., Woode, G.N., Mokresh, A.H. (1984). Cellular lesions in intestinal mucosa of gnotobiotic calves experimentally infected with a new unclassified bovine virus (Breda virus). *Veterinary Pathology*, 21:407–417.

- Ragan, H. (1972). Platelet agglutination induced by ethylenediaminetetraacetic acid in blood samples from a miniature pig. *American Journal of Veterinary Research*, 33 (12):2601-2603.
- Roland, L., Drillich, M., Iwersen, M. (2014). Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(5), 592-598.
- Rothenbacher, H. Mortality and morbidity in calves with salmonellosis. (1965). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 147:1211–1214.
- Russell, K. G. (2010). Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. In *Schalm's veterinary haematology* (Eds D. J. Weiss and K.J. Wardrop), (pp. 576-585). Iowa, USA: Blackwell.
- Schultze, B., Gross, H.J., Brossmer, R., Herrler, G. (1991). The S protein of bovine coronavirus is a hemagglutinin recognizing 9-O-acetylated sialic acid as a receptor determinant. *Journal of Virology*, 65:6232–6237.
- Scipioni, A., Mauroy, A., Vinjé, J., Thiry E. (2008) Animal noroviruses. *Veterinary Journal*, 178:32–45.
- Shreiner, D. P., W. R. Bell. (1973). Pseudothrombocytopenia: manifestation of a new type of platelet agglutinin. *Blood*, 42 (4):541-549.
- Smedile, L. E., D. M. Houston, S. M. Taylor, K. Post, and G. P. Searcy. (1997). Idiopathic, asymptomatic thrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels: 11 cases (1983-1993). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 33 (5):411-415.
- Smiley, J.R., Chang, K.O., Hayes, J., Vinjé, J., Saif, L.J. (2002). Characterization of an enteropathogenic bovine calicivirus representing a potentially new calicivirus genus. *Journal of Virology*, 76:10089–10098.
- Smith, D.R. (2012). Field Disease Diagnostic Investigation of Neonatal Calf Diarrhea, *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 28 (3), 465-481.
- Sojka, W.J., Wray, C., Shreeve, J., Benson, A.J. (1977). Incidence of salmonella infection in animals in England and Wales 1968-1974. *Journal of Hygiene*, 78:43–56.
- Songer, J.G. (1997) Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends in Microbiology*, 5:156–161.

- Steele, A.D, Geyer, A., Gerdes, G.H. (2004). Rotavirus infections. In : (Eds Coetzer, J.A.W., Tustin, R.C.). *Infectious Diseases of Livestock*. 2nd ed. (p. 1256–1264). Cape Town: Oxford University Press Southern Africa.
- Stokol, T., and H. N. Erb. (2007). A comparison of platelet parameters in EDTA-and citrate-anticoagulated blood in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 36 (2):148-154.
- Strous, E., Vanhoudt, A., Smolenaars, A., van Schaik, G., Schouten, M., de Pater, H., Nielen, M. (2021). Observational study on variation of longitudinal platelet counts in calves over the first 14 days of life and reference intervals from cross-sectional platelet and leukocyte counts in dairy calves up to two months of age. *Animals*, 11(2), 347.
- Şahal, M., Terzi, O. S., Ceylan, E., E., Kara. (2018). Buzağı ishalleri ve korunma yöntemleri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58(3), 41-49.
- Thompson, C. B., J. A. Jakubowski. (1988). the patho-physiology and clinical relevance of platelet heterogeneity. *Blood*, 72 (1):1-8.
- Tsolis, R.M., Adams, L.G., Ficht, T.A., Bäuml, A.J. (1999). Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infection and Immunity*, 67:4879–4885.
- Tsunemitsu, H., Jiang, B., Saif, L.J. (1992). Detection of group C rotavirus antigens and antibodies in animals and humans by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 30:2129–2134.
- Tvedten, H. (2012). Hemostatic abnormalities. In (Eds M.D. Willard and H. Tvedten) *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*, (pp. 92-111). Saunders.
- Tvedten, H. W., I. E. Lilliehook, J. Oberg, J. Häggström, K. Hoglund, I. Ljungvall. (2012). Validation of Advia plateletcrit for assessing platelet mass in dogs, including Cavalier King Charles Spaniels. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (3):336-343.
- Tvedten, H., I. Lilliehook, A. Hillstrom, J. Häggström. (2008). Plateletcrit is superior to platelet count for assessing platelet status in Cavalier King Charles Spaniels. *Veterinary Clinical Pathology*, 37 (3):266-271.
- Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33:537–549.

- Weiss, D. J., K. J. Wardrop (2010): Schalm's *Veterinary hematology*, 6th ed., (pp. 307-835). Wiley-Blackwell, State Avenue, Ames, Iowa, USA
- White, J. G. (2013). Platelet structure. In *Platelets*, edited by A.D. Michelson, (pp. 117-144). Amsterdam: Academic Press/Elsevier.
- Wijnands, K.A., Castermans, T.M.R., Hommen, M.P.J., Meesters, D.M., Poeze, M. (2015). Arginine and citrulline and the immune response in sepsis, *Nutrients*, 7 (3), 1426-1463.
- Wills, T. B., K. J. Wardrop. (2008). Pseudothrombocytopenia secondary to the effects of EDTA in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 44 (2):95-97.
- Wiwanitkit, V. (2004). Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 10 (2):175-178.
- Woode, G.N., Saif, L.J., Quesada, M., Winand, N.J., Pohlenz, J.F., Gourley, N.K. (1985). Comparative studies on three isolates of Breda virus of calves. *American Journal of Veterinary Research*, 46:1003–1010.
- Yilmaz, Z., Eralp, O., Ilcol, Y. O. (2008). Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(2), 159-163.
- Zelmanovic, D., E. J. Hetherington. (1998). Automated analysis of feline platelets in whole blood, including platelet count, mean platelet volume, and activation state. *Veterinary Clinical Pathology*, 27 (1):2-9