



Comparative Investigation of *Fasciola hepatica* Prevalence by Coproantigen-Elisa and Stool Examination Methods in Sheep in Van Province

Suzan EROL ESİM^{1*} Nalan ÖZDAL² Bekir OĞUZ²

¹ Van Yuzuncu Yil University, Dursun Odabas Medical Center, Van, Türkiye

² Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Van, Turkey

Received: 20.12.2019

Accepted: 29.04.2020

ABSTRACT

This study was carried out to determine the prevalence of fasciolosis in sheep in Van province by coproantigen-ELISA and sedimentation-zinc sulphate flotation technique. Fecal samples collected from 141 sheep were examined by sedimentation-zinc sulphate flotation technique. Modified McMaster sedimentation technique was applied to the egg positive samples to determine the egg per gram feces (EPG) values. *Fasciola hepatica* coproantigens in fecal samples were investigated by the coproantigen-ELISA technique. The coproantigen-ELISA, coprological, and total prevalence of fasciolosis were determined as 19.85%, 11.34% and 20.5%, respectively. The EPG value in infected sheep was $91,6 \pm 64,1$. The prevalence of fasciolosis infection was observed higher in 4-5 age group (30%) than 2-3 age group (13.5%), the differences between age groups were found significant ($p < 0.05$). The prevalence of fasciolosis in female and male sheep was found as 20.6% and 20%, respectively ($p > 0.05$). In the fecal examination, sheep were also found to be infected with *Dicrocoelium dentriticum* (17.7%), *Trichuris ovis* (12%), *Oestertagia* spp. (12%), *Trichostrongylus* spp. (9.9%), *Nematodirus* spp. (5.7%) and *Paramphistomum* spp. (2.8%). This study was the first investigation of ovine fasciolosis by coproantigen ELISA technique in Van province. It has been thought that the prevalence of fasciolosis may vary according to the diagnostic methods applied and should be interpreted with caution since the results reflect different stages of the infection.

Keywords: Coproantigen-ELISA, Fasciolosis, Prevalence, Sheep, Van

ÖZ

Van İlinde Koyunlarda *Fasciola hepatica* Prevalansının Koproantijen-Elisa ve Dışkı Muayene Yöntemleri ile Karşılaştırmalı Araştırılması

Bu çalışma, Van ilinde koyunlarda fasciolosisin yayılışını koproantijen-ELISA ve sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon yöntemleri ile tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Toplam 141 koyundan alınan dışkı örnekleri sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon metoduyla *Fasciola hepatica* yumurtaları yönünden muayene edilmiştir. Pozitif örneklerde gram dışkıdaki yumurta sayısı (EPG) modifiye McMaster sedimentasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Dışkı örneklerinde *F. hepatica* antijenlerinin varlığı koproantijen-ELISA testi ile araştırılmıştır. Fasciolosisin koproantijen-ELISA, dışkı muayenesine ve totale göre prevalansı sırası ile %19,85, %11,34 ve %20,5 belirlenmiştir. Enfekte hayvanlarda EPG değeri $91,6 \pm 64,1$ bulunmuştur. Fasciolosisin prevalansı 4-5 yaş grubunda (%30) 2-3 yaş grubuna (%13,5) göre daha yüksek belirlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Cinsiyete göre prevalansın dişilerde ve erkeklerde sırasıyla %20,6 ve %20 olduğu belirlenmiştir ($p > 0,05$). Dışkı muayenesinde, koyunların *Dicrocoelium dentriticum* (%17,7), *Trichuris ovis* (%12), *Oestertagia* spp. (%12), *Trichostrongylus* spp. (%9,9), *Nematodirus* spp. (%5,7) ve *Paramphistomum* spp. (%2,8) ile de enfekte olduğu görülmüştür. Bu çalışma Van ilinde yetiştirilen koyunlarda fasciolosisin koproantijen-ELISA tekniği ile araştırıldığı ilk çalışmadır. Fasciolosis prevalansının uygulanan teşhis metodlarına göre değişebileceği ve sonuçların enfeksiyonun farklı aşamalarını yansıttığı için dikkatli yorumlanması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Koproantijen-ELISA, Fasciolosis, Prevalans, Koyun, Van



GİRİŞ

Fasciolosis; başta koyun, keçi, sığır, manda ve deve olmak üzere çeşitli evcil ve yabani hayvanlarda ve insanlarda hastalıklara sebep olan ve karaciğerde *Fasciola hepatica* ve *F. gigantica* başta olmak üzere Fasciolidae ailesindeki trematodlar tarafından oluşturulan bir hastalıktır (Soulsby 1986). Fascioliasisli koyun ve sığırlarda ağırlık kaybı, süt ve döl veriminde azalma, yapağı kalitesinde düşüş görüldüğü, ayrıca fascioliasisin ketozise neden olduğu, Ostertagia ve Babesia enfeksiyonlarına karşı da vücut direncinin zayıflatıldığı belirtilmiştir (Cawdery 1984). Ara konaklığını Lymnaeidae ailesindeki çeşitli sümüklülerin yaptığı *F. hepatica*, karaciğer kelebekleri arasında en yaygın tür olup oluşturduğu patojenite ile özellikle koyunlarda 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 (Malone ve ark. 1998).

