

Şanlıurfa Yöresindeki Sığırlarda Hypodermosis'in Seroprevalansı

Zeliha ÖZKUTLU¹, Murat SEVGİLİ²

Harran Üniversitesi, ¹Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Parazitoloji Programı;
²Veteriner Fakültesi parazitoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

ÖZET: Bu çalışma, Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda Hypodermosis'in seroprevalansını belirlemek amacıyla yapıldı. Şanlıurfa Merkez, Suruç, Siverek, Viranşehir ve Akçakale ilçelerinden rasgele seçilmiş 300 sığıra ait serum örnekleri ticari bir ELISA test kitiyle incelendi. Sonuçta, 300 sığırın 116 (% 38,6)'sı seropozitif bulundu. Seropozitiflik oranları; yaşa, ırka, cinsiyete ve odaklara göre % 11,6-70,0 arasında değişti. Irklara göre yapılan değerlendirmede, melez ırklarla kültür ırkının seropozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulundu (P<0.001). Cinsiyete göre yapılan değerlendirmede ise seropozitiflik oranları arasında önemli bir fark bulunmadı. Yine yaşa ve odaklara göre yapılan değerlendirmelerde, 1 yaşın altındaki hayvanlarla 1 yaş ve üzeri hayvanlar arasında (P<0.01), Viranşehir ve Akçakale ile diğer odaklar arasında istatistiksel olarak önemli farklar (P<0.001) bulundu. Sonuç olarak Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosis yönünden yüksek oranda seropozitiflik saptandı.

Anahtar sözcükler: Hypodermosis, Sığır, ELISA

Seroprevalence of Hypodermatitis in Cattle in the Province of Sanliurfa (Turkey)

SUMMARY: The aim of this study was to determine the seroprevalence of hypodermatitis in cattle in the province of Sanliurfa. For this purpose, sera samples were randomly collected from 300 cattle in the towns Sanliurfa, Suruç, Siverek, Viranşehir and Akçakale. The sera were analyzed using a commercial ELISA kit. Out of the 300 cattle, 116 (38.6%) were found to be seropositive. Seropositivity rates ranged from 11.6-70.0 % according to age, race, gender and origins. In regard to race, significant difference (P<0.001) was found between seropositivity ratios of pure breed and crossbreed animals. No significant difference was found between seropositivity ratios as a result of gender difference. Also, with regard to age and origins, significant differences (P<0.01) were found between animals aged<1 and aged≥1 and in animals from Akçakale as well as Viranşehir and other regions (P<0.001). As a result, high seropositivity for hypodermatitis in cattle of the Sanliurfa Province has been detected.

Key words: Hypodermosis, Cattle, ELISA

GİRİŞ

Hypodermosis, *Hypoderma bovis* ve *Hypoderma lineatum* türü sineklerin larvaları tarafından sığırlarda oluşturulan deri myiasis'idir. Mevsimsel olarak sonbahar, kış ve hatta ilkbahar aylarında enfeste hayvanların dorsal ve lumbal bölgelerinde görülen derialtı şişlikleriyle (warble) karakterize olan paraziter bir hastalıktır (19). Tropikal ve subtropikal bölgelerde çok yaygın olup, sığırlarda süt ve et verimi düşüklüğüyle, deride oluşturduğu hasarlardan dolayı önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (8, 12).

Hypodermosis'in yayılışı ve bu hastalığa sebep olan etkenlerin enfestasyon oranı, iklim ve coğrafi konumu birbirinden farklı ülke veya bölgelere göre değişmektedir (22). Son yıllarda hypodermosis'in kontrolü için gösterilen çabalara rağmen, hastalık hala Amerika, Kanada, Afrika, Avrupa ve Asya'da yaygın olarak görülmektedir (19). Türkiye'de yapılan bazı epidemiyolojik araştırmalarda da hypodermosis'in sığırlar üzerindeki yaygınlık oranının % 3,5-57,8 arasında değiştiği belirtilmiştir (4, 9, 21, 22).

Hypoderma larvalarının varlığı, sonbahar ve kış mevsimlerinde enfeste hayvanların sırtında ikinci ve üçüncü dönem larvaların palpasyonu ya da karkasın iç organları ve derialtı dokularının muayenesiyle tespit edilebilir (12). Ayrıca birçok ülkede enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) tekniği kullanılarak hastalığın serolojik teşhisi de yapılmaktadır (3, 10, 13, 16, 17, 19).

