

**DOĞAL AKUT BABESİOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI KAN
PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ***
**The Determination of Some Blood Parameters in Sheep with
Naturally Acute Babesiosis**

Elif TUFAN¹, Öznur ASLAN²

Özet: Bu çalışmada, doğal enfekte akut babesiosisli koyunlarda trombosit sayısı, protrombin zamanı (PT), aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT) ve fibrinojen gibi bazı kan pıhtılaşma parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Kayseri merkez ve ilçelerinde bulunan Akkaraman ırkı koyun sürülerinde farklı cinsiyette (3'ü erkek, 47'si dişi), yaşları 1-6 arasında değişen toplam 50 hayvan çalışmaya alınmıştır. Klinik muayeneler sonucunda ateş, anemi ve hemoglobiniüri gözlenen ve yapılan kan frotlerinde Babesia parazitleri olduğu tespit edilen 2'si erkek, 23'ü dişi ve yaşları 1-6 arasında değişen 25 adet koyun çalışma grubu (Grup 1) olarak belirlenirken, sağlıklı olduğu tespit edilen 1'i erkek, 24'ü dişi ve yaşları 1-6 arasında değişen 25 adet koyun sağlıklı kontrol grubu (Grup 2) olarak belirlenmiştir.

Yapılan laboratuvar muayenelerinde, babesiosisli koyunlarda eritrosit, lökosit ve trombosit sayıları ile hematokrit değerlerinin kontrol grubu değerlerinden istatistiksel açıdan daha düşük ($p<0.001$), protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) değerlerinde daha uzun olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak; doğal enfekte akut babesiosisli koyunlarda fibrinojen değerinde artış, PT, ve APTT değerlerinde uzama dissemine intravasküler koagülopati gelişebildiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Akut babesiosis, APTT, koyun, fibrinojen, PT

Summary: The aim of this study was to determine thrombocyte and some coagulation parameters; protrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and fibrinogen.

For this purpose, a total of 50 Akkaraman sheep (3 males and 47 females), aged between 1-6 years old from different flocks were included in this study. It was determined that the study group should be comprised of 25 sheep (2 males and 23 females), aged between 1-6 years, diagnosed with fever, anemia, haemoglobinuria in clinical examination and with Babesia parasites in blood smears. Twenty five sheep determined to be healthy with clinical examination (1 male and 24 females), aged between 1-6 years served healthy control in clinical examination.

According to the laboratory examinations, decreased erythrocyte, leucocyte, thrombocyte and hematocrit parameters, increased fibrinogen parameters, prolonged Prothrombin time (PT) and Activated partial thromboplastin time (APTT) were determined.

Consequently, increased fibrinogen, prolonged PT and APTT parameters showed that disseminated intravascular coagulation may develop in sheep with naturally infected acute babesiosis.

Key words: Acute babesiosis, APTT, sheep, fibrinogen, PT

¹ Bilim Uz.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Vet.İç Has. AD, Kayseri

² Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Vet.Fak.İç Hastalıkları AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 14.11.2008 Kabul Tarihi : 12.03.2009

***Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBT.07.25 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Babesiosis, *Apicomplexa* anacındaki *Babesia* türlerinin meydana getirdiği, tropik ve subtropik bölgelerde evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülen intraeritrositik protozoer bir hastalıktır. Bu kan protozoonları, heteroxen olup, omurgalı hayvanların eritrositleri içerisinde gelişmelerini tamamladıktan sonra *Ixodidae* ailesindeki vektör kenelerde gelişmelerini sürdürürler ve kenelerle biyolojik olarak nakledilirler (1).