Fasciolosisin teşhisinde genelde dışkıda parazitin yumurtaları aranır. Parazitin yumurtalarını dışkıyla çevreye bırakması için karaciğerde göçlerini tamamlamaları ve safra kanalında olgunlaşması gerekmektedir. Bu yüzden *Fasciola* türlerinin dışkı muayenesi ile koyunlarda en erken teşhisi ancak enfeksiyonun alımından sonraki 10. haftada mümkün olmaktadır. Bunun yanında alınan parazitler, konak immunitesine bağlı olarak her zaman karaciğerde olgun döneme ulaşamamaktadırlar. Oysaki parazitler esas patojenik etkisini göç döneminde yani prepatent dönemden önce göstermektedir. Bu sebeple parazitin erken dönem teşhisine yönelik alternatif immünolojik 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. Özellikle paraziter antijenleri dışkıda saptayan ELISA oldukça yüksek spesifite göstermekte ve enfeksiyonun mevcut durumunu ortaya koyabilmektedir (Reichel 2002; Salimi-Bejestani ve ark. 2005).

Bu çalışmada, koproantijen-ELISA ve sedimentasyon yöntemleri ile Van ilinde yetiştirilen koyunlarda fasciolosis prevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Sahası ve Örneklerin Toplanması

Bu çalışmanın materyalini, Van ve yöresinde yetiştirilen ve rastgele seçilen, tamamı meraya çıkmış, toplam 141 koyundan alınan dışkıları oluşturmuştur. Bu amaçla her hayvanın rektumundan yaklaşık 20-30 gr dışkı, dışkı poşetlerine alınmış, numaralandırılarak protokole geçirilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Hayvanların yaş ve cinsiyetleri kaydedilmiştir. Dışkı numuneleri inceleninceye kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Dışkı Örneklerinin İncelenmesi

Parazitolojik muayene

Koyunlardan alınan dışkı örneklerinde *Fasciola* spp. yumurtalarının aranması amacıyla sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon metodu kullanılmıştır (Charlier ve ark. 2008). *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 (Conceição ve ark. 2002).

$$EPG = \frac{\text{Toplam yumurta sayısı}}{\text{Kamera Sayısı}} \times \frac{50\text{ml}/10\text{gr}}{0,15\text{ml}}$$

Koproantijen-ELISA metodu

Önce sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon yöntemi ile incelenmiş olan örnekler daha sonra ticari ELISA kitiyle (BIO-X *Fasciola hepatica* Antigenic ELISA Kiti, BIO K 201/2, Jemelle-Belçika) üretici firmanın önerdiği biçimde *F. hepatica* koproantijenleri yönünden incelenmiştir. Hazırlanan mikroplyetler ELISA okuyucusunda (Bio-Tek Instruments, MicroQuant mikroplyet reade) 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

ELISA test sonuçlarının değerlendirilmesi

Her bir örnek için net OD değeri, pozitif kuyucuktaki (*F. hepatica* antikoları ile kaplı) OD değerinden onun eşi olan negatif kuyucuktaki (kontrol kuyucuğu) OD değerinin çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Test pozitif kontrol antijeni ile elde edilen OD'nin üretici açıklamalarında (QC data sheet) verilen değerden (0,800) büyük olması halinde geçerli kabul edilmiştir. Daha sonra her bir örnek için elde edilen NET OD değerleri aynı plakada yürütülen NET pozitif kontrol antijen OD değerine bölünmüş ve 100 ile çarpılarak yüzde pozitif hesaplanmıştır ve % 8 'in üzerindeki örnekler pozitif (+), diğerleri negatif (-) olarak belirlenmiştir.

$$\text{Değer} = \frac{\text{NET OD (örnek)}}{\text{NET OD (pozitif kontrol)}} \times 100$$

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 22.0 istatistik paket programında Pearson's Ki-kare (χ^2) testi uygulandı ve p< 0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Van ilinde koyunlarda fasciolosis varlığını belirlemek için yapılan çalışma sonucunda toplam %20.5 (29/141) prevalans tespit edilmiştir (Tablo 1). Fasciolosisin koproantijen ELISA ve dışkı muayenesine göre prevalansı sırası ile %19.85 ve %11.34 olarak belirlenmiştir. Koproantijen pozitif koyunların %53.57 (15/28)'sinin dışkı muayenesinde *Fasciola* spp. yumurtası (Şekil 1) tespit edilmiştir.

