

# Derinkuyu Yöresindeki Sığırlarda Fasciolosisin Kopro-ELISA ve Dışkı Muayene Yöntemleriyle Araştırılması

The Investigation of Fasciolosis in Cattle by Copro-ELISA and Stool Examination Techniques Around the Derinkuyu Region

Murat Şen, Alparslan Yıldırım, Zuhal Bişkin, Önder Düzlü, Abdullah İnci

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma, Eylül 2008-Haziran 2009 tarihleri arasında Nevşehir'in Derinkuyu ilçesinde sığırlarda fasciolosisin yayılışını tespit etmek amacıyla toplam 198 sığır üzerinde yürütülmüştür.

**Yöntemler:** Hayvanlardan tekniğine uygun olarak alınan dışkı örnekleri, sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon yöntemi ile parazitin yumurtaları yönünden araştırılmış, pozitif örneklerde gram dışkıdaki yumurta sayısı (EPG) modifiye McMaster sedimentasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Dışkı örneklerinde *F. hepatica* antijenlerinin varlığı koproantijen-ELISA testi ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Fasciolosisin dışkı bakışı ve ELISA testlerine göre prevalansı %2.02 ve %3.03 olarak saptanmıştır. Enfekte hayvanlarda EPG değeri  $75 \pm 22.9$  bulunmuştur. İncelenen sığırlarda diğer parazitlerin prevalansı, *Trichostrongylus* spp., *Eimeria* spp., *Nematodirus* spp., *Moniezia* spp., *Toxocara vitulorum* ve *Ostertagia* spp. için sırasıyla %28.3, %12.6, %1.5, %1.0, %1.0 ve %0.5 belirlenmiştir. fasciolosisin yayılışı >3 yaş grubunda (%3.2)  $\leq 3$  yaş grubuna (%2.9) göre daha yüksek belirlenmiş ancak iki yaş grubu arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Dişi sığırlarda prevalans %3.4, erkeklerde ise %4.8 olarak belirlenmiş ve bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). İncelemesi yapılan sığır ırkları arasında en yüksek prevalans %3.5 ile Holstein ırkında belirlenmiş; bunu %2.8 ile Simental ve %2.4 ile Montofon ırkları izlemiştir. Sığır ırkları arasında enfeksiyonun yayılışı açısından istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Bu çalışma ile Nevşehir'in Derinkuyu yöresindeki sığırlarda fasciolosisin varlığı ve prevalansı ortaya konmuştur. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 81-5)

**Anahtar Sözcükler:** Derinkuyu, fasciolosis, koproantijen ELISA, prevalans, sığır

**Geliş Tarihi:** 05.01.2011

**Kabul Tarihi:** 03.02.2011

## ABSTRACT

**Objective:** This study was carried out between September 2008 and June 2009 to determine the prevalence of fasciolosis in cattle in Derinkuyu district of Nevşehir.

**Methods:** Fecal samples from 198 cattle were technically collected and examined by sedimentation-zinc sulphate flotation technique. Modified McMaster sedimentation technique was applied to the egg positive samples to determine the EPG values. *F. hepatica* coproantigens in samples were investigated by ELISA.

**Results:** The coprological and antigen ELISA prevalence of fasciolosis were determined as 2.02% and 3.03%, respectively. The mean EPG value in infected cattle was found as  $75 \pm 22.9$ . The prevalence of other parasites, *Trichostrongylus* spp., *Eimeria* spp., *Nematodirus* spp., *Moniezia* spp., *Toxocara vitulorum* and *Ostertagia* spp. were determined as 28.3%, 12.6%, 1.5%, 1.0%, 1.0% and 0.5%, respectively. The prevalence of fasciolosis was observed to be higher in the >3 age group (3.2%) than  $\leq 3$  age group (2.9%), however, this difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). The prevalence in female and male cattle was found as 3.4% and 4.8%. This difference also was not found statistically significant ( $p > 0.05$ ). The highest prevalence was observed in Fresian with the ratio of 3.5% and this was followed by 2.8% in Rubia Gallega and 2.4% in Brown Swiss. The differences among breeds were not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** The presence and prevalence of fasciolosis was revealed with this study. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 81-5)

