



Coagulation Profiles in Naturally Infective Cattle with *Fasciola Hepatica*[#]

Erhan Yalçinkaya^{1,a}, Onur Başbuğ^{2,b*}

¹Veteriner Hekim, Giresun, Türkiye

²Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

*Corresponding author

Research Article

Acknowledgment

This study is a part of master's Thesis #

History

Received: 25/03/2022

Accepted: 05/10/2022

ABSTRACT

Fasciola hepatica, which is common in the world, is a zoonotic trematode that affects the liver of many animal species, especially sheep and cattle. In this study, it was aimed to determine the changes that may occur in the coagulation profile in cattle with *Fasciola hepatica* detected. The material of the study consisted of 282 cattle in farms located in Sivas and Giresun provinces. Within the scope of the study, according to the clinical and laboratory results of these cattle; 20 cattle were included in the diseased group and 20 cattle were included in the healthy group. After the general clinical examination of the animals to be studied, stool and blood samples were taken. Stool samples taken from these animals *Fasciola* spp. Sedimentation-zinc sulfate flotation method was used to determine the eggs. In addition, *Fasciola hepatica* antibodies from serum samples were investigated by ELISA method. Coagulation profiles were examined from blood samples taken into tubes with Na-citrate. As a result of the coagulation analysis, it was determined that positive samples elongated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT) and International Normalized Ratio (INR). In conclusion, it was concluded that chronic fasciolosis may cause significant changes in hematological and hemostatic parameters in cattle.

Keywords: *Fasciola hepatica*, Cattle, Coagulation

Fasciola hepatica ile Doğal Enfekte Sığırlarda Koagülasyon Profilleri

Bilgi

Bu çalışma yüksek lisans tezinin bir parçasıdır #

Sorumlu yazar*

Süreç

Geliş: 25/03/2022

Kabul: 05/10/2022

Copyright



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Öz

Dünya gelinde yaygın olarak görülen *Fasciola hepatica*, koyun ve sığır başta olmak üzere birçok hayvan türünün karaciğerini etkileyen zoonotik bir trematodtur. Bu çalışmada *Fasciola hepatica* tespit edilen sığırlarda koagülasyon profilinde meydana gelebilecek değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın materyalini Sivas ve Giresun illerinde bulunan çiftliklerdeki 282 adet sığır oluşturdu. Çalışma kapsamında, bu sığırların klinik ve laboratuvar sonuçlarına göre; 20 sığır hastalıklı gruba, 20 sığır ise sağlıklı gruba dahil edildi. Araştırma yapılacak hayvanların genel klinik muayenesi yapıldıktan sonra dışkı ve kan örnekleri alındı. Bu hayvanlardan alınan gaita numuneleri *Fasciola* spp. yumurtalarının belirlenmesine yönelik olarak, sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon metodu kullanıldı. Ayrıca ELISA yöntemi ile serum örneklerinden *Fasciola hepatica* antikorları ile araştırıldı. Na-sitrat'lı tüplere alınan kan örneklerinden koagülasyon profilleri incelendi. Yapılan koagülasyon analizi sonucunda pozitif örneklerin parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), protrombin zamanı (PT) ve International Normalized Ratio (INR)'da uzama meydana getirdiği tespit edildi. Sonuç olarak, kronik fascioliasis sığırlarda hematolojik ve hemostatik parametrelerde önemli değişikliklere neden olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Fasciola hepatica*, Koagülasyon, Sığır