Tablo 1. Koyunlarda *F. hepatica*'nın dışkı muayenesi ve Koproantijen-ELISA yöntemlerine göre dağılımı

Table 1. Distribution of *F. hepatica* in sheep according to the methods of coproantigen-ELISA and stool examination

Muayene Edilen Koyun Sayısı	Dışkı Muayenesi + Kopro ELISA +		Dışkı Muayenesi - Kopro ELISA +		Dışkı Muayenesi + Kopro ELISA -		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
141	15	10.6	13	9.2	1	0.7	29	20.5

Tablo 2. Koyunlarda *F. hepatica*'nın yaş ve cinsiyete göre dağılımı**Table 2.** Distribution of *F. hepatica* in sheep related age and gender

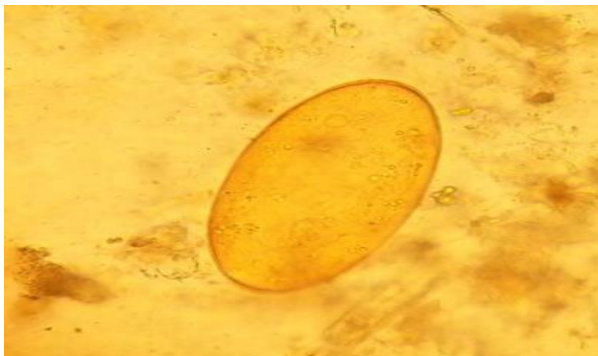
	Muayene Edilen Koyun Sayısı	Enfekte Koyun		χ^2	P
		n	%		
Cinsiyet					
Dişi	116	24	20.6	0.006	0.938
Erkek	25	5	20		
Yaş Grupları					
2-3	81	11	13.5	5.688	0.017*
4-5	60	18	30		
Toplam	141	29	20.5		

χ^2 : Pearson's Ki-kare Testi, *: p<0.05

Tablo 3. Koyunlarda diğer helmint türlerinin yayılışı**Table 3.** Distribution of other helminth species in sheep

Helmint Türü	Yaş		Cinsiyet				Toplam (n=141)			
	2-3 (n=81)		4-5 (n=60)		Dişi (n=116)		Erkek (n=25)			
	n	%	n	%	n	%	n	%		
<i>Trichostrongylus axei</i>	7	8.6	10	16.7	15	12.9	2	8	17	12
<i>Dicrocoelium dentriticum</i>	11	13.6	14	23.3	19	16.4	6	24	25	17.7
<i>Paramphistomum spp.</i>	2	2.5	2	3.3	4	3.4	-	-	4	2.8
<i>Oestertagia spp.</i>	7	8.6	10	16.7	12	10.3	5	20	17	12
<i>Trichostrongylus axei</i>	8	9.9	6	10	11	9.5	3	12	14	9.9
<i>Nematodirus spp.</i>	4	4.9	4	6.7	6	5.2	2	8	8	5.7

Bir koyunda dışkı muayenesinde yumurtaya rastlanmasına rağmen dışkıda *Fasciola* antijenleri belirlenmemiştir. Enfekte koyunlarda gram dışkıdaki ortalama yumurta sayısı (EPG) 91.6 ± 64.1 (27.5-155.7) bulunmuştur. *Fasciola hepatica* enfeksiyonunun prevalansı koyunların yaşına göre değerlendirildiğinde 4-5 yaş grubundaki prevalans, 2-3 yaş grubuna göre daha yüksek belirlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Koyunlarda fasciolosisin yayılışı cinsiyete göre değerlendirildiğinde enfeksiyon dişilerde %20.6, erkeklerde %20 tespit edilmiştir. Cinsiyetler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 2). Dışkı muayenesi yapılan koyunlarda *F. hepatica* haricinde diğer helmint türleri de tespit edilmiş, bu türlerin koyunların yaş ve cinsiyetine göre dağılımı belirlenmiştir (Tablo 3).

**Şekil 1.** Enfekte koyun dışkısında *Fasciola* spp. yumurtası**Figure 1.** *Fasciola* spp. egg in infected sheep feces

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çeşitli ülkelerde ve Türkiye'de fasciolosisin epidemiyolojisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve çok farklı sonuçlar elde edilmiştir. Dünyanın farklı ülkelerinde fasciolosisin koyunlardaki yayılışı %4'den %61.6'ya varan oranlarda değişmektedir (Hammami ve ark. 2007; Kantzoura ve ark. 2011; Domke ve ark. 2013; Rinaldi ve ark. 2015). Ülkemizde ise fasciolosisin prevalansı mezbahe muayenesine göre %0.6'dan %95'e (Vural 1970; Gargılı ve ark. 1999), dışkı muayenesi sonuçlarına göre %0.8'den %20.99 (Celep ve ark. 1990; Ütük ve ark. 2012), serumda antikorların tespitine dayanan çalışmaların sonuçlarına göre ise %0'dan %49.43'e (Denizhan 2010; Ütük ve ark. 2012) kadar değişen oranlarda bildirilmiştir.