**Key Words:** Cattle, coproantigen ELISA, Derinkuyu, fasciolosis, prevalence

**Received:** 05.01.2011

**Accepted:** 03.02.2011

**Bu çalışma, 16. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (1-7 Kasım 2009, Adana) sunulmuştur.**

**Yazışma Adresi/Address for Correspondence:** Dr. Alparslan Yıldırım, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
Tel.: +90 352 338 00 05 E-posta: yildirim@erciyes.edu.tr

doi:10.5152/tpd.2011.21

## GİRİŞ

Karaciğer kelebekleri olarak bilinen *Fasciola* etkenleri, başta koyun, keçi ve sığır olmak üzere çeşitli herbivorlarda karaciğer safra kanallarına yerleşen zoonotik karakterli trematodlardır (1). Arakonakçılığını *Lymnaeidae* ailesindeki çeşitli gastropodların yaptığı *F. hepatica*, karaciğer kelebekleri arasında en yaygın tür olup oluşturduğu patojenite ile özellikle endemik alanlarda yüksek mortalite ve morbiditeye, büyümede geriliğe, karaciğer kayıplarına, sekonder enfeksiyonlara duyarlılığa ve kontrol önlemleri giderlerinin artmasına yol açarak önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (2).

Endemik bölgelerde fasciolosisin teşhisi klinik belirtiler ve mevsimsel ortaya çıkışı ile yapılabilir, ancak bu verilerin dışı muayenesinin yanında çeşitli hematolojik ve serolojik testlerle desteklenmesi durumunda daha kesin sonuçlar elde edilebilir (3). Parazitin yumurtalarını dışıyla çevreye bırakması için genç kelebeklerin karaciğerde göçlerini tamamlamaları ve safra kanallarında olgunlaşmaları gerekmektedir. Bu yüzden fasciolosisin dışı muayenesi ile sığırlarda en erken teşhisi ancak enfeksiyonun alınından sonraki 10-12. haftada mümkün olmaktadır. Ayrıca sığırlarda alınan parazitler, konak immunitesine bağlı olarak her zaman karaciğerde olgun döneme ulaşmamaktadırlar. Bunun yanında az sayıda parazitin oluşturduğu enfeksiyonlarda yumurtaların ancak tekrarlanan dışı bakılarında görülebildiği, parazitin yumurta çıkarımında günden güne veya gün içinde varyasyonlar gösterdiği, dışkıdaki yumurta dağılımının düzensiz olduğu ve tek başına dışı bakısı ile gram dışkıdaki yumurta sayısının enfeksiyonun gerçek durumu hakkında yeterli bilgi vermediği kaydedilmektedir (4, 5). Bunun sonucu olarak fasciolosisin erken dönem teşhisine yönelik alternatif immuno-serolojik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden özellikle ELISA, parazitin erken dönemlerde belirlenmesi, daha pratik olması ve sürü taramalarında kolaylıkla uygulanabilir olması sebebiyle günümüzde daha çok tercih edilmektedir (5, 6). Özellikle paraziter antijenleri dışkıda saptayan sandviç ELISA oldukça yüksek spesifite göstermekte ve parazitlerin safra kanallarına ulaşmaya başladığı 6. haftadan itibaren pozitif sonuç alınabilmektedir (7). Bunun yanında optik dansite düzeylerinin takibi ile enfeksiyonun seyri ve tedavi etkinliği hakkında güvenilir veriler elde edilebilmektedir (4, 7).