Koyunlarda *Babesia* etkenleri *Babesia ovis*, *B. motasi* ve *B. crassa* olarak bilinmektedir (2-5). Türkiye’de hastalık oldukça yaygın olup, halk arasında ağrı, ağrıma, zerk, sıtma ve kan işeme olarak bilinmektedir (6). Türkiye’de *B. ovis*’in varlığının ilk kez Nicolle ve Laveran tarafından 1899’da rapor edildiği bildirilmiştir (7). Ülkemizde koyunlarda *B. ovis*’in prevalansı Urfa’da ivesi koyunlarında yapılan çalışmada %41,02 (8), Afyon’da Akkaraman koyunlarında %51,96 (9), Kayseri’de %2,6 (10) ve Aktaş ve arkadaşlarının (11)’nin yaptığı çalışmada; Muş’ta %18, Malatya’da %16, Elazığ’da %2, Diyarbakır’da %6, Mardin’de %4, Iğdır’da %4, Erzurum’da (%10) ve Erzincan’da %6 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Kayseri yöresinde yapılan çalışmada *B. ovis* ve *T. ovis* enfeksiyonlarının %5,1 oranında miks seyrettiği bildirilmiştir (10). Van yöresinde yapılan mikroskopik bir çalışmada, *B. motasi* ’nin varlığı rapor edilmiştir (12). Diğer taraftan bugüne kadar Türkiye’de *B. crassa*’nın varlığı ile ilgili bir yayına rastlanamamıştır.

Yapılan araştırmalarda daha önce deneysel olarak enfekte edilmiş koyunlarda histopatolojik olarak dissemine intravasküler koagülopati (DIC) belirlenmesine rağmen, babesiosisle doğal enfekte akut babesiosis olgularında trombosit sayısı, protrombin zamanı (PT), aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT) ve fibrinojen gibi bazı pıhtılaşma parametrelerinin belirlenmesine dair herhangi bir araştırmaya rastlanamamıştır.

Bu çalışma ile yurdumuzda koyunlarda çeşitli bölgelerde oldukça yaygın olan, kenelerle bulaşarak büyük ekonomik kayıplara ve ölümlere neden olan akut babesiosis vakalarında trombosit sayısı, PT, APTT ve fibrinojen gibi bazı pıhtılaşma parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Kayseri merkez ve ilçelerinde bulunan Akkaraman koyun sürülerinde farklı cinsiyette (3’ü erkek, 47’si dişi), yaşları 1-6 arasında değişen toplam 50 hayvan kullanılmıştır. Klinik muayeneler sonucunda ateş, anemi ve hemoglobinüri gözlenen ve yapılan kan frotilerinde *Babesia* spp. parazitleri olduğu tespit edilen 2’si erkek, 23’ü dişi ve yaşları 1-6 arasında değişen 25 adet koyun çalışma grubu (Grup 1) olarak belirlenirken, sağlıklı olduğu tespit edilen 1’i erkek, 24’ü dişi ve yaşları 1-6 arasında değişen 25 adet koyun sağlıklı kontrol grubu (Grup 2) olarak kabul edilmiştir.

Klinik olarak babesiosis olduğundan şüphe edilen koyun kanlarından frotiler çekilerek Giemsa boyama tekniğine göre boyanmış ve immersiyon objektifle ışık mikroskopunda incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda parazitler soy düzeyinde belirlenmiştir.

Hayvanlardan kan örnekleri *Vena jugularis*’ten EDTA’lı (2,5ml) ve Sitrathlı (2,5ml) tüplere alınmıştır. EDTA’lı kan örneklerinde trombosit sayısı ($10^3/\mu\text{l}$) lökosit (WBC) ($10^3/\mu\text{l}$) (WBC), eritrosit (RBC) ($10^3/\mu\text{l}$), hemoglobin (g/dl), hematokrit (%) ve trombosit ($10^3/\mu\text{l}$) gibi hematolojik parametreler Sysmex XT-2000i kan sayımı cihazı ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında değerlendirilmiştir. Sitrathlı (2,5ml) kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkarılmıştır. Plazma örneklerinde PT, APTT değerleri saniye (sn) COATRON MI Coagulation Cihazı ile İç Hastalıkları ABD laboratuvarında ve fibrinojen değerleri mg/dl olarak Sysmex CA-7000 Coagulation Analyzer ile Erciyes Üniversitesi Onkoloji Hastanesi laboratuvarında belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler için SPSS 12.01 programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arasındaki fark independent-t testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Koyun sahipleri ile yapılan görüşmelerde koyunların iştahsız, durgun, halsiz oldukları, sürünün gerisinde kaldıkları, kan işeme şikayetleri olduğu ve sürüde aynı şikayetle bazı hayvanların öldüğü öğrenilmiştir.