Geliş tarihi/Submission date: 14 Aralık/14 December 2004

Düzeltilme tarihi/revision date: 03 Mart/03 March 2005

Kabul tarihi/Accepted date: 10 Ekim/10 October 2005

Yazışma /Corresponding Author: Zeliha Özkutlu

Tel: - Fax: -

E-mail: zozkutlu@harran.edu.tr

Yapılan bu çalışma ile Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosisin seroprevalansı belirlenmeye çalışıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Şanlıurfa Merkez, Suruç, Siverek, Viranşehir ve Akçakale ilçelerine 2003 yılı Eylül-Aralık döneminde gidilerek, hayvan barınaklarından rasgele seçilmiş ve her odaktan 60'ar adet olmak üzere toplam 300 sığırdan kan örnekleri alındı. Örnek alınan hayvanların 100'ü Holştayn, Simental ve Montofon ırklarından, 200'ü ise melez ırklardan, 150'si dişi, 150'si erkek ve 124'ü bir yaşın altında 176'sı ise bir ve bir yaşın üstündeki hayvanlardan oluşmaktaydı.

Belirtilen odaklara gidilerek hayvanların yaş, ırk ve cinsiyetleri kaydedildi ve vena jugularisinden vakumlu cam tüplere 10 ml kan alınıp, protokol numarası verilerek laboratuvara getirildi. Laboratuvarında 3000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Elde edilen bu serum örnekleri plastik mikrotüplere aktarılıp, numara verilerek testler yapılncaya kadar - 20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Çalışmada, ticari ELISA test kiti (ELISA Hypodermosis Bovine Serum Screening, Version: P0611/08) kullanıldı ve test prosedürüne uygun olarak testler yapıldı. Okuma işlemi otomatik bir mikropate okuyucusunda (Molecular Devices VERSAmax), 450 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Test sonucunda optikal dansitesi okunan örneklerin % inhibisyon değerleri test prosedüründe bildirilen formülle hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 \times \frac{\text{Örneğin Optikal Yoğunluğu (O.D)} - \text{Negatif kontrol (O.D)}}{\text{Pozitif kontrol (O.D)} - \text{Negatif kontrol (O.D)}}$$

Yukarıda belirtilen formüle göre yapılan hesaplama sonucunda test örneği % inhibisyon değeri \leq 45 ise sonuç negatif, \geq 55 ise de sonuç pozitif olarak kabul edildi.

Test sonuçlarına ilişkin istatistiksel analizler, Statistical Packet for Social Sciences (SPSS) paket programında χ^2 testi ile yapıldı.

BULGULAR

Şanlıurfa yöresinde ELISA ile hypodermosis yönünden incelenen 300 sığırın 116 (%38,6)'sı seropozitif bulundu. Örneklerin alındığı odaklara göre seropozitifliğin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi Şanlıurfa Merkez, Viranşehir, Siverek, Suruç ve Akçakale olmak üzere 5 yerleşim biriminin her birinden alınan 60 serum örneğine bakıldığında, Şanlıurfa Merkez'de 22 (%36,6), Viranşehir'de 42 (%70,0), Siverek'te 27 (%45,0), Suruç'ta 18 (%30,0) ve Akçakale'de ise 7 (%11,6) hayvanda seropozitiflik tespit edildi. Seropozitifliğin odaklara göre dağılımına bakıldığında, belirtilen oranlara göre Viranşehir ve Akçakale ile diğer odaklar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunurken ($P < 0.001$), Şanlıurfa Merkez, Siverek ve Suruç arasında önemli bir farklılık olmadığı görüldü.

Tablo 1. Sığırlarda Seropozitifliğin Odaklara Göre Dağılımı

Yerleşim Birimleri	Seropozitif Hayvan Sayısı (%)	Seronegatif Hayvan Sayısı (%)	Toplam
Merkez	22 (% 36,6) ^a	38 (% 63,4)	60
Viranşehir	42 (% 70) ^b	18 (% 30)	60
Siverek	27 (% 45) ^a	33 (% 55)	60
Suruç	18 (% 30) ^a	42 (% 70)	60
Akçakale	7 (% 11,6) ^c	53 (% 88,4)	60
Genel	116 (% 38,6)	184 (% 61,4)	300

Aynı sütunda değişik harfler (a, b, c) taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir ($P < 0.001$).