Dünyada ruminantlarda geniş bir yayılış gösteren fasciolosisin Türkiye'de sığırlardaki yayılışı üzerine çalışmaların daha çok dışı bakısı ve mezbaha incelemesi sonuçlarına dayandığı görülmekte olup immuno-serolojik çalışmaların oldukça sınırlı sayıda olduğu dikkati çekmektedir (8-11).

Bu çalışmada, koproantijen ELISA ve sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon yöntemleri ile Derinkuyu yöresindeki sığırlarda fasciolosis prevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Çalışma sahası ve örneklerin toplanması

Çalışma, Eylül 2008-Haziran 2009 tarihleri arasında Nevşehir iline bağlı Derinkuyu ilçesinde yürütülmüştür. Derinkuyu ilçesi Nevşehir ilinin güneyinde yer alır. Nevşehir Niğde Karayolu üzerindedir. Güneyinde Niğde, Kuzeyinde Nevşehir, Doğusunda Yeşilhisar (Kayseri) ve Ürgüp, Batısında Acıgöl ve Niğde ili ile

çevrilidir. Halkın geçim kaynağını büyük ölçüde tarım ve hayvancılık oluşturmaktadır. Düz bir arazi yapısına sahip olan ilçenin tipik bir kara iklimi vardır. Yazları sıcak ve kurak; kışları soğuk ve yağışlı geçer. Yağmur genellikle ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde yağar.

Halk elinde yetiştirilen ve rastgele usulle seçilen, tamamı meraya çıkmış, toplam 198 sığır çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Hayvanlar hakkındaki veriler (yaş, cinsiyet, ırk) kulak küpesi olan hayvanlarda Tarım İlçe Müdürlüğü kayıtlarından, kulak küpesi olmayanlarda ise sahiplerinden elde edilmiştir.

Sığırlar hayvan sahibi veya bakıcıları tarafından zapturapt altına alındıktan sonra, her bir hayvanın rektumundan yaklaşık 50-100 gr dışkı, dışkı poşetlerine alınmış ve numaralandırılarak protokole geçilmiştir.

### Dışkı örneklerinin incelenmesi

Sığırlardan alınan dışkı örneklerinde *Fasciola* spp. yumurtalarının aranması amacıyla sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon metodu kullanılmıştır (12). *Fasciola* spp. yumurtaları yönünden pozitif saptanan dışkı örneklerinde gram dışkıdaki yumurta sayısı (EPG) modifiye McMaster sedimentasyon yöntemi ile belirlenmiş ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapılmıştır (13).

$$EPG = \frac{\text{Toplam yumurta sayısı}}{\text{Kamera sayısı}} \times \frac{50\text{ml}/10\text{gr}}{0.15\text{ml}}$$

Dışkı örneklerinde *F. hepatica* antijenleri BIO-X *Fasciola hepatica* Antigenic ELISA Kit (BIO K 201, Jemelle-Belçika) ile araştırılmıştır. Örneklerdeki optik dansitenin (OD) ölçülmesinde tam otomatik ELISA okuyucu (Bio-Tek Instruments, MicroQuant micropleyt reader), mikropleytlarin yıkama işlemlerinde yine tam otomatik mikropleyt yıkayıcı (Bio-Tek Instruments, ELx50 micropleyt washer) kullanılmıştır. Test sonunda mikropleytledeki örneklerin OD'si 450 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Her bir örnek için OD değeri *F. hepatica* antikoru ile kaplı gözlerdeki değerden kontrol gözlerindeki çıkarılması ile saptanmıştır. Testin doğrulanması üreticinin açıklamalarına göre pozitif kontrol OD değerinin 1.533'den büyük olması ile belirlenmiştir. Cut-off değeri yine üreticinin açıklamalarına göre 0.150 ve üzeri alınmıştır.