^a osmanlicocugu52@gmail.com

^b https://orcid.org/0000-0002-7042-9115

^b onurbasbug@hotmail.com

^b https://orcid.org/0000-0003-3136-0589

Giriş

Türkiye ekonomisinde çok büyük öneme sahip olan sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından birisini de paraziter hastalıklar oluşturmaktadır (Celep, 1990; Kaplan ve Başpınar, 2009). Hayvanlarda görülen paraziter hastalıklar arasında helmintler önemli bir yer tutmaktadır (Toparlak ve Gül, 1988; Celep, 1990; Yıldırım ve ark., 2007; Kaplan ve Başpınar, 2009; Ahmed, 2014). Helmint enfeksiyonları çoğu zaman klinik belirti göstermeksizin yavaş yavaş ilerleyerek hayvanlarda gelişmede gerileme, et, süt, yapağı ve yumurta gibi hayvansal gıdaların miktarında ve kalitesinde azalmaya, yük hayvanlarında iş gücü kaybına yol açabilir. Ağır enfeksiyonlarda ise ölüme kadar gidebilir. İnsanlarda ve hayvanlarda görülen önemli helmint hastalıklarından birini de fascioliasis oluşturur (Soulsby, 1968; Chowdhury ve Tada 1994; Geurden 2008).

Karaciğerde tahribat sonucu oluşan bir hastalık olan Fasciolosis; ruminantlar, at, eşek, domuz, köpek, kedi gibi hayvanların vücutlarına yerleşebilirler. Bu hastalığa *Fasciola hepatica* (F. hepatica) ve *F. gigantica* (*Fasciola gigantica*) başta olmak üzere Fasciolidae ailesindeki etkenler sebep olup, bütün dünyada görülen ve önemli ekonomik kayıplara sebep olan paraziter bir enfeksiyondur (Chowdhury ve Tada 1994; Yavuz ve ark., 2007; Geurden, 2008).

F. hepatica, son konak olan ruminantlarda, enfektif metaserkerlerin alınmasını takiben hastalığın şekillenmesi başlamaktadır. Özellikle bağırsak duvarını delerek safra kanalı ve karaciğere gelen etkenlerin, karaciğer ve safra kanalında önemli hasarlar oluşturduğu bildirilmiştir (Alvarez ve ark., 2015; Gul, 2006). Sığırlarda F. hepatica ile enfeksiyonlarında özellikle fibrolitik lezyonların gelişebileceği ve kronik dönemde de artan paraziter etkenleri ile ilişkili olarak fibrozisin şiddetli olabileceği ifade edilmiştir (Marcos ve ark., 2007).

Pıhtılaşma parametreleri hastalıkların patogeneziğine göre etkilenebilmekte ve bu etkileşimle ilişkili olarak seviyelerinde değişimler görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda (Huang ve ark., 2020; Tang ve ark., 2020) hastalıklarda pıhtılaşma parametreleri hastalığın şiddeti ve mortalite ile korrelasyon gösterebileceği ifade edilmiştir. Akut ya da kronik karaciğer hasarlarının prokoagülan antikoagülan sistemleri etkilenebileceği ve dolayısıyla pıhtılaşma parametrelerinde değişimlere neden olabileceği bildirilmiştir (Premkumar ve Sarin, 2020).

Bu parametreler, aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), protrombin zamanı (PT) ve International Normalized Ratio (INR) sayısını içerir (Duncan ve ark., 1994; Heuwieser ve ark., 1989; MacLeod ve ark., 2003; Riley ve ark., 2000).

aPTT, PT ve INR koagülasyonun ekstrinsik ve intristik olarak araştırılmasında yaygın olarak tercih edilen testlerden biri olup koagülasyon faktörlerinin kalıtsal veya edinsel eksikliklerinin değerlendirilmesi veya inhibitörlerini değerlendirmede kullanılmaktadır. aPTT'nin travma sonrası değişiminin kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Peterson ve Gottfried, 1982; Lip ve Lowe, 1995; Dacie ve Lewis, 2002; MacLeod ve ark., 2003). Beşeri

hekimlikte PT genellikle, derin ven trombozu ve atrial fibrilasyon geçiren vakalarda, operatif prosedürler uygulanan hastalarda kanama riskini değerlendirmek, oral antikoagülan tedavisi gören hastaları izlemek ve karaciğer fonksiyonunu değerlendirmek için tercih edilmektedir (Karakoyuni 2016; Riley ve ark., 2000). 1980'lerin başında Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilen INR, dünya genelinde oral antikoagülasyon izlemesi yapan çoğu laboratuvar tarafından kullanılmaktadır ve rutin olarak varfarin alan hastalar için dozaj planlamasına dahil edilmektedir (Riley ve ark., 2000).

