

Some Oxidative Stress Parameters and Element Levels in Anaplasmosis Goats

Uğur ÖZDEK¹, Bekir OĞUZ², Yeter DEĞER³

¹Vocational School Of Health Service, Van Yüzüncü Yıl University, Van, TURKEY

²Department of Parasitology, VFaculty of Veterinary Medicine, Yüzüncü Yıl University, Van, TURKEY

³Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Yüzüncü Yıl University, Van, TURKEY

ABSTRACT

Anaplasmosis caused by *Anaplasma* species is an infectious disease in mammals in tropical and subtropical climatic regions. This study was performed to determine some oxidative stress parameters and element levels in naturally infected goats with anaplasmosis. The material of this study consisted of Hair goats aged 1.5-2 years who were brought to the Slaughterhouse of Van Metropolitan Municipality for slaughtering. Blood samples were collected from 91 goats. 35 goat infected groups diagnosed as anaplasmosis and 10 goat undiagnosed goats were used as healthy group after clinical and parasitological examination (giemsa stained peripheral blood frots and serological method (cELISA)). Blood was taken from the animal's vena jugularis. The blood samples were taken into anticoagulant tubes and centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. Serum malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels with catalase (CAT) enzyme activity were determined by spectrophotometric method and element (copper, iron, magnesium, potassium, zinc, sodium, manganese and calcium) analysis were performed in atomic absorption spectrometer (AAS, Thermo Scientific, Model: ICE-3000 series). Statistical analysis of the data was performed using SPSS 22 program (Mann-Whitney U test). It was observed that oxidative stress marker MDA level was significantly increased and GSH level with CAT enzyme activity decreased in infected goats compared to healthy group ($P < 0.05$). However, it was found that copper and iron levels increased significantly and magnesium, potassium, zinc, sodium, manganese and calcium levels decreased in goats with anaplasmosis ($P < 0.05$). Anaplasmosis goats showed significant changes in oxidative stress parameters and element levels. This finding may be useful in the diagnosis, prognosis and treatment of the disease.

Key words: Anaplasmosis, Element, Goat, Oxidative stress.

Anaplasmosisli Keçilerde Bazı Oksidatif Stres Parametreleri ile Element Seviyeleri

ÖZET

Anaplasma türlerinin meydana getirdiği anaplasmosis, tropik ve subtropik iklim bölgelerindeki memeli hayvanlarda görülen enfeksiyöz bir hastalıktır. Bu çalışma, anaplasmosis ile doğal enfekte keçilerde, bazı oksidatif stres parametreleri ile element düzeylerini tespit etmek için yapıldı. Bu çalışmanın materyalini Van Büyükşehir Belediyesi Mezbahanesine kesim için getirilen ortalama 1.5-2 yaşlarında Kıl keçisi oluşturdu. 91 keçiden alınan kan örneklerinin, klinik ve parazitolojik incelenmesi (giemsa boyalı perifer kan frotileri ve serolojik yöntem (cELISA)) sonucu anaplasmosis tanısı konulan 35 keçi enfekte grup ve tanı konulmayan 10 adet keçi sağlıklı grup olarak kullanıldı. Her bir hayvanın vena jugularisinden antikoagulantsız tüplere alınan kanlar 2000 rpm devirde 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Elde edilen serumlarda malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyeleri ile katalaz (CAT) enzim aktivitesi spetkrofotometrik yöntemle, element (bakır, demir, magnezyum, potasyum, çinko, sodyum, mangan ve kalsiyum) analizi ise atomik absorpsiyon spektrometresinde (AAS, Thermo Scientific, Model: ICE-3000 series) yapıldı. Elde edilen verilerin, istatistik hesaplamaları SPSS 22 programı (Mann-Whitney U testi) kullanılarak yapıldı. Sağlıklı gruba göre, enfekte keçilerinde, oksidatif stres belirteci olan MDA seviyesinin önemli oranda arttığı, GSH seviyesi ile CAT enzim aktivitesi ise azaldığı görüldü ($P < 0.05$). Bununla birlikte anaplasmosisli keçilerde bakır ve demir miktarlarının önemli oranda arttığı, magnezyum, potasyum, çinko, sodyum, mangan ve kalsiyum seviyelerinin ise azaldığı ($P < 0.05$) tespit edildi. Anaplasmosisli keçilerde oksidatif stres parametreleri ile element seviyeleri önemli oranda değişiklik gösterdi. Bu bulgu hastalığın ayrıca tanı, prognoz ve tedavisinin değerlendirilmesinde yararlı olabilir.