## BULGULAR

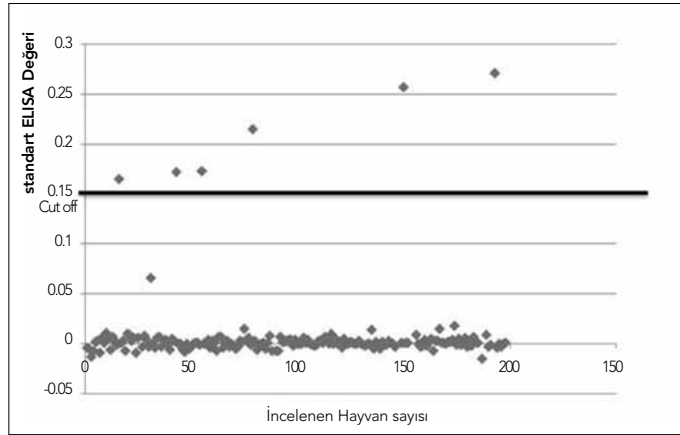
### Fasciolosisin prevalansı

Fasciolosisin araştırma bölgesindeki sığırlarda, koproantijen ELISA ve dışı bakısı yöntemlerine göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Toplam 198 sığırın 6'sında (%3.03) *F. hepatica* koproantijenleri saptanmıştır. İncelemesi yapılan örneklerde saptanan OD değerleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Koproantijen pozitif bulunan sığırların 4'ünde *Fasciola* spp. yumurtaları belirlenmiştir. Enfekte hayvanlarda gram dışkıdaki ortalama yumurta sayısı (EPG) 75±22.9 (44.4-100) bulunmuştur.

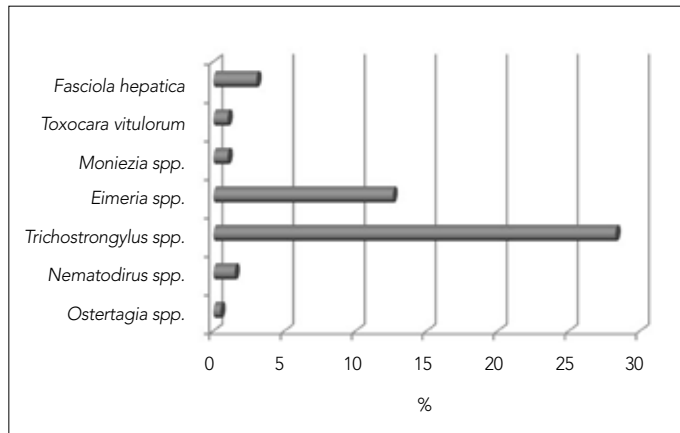
İncelenen 198 sığırın dışı muayenesine göre diğer parazitlerle enfeksiyon durumu incelendiğinde 52'sinin *Trichostrongylus* spp., 25'inin *Eimeria* spp., 3'ünün *Nematodirus* spp., 2'sinin *Moniezia* spp., 2'sinin *Toxocara vitulorum* ve 1'inin *Ostertagia* spp. ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Sığırlarda saptanan parazitlerin dağılım oranları Şekil 2'de verilmiştir

**Tablo 1.** Sığırlarda fasciolosisin ELISA ve dışkı bakı yöntemlerine göre dağılımı

Araştırma sahası	İncelenen Sığır Sayısı	ELISA + Dışkı muayenesi +		ELISA + Dışkı muayenesi -		ELISA - Dışkı muayenesi +		Total Prevalans	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Derinkuyu	198	4	2.02	2	1.01	-	-	6	3.03



**Şekil 1.** İncelemesi yapılan sığırlarda Koproantijen ELISA ile saptanan optik dansite (OD) değerleri



**Şekil 2.** Sığırlarda dışkı muayenesi ile saptanan parazitlerin yüzdesel dağılımı

Sığırlarda fasciolosisin yayılışına yaşın etkisi incelendiğinde, Tablo 2'de görüldüğü gibi >3 yaş grubundaki prevalans <3 yaş grubuna oranla yüksek belirlenmiş ancak bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

Enfeksiyonun erkek sığırlarda (%4.8) dişilere (%3.4) oranla daha yaygın olduğu belirlenmiş ancak, cinsiyetler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ) (Tablo 3).