Bu çalışmada, fascioliasisli sığırlarda koagülasyon parametrelerindeki değişimlerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.11.2017 tarih ve 65202830-050.04.04-118 sayılı yazısı ile onay alınarak yürütülmüştür.

Bu çalışma 2018 ve 2019 tarihleri arasında Sivas ve Giresun yöresinde yürütülmüştür.

Araştırma Sivas ve Giresun illerinde bulunan çiftliklerdeki 282 adet sığır araştırma materyalini oluşturmuştur. Hayvanlar hakkındaki bilgiler kaydedilerek, gerekli klinik muayeneler usulüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Sığırlardan dışkı her bir hayvanın rektumundan yaklaşık 50-100 g dışkı steril plastik kaplara alınmıştır. Numuneler, pedigr bilgilerine göre numaralandırılarak üzerlerine ayrıca dışkı alma tarihleri yazılmıştır. Alınan örnekler laboratuvara getirilerek incelenene kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Kan örneklerinin toplanması dışkı örneği alınan her bir hayvanın V. jugularis'inden koagülasyon analizleri için %3,2 Na-sitrat'lı, hematolojik analizler için EDTA'lı ve biyokimyasal analizler için vakumlu jelli tüplere kan örnekleri alınmıştır. Kayıt numarası verilen kan örnekleri laboratuvara getirildikten sonra tekniğine uygun olarak serumları çıkarılmış ve ependorf tüplere aktarılmıştır. Serum örnekleri analiz edilinceye kadar 20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Parazitolojik muayene sığırlardan alınan dışkı numunelerinde *Fasciola* spp. yumurtalarının aranması amacıyla sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde 10 g dışkı numunesi alındıktan sonra 200 mL su ile karıştırıldı. Bu karışım bir süzgeç ile üç kez süzülerek bir behere taşındı. Daha sonra karışım 30 dakika süre ile beher içerisinde çökmeye terkedildi. Bekleme sonucunda, dipteki tortu kısmı muhafaza edilerek, üst kısmı dökülmüştür. Dipteki tortu kısmı santrifüj tüpüne aktarılarak üst kısmına kadar çeşme suyu ve yumurtaların partiküllerden kolay ayrışmasını sağlamak için birkaç damla Tween 20 ilave edildi ve 1400 rpm'de 3 dk santrifüj edildi. Bu işlemten sonra süpernatant dökülmüş ve tortunun üzerine doymuş çinko sülfat (ZnSO₄) solüsyonu ilave edilerek 800 rpm de 3 dk santrifüj edildi. Santrifüjden çıkarılan tüplerin üzerine

bombe oluşturacak şekilde tekrar çinko sülfat solüsyonu eklenerek üzerlerine lamel konuldu ve 5 dk bekletildi. Süre sonunda lameller alınarak lam üzerine konuldu ve x100 büyütmede mikroskop altında yumurtalar yönünden muayene edildi. Ayrıca çalışmada, İDEXX marka ticari kitler kullanılarak ELISA yöntemi ile test serumlarında *Fasciola hepatica* antikorları araştırılmıştır.

Mikrokoagülometre cihazı (Medical Technology Industry-MT4C, Türkiye) ile PT, APTT analizleri yapıldı.

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi 22.0 SPSS programı (Statistical Package for Social Science, Sürüm 20, Chicago, IL) kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Simironov testi değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin karşılaştırılmasında Student-t, diğerlerinde MannWhitney U testi kullanıldı.

Bulgular ve Tartışma

Örnek alınan tüm hayvanların sistemik olarak genel muayeneleri yapıldı. Bu muayene sonucunda hayvanlarda herhangi bir klinik semptomla rastlanmadı. Vücut sıcaklığı (38.1-38.7 OC), kalp (70-76/dk) ve solunum frekansı (20-28 /dk) ile rumen hareketleri normal (8-10/5dk) değerler arasında belirlendi (Jackson ve Cockcroft 2008).

Koagülasyon faktörlerini incelemek için hasta ve sağlıklı hayvanların koagülometre ile aPTT, PT, INR ve % NO değerlerine bakıldı. Çıkan sonuçlar aşağıda (Çizelge 1) verildi.