Karapınar (2009) Sivas Zara'da koyunlarda fasciolosis enfeksiyonunun yaygınlığını koproantijen-ELISA ile %5.97 oranında bildirmiştir. Van'da koyunlarda fasciolosisin yaygınlığı daha önce dışkı muayenesi (Denizhan 2010), nekropsi (Toparlak ve Gül 1988) ve serumda antikor tespitine dayanan serolojik (Denizhan 2010) çalışmalarla bildirilmiş olup, Van'da enfeksiyonun prevalansı koproantijen-ELISA ile ilk defa bu çalışma ile ortaya konmuştur. Bu çalışma ile koyunlarda *F. hepatica*'nın yaygınlığı Sedimentasyon-Çinko sülfat flotasyon tekniği ile yapılan dışkı muayenesinde %11.34, koproantijen-ELISA ile %19.85, ve totalde ise %20.5 belirlenmiştir. Bu sonuçlar Samsun (%20.99; Celep ve ark. 1990), Bursa (%28.5; Akyol 2001), Elazığ (%20-22.2; Ütük ve ark. 2012), Sinop (%25.4; Açıcı ve ark. 2017) ve daha önce Van'da (%15.9-15.63; Toparlak ve Gül 1988; Denizhan 2010) yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik

göstermektedir. Ayrıca bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, daha önce hayvanlarda yapılan çalışmalara ek olarak insanlarda fasciolosis enfeksiyonunun dışkı muayenesine göre %1.8, ELISA sonuçlarına göre ise %5.6 (Taş Cengiz ve ark. 2011) olduğu Van ilinin fasciolosisin yayılışı için uygun olduğu kanaatini desteklemiştir.

Ruminantlarda *F. hepatica* enfeksiyonunu saptamak için bugüne kadar geleneksel sedimentasyon ve flotasyon teknikleri ile dışkıda yumurta tespiti, serum ve sütte antikorların saptanması, dışkıdaki koproantijen veya DNA'nın ve kandaki birçok biyokimyasal belirteçlerin tespitine dayanan teşhis yöntemleri kullanılmıştır (Fairweather 2011).

Laboratuvar materyalinin ucuzluğu ve aktif enfeksiyonların tespiti açısından, koprolojik teknikler avantajlıdır, ancak zaman alıcıdır, uzman personel gerektirir, duyarlılıkları düşüktür ve patent enfeksiyonlu hayvanların sadece %60-70'ini tespit etmektedir (Anderson ve ark. 1999; Rapsch ve ark. 2006; Charlier ve ark. 2008; Mezo ve ark. 2011). Dışkı muayenesiyle enfeksiyonun erken teşhisi enfeksiyondan sadece 10-11 hafta sonrasında mümkün olmakla birlikte hafif enfeksiyonlar tespit edilemez ve enfekte olmuş hayvanlar, enfekte olmamış hayvanlar için bir enfeksiyon kaynağı olarak hizmet ederler. Ayrıca, konakçı yaşı, dışkı suyu miktarı ve dışkı miktarı (Charlier ve ark. 2008) gibi diğer faktörler, dışkıda yumurta sayısının hassasiyetini etkileyebilir (Alvarez Rojas ve ark. 2014). Dahası yumurtaların başarılı tedaviden sonra en az 2 hafta boyunca safra kesesinde tutulması nedeniyle yanlış pozitiflik meydana gelebilir (Flanagan ve ark. 2011).

Antikor tespit testleri ise mükemmel hassasiyetle enfeksiyonun erken tespitini sağlar ancak, çoğu hayvandaki antikor seviyeleri tedaviden yaklaşık 2-4 ay sonrasında da antikor-ELISA'nın pozitif eşliğinin üzerinde kalır (Gaasenbeek ve ark. 2001; Sanchez-Andrade ve ark. 2001; Salimi-Bejestani ve ark. 2005). Bu nedenle antikor-ELISA'ya dayalı prevalans verisinin mevcut enfeksiyon durumu hakkında güvenilir olmayabileceği ve testin yalnız mevcut enfeksiyonu değil, sadece bir süre parazite maruz kalmayı ölçtüğü düşünülmektedir (Arifin ve ark. 2016).

Dolaşımdaki veya dışkıdaki *Fasciola* spp. antijenlerinin tespit edilmesine yönelik yöntemler, koprolojik ve serolojik tekniklerle ilgili yukarıda sözü edilen sorunları çözmektedir (Martinez-Sernandez ve ark. 2016). Diğer helmintlerden gelen antijenlerle çapraz reaksiyonu bulunmayan ve aynı zamanda yumurta üretiminden 1-5 hafta önce *Fasciola* enfeksiyonlarının saptanmasına olanak sağlayan kopro-ELISA tekniğinin yüksek duyarlılık (%94) ve özgüllüğü (%100) olduğu bildirilmiştir (Mezo ve ark. 2004). Dışkı muayenesi negatif kaldığı zaman, enfeksiyonun prepatent evresinde fasciolosisi teşhis etmek için kopro-ELISA tekniği altın standart olarak kabul edilmektedir (Mezo ve ark. 2004; Valero ve ark. 2009). Antikorlardan ziyade antijenlerin saptanması, hem enfeksiyon durumunu değerlendirmek (Endah Estuningsih ve ark. 2004) hem de fasciolosis'e karşı kemoterapinin etkinliğini değerlendirmek için iyi bir prosedür olarak kabul edilir (Flanagan ve ark. 2011; Gordon ve ark. 2012; Brockwell ve ark. 2014).