Yapılan klinik muayenede babesiosis belirlenen koyunlarda ateş, hemoglobinuri ve kene varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu hayvanların 6'sında sarılık belirlenmiştir. Genel muayeneler sonunda sağlıklı oldukları tespit edilen hayvanlar da sağlıklı kontrol grubunu oluşturmuştur.

Babesiosisli hayvanların kan frotilerinin mikroskopik incelemelerinde *Babesia* spp. Türleri eritrositler içinde tespit edilmiştir.

Babesiosisli koyulardan 4'ünde (%16) lökositozis gözlenirken, 6 koyunda (%24) lökopeni belirlenmiştir. Grup 1 lökosit değerleri ortalama $7.32 \pm 4.01 \times 10^3/\mu\text{l}$ ve Grup 2 lökosit değerleri $10.89 \pm 2.95 \times 10^3/\mu\text{l}$ olarak belirlenmiştir. Grup 1 eritrosit değerleri ortalama $6.05 \pm 1.43 \times 10^6/\mu\text{l}$ ve sağlıklı grup eritrosit değerleri $7.32 \pm 0.89 \times 10^6/\mu\text{l}$ olarak belirlenmiştir. Grup 1 grup hemoglobin değerleri ortalama 8.17 ± 1.54 g/dl ve Grup 2 hemoglobin değerleri 10.08 ± 1.81 g/dl olarak belirlenmiştir. Enfekte gruptaki hayvanlar bireysel olarak değerlendirildiğinde 11 hayvanda (%44) hemoglobinemi belirlenmiştir. Grup 1 hematokrit değeri ortalama

20.49 ± 4.6 ve Grup 2 hematokrit değeri ortalama 23.18 ± 5.36 olarak belirlenmiştir. Grup 1 trombosit sayısı ortalama $161.08 \pm 151.28 \times 10^3/\mu\text{l}$ ve Grup 2 trombosit sayıları $482.52 \pm 111.02 \times 10^3/\mu\text{l}$ olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre Grup 1'deki babesiosisli koyunlarda trombositopeni olduğu tespit edilmiştir ve her iki grup değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p < 0.001$). Grup 1 fibrinojen değeri ortalama 281.14 ± 86.96 mg/dl ve Grup 2 fibrinojen değeri 233.74 ± 64.58 mg/dl olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre her iki grup değerleri normal sınırlar içerisinde olmasına rağmen Grup 1'in ortalama fibrinojen değerlerinin sağlıklı gruba göre daha yüksek olduğu ve fibrinojen değeri için gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Grup 1 protrombin zamanı ortalama 19.21 ± 5.28 sn ve Grup 2 PT değeri ortalama 13.89 ± 1.81 sn olarak belirlenmiştir. Grup 1 APTT değeri ortalama 90.53 ± 49.86 sn ve Grup 2 APTT değeri ortalama 41.50 ± 14.17 sn olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre lökosit sayısı, eritrosit sayısı ve hematokrit ortalama değerleri babesiosisli koyunlarda normal sınırlar içerisinde olmasına rağmen sağlıklı koyunlardaki değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Grup 1 PT ve APTT değerlerinin Grup 2'ye göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve aradaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.001$).

Tablo I. Babesiosisli (Grup 1) ve Sağlıklı (Grup 2)'deki koyunlarda lökosit, eritrosit, hemoglobin, hematokrit, trombosit, fibrinojen, PT ve APTT değerleri ($X \pm Sd$)

	Grup 1(n=25)	Grup 2 (n=25)	p
Lökosit WBC($10^3/\mu\text{l}$)	7.32±4.01	10.89±2.95	<0.001
Eritrosit ($10^6/\mu\text{l}$)	6.05±1.43	7.32±0.89	<0.001
Hemoglobin(g/ dl)	8.17±1.54	10.08±1.81	>0.05
Hematokrit (%)	20.49±4.6	23.18±5.36	<0.001
Trombosit ($10^3/\mu\text{l}$)	161.08.±151.28	482.52±111.02	<0.001
Fibrinojen(mg/dl)	281.14±86.96	233.74±64.58	<0.05
PT (sn)	19.21±5.28	13.89±1.81	<0.001
APTT (sn)	90.53±4986	41.50±14.17	<0.001

TARTIŞMA

Akut Babesiosis enfeksiyonlarında klinik olarak ateş, anemi, hemoglobinüri, lökopeni, sarılık, mukozalarda peteşiyel kanamalar ve ölüm gözlemlendiği bildirilmektedir (13-16). Bu çalışmada da Babesiosisle doğal enfekte koyunlarda klinik muayenelerde anemi, hemoglobinüri, sarılık ve ölüm gibi klinik bulgular elde edilmiştir.