Çizelge 1. Klinik olarak sağlıklı ve *Fasciola hepatica* lı hayvanlarda aPTT, PT, INR ve % NO parametre düzeylerinin istatistiksel analizi

Table 1. Statistical analysis of aPTT, PT, INR and % NO parameter levels in clinically healthy animals with *Fasciola hepatica*

Parametre	Hasta (x±Sx)	Sağlıklı (x±Sx)	P
aPTT	31,50±44.027	27,150±5.029	0,04
PT sec	41,375±17.897	28,820±3.259	0,04
INR	3,500±1.567	2,380 ± 0.273	0,04
% NO	98,460±42.552	59,145±8.784	0,05

Son konakları ruminantlar olan *F. hepatica*, sığırlarda oluşturduğu verim kayıpları ve insanlar için zoonoz olma özelliğinden dolayı dünya genelinde önemli bir yere sahiptir. *F. hepatica* ile enfekte hayvanların kan parametrelerinde bazı değişikliklerin meydana geldiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Mahdi ve Al-Baldawi,1987; Aksakal ve Özer, 1995; Yavuz ve ark., 2007). Fascioliasis 'de karaciğer tahribi söz konusu olabileceği ve meydana gelen hasarın genç parazitler tarafından parankimada, olgun parazitlerin ise safra yollarında hasar meydana oluşturabileceği belirtilmiştir. Bu hasarlar konağın bağışıklık durumuna, parazitin karaciğerdeki gelişme dönemlerine ve metaserker sayısına göre değişim gösterdiği ifade edilmiştir (Gul, 2006; Alvarez ve ark., 2015).

İnsanlarda kanama eğiliminin ortaya konulabilmesi ve trombozise zemin hazırlayan koagülasyon artışını

belirlemek amacıyla aPTT ve PT gibi testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Pıhtılaşma faktörlerinin üretildiği yer karaciğerdir ve ilaveten pıhtılaşmayı engelleyen proteinler ile fibrinolitik mekanizma öğeleri de karaciğerde üretilmektedir. Ayrıca karaciğer dolaşımındaki aktive olan pıhtılaşma faktörlerinin tutularak ortadan kaldırıldığı yerdir (Heuwieser ve ark., 1989; Morris, 1990). Karaciğer hastalığı olan vakaların %10-15'inde klinik olarak kanama bulguları gösterdiği bildirilmektedir. Karaciğer hastalığı olan insanlarda kanamanın çok çeşitli nedenleri olmakla beraber, başlıca nedeni pıhtılaşma faktörlerin eksikliğidir. Viral ve toksik hepatit gibi hafif karaciğer hastalıklarında genellikle laboratuvar bulgularında önemli bir değişiklik belirlenmez. Karaciğer hastalığı bulunan vakalarda kanama zamanı hastaların %40'ında bozulmaktadır (Hawkins, 1984). Karaciğer hastalığı ile beraber kolestazisin de bulunması vitamin K'nın bağırsaktan emiliminde bozulmaya neden olur ve böylece K vitamini eksikliği ortaya çıkar. Bu durum hem PT hem de aPTT uzamaya neden olabileceği belirtilmiştir (Hawkins, 1984; Lisman, 2006). Çocuklarda da karaciğer hastalığı durumlarında en yaygın gözlenen bozukluk uzamış PT'dir (Lisman, 2006; Mannucci 2006). Hepatoselüler hasarın, PT'nin artmasına neden olabileceğini bildirilmiştir (Osuna, 1977). *Schistosoma mansoni*'nin insanlarda neden olduğu hepatik fibrozisin, aPTT ve PT'nin uzamasıyla birlikte pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyonel aktivitelerini azalttığını bildirmiştir (Omran, 1990; Omran ve ark., 1994). İssi (2000) sığırların CGB gibi viral hastalığında kanama ve pıhtılaşma zamanında uzamaların meydana gelebileceğini ifade etmiştir. Bostelmann ve ark. (2000), Brezilya'nın Parana Eyaletindeki bir mezbahada fasciolosis'li sığır karaciğeri örneklerini değerlendirdiği bir çalışmada (Hawkins, 1984), tüm enfekte örneklerin safra kanallarında orta derecede bir hiperplazi bulunduğunu belirtmiştir. *F. hepatica* ile enfekte koyunlarda PT uzamaya eden olduğunu bildirmiştir. Bunu, *F. hepatica* enfeksiyonlarında, intrinsik yolun aktivasyonunun, hepatoselüler hasara ek olarak, ekstrinsik ve ortak son koagülasyon adımlarının (TT) uzamasına katkıda bulunabileceğini ifade etmiştir (Hawkins, 1984). Maden ve ark (2018) abomazum deplasmanlı ineklerde hemostatik disfonksiyon ve operasyon sürecinin değerlendirilmesinde INR'nin değerlendirilmesinin faydalı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Sonuç