Tablo 2'de görüldüğü gibi, ırklara göre yapılan değerlendirilmede, kültür ırkı 100 sığırın 16 (%16,0)'sında ve 200 melez sığırın 100 (%50,0)'ünde seropozitiflik saptandı. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre kültür ırkındaki seropozitiflik oranı ile melez ırkların oranları arasında önemli bir fark olduğu belirlendi ($P < 0.001$). Hayvanlarda seropozitiflik oranına yaş açısından bakıldığında, 6 aylıktan 1 yaşına kadar olan 124 hayvanın 38 (%30,6)'i, 1 yaş ve üzeri olan 176 hayvanın da 78 (%44,3)'inde seropozitiflik görüldü. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0.01$) (Tablo 2). Tablo 2'de görüldüğü gibi, cinsiyete göre yapılan değerlendirmede, test edilen 150 dişi sığırın 56 (%37,3)'sında, 150 erkek sığırın ise 60 (%40,0)'ında seropozitiflik tespit edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede bu oranlar arasında önemli bir fark olmadığı görüldü.

Tablo 2. Sığırlarda Seropozitifliğin Irka, Yaşa ve Cinsiyete Göre Dağılımı

Hayvan Sayısı	İrk		Yaş		Cinsiyet		Genel
	Melez	Kültür	≥ 12 Ay	6-11 Ay	D	E	
Seropozitif (%)	100 (50)	16 (16)	78 (44,3)	38 (30,6)	56 (37,3)	60 (40)	116 (38,6)
Seronegatif (%)	100 (50)	84 (84)	98 (55,7)	86 (69,4)	94 (62,7)	90 (60)	184 (61,4)
Toplam	200	100	176	124	150	150	300
P	***		**		-		

(-) : Önemsiz ; ** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$; D: Dişi ; E: Erkek

TARTIŞMA

Türkiye hayvancılığında sığır yetiştiriciliği önemli bir yer tutmaktadır. *Hypoderma* larvalarıyla enfeste olan sığırların et ve süt verimleri düşmekle birlikte, bu larvaların deride açtıkları delikler sonucu deri kullanılmaz hale gelmektedir. Bu yüzden hem yetiştiriciler hem de ülke ekonomisi olumsuz yönde etkilenmektedir.

Hypodermosis'in tanısı için, klinik muayene sadece bir kez yapıldığı takdirde hastalığın prevalansı gerçek değerinden çok daha düşük bir değerde çıkmakta ve bu da yanıltıcı olmaktadır. Bu yüzden sonbahar ve kış mevsimi dönemlerinde hastalı-

ğin enfestasyon oranının doğru olarak elde edilebilmesi için birçok kez inspeksiyonla klinik parazitolojik muayene yapılmalıdır (11). Serolojik teşhis ise, canlı hayvanlarda göç halindeki larvaları kolay ve etkili bir teşhis olanağı sağlamaktadır. Böylece, *Hypoderma* larvaları henüz ekonomik kayıplara (et, süt ve deri kaybı gibi) neden olmadan, sağaltım yapma imkanı elde edilmektedir (3, 11). Hayvanlarda klinik olarak hypodermosis'in tanısı larvaların ancak sırt derisi altına geldikten sonra konulabileceğinden, hastalığın hayvanlardaki gerçek yaygınlığını ortaya koymak için serolojik olarak muayene yapıldı.

Hypoderma lineatum'un birinci dönem larvalarından ekstrakte edilen ve antijenik özelliği *H. bovis*'in antijenine de benzeyen kollagenazın ortaya çıkarılmasından bu yana sığırlarda hypodermosis'i tespit etmek için immunodiffüzyon, hemaglutinasyon ve ELISA gibi çeşitli serolojik testler geliştirilmiştir (3). Ayrıca Western blott tekniğinin de *Hypoderma* enfestasyonunun teşhisinde kullanılabileceği belirtilmektedir (2). Ancak son zamanlarda ELISA, büyük çaptaki immunoepidemiolojik incelemeler için toplu süt veya serum örnekleri üzerinde uygulanmaktadır. Ticari süt örnekleri üzerinde de uygulanabilen ELISA testi basit olması, hızlı bir şekilde uygulanabilmesi ve fiyatının da uygun olması gibi birçok avantajlara sahiptir (16, 19). Ayrıca ELISA tekniği hypodermosis'in teşhisinde hassas bir gösterge olduğundan, her bölgede hastalığın durumunun değerlendirilmesine, salgınların kontrol edilmesine ve ithal edilen sığırlarla ilişki içinde olan, hypodermosis'ten ari bölgelerin muhafaza edilmesine olanak vermektedir (11, 15). Bu çalışmada da hypodermosis'in seroprevalansını belirlemek üzere ticari ELISA test kiti kullanıldı.