Fasciolosis en yüksek %3.48 ile Holstein ırkında belirlenmiş, bunu %2.81 ile Simental ve %2.43 ile Montofon ırkları izlemiştir. Sığır ırkları arasında enfeksiyonun yayılışı açısından istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 4).

## TARTIŞMA

Türkiye, gerek iklimsel gerekse ekolojik faktörler yönünden *Fasciola* türlerinin yayılışı için uygun bir ülke olarak gözükmesine rağmen özellikle bu türlerin sığırlarda yayılışı üzerine çalışmaların fazla olmadığı görülmektedir. Mevcut çalışmaların ise genellikle nekrop-

si ve dışkı bakışı ile yapıldığı dikkati çekmektedir. Bunun yanında serolojik olarak koyunlarda deneysel bir IFAT çalışması (14), koyun ve sığırlarda *F. hepatica* somatik ve e/s antijenlerine karşı immun-reaktif proteinlerin araştırıldığı iki çalışma bulunmaktadır (15, 16). Saha çalışmalarında ise, Şimşek ve ark. (8) Elazığ yöresinde sığırlarda indirekt ELISA ile %60.5 oranında *F. hepatica* seropozitifliği tespit etmişlerdir. Doğu Anadolu bölgesinde eozinofilili ve eozinofili görülmeyen sığırlarda *F. hepatica* seropozitifliğinin ES-ELISA ile araştırıldığı bir çalışmada 164 eozinofilik sığırdaki %73.7, eozinofili görülmeyen sığırlarda ise %35.0 oranında pozitiflik belirlenmiştir (9). Yıldırım ve ark., (11) Kayseri yöresinde indirekt ELISA ile sığırlarda fasciolosisin prevalansını %65.2 belirlemişlerdir. Yavuz ve ark. (10) aynı ilin Yeşilhisar, Bünyan, Erkilet ve Sarız ilçelerinde indirekt ELISA ile incelemesini yaptıkları sığırların %69.2'sinde seropozitiflik tespit etmişlerdir. Diğer taraftan dışkı bakışı ve mez-baha çalışmalarına göre sığırlarda fasciolosisin Samsun ve Ordu'da %0.5-17.0 (17), Samsun'da %25.3 (18), Afyon'da %4.6 (19), Trakya'da %0.5 (20) Elazığ'da %1.6 (21), Erzurum'da %21.0 (22), Van'da %54.0 (23) ve Malatya'da %4.4 (24) yaygın olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ile sığırlarda fasciolosisin prevalansı koproantijen ELISA ile %3.03, dışkı muayenesiyle ise %2.02 olarak belirlenmiştir. Elde edilen prevalans oranlarının Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden bildirilen bazı dışkı bakışı ve mez-baha çalışması sonuçları (19-21, 24) ile paralellik gösterdiği dikkati çekmiştir. Diğer yandan antikor saptama tabanlı serolojik çalışmalarda (8-11) belirlenen prevalans oranlarının (%60.5-73.7) oldukça yüksek olduğu görülmektedir. *F. hepatica*'ya karşı antikorların serumda yüksek bulunmasının prepatent dönem enfeksiyonlarından, vücuda alınan fakat olgunlaşamayan parazitlerden ve tedavi görmüş hayvanlarda anthelmintik uygulaması sonrası 12. haftaya kadar antikorların mevcut kalabilmesinden ileri gelebileceği kaydedilmektedir (25-27). Bununla birlikte aynı sınıftaki diğer parazitler enfeksiyonlarla çapraz reaksiyon riski de antikor testlerinde sıklıkla ortaya çıkabilmektedir (26, 27).