Sonuç olarak, fascioliasisli sığırlarda kontrol grubuna göre aPTT, PT ve INR değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır. Bu artışların muhtemelen nedenlerini bulmaya yönelik detaylı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

Ahmed, A. S. H. (2014). Prevalence and Risk Factors of Sheep Paramphistomiasis, Fascioliasis and Schistosomiasis in the White Nile State, Sudan

- (Doctoral dissertation, Sudan University of Science and Technology).
- Aksakal, M., & Özer, E. (1987). Akkaraman koyunlarında antelmentik ilaçlarla tedaviden önce ve sonra hematolojik değerler ve kan plazması vitamin E düzeyi üzerine araştırmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 34, 72-84.
- Alvarez Rojas, C. A., Ansell, B. R., Hall, R. S., Gasser, R. B., Young, N. D., Jex, A. R., & Scheerlinck, J. P. Y. (2015). Transcriptional analysis identifies key genes involved in metabolism, fibrosis/tissue repair and the immune response against *Fasciola hepatica* in sheep liver. *Parasites & vectors*, 8(1), 1-14.
- Bostelmann, S. C. W., Luz, E., THOMAZ-SOCCOL, V., & Cirio, S. M. (2000). Histopatologia comparativa em fígados de bovinos, bubalinos e ovinos infectados por *Fasciola hepatica*. *Archives of Veterinary Science*, 5(1).
- Celep, A., Açıcı, M., Çetindağ, M., Coşkun, Ş. Z., & Gürsoy, S. (1990). Samsun yöresi sığırlarında helmintolojik araştırmalar. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(6), 117-130.
- Chowdhury, N., & Tada, I. (1994). Helminths of domesticated animals in Indian subcontinent. *Helminthology*, 1, 73-120.
- Duncan, E. M., Casey, C. R., Duncan, B. M., & Lloyd, J. V. (1994). Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the international normalised ratio and the international sensitivity index of thromboplastin. *Thrombosis and haemostasis*, 72(07), 084-088.
- Geurden, T., Somers, R., Thanh, N. T. G., Vien, L. V., Nga, V. T., Giang, H. H., ... & Vercruyssen, J. (2008). Parasitic infections in dairy cattle around Hanoi, northern Vietnam. *Veterinary Parasitology*, 153(3-4), 384-388.
- Gül, Y. (2006). Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun-Keçi). II. Baskı. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya, 452, 454.
- Hawkins, C. D. (1984). The use of haemoglobin, packed-cell volume and serum sorbitol dehydrogenase as indicators of the development of fascioliasis in sheep. *Veterinary Parasitology*, 15(2), 125-133.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... & Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497-506.
- Heuwieser, W., Biesel, M., & Grunert, E. (1989). Physiological coagulation profile of dairy cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 36(1-10), 24-31.
- İssi, M. (2000). Sığırların bazı enfeksiyöz hastalıklarında serum vitamin C düzeyleri üzerine araştırmalar/Investigations on serum vitamin C levels in some infection diseases of cattles.
- Jadaon, M. M. (2012). Aetiology of Venous Thrombosis. In *Venous Thrombosis-Principles and Practice*. IntechOpen.
- Jackson, P., & Cockcroft, P. (2008). Clinical examination of farm animals. John Wiley & Sons.
- Kaplan, M., & Başpınar, S. (2009). Elazığ'da son 5 yılda kesilen kasaplık hayvanlarda fasciolosis sıklığı ve ekonomik önemi. *Fırat Tıp Dergisi*, 14(1), 25-27.
- Karakoyun, F. D. İ. İ. (2016). Dondurulmuş Plazmada Protrombin Zamanı ve Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı Stabilitesi.
- Lip, G. Y., & Lowe, G. D. (1995). Fibrin D-dimer: a useful clinical marker of thrombogenesis?. *Clinical Science*, 89(3), 205-214.