Şimdiye kadar Türkiye'de fasciolosisin prevalansı üzerine yapılan çalışmaların çoğu mezbaşa bakışı ve dışkı muayenelerine dayanmaktadır. Ancak son yıllarda ruminantlarda sınırlı sayıda araştırmacı bu konuda immunoserolojik olarak prevalans çalışmaları yapmıştır (Yavuz ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2007; Karapınar 2009; Ütük ve ark. 2012; Avcioglu ve ark. 2014; Açıcı ve

ark. 2017; Bostancı ve Oguz 2017; Çelik ve Aslan Çelik 2018; Çelik ve ark. 2019). Karapınar (2009) Sivas'ın Zara yöresinde koyunlarda fasciolosisin koproantijen-ELISA ve dışkı muayenesine göre prevalansını sırası ile %5.97 ve %3.48 belirlemiştir. Arifin ve ark. (2016) inceledikleri 64 hayvanın 53'ünün *F. hepatica*'nın antikorları, 36'sının koproantijenleri, 28'inin ise yumurtaları yönünden pozitif olduklarını bildirmişlerdir. Erzurum'da sığırlarda fasciolosisin prevalansı kopro-ELISA ile %35.46, antikor-ELISA ile %61.70, sedimentasyon yöntemi ile %34.04 bildirilmiştir (Avcioglu ve ark. 2014).

Bu çalışmada, koproantijen tespiti, %100 spesifitesi olan kopro-ELISA testi kullanılarak gerçekleştirildi (Martinez-Perez ve ark. 2012). Fasciolosisin kopro antijen-ELISA ve dışkı muayenesine göre prevalansı sırası ile %19.85 ve %11.34 olarak belirlenmiştir. Kopro antijen ELISA ile pozitif koyunların %46.4'ünde (13/28) dışkı muayenesinde *Fasciola* spp. yumurtaları tespit edilmemiştir. Bu sonuç, diğer çalışmalarla (Karapınar 2009; Martinez-Perez ve ark. 2012; Avcioglu ve ark. 2014; Arifin ve ark. 2016) uyumlu olarak kopro-ELISA testinin dışkı bakışına göre daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Nitekim koproantijen ELISA testi ile metaserkerlerin alınmasından 4 hafta sonra pozitif sonuç alınabilmektedir (Martinez-Perez ve ark. 2012). Hafif enfeksiyonlarda yumurtaların ancak tekrarlanan dışkı muayenelerinde görüldüğü, *Fasciola* spp. yumurtalarının günden güne ve gün içinde atılımında değişiklikler gösterdiği, dışkıdaki yumurta dağılımının düzensiz olduğu ve yalnızca dışkı muayenesi ile gram dışkıdaki yumurta sayısının fasciolosisin gerçek durumunu yansıtmadığı (Honer 1965a; Honer 1965b; Kassai ve ark. 1988; Hansen ve Perry, 1994) dikkate alındığında koproantijen-ELISA testinin hastalığın ve enfeksiyon düzeyinin belirlenmesinde oldukça kullanışlı ve spesifik olduğu görülmektedir.

Martinez-Perez ve ark. (2012) *F. hepatica* ile deneysel enfekte koyunlarda enfeksiyondan 4 hafta sonra hayvanların %57.1'inde, 7 hafta sonra %85.3'ünde, 8. haftadan itibaren ise hayvanların tümünde *Fasciola* koproantijenlerine rastladıklarını bildirirken, deneysel enfekte koyunlarda dışkıda yumurtalara sedimentasyon yöntemiyle en erken enfeksiyondan 9 hafta sonra rastlanmasına rağmen, bunun tüm koyunlarda ancak 12 haftaya kadar mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar doğal enfekte 45 koyunun hepsinde ELISA ile koproantijenlere rastlarken sedimentasyon ile ancak 24'ünde dışkıda yumurtaya rastlamışlardır.

Charlier ve ark. (2008) sensitivite ve spesifiteyi sırasıyla sedimentasyon (10 g) ile dışkı muayenesi için %64 (%53-74) ve %93 (%87-97), antikor-ELISA için %87 (%78-93) ve %90 (%83-95) ve kopro-ELISA için %94 (%87-98) ve %93 (%86-97) bildirmişlerdir. Farklı tekniklerle elde edilen yaygınlık oranlarının yorumlanmasında dikkatli olmalıdır. Fasciolosis'e elde edilen prevalans oranlarındaki farklar etkenin biyolojik seyriyle bağlantılı olarak yöntemlerin prensipleri ile ilişkili olabilir (Avcioglu ve ark. 2014). Örneğin antikor-ELISA test sonucu, tedavi edilmesine rağmen geçmiş fasciolosis'ten gelişen antikorları, diğer trematodlar arasındaki çapraz reaksiyonları, mevcut fasciolosisi veya tüm bu faktörleri birlikte yansıtabilir. Öte yandan açılan büyük safra kanallarının muayenesi ile tüm enfekte olmuş karaciğerlerin sadece %71'inin tespit edildiği, geri kalan %29'unun sadece karaciğerin dilimlenmesi ve suda bekletilmesinden sonra tespit edildiği bildirilmiştir. Bu nedenle mezbahada karaciğer muayenesinin altın standart olarak düşünülebilmesi için sadece ana safra kanallarının