Anahtar kelimeler: Anaplasmosis, Element, Keçi, Oksidatif stres.

GİRİŞ

Anaplasmosis sığır, koyun, keçi ve yabani ruminantların eritrositlerinde yıkıma neden olan, kene ve kan emici artropodlarla bulaşan enfeksiyöz bir hastalıdır. Anaplasmosise neden olduğu bilinen altı Anaplazma türü vardır: *A. ovis*, *A. marginale*, *A. centrale*, *A. platys*, *A. bovis* ve *A. fagocytophilum*. Bunlardan *Anaplasma ovis* ve *Anaplasma phagocytophilum* koyun ve keçilerde anaplasmosisine neden olan önemli etkenlerdir. Bunlardan *A. ovis* koyun başta olmak üzere koyun ve keçilerde daha fazla anaplasmosise neden olur (Shabana ve ark. 2018).

Anaplasmosiste, anaplasma etkenleri eritrositleri istila ederek hemolize yol açar ve bunun sonucunda anemi meydana gelir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, Anaplasma türlerinin neden olduğu enfeksiyonda oksidatif stresin, eritrositlerin hasarında ve aneminin oluşmasında etkili olduğu bildirilmiştir (De ve ark. 2012; Jalali ve ark. 2016).

Reaktif oksijen radikalleri (ROS) değişik birçok reaksiyonla hücre ve dokularda oluşur. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önleyen enzimatik olan (süperoksit dismutaz, katalaz v.b.) ve olmayan (glutatyon, vitamin v.b.) antioksidan savunma sistemleri vardır (Değer ve ark. 2009; Esmailnejad ve ark. 2012). Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde ROS' un ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin korunması gerekir. Bu dengenin bozulması organizmada oksidatif strese neden olur. Oksidatif strese bağlı oluşan serbest radikaller ise proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi vücudumuzun temel yapı unsurlarının hasar görmesine neden olur (Değer ve ark. 2009).

ROS'un etkisi sonucu membranyapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile lipit peroksidasyonu başlar. Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyondur ve direk olarak membran yapısına, indirek olarak ise reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Eritrosit membranı çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin ve sürekli yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kaldığı için lipit peroksidasyonuna çok duyarlıdır (Jalali ve ark. 2016). Babesia ve theileria gibi piroplazmalarla enfekte olan hayvanların eritrositlerinde lipit

peroksidasyonuna neden olan serbest radikallerin miktarı artar ve bu artışa bağlı olarak hücre hasarı meydana gelir (Değer ve ark. 2009; Esmailnejad ve ark. 2012; Jalali ve ark. 2016).

Mineraller kemik ve kıkırdak oluşumu, enzimatik reaksiyonlar, hücre içi ve hücre dışı sıvı dengeleri, oksijen taşınımı, elektron transfer reaksiyonları, kas-sinir fonksiyonları ve hormon üretimi gibi fizyolojik fonksiyonlarda görev alırlar. Fazla veya eksikliğe bağlı olarak gelişen mineral dengesizlikleri bazı patolojik durumların gelişmesinde rol oynar (Mert ve ark. 2008). Paraziter hastalıklar, hayvanları iz element ve vitamin noksanlığına duyarlı hale getirir (Dede ve ark. 2008; Akış ve Dede 2009). Paraziter hastalıklarda görülen mineral noksanlıkları, genelde kompleks bir mekanizma gösterir. Bakır, çinko, magnezyum ve mangan serbest radikallerin yol açtığı hasarlara karşı koyan antioksidan sistemler için gerekli iz elementlerdir. Bu elementlerin enfekte olmuş hayvanlarda azalması, oksidatif stresin oluşması için koşullar sağlayabilir. Bu elementlerin konakçı immün fonksiyonu üzerindeki etkisi paraziter enfeksiyonun şiddeti, süresi ve ciddiyetine bağlıdır (Esmailnejad ve ark. 2016).