Babesiosisde klinik ve hematolojik olarak anemi tipik belirtilerendir. Aneminin şiddeti oldukça değişkendir. Aneminin derecesi parazitemi oranı ile ilişkili değildir (13,15, 17). Babesiosisde aneminin sebebi genellikle hemoliz olarak bildirilmektedir (18). Hemolizin mekanizması köpek babesiosisinde mekanik, immun ilişkili ve parazitlerin ürettiği toksinler gibi 3 hipotez ile açıklanmaktadır. Ancak hemoliz mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için flow cytometri gibi yöntemlerle çalışmaların yapılması gerektiği bildirilmektedir. Aneminin sebebi ve şiddeti genellikle parazitlerin eritrositleri parçalaması ve hasta hayvanın immun cevabı ile açıklanabilmektedir (19). Bu çalışmada da babesiosisli koyunlarda eritrosit sayısında düşme literatür bilgileriyle (13,15,17) uyumlu bulunmuştur.

Hematokrit değeri kandaki eritrosit sayısı ve hemoglobin miktarı ile doğru orantılı olarak değişir (20). Furlanello ve arkadaşlarının (19) babesiosisli köpeklerde yaptıkları araştırmada hematokrit değerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da babesiosisli koyunlarda hematokrit değeri sağlıklı koyunlara göre düşük bulunmuş olup bu bulguda literatürle uyumlu bulunmuştur .

Babesiosisli hayvanlarda orta ile şiddetli derecede değişen trombositopeni bildirilmektedir (14,19,21). Trombositopeninin muhtemel nedeni ise kemik iliğinin yetersiz üretimi, trombosit alıkonulması ya da yıkımı olarak bildirilmiştir (22). Ayrıca, sistemik DIC, immun ilişkili trombosit yıkımı ve dalakta trombosit alıkonulması ile açıklanmaktadır (19). Zygnier ve arkadaşları da (23), babesiosisli köpeklerle ilgili yaptıkları araştırmada %15.3 oranında trombositozis olduğunu bildirmişlerdir. Dolayısıyla sunulan bu çalışmada babesiosisli koyunlarda trombosit değerlerinin sağlıklı koyunlara göre dü-

şük bulunması literatürde (14,19,21) bildirilen bulgularla uyumludur.

Babesiosisli hayvanlarda fibrinojen miktarının genellikle artmış olduğu ve bu artışın akut faz protein reaksiyonu sonucunda olduğu (19-21) bildirilmektedir. Bu çalışmada da babesiosisli koyunlardaki fibrinojen miktarı sağlıklı koyunlardaki fibrinojen değerlerine göre daha fazladır ve aralarındaki fark önemlidir ($p<0.001$).

Babesiosisli hayvanlarda PT ve APTT değerlerinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (14,19,21). Babesiosisli hayvanlarda; PT, APTT değerlerinin yükselmesi, oluşan trombositopeni ve fibrinojen değişiklikleri babesiosisli hayvanlarda DIC oluşabileceğinin bir göstergesidir. Dalgliesh ve arkadaşları (14) splenektomize buzağılarda *B. bovis* ile yaptıkları çalışmada DIC oluştuğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca koyunlarda deneysel *B. ovis* enfeksiyonlarda histopatolojik olarak DIC oluştuğu bildirilmektedir (14, 21). Bu çalışmada da PT ve APTT değerlerindeki yükselme literatürlerle uyumlu bulunmuştur (14,19,21).