Hypoderma enfestasyonundan 4-8 hafta sonra, kanda oluşan antikorlar tespit edilebilecek düzeye gelir ve üçüncü dönem larvaların hayvanların sırtında görünmesinden 14 hafta sonrasına kadar teşhis edilebilecek düzeyde kalmaya devam eder (15, 23). Bu nedenle hypodermosis'in serolojik teşhisinde örneklerin alınma zamanı önemlidir. Bu zaman ülkelere göre değişmektedir, örneğin, Kuzey Avrupa'da bu zamanın Ekim ayı sonundan Şubat ve Mart aylarına kadar olan süreçte, Fransa'da (3) Şubat ve Mart ayları, Polonya'da (5) ise Mart, Nisan ve Mayıs aylarında hypodermosis'e karşı oluşan antikor seviyesinin çok yüksek olduğu ve bu dönemlerin örnek almak için uygun zaman olduğu ifade edilmiştir. Türkiye'de bölgelere göre yapılan epidemiyolojik çalışmada (22), da bahsedildiği gibi *Hypoderma* sineklerinin sığırların kıllarına bıraktıkları yumurtalardan çıkan larvaların Temmuz-Eylül ayları arasında deriyi delerek derialtı dokusuna girdikleri belirtilmiştir. Bu çalışmada, enfestasyondan 4-8 hafta sonra kanda oluşabilen antikorları tespit etmek amacıyla, bölgenin iklimi de gözönüne alınarak hayvanlardan Eylül-Aralık döneminde kan alındı.

Türkiye'deki sığırlarda hypodermosis'in yaygın olduğu bildirilmektedir. Sayın ve arkadaşları (21), Orta ve Doğu Anadolu'da yaptıkları klinik parazitolojik bir incelemeyle 26500

sığırın 5928'ini enfeste bulmuşlardır. Celep ve Gürsoy (4), Samsun yöresinde 1500 sığırın %55,0'ini, Samsun ve Amasya yöresinin altı farklı bölgesindeki sığırların incelenmesiyle de %57,8'ini klinik olarak enfeste bulmuşlardır. Trakya bölgesinde Gülanber ve ark. (9), tarafından 365 sığır üzerinde yapılan incelemede enfestasyon yaygınlığı %3,5 ve enfestasyon yoğunluğu ise 10,2 olarak tespit edilmiştir. Yine Sayın ve arkadaşlarının (22), Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinde yaptıkları klinik parazitolojik bir incelemeye göre, *Hypoderma* enfestasyonu yaygınlığının Karadeniz'de %28,3, Marmara'da %8,0, Ege'de %41,6, Akdeniz'de %33,0, İç Anadolu'da %38,9, Doğu Anadolu'da %41,9, Güneydoğu Anadolu'da %47,8 olduğu görülmüştür.

İtalya'nın güney bölgelerinde ELISA tekniği ile yapılan bir çalışmada, hastalığın yaygınlığı % 85,0 olarak bulunmuştur (16). Lonneux ve ark. (13), 1990-91 yılları arasında Belçika'da 1344 sığırda % 86,4 oranında ve Lüksemburg'da ise 1230 sığırda % 43,0 oranında bir pozitiflik elde etmişlerdir. Martinez-Moreno ve ark. (14), tarafından 1992-93 yılları arasında Batı İspanya'da 1668 sığırın direk klinik muayenesinde enfestasyon oranı % 9,5, ELISA ile yapılan incelemede ise %42,3 olarak bulunmuştur. Yine ELISA ile yapılan diğer bazı çalışmalarda; Papadopoulos ve ark. (18), 1996 yılında Yunanistan'ın farklı bölgelerinden topladıkları 4200 sığır serumunda %37,4 oranında, Ragelbono ve ark. (19), İtalya'nın kuzeyinde %43,3 oranında, Haine ve ark. (10) ise Belçika'da 390 sığır sürüsü üzerinde yapılan incelemede %48,7 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Türkiye'de sığırlarda hypodermosis'in seroprevalansı ile ilgili bir yayına rastlanmamıştır. Bu çalışmada ise serolojik olarak ELISA ile incelenen 300 sığırın 116'sı (%38,6) seropozitif bulundu.