Bu çalışma, anaplasmosisli keçilerde, bazı oksidatif stres parametreleri (MDA, GSH, CAT) ile makro ve mikro element düzeylerini tespit etmek için yapıldı.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın materyalini Van Büyükşehir Belediyesi Mezbahanesine getirilen ortalama 1.5-2 yaşlarında klinik ve laboratuvar bulgularıyla teşhis konulmuş 35 adet anaplasmosisli ve 10 adet sağlıklı erkek Kıl keçisi oluşturdu.

Her keçinin kulak ucundan alınan kan örneğinden sürme ince kan frotisi hazırlandı, daha sonra bu frotiler Giemsa yöntemiyle boyanarak x100 büyütmede ışık mikroskopunda piroplasmik formlar yönünden incelendi. Ayrıca hayvanların vena jugularisinden antikoagülantsız tüplere kan alındı. Bu kanlar 2000 rpm'de 10 dk santrifuj edililerek serumları ayrıldı. Elde edilen bu serumlarda ticari c-ELISA kiti (Anaplasma antibody test kit, c-ELISA, no: 282- 2VMRD-USA) kullanılarak anaplasma antikorlarının tespiti yapıldı.

Anaplasmosis teşhisi konulan keçilerin serumunda; MDA

düzeyi, Placer ve ark. (1966)'nın metoduna göre yapıldı. Bu amaçla tiyobarbiturik asitle reaksiyona giren MDA'nın konsantrasyonu spektrofotometrede 532 nm'de ölçüldü. MDA ölçümünde standart olarak 1,1,3,3- tetramethoxypropane kullanıldı. GSH düzeyi, Sedlak ve Lindsay'ın bildirdiği metoda göre yapıldı. Bu amaçla 5,5'dithio-bis-2-nitrobenzoic acid kullanılarak oluşan renk değişimi spektrofotometrede 412 nm'de ölçüldü (Sedlak ve Lindsay 1968). Katalaz aktivitesi ise Goth (1991)'un metoduna göre ölçüldü. Bu amaçla amonyum molibdat ve hidrojen peroksidin oluşturduğu renkli kompleksin absorbansı 405 nm'de ölçüldü.

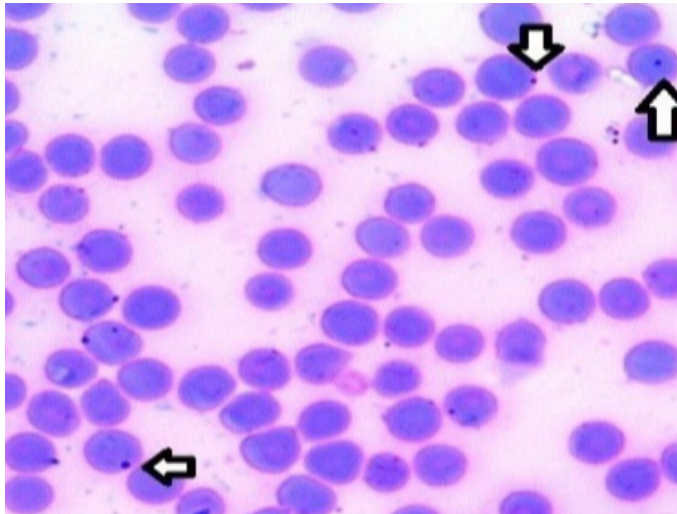
Serumda element (bakır, çinko, manganez, demir, magnezyum, potasyum, sodyum ve kalsiyum) analizi atomik absorpsiyon spektrometresinde (AAS, Thermo Scientific, Model: ICE-3000 series) yapıldı (Morton ve Roberts 1993).