muayenesinin yeterli olmayacağı karaciğerin önce bütün halde sıcak suda 1 saat bekletilmesinin sonra 1-2 cm lik küçük parçalara bölündükten sonra sıcak su dolu bir kapta bekletilip süzülmesinin gerektiği bildirilmiştir (Charlier ve ark. 2008). Bu çalışmada sedimentasyon metoduyla, kopro-ELISA tekniği arasındaki prevalans farkı %8.51 dir. Sedimentasyon dışı yöntemi konakta olgun parazit tarafından üretilen dışkıdaki yumurtaların tespitine ve sayımına dayanır, bununla birlikte, kopro-ELISA yöntemi, safra yolu içinde bulunan olgunlaşmamış/olgun parazitlerin ES antijenlerinin saptanmasına dayanır. Böylece, %8.51'lik fark, prepatent enfeksiyonları belirten ve dışkıda belirlenebilen yumurtaları üretmek için yeterince olgunlaşmamış parazitlerin varlığını yansıtabilir.

Fasciolosis prevalansını tespit etmeye yönelik yapılan bazı çalışmalarda (Akyol 2001; Altaş ve ark. 2003; Moriena ve ark. 2004; Yavuz ve ark. 2007; Karapınar 2009, Denizhan 2010; Şen ve ark. 2011) prevalansın yaş ilerlemesiyle arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da koyunlarda yaş gruplarına göre en yüksek prevalans araştırmacıların bildirdiklerine benzer olarak 4-5 yaş grubunda (%30) belirlenmiş bunu %13.5 ile 2-3 yaş grubu izlemiştir. Bu durumun nedeni yaşlı hayvanların merada daha uzun süre *F. hepatica* metaserkerleriyle karşı karşıya kalmalarından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, Maqbool ve ark. (2002), yaşlı hayvanlarda prevalanstaki artışın, çevresel faktörlere karşı direnç azalmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Bazı çalışmalarda (Maqbool ve ark. 2002; Opara 2005; Denizhan 2010; Şen ve ark. 2011; Bostancı ve Oguz 2017) fasciolosisin yayılışında cinsiyetin etkisinin olmadığı bildirilirken, bazılarında (Phiri ve ark. 2005; Yavuz ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2007) ise dişilerde erkeklerden daha fazla rastlandığı bunun nedeninin ise dişilerin besiden ziyade süt amaçlı yetiştirilmelerinden kaynaklı daha uzun süre yaşamaları ve meraya daha fazla çıkmaları olarak izah edilmiştir (Phiri ve ark. 2005). Bu çalışmada da araştırmacıların çalışmalarına benzer olarak cinsiyetin fasciolosisin yayılışına etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Van ilinde daha önce farklı yöntemlerle varlığı bildirilen fasciolosisin, koproantijen-ELISA ile koyunlardaki prevalansı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Fasciolosisin koproantijen-ELISA, dışkı muayenesine ve totale göre prevalansı sırası ile %19.85, %11.34 ve %20.5 belirlenmiştir. Elde edilen enfeksiyon oranı fasciolosisin Van ilinde koyunlarda hala yaygınlığını ve önemini koruduğunu göstermektedir. Yöntemler arasında prevalans farkları dikkate alındığında; koproantijen-ELISA testinin uygulanması çeşitli dezavantajları bulunan dışkı muayenesiyle karşılaştırıldığında dışkıda yumurtaların görülmediği prepatent enfeksiyonlarda önem taşımaktadır. Özellikle dışkı muayenelerinin negatif olduğu durumlarda aktif enfeksiyonların tespiti için sedimentasyonla dışkı muayenesinin yanında eş zamanlı koproantijen-ELISA tekniğinin yapılması tavsiye edilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, bu çalışmaya maddi desteklerinden dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP koordinasyon birimine (Proje No: 2015-SBE-YL023) teşekkür ederler.