Hypoderma enfestasyonlarına karşı ırklar arasında duyarlılık farkının olup olmadığı bazı çalışmalarda araştırılmıştır. Colwell (7), tarafından yapılan bir çalışmada, ırklar arasında hastalığa karşı olan duyarlılıkta bir fark görülmemiştir. Buna karşın bazı ırkların daha fazla sayıda *Hypoderma* larvası taşıdığına belirten çalışmalarda bulunmaktadır (1, 17). Charbon ve ark. (6), tarafından yapılan bir incelemede derisi ince olan hayvanların daha ağır bir şekilde enfeste olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada ise melez ırklardaki seropozitiflik oranlarının (%50,0) kültür ırkında tespit edilen seropozitiflik oranından (%16,0) önemli derecede yüksek olduğu görüldü. Bu durumun bakım koşullarıyla ilgili olduğu düşünülebilir. Kültür ırkı hayvanlar genellikle kapalı mekanlarda barındırılmakta ve paraziter sağaltımları düzenli bir şekilde yapılmaktadır, ancak melez ırklara ait çoğu hayvan yaz mevsimi süresince meraya çıkarılmakta ve paraziter sağaltımlarına da pek fazla önem verilmemektedir. Bunun yanı sıra bazı yetiştiriciler tarafından 1 yaşın altındaki çoğu melez hayvan sağlık durumu kontrol edilmeden çeşitli bölgelerden toplanarak yöreye getirilmektedir.

Martinez-Moreno ve ark. (14), Batı İspanya'da hypodermosisin epidemiyolojisi üzerine yaptıkları bir araştırmada, 1 yaşın üstünde olan sığırlarda *Hypoderma* larvalarına karşı oluşan antikor miktarının, 1 yaşın altında olan genç hayvanlardakinden daha yüksek seviyede olduğunu belirtmişlerdir. Robertson (20), daha önce enfeste olmuş hayvanların belli düzeydeki antikor titresine sahip olduklarını ve tekrar eden yeni bir enfestasyonun ilk 30 gününde ise bunun belirgin bir pik yaptığını belirtmiştir. Bu çalışmada ise 1 yaşın üstündeki hayvanlarda seropozitiflik oranının, 1 yaşın altındaki hayvanlardan daha yüksek olduğu tespit edildi. Bunun da daha önce enfestasyonu geçirmiş hayvanların vücudunda rezidüel bulunan antikorlara bağlı olarak ortaya çıktığı sanılmaktadır. Ayrıca, bir yaş altındaki hayvanların *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu aylarda meraya çıkmamış oldukları düşünülebilir.