Fasciolosis riskinin yaş faktörü ile ilgili olarak değişkenlik gösterdiği ileri sürülmekte (28-31), genelde yaşın artması ile orantılı olarak enfeksiyon oranının artış gösterdiği, özellikle 2 yaş üzerinde daha yaygın olduğuna dikkat çekilmektedir. Sanchez-Andrade ve ark., (31) ve Yıldırım ve ark., (11) sığırlarda fasciolosisin prevalansını en yüksek >3 yaş grubunda saptamışlardır. Bu çalışmada da >3 yaş grubundaki prevalans  $\leq 3$  yaş grubuna oranla yüksek belirlenmiş olmasına karşın yaş grupları arasındaki fasciolosisin yaygınlığı istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Fasciolosisin yayılışının yaşlı hayvanlarda daha yüksek düzeyde olması, konak-parazit ilişkisinde yaşlı hayvanların daha uzun süre meraya çıkmaları ve muhtemelen ara konaklarla daha uzun süre karşı karşıya kalmalarıyla açıklanmaktadır (31). Ayrıca, Maqbool ve ark., (29), yaşlı hayvanlarda yüksek düzeydeki prevalansın, çevresel faktörlere karşı direnç azalmasından ileri gelebileceğini vurgulamışlardır.

*Fasciola* enfeksiyonlarının yayılışında, cinsiyetin etkisinin olmadığı (29, 32) veya genel olarak bu parazite dışılarda erkeklerden

**Tablo 2.** Sığırlarda fasciolosisin yaşa göre dağılımı

Yaş grupları (yıl)	İncelenen sığır sayısı	Enfektif sığır		$\chi^2$	P
		Sayısı	%		
≤3	105	3	2.85	0.023	1.000
>3	93	3	3.22		
<b>Toplam</b>	<b>198</b>	<b>6</b>	<b>3.03</b>		

$\chi^2$ : Fisher's Exact Test

**Tablo 3.** Sığırlarda fasciolosisin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	İncelenen sığır sayısı	Enfektif sığır		$\chi^2$	P
		Sayısı	%		
Erkek	21	1	4.8	0.104	0.550
Dişi	177	5	3.4		
<b>Toplam</b>	<b>198</b>	<b>6</b>	<b>3.03</b>		

$\chi^2$ : Fisher's Exact Test

**Tablo 4.** Sığırlarda fasciolosisin ırka göre dağılımı

İrk	İncelenen sığır sayısı	İnfektif sığır		$\chi^2$	P
		Sayısı	%		
Montofon	41	1	2.43	0.121	0.941
Simental	71	2	2.81		
Holstein	86	3	3.48		
<b>Toplam</b>	<b>198</b>	<b>6</b>	<b>3.03</b>		

$\chi^2$ : Pearson Chi-Square

daha çok rastlandığı bildirilmiştir (11, 30). Bu farklılığın dişilerin besiden ziyade daha çok süt amaçlı kullanılmalarından dolayı hem yaşam sürelerinin uzunluğu hem de meraya daha fazla çıkmalarından kaynaklandığı ileri sürülmüştür (30). Bu çalışmada yukarıdaki çalışmaların sonuçları (29, 32) ile uyumlu olarak dişi ve erkek sığırlarda enfeksiyonun yayılışı istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Bunun yanında çalışmada sığır ırkları arasında enfeksiyonun prevalansı açısından gözlenen farklılık Yıldırım ve ark., (11) ve Sanchez-Andrade ve ark., (31)'nin bulgularına benzer olarak istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

## SONUÇ

Bu çalışma ile Nevşehir'in Derinkuyu yöresindeki sığırlarda fasciolosisin varlığı ve prevalansı Türkiye'de ilk kez kullanılan koproantijen ELISA tekniği ile ortaya konmuştur. Özellikle prepatent enfeksiyonlar ve çeşitli handikapları göz önüne alındığında dışkı bakısı yöntemlerinin fasciolosisin teşhisinde yetersiz olduğu gözlenmiş, sürü muayenelerinde ve saha çalışmalarında dışkı muayenesinin yanında sensitivite ve spesifitesi yüksek immunoserolojik testlerin de birlikte kullanılmasıyla daha gerçek sonuçların ortaya konacağı görülmüştür.