İstatistiksel analiz

Elde edilen verilerin, istatistik hesaplamaları SPSS 22 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar Mann-Whitney "U" test kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar $X \pm SE$ olarak verildi. $p < 0.05$ istatistik olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Enfekte keçilerin kulak ucundan alınan kandan yapılan sürme ince kan frotisinin mikroskopik muayenesi ile eritrositler içerisinde mavi-mor renge boyanmış Anaplasma türleri görüldü.



Şekil 1. Kan Frotilerinde Anaplasma Türlerinin Eritrosit İçindeki Görünümü (oklar). Giemsa Boyama X 100.

Sağlıklı gruba göre, enfekte keçilerinde, oksidatif stres belirteci olan MDA seviyesinin önemli oranda arttığı, GSH seviyesi ile CAT enzim aktivitesi ise azaldığı görüldü ($P < 0.05$). Bununla birlikte anaplasmosisli keçilerde bakır ve demir miktarlarının önemli oranda arttığı, manganez, magnezyum, potasyum, çinko, sodyum ve kalsiyum seviyelerinin ise azaldığı tespit edildi ($P < 0.05$).

Tablo 1. Sağlıklı ve Anaplasmosisli Kıl Keçilerinde Serum MDA ve GSH Miktarı ile CAT Enzim Aktivitesi.

Parametre	Sağlıklı grup (n=10)	Enfekte grup (n=35)	p
MDA (nmol/ml)	$(X \pm SE)$	$(X \pm SE)$	0.01
GSH (nmol/mL)	7.84 ± 0.94	10.28 ± 0.78	0.01
CAT (U/L)	2.06 ± 0.06	1.74 ± 0.06	0.01

$P < 0.05$, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemli farkları gösterir.

Tablo 2. Sağlıklı ve Anaplasmosisli Kıl Keçilerinde Serum Mikro Element Düzeyleri.

Parametre	Sağlıklı grup (n=10)	Enfekte grup (n=35)	p
Bakır (mg/L)	6.9 ± 0.3	9.9 ± 0.6	0.01
Çinko ($\mu\text{mol/L}$)	1.64 ± 0.01	1.62 ± 0.01	0.07
Manganez ($\mu\text{mol/L}$)	0.51 ± 0.20	0.41 ± 0.26	0.44
Demir ($\mu\text{g/dL}$)	85.85 ± 28.55	253.82 ± 56.24	0.01

$P < 0.05$, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemli farkları gösterir.

Tablo 3. Sağlıklı ve Anaplasmosisli Kıl Keçilerinde Serum Makro Element Düzeyleri.

Parametre	Sağlıklı grup (n=10)	Enfekte grup (n=35)	p
Magnezyum (mg/dl)	3.24 ± 0.18	2.60 ± 0.19	0.01
Potasyum (mmol/l)	12.65 ± 0.36	11.45 ± 0.29	0.01
Sodyum (mmol/L)	133.0 ± 1.7	129.8 ± 1.6	0.03
Kalsiyum (mmol/L)	1.89 ± 0.01	1.78 ± 0.06	0.01

$P < 0.05$, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemli farkları gösterir.

TARTIŞMA

Parazitler yerleştikleri doku, organ ve hücrelerde serbest radikal miktarını artırarak lipit peroksidasyonuna neden olarak, konakçıda doku ve hücre hasarını oluştururlar. Piroplazmosisli hayvanlarda eritrositlerde lipit peroksidasyonu artması ve antioksidan savunmanın azalması eritrosit membran kırılabilirliğini artırır (Chiou ve ark. 2012).

Sunulan çalışmada, serum MDA konsantrasyonu anaplasmosis ile enfekte grupta kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulundu (Ergönül ve Kontaş Aşkar 2009; De ve ark. 2012; El-Ashker ve ark. 2015). Bu sonuca bakılarak anaplasmosisin oksidatif strese ve lipit peroksidasyonuna neden olduğu söylenebilir. Çünkü Anaplasma etkenleri eritrositlerde çoğalır. Bu çoğalma sonucunda eritrositler hasar görür ve parçalanır. Bu sonuçtan farklı olarak Jalali ve ark., (2016) MDA seviyesinin değişmediğini bulmuşlardır.