Hypoderma enfestasyonunun yayılışı ile coğrafik bölgeler arasında görülen farklılık, yetiştirme yöntemlerine bağlı olabilir. Yapılan bazı araştırmalarda, *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu yaz mevsimi süresince meraya çıkarılan hayvanlarda enfestasyona yakalanma riskinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (16, 19). Bu çalışmada da toplu halde meraya çıkarılan hayvanlarda seropozitiflik oranının diğer odaklara göre daha yüksek, meraya çıkarılmayıp ta kapalı yerde tutulan hayvanlarda ise seropozitifliğin düşük çıkması, ilgili literatürlerle paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosisin yaygın olarak görüldüğü ve bu yaygınlığın *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu yaz mevsimi döneminde hayvanların meraya çıkarılması ve paraziter sağaltımın düzenli bir şekilde yapılmamasıyla arttığı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Benakhla AC, Boulard C, Sedraoui S, Oussaid F, 1993. L'hypodermose bovine: approche epidemiologique et caracterisation du cycle biologique en vue de l'establissement d'un plan de prophylaxie dans le nord est Algerien. *Rev Med Vet*, 144: 693-700.
2. Boldbaatar D, Xuan X, Kimbita E, Huang X, Igarashi I, Byambaa B, Battsetseg B, Battur B, Battsetseg G, Batsukh Z, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T, 2001. Detection of antibodies to *Hypoderma lineatum* in cattle by Western blotting with recombinant hypodermis C antigen. *Vet Parasitol*, 99: 147-154.
3. Boulard C, Villejoubert C, 1991. Use of pooled serum or milk samples for the epidemiological surveillance of bovine hypodermosis. *Vet Parasitol*, 39: 181-183.
4. Celep A, Gürsoy S, 1987. Samsun ve Amasya yöresi sığırlarında hypodermosis'in yayılış nisbeti, nokra larvalarının dönemlerine göre sığırlarda kalış zaman ve sürelerinin tesbitine dair araştırmalar. *Etilik Vet Mikrobiol Enst Derg*, 6 (1): 143-150.
5. Cencek T, Ziomko I, 2002. Optimal Time for Serologic Diagnosis Regions of Poland. *Bull Vet Inst Pulawy*, 46: 59-63.
6. Charbon JL, Pfister K, Hernandez S (ed.), Gasca A (ed.), Martinez J (ed.), Pithan K, 1992. Hypodermosis in Switzerland, Improvements in control methods for warble-fly in cattle and goats: workshops held in Cordoba 8-10 May 1991. s.45-50.
7. Colwell DD, 2000. Persistence of cattle grubs (Diptera: Oestridae) on a Canadian ranch with long-term, continuous therapeutic control. *Vet Parasitol*, 94: 127-132.
8. Dinçer Ş, 1997. İnsan ve Hayvanlarda Myiasis. Edit. Özcel MA, Daldal N. *Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları Vektörler*. Türkiye Parazitoloji Derneği. Yayın No:13. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir. p. 212-216.
9. Gülanber A, Tüzer E, Gargılı A, Toparlak M, Efil İ, Keleş V, Ulutaş M, 2000. Trakya'da Mezbahada Kesilen Sığırlarda Hypodermosis. *Tr J Vet Anim Sci*, 24: 429-430.
10. Haine D, Boelaert F, Pfeiffer DU, Saegerman C, Lonneux JF, Losson B, Mintiens K, 2004. Herd-level seroprevalence and risk-mapping of bovine hypodermosis in Belgian cattle herds. *Prevent Vet Medicine*, 65 (1-2): 93-104.
11. Jackson F, Taylor MA, Jacobs DE, 1998. Diagnosis of Animal Parasitism. *Parasitology Today*, 14 (8): 295-297.
12. Kettle DS, 1990. *Medical and Veterinary Entomology*. CAB International Wallingford Oxon OX108DE UK., 267-273.
13. Lonneux JF, Losson B, Nguyen TQ, Bughin J, Czapllicki G, 1994. Hypodermosis in the provinces of Liege and Luxembourg: results of serological surveys. *Annales de Medicine Veterinaire*, 138 (8): 551-557.
14. Martinez-Moreno J, Reina D, Naverrate I, Jimenez V, Martinez-Moreno A, Hernandez S, 1996. Epidemiological survey of hypodermosis in western Spain. *Vet Rec*, 139 (14): 340-343.
15. Martinez-Moreno FJ, Wassal DA, Becerra-Martell C, Hernandez-Rodriguez S, 1994. Comparison of the use of secretory and somatic antigens in an ELISA for the serodiagnosis of hypodermosis. *Vet Parasitol*, 52: 321-329.
16. Otronto D, Testini G, Sottili R, Capelli G, Puccini V, 2001. Screening of commercial milk samples using ELISA for immuno-epidemiological evidence of infection by the cattle grub (Diptera: Oestridae). *Vet Parasitol*, 99: 241-248.
17. Panadero R, Lopez C, Diez P, Morrondo P, Sanchez-Andrade R, 1994. Seroprevalence of *Hypoderma lineatum* (De Villiers, 1789) detected by indirect ELISA on cattle in Lugo Province (N.W. Spain). *Res Rev Parasitol*, 54: 129-132.
18. Papadopoulos E, Himonas C, Boulard C, 1997. The prevalence of bovine hypodermosis in Greece, Symposia of the VII. European Multicolloquium of Parasitology. 2-6. September 1996, Parma Italy, Parasitologia-Roma, 39 (4): 431-433.
19. Regalbono AF, Capelli G, Otronto D, Pietrobelli M, 2003. Assessment of cattle grub (*Hypoderma* spp.) prevalence in northeastern Italy: an immunoepidemiological survey on bulk milk samples using ELISA. *Vet Parasitol*, 249: 1-8.

20. **Robertson RH**, 1978. Antibody production in cattle infected with *Hypoderma* spp. *Can J Zool*, 58: 245-251.
21. **Sayın F, Boulard C, Thornberry H, Boulard C** (ed.), Thornberry H, 1984. Present situation of hypodermosis in Turkey, Warble fly control in Europe. A symposium in the EC Programme of Coordination of Research on Animal Pathology, Brussels. 16-17 September 1982, 39, 41.
22. **Sayın F, Kalkan A, Karaer Z**, 2000. Türkiye’de Sığır Hypodermosis’i Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi.*, 14 (1): 115-127.
23. **Sinclair IJ, Tarry DW, Wassall DA**, 1984. Persistence of antibody in calves after an infection with *Hypoderma bovis*. *Res Vet Sci*, 37: 383-384.