Sonuç olarak, doğal enfekte akut babesiosisli koyunlarda değişik şiddette hemostatik anormallikler gözlenmiştir. Belirlenen trombositopeni, fibrinojen artışı, PT ve APTT değerlerinde yükselme şeklindeki hemostatik anormallikler akut babesiosisli koyunlarda DIC' in gelişebildiğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. İnci A, Çakmak A, Dinçer Ş, ve ark. Kayseri yöresinde sığırlarda babesiosisin seroprevalansı, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2002; 26:134-135.
2. Ferrer D, Castella J, Gutierrez JF, et al. Seroprevalence of *Babesia ovis* in Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Catalonia, northeastern Spain. *Vet Parasitol* 1998; 75: 93-98.
3. İça A. Sığırlarda Bazı *Babesia* Türlerinin Reverse Line Blotting ve Indirect Floresan Anti-kor Testi ile Karşılaştırılmalı Tanısı Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2003.

4. Boch J, Supperer R. *Veterinary Medizinische Parasitologie*. 3. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1983; 2-5.
5. Uilenberg G. Babesiosis. In Wallingfor MW (ed) *Encyclopedia of Artropod-Transmitted Infection of Man and Domesticated Animals*. CABI publishing, UK 2001.
6. Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F. *Veteriner ve Tıbbi Protozooloji 2*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını No:248. Ankara Univ Basımevi, Ankara, 1969; s 313.
7. Göksu K. Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theileridae'lerin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını. Ankara Univ Basımevi, Ankara, 1976; s 205.
8. Emre Z, Düzgün A, İriadam M, Sert H. Seroprevalence of *Babesia ovis* in Awassi sheep in Urfa, Turkey, *Turk J Vet Anim Sci* 2001;25:759-762.
9. Çiçek H, Düzgün A, Emre Z, Karaer Z. Seroprevalence of *Babesia ovis* in sheep around Afyon *Turk J Vet Anim Sci* 2004;28: 683-686.
10. İça A, Yıldırım A, İnci A. Kayseri yöresinde koyunlarda kan protozoonlarının reserve line blotting yöntemi ile araştırılması. XIV Ulusal Parazitoloji Kongresi Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir 2005; s 161.
11. Aktaş M Altay K, Dumanlı N. Determination of prevalence and risk factors for infection with *Babesia ovis* in small ruminants from Turkey by polymerase chain reaction. *Parasitol Res*. 2007;100: 797-802
12. Taşcı S. Van Bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri arasındaki ilişkiler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1989;36(1):53-63
13. Sevinc F, Turgut K, Sevinc M. et al. Therapeutic and prophylactic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental *Babesia ovis* infection of lambs. *Vet Parasitol* 2007; 149: 65-71.
14. Dalgliesh RJ, Dimock CK, Hill MWM, Mellors LT. *Babesia argentina*: Disseminated intravascular coagulation in acute infections in splenectomized calves. *Exp Parasitol* 1976;40:124-131.
15. Yeruham I, Hadani A, Galker F. Some epizootiological and clinical aspects of ovine babesiosis caused by *Babesia ovis*—a review. *Vet Parasitol* 1998; 74:153-163.
16. Ristic M, Montenegro-James S. Immunization Against *Babesia*. in *Babrsiosis of Domestic Animals and Man*. Miodrac Ristic (ed). CRC pres, United States 1988; 163-191.
17. Murase T, Ueda T, Yamato O, Tajima M, Maede Y. Oxidative damage and enhanced erythrophagocytosis in canine erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. *Journal of Vet Med Sci* 1996; 58: 259-261.
18. İmren HY, Şahal M, Veteriner İç Hastalıkları. 3. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara 1994;158.
19. Furlanello T, Fiorio F, Caldin M, Lubas G, Gallego-Solano L. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. *Vet Parasitol* 2005;134:77-85.
20. Turgut K. *Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis, Bahçivan Basım, Konya 2000; ss 17-166*.
21. Gopegui RR, Penalba B, Goicoa A, Espada Y, Fidalgo E, Espino L. Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. *The Vet J* 2007;174:129-132.
22. Kraje AC. Canine haemobartonellosis and babesiosis. *Compend Contin Educ Prac Vet* 2001;23:310-319.
23. Zygnier W, Gojska O, Rapacka G, Jaros D, Wedrychowicz H. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Vet Parasitol* 2007;145: 146-151.