Antioksidan sistemler, parazitik invazyonların bir sonucu olarak gelişen oksidatif stresten hücre, doku ve organların hasar görmesine karşı koruyucu bir etkiye sahiptir (Deger ve ark. 2009). SOD, CAT, GPx ve GSH eritrositleri lipit peroksidasyonunun yıkıcı etkilerinden korumada en önemli antioksidan maddelerdir (Chaudhuri ve ark. 2008; Cronagaj ve ark. 2017). Eritrositlerde oluşan süperoksit anyonları, süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürülür. H₂O₂ daha sonra glutation peroksidaz (GSH-Px) varlığında GSH ile reaksiyona sokularak veya CAT ile H₂O ve O₂'ye dönüştürülerek H₂O'ya dönüştürülür. Antioksidan etkinin azalması eritrositlerde ROS birikimine yol açar ve oksidatif hasara neden olur (Chiou ve ark. 2012).

Bu çalışmada, GSH seviyesinin ve CAT enzim aktivitesinin azaldığı tespit edildi. Bu azalma eritrositleri ROS kaynaklı oksidatif hasardan korumak için kullanılmalarından kaynaklanmış olabilir. Bu sonuç eritrositik parazitler ile enfekte farklı konakçılarda oksidatif stresin artması ile birlikte GSH seviyesinin (Biçek ve ark. 2005; Rezai ve ark. 2006; Değer ve ark. 2009) ve CAT enzim aktivitesinin (Razavi ve ark. 2011; Esmailnejad ve ark. 2012; Cronagaj ve ark. 2017) azaldığını tespit eden çalışmalar ile uyumludur. Bununla birlikte Chaudhuri ve ark. (2008) *B.gibsoni* enfekte köpeklerde CAT enzim aktivitesinin arttığını bulmuşlardır.

Paraziter enfeksiyonlarda görülen iz mineral eksiklikleri, genelde kompleks bir mekanizmanın sonucu meydana gelir. Bakır, çinko ve mangan antioksidan sistemde görev alan enzimlerde kofaktör olarak görev yapan minerallerdir. Bu minerallerin enfekte olmuş hayvanlarda azalması, oksidatif stresin oluşması için ortam sağlayabilir. Bunların konakçı immün fonksiyonu üzerindeki etkisi paraziter enfeksiyonun şiddeti, süresi ve ciddiyetine bağlıdır (Esmailnejad ve ark. 2012).

Pek çok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda; Kozat ve ark. (2003) *Babesia ovis* ile enfekte koyunlarda bakır seviyesinin arttığını, çinko seviyesinde anlamlı değişiklik olmadığını, Dede ve ark. (2008) *Theileria equi* ile enfekte atlarda, Akış ve Dede, (2009) *Babesia ovis* ile enfekte koyunlarda bakır seviyesinin arttığını, çinko seviyesinin azaldığını, Esmailnejad ve ark. (2012) *Babesia ovis* ile enfekte koyunlarda bakır ve demir seviyesinin arttığını, çinko ve mangan seviyelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yukarıdaki bildirimlerden farklı olarak Değer ve ark. (2005), theileriosisli sığırlarda bakır ve demir düzeyinin anlamlı oranda düştüğünü bildirmişlerdir. Jalali ve ark. (2016) ise yaptıkları çalışmada, *Anaplasma ovis* ile enfekte keçilerde bakır ve çinko düzeylerindeki azalmanın ve demir seviyesindeki artışın anlamlı olmadığını bulmuşlardır. Bu çalışmada, anaplasmosisli keçilerde önem gösterecek şekilde bakır ve demir seviyesinin yüksek, mangan ve çinko seviyesinin düşük olduğu tespit edildi. Enfekte keçilerde paraziter enfeksiyonun akut faz cevabının bir sonucu olarak serum bakır seviyesi artmış olabilir. Çinko ve mangan seviyelerindeki azalma, hormonal değişimlerle veya parazitin kendisi veya konakçı parazit ilişkisinin doğrudan etkisinin bir sonucu olarak bu minerallerin tüketiminin artmasından kaynaklanmış olabilir. Demir organizmada özellikle hemoglobin ve myoglobin gibi hem bileşikleri ile ve hem olmayan transferrin, ferritin ve hemosiderin yapısında proteinlerle kompleks halde bulunur. Vücuttaki demirin büyük bir kısmı eritrosit içinde hemoglobinin yapısında bulunmaktadır. Demir seviyesindeki artış enfeksiyon nedeniyle eritrositlerin intravasküler hemolizi sonucu açığa çıkan demire bağlı olabilir.