KAYNAKLAR

- Açıcı M, Büyüktanır Ö, Bölükbaşı CS, Pekmezci GZ, Gürler AT, Umur S (2017).** Serologic detection of antibodies against *Fasciola hepatica* in sheep in the middle Black Sea region of Turkey. *J Microbiol Immunol and Infect*, 50, 377-381.
- Akyol ÇV (2001).** Bursa ortak girişim tesislerinde (Etba) kesilen koyunlarda distomatosis'in yayılışı. *J Fac Vet Med*, 20, 23-27.
- Altas MG, Sevgili M, Gökçen A, İriadam M (2003).** Sanlıurfa'da kesilen koyunlarda karaciğer trematodlarının yaygınlığı. *Türk Parazitol Derg*, 27 (3), 195-198.
- Alvarez Rojas CA, Jex AR, Gasser RB, Scheerlinck JP (2014).** Techniques for the diagnosis of *Fasciola* infections in animals: Room for improvement. *Adv Parasitol*, 85, 65-107.
- Anderson N, Luong TT, Vo NG, Buia KL, Smooker PM, Spithill TW (1999).** The sensitivity and specificity of two methods for detecting *Fasciola* infections in cattle. *Vet Parasitol*, 83, 5-24.
- Arifin MI, Höglund J, Novobilsk A (2016).** Comparison of molecular and conventional methods for the diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in the field. *Vet Parasitol*, 232, 8-11.
- Avcioglu H, Güven E, Balkaya I, Kaynar O, Hayirli A (2014).** Evaluation of coprological and serological techniques for Diagnosis of bovine fasciolosis. *Israel J of Vet Med*, 69 (4), 203-210.
- Bostancı A, Oguz B (2017).** Copro-ELISA prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle in Van, Turkey. *Acta Sci Vet*, 45, pub:1465.
- Brockwell YM, Elliott TP, Anderson GR, Stanton R, Spithill TW, Sangster NC (2014).** Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. *Int J Parasitology Drug Resist*, 4, 48-54.
- Cawdery MSH (1984).** Review of the economic importance of fascioliasis in sheep and cattle. *Irish Veterinary News*, september, 14-22.
- Çelik OY, Aslan Celik B (2018).** Investigation of the Prevalence of *Fasciola hepatica* in Small Ruminants in the Siirt Region, Turkey. *Iran J Parasitol*, 13(4), 627-631.
- Çelik OY, Aslan Celik B, İrak K, Akgül G (2019).** Assessment of prevalence of *Fasciola hepatica* and associated biochemical alterations in the cattle of Siirt province, Turkey. *Indian J Anim Res*, 53 (2), 260-263.
- Charlier J, De Meulemeester L, Claerebout E, Williams D, Vercruyse J (2008).** Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. *Vet Parasitol*, 153, 44-51.
- Celep A, Açıcı M, Çetindag M, Coskun SZ, Gürsoy S (1990).** Samsun yöresi sığırlarında helmintolojik araştırmalar. *Etilik Vet Mik Derg*, 6, 117-130.
- Conceição MA, Durao RM, Costa IH, da Costa JM (2002).** Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fasciolosis. *Vet Parasitol*, 105 (4), 337-343.
- Endah Estuningsih S, Widjayanti S, Adiwinata G, Piedrafita D (2004).** Detection of coproantigens by sandwich ELISA in sheep experimentally infected with *Fasciola gigantica*. *Trop Biomed*, 21, 51-56.
- Denizhan V (2010).** Van ili ve bazı ilçelerinde koyunlarda *Fasciola hepatica*'nın seroprevalansı. Doktora tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Domke AV1, Chartier C, Gjerde B, Leine N, Vatn S, Stuen S (2013).** Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Vet Parasitol*, 194, 40-48.
- Fairweather I (2011).** Reducing the future threat from (liver) fluke: realistic prospect or quixotic fantasy. *Vet Parasitol*, 180, 133-143.
- Flanagan A, Edgar HW J, Gordon A, Hanna REB, Brennan GP, Fairweather I (2011).** Comparison of two assays, a faecal egg count reduction test (FECRT) and a coproantigen reduction test (CRT), for the diagnosis of resistance to triclabendazole in *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet Parasitol*, 176, 170-176.
- Gaasenbeek CPH, Moll L, Cornelissen JBW, Vellema P, Borgsteede FHM (2001).** An experimental study on triclabendazole resistance of *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet Parasitol*, 95, 37-43.
- Gargılı A, Tüzer E, Gülanber A ve ark. (1999).** Trakya'da kesilen koyun ve sığırlarda karaciğer trematod enfeksiyonlarının yaygınlığı. *Türk J Vet Anim Sci*, 23 (2), 115-116.
- Gordon DK, Zadoks RN, Stevenson H, Sargison ND, Skuce PJ (2012).** On farm evaluation of the coproantigen ELISA and coproantigen reduction test in Scottish sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet Parasitol*, 187, 436-444.
- Hammami H, Hamed N, Ayadi A (2007).** Epidemiological studies on *Fasciola hepatica* in Gafsa Oases (south west of Tunisia). *Parasite*. 14 (3) 261-264.
- Hansen J, Perry B (1994).** The Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Ruminants. International Laboratory for Research on Animal Diseases, Nairobi, Kenya, pp. 35-42.