## TEŞEKKÜR

Yazarlar, aynı başlıklı yüksek lisans tezinden özetlenen bu çalışmanın yapılmasında maddi desteklerinden dolayı Erciyes

Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: TSY-08-547) teşekkür ederler.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. London: Bailliere Tindall; 1986.
2. Malone JB, Gommers R, Hansen J, Yilma JM, Slingenberg J, Snijders F, et al. A Geographic Information System on the potential distribution and abundance of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* in East Africa based on food and agriculture organization databases, Vet Parasitol 1998; 78: 87-101. [CrossRef]
3. Abunna F, Asfaw L, Megersa B, Regassa A. Bovine fasciolosis: coprological, abattoir survey and its economic impact due to liver condemnation at Soddo municipal abattoir, Southern Ethiopia. Trop Anim Health Prod 2010; 42: 289-92. [CrossRef]
4. Mezo M, Gonzalez-Warleta M, Ubeira FM. The use of MM3 monoclonal antibodies for the early immunodiagnosis of ovine fascioliasis. J Parasitol 2007; 93: 65-72. [CrossRef]
5. Salimi-Bejestani MR, McGarry JW, Felstead S, Ortiz P, Akca A, Williams DJ. Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test. Res Vet Sci 2005; 78: 177-81. [CrossRef]
6. Reichel MP. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep and cattle. Vet Parasitol 2002; 107: 65-72.