Çalışmamızda, enfekte keçilerde önemli derecede magnezyum, potasyum, sodyum ve kalsiyum düzeylerinin düşük bulunması, theileriosisli atlarda (Takeet ve ark. 2009; Zaeemi ve ark. 2016) ve sığırlarda (Khan ve ark. 2011; Col ve Uslu 2007), babesiosisli sığırlarda (Hashem ve ark. 2018) yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Mineral seviyelerindeki düşmeler, beslenme bozukluğu, diyet emilimlerinin azalması, bağırsak ve böbrek bozukluklarından kaynaklanmış olabilir (Col ve Uslu 2007). Bizim bulgularımızdan farklı olarak, theileriosisli kalsiyum ve fosfor seviyesinin değişmediği (Garba ve ark. 2012; Vidhyalakshmi ve ark. 2018), magnezyum seviyesinin yükseldiği (Koenhemi ve ark. 2019) tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, anaplasmosisli keçilerde oksidatif stres parametreleri ile element seviyeleri önemli oranda değişiklik gösterdi. Bu bulgu hastalığın ayrıca tanı, prognoz ve tedavisinin değerlendirilmesinde yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

- Akiş ME, Dede S. (2009). Babesiosisli koyunlarda çinko ve bakır konsantrasyonları ve karbonik anhidraz enzim aktivitesinin saptanması. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2): 33-37.
- Biçek K, Değer Y, Değer S. (2005). Some Biochemical and Haematological Parameters of Sheep Infected with *Babesia* species. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16(1):33-35
- Chaudhuri S, Varshney JP, Patra RC. (2008). Erythrocytic antioxidant defense, lipid peroxidase level and blood iron, zinc and copper concentrations in dogs naturally infected with *Babesia gibsoni*. *Res. Vet. Sci.*, 85: 120-124
- Chiou SP, Yokoyama N, Igarashi I, Kitoh K, Takashima Y. (2012). Serum of *Babesia rodhaini* infected mice down regulates catalase activity of healthy erythrocytes. *Exp. Parasitol.* 132: 327-333.
- Col R, Uslu U. (2007). Changes in selected serum components in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 51: 15-18.
- Crnogaj M, Cerón JJ, Šmit I, Kiš I, Gotić J, Brkljačić M, Matijatko V, Rubio CP, Kučer N, Mrljak V. (2017). Relation of antioxidant status at admission and disease severity and outcome in dogs naturally infected with *Babesia canis canis*. *BMC Vet Res*, 13:114.
- De U, Dey S, Banerjee P and Sahoo M. (2012). Correlations among *Anaplasma marginale* parasitemia and markers of oxidative stress in crossbred calves. *Tropical Animal Health and Production*, 44: 385-388.
- Dede S, Deger Y, Deger S, Tanrıtanır P. (2008). Plasma levels of zinc, copper, copper/zinc ratio, and activity of carbonic anhydrase in equine piroplasmiasis. *Biol Trace Elem Res*, 125: 41-45.
- Deger S, Deger Y, Bicek K, Ozdal N, and Gul A. (2009). Status of lipid peroxidation, antioxidants, and oxidation products of nitric oxide in equine babesiosis: status of antioxidant and oxidant in equine babesiosis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(10): 743-747
- Değer S, Biçek K, Değer Y. (2005). Theileriosisli sığırlarda bazı biyokimyasal parametrelerdeki (Demir, Bakır, Vit C, Vit E) değişiklikler. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16: 49-50.
- El-Ashker M, Hotzel H, Gwida M, El-Beskawy M, Silaghi C, Tomaso H. (2015). Molecular biological identification of *Babesia*, *Theileria*, and *Anaplasma* species in cattle in Egypt using PCR assays, gene sequence analysis and a novel DNA microarray. *Vet Parasitol*, 30(3-4):329-34.
- Ergönül S, Konaş Aşkar T. (2009). Anaplasmosis'li sığırlarda ısı şok protein (HSP), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) ve interleukin (IL-6, IL-10) düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(4): 575-79.
- Esmailnejad B, Tavassoli M, Asri-Rezaei S, Dalir Naghadeh B. (2012). Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *Vet Parasitol*, 185: 124-130.
- Garba UM, Sackey AKB, Agbede RIS, Tekdek LB and Bisalla M. (2012). Plasma total protein, serum calcium and inorganic phosphate levels in Nigerian horses with natural piroplasmiasis. *J. Phys. Pharm. Adv.*, 2: 117-121.
- Goth L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*; 196: 143-152.
- Hashem MA, Neamat-Allah ANF, Gheith MA. (2018). A study on bovine babesiosis and treatment with reference to hematobiochemical and molecular diagnosis. *Slov Vet Res*, 55: 165-73
- Jalali SM, Bahrami S, Rasooli A, Hasanvand S. (2016).