- Honer MR (1965a).** The interpretation of faecal egg-counts. I. Daily variations in *Fasciola hepatica* egg-counts in cattle. *Z Parasitenkde*, 26, 143-155.
- Honer MR (1965b).** The interpretation of faecal egg-counts. II. Single and multiple sampling in the diagnosis of sub-clinical fascioliasis hepatica. *Z Parasitenkde*, 26, 156-162.
- Kantzoura V, Kouam MK, Demiris N, Feidas H, Theodoropoulos G (2011).** Risk factors and geospatial modelling for the presence of *Fasciola hepatica* infection in sheep and goat farms in the Greek temperate Mediterranean environment. *Parasitology*, 138 (7), 926-938.
- Karapınar A (2009).** Zara Yöresinde koyunlarda *Fasciola hepatica* prevalansının Copro-Elisa ve dışkı muayene yöntemleriyle araştırılması. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üni. Sağ. Bil. Enst, Kayseri.
- Kassai T, Cordero del Campillo M, Euzeby J, Gaafar S, Hiepe T, Himonas CA (1988).** Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD). *Vet Parasitol*, 29, 299-326.
- Malone JB, Gommers R, Hansen J et al. (1998).** 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*, 78 (2), 87-101.
- Martínez-Pérez JM, Robles-Pérez D, Rojo-Vázquez FA, Martínez-Valladares M (2012).** Comparison of three different techniques to diagnose *Fasciola hepatica* infection in experimentally and naturally infected sheep. *Vet Parasitol*, 190, 80-86.
- Martínez-Sernandez V, Orbegozo-Medina RA, Gonzalez Warleta M, Mezo M, Ubeira FM (2016).** Rapid enhanced MM3-COPRO ELISA for detection of *Fasciola* coproantigens. *PLoS Negl Trop Dis*, 10,7, e0004872.
- Maqbool A, Hayat CS, Akhtar T, Hashmi HA (2002).** Epidemiology of fasciolosis in buffaloes under different managemental conditions. *Vet arhiv*, 72, 221-228.
- Mezo M, Gonzalez-Warleta M, Carro C, Ubeira FM (2004).** An ultrasensitive capture ELISA for detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle using a new monoclonal anti- body (MM3). *J Parasitol*, 90, 845-852.
- Mezo M, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Muiño L, Ubeira FM (2011).** Association between anti-*F. hepatica* antibody levels in milk and production losses in dairy cows. *Vet Parasitol*, 180, 237-242.
- Moriña R, Racioppi O, Alvarez JD (2004).** Fasciolosis en bovinos del nordeste argentino. Prevalencia según edad. *Rev Vet*, 15, 3-4.
- Opara KN (2005).** Population dynamics of *Fasciola gigantica* in cattle slaughtered in Uyo, Nigeria. *Trop Anim Health Prod*, 37, 363-368.
- Phiri AM, Phiri IK, Sikasunge CS, Monrad J (2005).** 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*, 52, 414-416.
- Rapsch C, Schweizer G, Grimm F et al. (2006).** Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in Switzerland in the absence of an absolute diagnostic test. *Int J Parasitol*, 36, 1153-1158.
- Reichel MP (2002).** Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep and cattle. *Vet Parasitol*, 107 (1-2), 65-72.
- Rinaldi L, Biggeri A, Musella V et al. (2015).** Sheep and *Fasciola hepatica* in Europe: the GLOWORM experience. *Geospatial Health*, 9 (2), 309-317.
- Salimi-Bejestani MR, McGarry JW, Felstead S, Ortiz P, Akca A, Williams DJ (2005).** Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test. *Res Vet Sci*, 78 (2), 177-181.
- Sanchez-Andrade R, Paz-Silva A, Suarez JL, et al. (2001).** Effect of fasciolicides on the antigenaemia in sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Parasitol Res*, 87, 609-614.
- Soulsby EJJ (1986).** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. London. Bailliere Tindall.
- Şen M, Yıldırım A, Bişkin Z, Düzlü Ö, İnci A (2011).** Derinkuyu Yöresindeki Sığırlarda Fasciolosisin Kopro-ELISA ve Dışkı Muayene Yöntemleriyle Araştırılması. *Türk Parazitoloj Derg*, 35, 81-85.
- Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Dülger AC, Akdeniz H, Çiçek M, Karahocagil M (2011).** Van yöresinde insanlarda *Fasciola hepatica*'nın seroprevalansı. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Kars, Türkiye, 4-10 Eylül, ss.239-239.
- Toparlak M, Gül Y (1988).** Van ili Belediye Mezbahasında kesilen koyunlarda karaciger trematod enfeksiyonları üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 35 (2-3), 269-274.
- Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E (2012).** A comparison of faecal examination, commercial ELISA kit, and indirect-ELISA methods in the diagnosis of sheep fasciolosis. *Small Rumin Res*, 107, 164- 166.
- Valero MA, Ubeira FM, Khoubbane M et al. (2009).** MM3-ELISA evaluation of coproantigen release and serum antibody production in sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Vet Parasitol*, 159, 77-81.
- Vural A (1970).** Trakya Bölgesi koyunlarındaki helmint invazyonları durumun tespiti ve bunlara karşı etkili kombine bir tedavi sisteminin geliştirilmesi. *Pendik Vet Kont Arst Enst Derg*, 3, 2, 33-55.
- Yavuz A, İnci A, Yıldırım A, İca A, Düzlü Ö (2007).** Sığırlarda *Fasciola hepatica*'nın Yayılışı. *Sağ Bil Derg*, 16, 96-102.
- Yıldırım A, İca A, Düzlü Ö, İnci A (2007).** Prevalence and risk factors associated with *Fasciola hepatica* in cattle from Kayseri province, Turkey. *Revue Med Vet*, 158, 613-617.