7. Valero MA, Ubeira FM, Khoubbane M, Artigas P, Muiño L, Mezo M, et al. MM3-ELISA evaluation of coproantigen release and serum antibody production in sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Vet Parasitol* 2009; 159: 77-81. [CrossRef]
8. Şimşek S, Köroğlu E, Ütük AE, Altay K. Use of Indirect Excretory/Secretory Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ES-ELISA) for the Diagnosis of Natural *Fasciola hepatica* Infection in Eosinophilic and Non-Eosinophilic Cattle from Eastern Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2006; 30: 410-5.
9. Simsek S, Risvanlı A, Utuk AE, Yuksel M, Saat N, Koroglu E. Evaluation of relationship between repeat breeding and *Fasciola hepatica* and hydatid cyst infections in cows in Elazig district of eastern Turkey. *Res Vet Sci* 2007; 83: 102-4. [CrossRef]
10. Yavuz A, İnci A, Yıldırım A, İça A, Düzlü Ö. Sığırlarda *Fasciola hepatica*'nın yayılışı. *Sağ Bil Derg* 2007; 16: 96-102.
11. Yıldırım A, İca A, Duzlu O, İnci A. Prevalence and Risk Factors Associated with *Fasciola hepatica* in Cattle from Kayseri Province, Turkey. *Revue Med Vet* 2007; 158: 613-7. [CrossRef]
12. Charlier J, De Meulemeester L, Claerebout E, Williams D, Vercruysse J. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. *Vet Parasitol* 2008; 153: 44-51. [CrossRef]
13. Conceição MAP, Durao RM, Costa IH, Correia da Costa JM. Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fasciolosis. *Vet Parasitol* 2002; 105: 337-43.
14. Tınar R. Floresan antikor tekniği ile *Fasciola gigantica*'nın erken teşhisi üzerine araştırmalar. Ankara: Ankara Üniversitesi Parazitoloji Programı. 1976.
15. Gönenç B, Sarımehtemioğlu HO, Kara M, Kırçalı F. Comparison of crude and excretory/secretory antigens for the diagnosis of *Fasciola hepatica* in sheep by Western Blotting. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 943-9.
16. Sarımehtemioğlu HO. Application of Western Blotting for the immunodiagnosis of *Fasciola hepatica* in cattle using excretory/secretory antigens. 2002. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 1061-5.
17. Celep A. Samsun ve Ordu illeri ile ilçelerinde sığırlarda gaita muayene sonuçlarına göre tespit edilebilen helmintolojik bulgular ve perifer kan fotisi muayene sonuçları. *Etlik Vet Mik Derg* 1984; 6: 106-12.
18. Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Coşkun ŞZ, Gürsoy S. Samsun yöresi sığırlarında helmintolojik araştırmalar. *Etlik Vet Mik Derg* 1990; 6: 117-30.
19. Kırçalı Sevimli F, Köse M, Kozan E, Doğan N. Afyon ili sığırlarında paramphistomosis ve distomatosis'in genel durumu. *T Parazitolojî Derg* 2005; 29: 43-6.
20. Gargılı A, Tüzer E, Gülanber A, Toparlık M, Efil İ, Keleş V, ve ark. Prevalence of liver fluke infections in slaughtered animals in Trakya (Thrace), Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 1999; 23: 115-6.
21. Kaplan M, Başpınar S. Elazığ'da son 5 yılda kesilen kasaplık hayvanlarda fasciolosis sıklığı ve ekonomik önemi. *Fırat Tıp Derg* 2009; 14: 25-7.
22. Balkaya I, Şimşek S. Erzurum'da kesilen sığırlarda hidatidosis ve fasciolosis'in yaygınlığı ve ekonomik önemi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2010; 16: 793-7.
23. Toparlık M, Taşçı S, Gül Y. Van İli belediye mezbahasında kesilen sığırlarda karaciğer trematod enfeksiyonları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1989; 36: 419-23.
24. Kara M, Gıcık Y, Sari B, Bulut H, Arslan MO. A slaughterhouse study on prevalence of some helminths of cattle and sheep in Malatya Province, Turkey. *J Anim Vet Adv* 2009; 8: 2200-5.
25. Ghosh S, Rawat P, Gupta SC, Singh BP. Comparative diagnostic potentiality of ELISA and dot-ELISA in prepatent diagnosis of experimental *Fasciola gigantica* infection in cattle. *Indian J Exp Biol* 2005; 43: 536-41. [CrossRef]
26. Reichel MP, Vanhoff K, Baxter B. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay performed in milk for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in cattle. *Vet Parasitol* 2005; 129: 61-6.
27. Salami-Bedestani MR, Daniel RG, Felstead SM, Cripps PJ, Mahmood H, Williams DJ. Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in England and Wales measured with an ELISA applied to bulk-tank milk. *Vet Rec* 2005; 156: 729-31.
28. Holland WG, Luong TT, Nguyen LA, Do TT, Vercruysse J. The epidemiology of nematode and fluke infections in cattle in the Red River Delta in Vietnam. *Vet Parasitol* 2000; 93: 141-7. [CrossRef]
29. Maqbool A, Hayat CS, Akhtar T, Hashmi HA. Epidemiology of fasciolosis in buffaloes under different managemental conditions. *Veterinarski arhiv* 2002; 72: 221-8.
30. Phiri AM, Phiri IK, Sikasunge CS, Monrad J. Prevalence of fasciolosis in Zambian cattle observed at selected abattoirs with Emphasis on age sex and origin. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2005; 52: 414-6. [CrossRef]
31. Sanchez-Andrade R, Paz-Silva A, Suarez JL, Panadero R, Pedreira J, Lopez C, et al. Influence of age and breed on natural bovine fasciolosis in an endemic area (Galicia, NW Spain). *Vet Res Commun* 2002; 26: 361-70.
32. Opara KN. Population dynamics of *Fasciola gigantica* in cattle slaughtered in Uyo, Nigeria. *Trop Anim Health Prod* 2005; 37: 363-8. [CrossRef]