- Evaluation of oxidant/antioxidant status, trace mineral levels, and erythrocyte osmotic fragility in goats naturally infected with *Anaplasma ovis*. *Trop Anim Health Prod*, 48:1175–1181.
- Khan IA, Khan A, Hussain A, Riaz A, Aziz A. (2011). Hemato-biochemical alterations in cross bred cattle affected with bovine Theileriosis in semi arid zone. *Pakistan. Vet. J.*, 31: 137-140.
- Koenhemi L, Ateş Alkan F, Morganti G, Barutçu BÜ, Or EM. (2019). Evaluation of trace elements in equine piroplasmosis. *Medycyna weterynaryjna*, 75(02):6230.
- Kozat S, Yüksek N, Altuğ N, Ağaoğlu ZT, Erçin F. (2003). Studies on the effect of iron preparations in addition to babesiosis treatment on the haematological and some mineral levels in sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *YYÜ Vet Fak Derg*, 14(2): 18-21.
- Mert H, Mert N, Dogan I, Cellat M, Yasar S. (2008). Element status in different breeds of dogs. *Biol Trace Elem Res.*, 125(2):154-9.
- Morton S, Robert DJ. (1993). Unicam AAS Methods, Manual Issue 2 (05/93) Universty of Bristol, UK Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation(malonyl dialdehyde)in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16: 359–364.
- Razavi SM, Nazifi S, Bateni M. (2011). Rakhshandehroo E. Alterations of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation and serum trace elements associated with anemia in bovine tropical theileriosis. *Veterinary parasitoloji*, 180 (3-4): 209-214.
- Rezai, SA and Dalir-Naghadeh B. (2006). Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet Parasitol.*, 142: 179-186.
- Sedlak J, Lindsay R.H. 1968, Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal Biochem*, 25:192-205
- Shabana II, Alhadlag NM, Zaraket H. (2018). Diagnostic tools of caprine and ovine anaplasmosis: a direct comparative study. *BMC Veterinary Research*, 14:165.
- Takeet M, Adeleye A, Adebayo O and Akande F. (2009). Haematology and serum biochemical alteration in stress induced equine theileriosis. A case report. *Science World Journal*, 4(2): 19-21.
- Vidhyalakshmi TM, Raval SK, Parikh PV, Patel PV. (2018). Biochemical alterations in Horses Infected with *Theileria equi*. *The Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 14(2): 30-33.
- Zaemi M, Razmi GR, Mohammadi GR, Abedi V, Yaghfoori S. (2016). Evaluation of serum biochemical profile in Turkoman horses and donkeys infected with *Theileria equi*. *Rev Méd Vét*, 167(11-12): 301-309.