- Lisman, T., Porte, R. J., Leebeek, F. W., & Caldwell, S. H. (2006). Methodological issues with coagulation testing in patients with liver disease. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*, 4(9), 2061-2062.
- MacLeod, J. B., Lynn, M., McKenney, M. G., Cohn, S. M., & Murtha, M. (2003). Early coagulopathy predicts mortality in trauma. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 55(1), 39-44.
- Mahdi, N. K., & Al-Baldawi, F. A. K. (1987). Hepatic fascioliasis in the abattoirs of Basrah. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 81(4), 377-379.
- Maden, M., Yıldız, R., Çöl, R., Arıcan, M., Ider, M., Garip, M., & Tras, B. (2018). The evaluation of hemostatic dysfunction and disseminated intravascular coagulation in dairy cows with abomasal displacement. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 769-778.
- Mannucci, P. M. (2006). Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? No. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4(4), 721-723.
- Marcos, L. A., Yi, P., Machicado, A., Andrade, R., Samalvides, F., Sánchez, J., & Terashima, A. (2007). Hepatic fibrosis and *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Journal of helminthology*, 81(4), 381-386.
- Morris, D. D. (2002). Alterations in the clotting profile. *Large Animal Internal Medicine*, 2nd edition. New York: Mosby, 434-439.
- Omran, S. A., Amin, H. M., El-Bassiouni, N. E., Essawy, F. M., & Toiema, S. M. (1994). Vitamin K dependent coagulation proteins in endemic hepatosplenomegaly in Egypt. *Journal of clinical pathology*, 47(6), 502-504.
- Omran, S. A., Toiema, S. M., & El-Din, A. S. (1990). In vitro effect of *Schistosoma* worm antigen on some haemostatic parameters in hepatosplenic schistosomiasis. *Egyptian Journal of Bilharziasis*, 12(1-2), 17-34.
- Osuna, O., Edds, G. T., & Blankespoor, H. D. (1977). Toxic effects of aflatoxin B1 in male Holstein calves with prior infection by flukes (*Fasciola hepatica*). *American Journal of Veterinary Research*, 38(3), 341-349.
- Peterson, P., & Gottfried, E. L. (1982). The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). *Thrombosis and haemostasis*, 47(02), 101-103.
- Premkumar, M., & Sarin, S. K. (2020). Current Concepts in Coagulation Profile in Cirrhosis and Acute-on-Chronic Liver Failure. *Clinical liver disease*, 16(4), 158.
- Riley, R. S., Rowe, D., & Fisher, L. M. (2000). Clinical utilization of the international normalized ratio (INR). *Journal of clinical laboratory analysis*, 14(3), 101-114.

- Soulsby, E. J. L. (1968). Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals (of MSnig's Veterinary helminthology and entomology). Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals (sixth edition of MSnig's Veterinary helminthology and entomology).
- Tang, N., Li, D., Wang, X., & Sun, Z. (2020). Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 18(4), 844-847.
- Toparlak, M. (1988). Van İli Belediye Mezbahasında Kesilen Koyunlarda Karaciğer Trematod Enfeksiyonları Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35(02.03), 270-274
- Yavuz, A., İnci, A., Yıldırım, A., İça, A., & Düzlü, Ö. (2007). Sığırlarda *Fasciola hepatica*'nın yayılışı. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16(2), 96-102.
- Yildirim, A., İca, A., Duzlu, Ö. & İnci, A. (2007). Prevalence and risk factors associated with *Fasciola hepatica* in cattle from Kayseri province, Turkey. *Revue de médecine vétérinaire*, 158.