

**KAYSERİ-KARPUZSEKİSİ HAVZASINDA YAŞAYAN İNSANLARDA
FASCIOLA HEPATICA PREVALANSI**
**Prevalance of *Fasciola hepatica* Among People Living in
Kayseri-Karpuzsekisi Basin**

İzzet ŞAHİN¹, Süleyman YAZAR², Ozan YAMAN³

Özet : *Fasciola hepatica*, esas olarak koyun, keçi ve sığırları enfekte eden; karaciğerde safra yollarına yerleşerek fascioliosise neden olan bir trematoddur. İnsanlar, *F.hepatica* için tesadüfi konaklırlar. İnsan, kontamine sular veya parazitin metaserker formunun bulunduğu su bitkilerini çiğ olarak tüketerek enfekte olur. Fascioliosis çiftlik hayvanları, insan ve salyangozlarla yakın ilişkili kozmopolit bir hastalıktır. Türkiye, *F.hepatica* için endemik ülkelerden biridir ve Kayseri-Karpuzsekisi bölgesi parazitin yaşaması ve çoğalması için uygun biyo-ekolojik özellikleri taşımaktadır.

Bu çalışmada, Kayseri ili Karpuzsekisi bölgesinde yaşayanlardan alınan serum örneklerinde anti-*Fasciola hepatica* antikorları araştırılmıştır. Bu amaçla; Hanyeri (n=48), Sarı Kürklü (n=68), Dokuzpınar (n=62) ve Karpuzsekisi'nden (n=196) toplam 374 kişide IHA ve ELISA yöntemleriyle anti-*Fasciola hepatica* antikorları araştırılmıştır. Ayrıca bu kişilerden alınan dışkı örnekleri Nativ-Lugol ve sedimentasyon yöntemleriyle incelenmiştir. Düşük dilasyonlarda seropozitiflik saptanan 13 (% 3,48) kişiden alınan dışkı örneklerinin hiç birinde *F.hepatica* yumurtasına rastlanmamıştır. Seropozitiflik saptanan kişiler radyolojik açıdan da değerlendirilmiş ancak patolojik bir durum görülmemiştir. Elde edilen sonuçlar ve diğer çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde; bir bölgede yaşayan insanlarda *F.hepatica* yaygınlığının bölgenin sulak yapısı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Fasciola hepatica*, Kayseri, IHA, ELISA

Summary : *Fasciola hepatica* agent of fascioliosis live in the bile ducts and essentially infects sheep, goat and cattle. Humans are accidental host for *F.hepatica*. Humans are infected by contaminated water or ingestion of uncooked aquatic vegetation on which metacercariae are encysted. Fascioliosis is a cosmopolitan disease found where is close association of livestock, humans and snail. Fascioliosis is an endemic disease in Turkey and Kayseri-Karpuzsekisi region has suitable bio-ecological properties for establishment and reproduction of *F.hepatica*.

In this study, anti- *Fasciola hepatica* antibodies were investigated in serum specimens collected from inhabitant live in Karpuzsekisi region. Serum specimens collected from Hanyeri (n=48), Sarı Kürklü (n=68), Dokuzpınar (n=62) and Karpuzsekisi (n=196) totally 374 were examined with IHA and ELISA tests. In addition, stool specimens taken from these persons were examined with Native-Lugol and sedimentation methods. With IHA and ELISA methods, totally 13 (% 3,48) persons were seropositive with low level dilutions, although eggs cannot be demonstrated any individuals with stool examination. In addition to these methods, 13 persons were examined with radiological methods but any pathological situations were found.

When the results that we found and others are assessed altogether we could easily conclude that there is a positive relationship with the *F.hepatica* incidence and marshy regions.

Key words: *Fasciola hepatica*, Kayseri, IHA, ELISA

¹ Prof.Dr. Erciyes Ün.Tıp Fak. Parazitoloji AD, Kayseri

² Doç.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak. Parazitoloji AD, Kayseri

³ Uzm.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak. Parazitoloji AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 08.05.2008 Kabul Tarihi : 24.07.2008

***Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından
TA-03-8 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bu çalışma 18-23 Kasım 2007 tarihleri arasında 15.Ulusal Parazitoloji Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Fasciola hepatica, halk arasında “karaciğer kelebek hastalığı” olarak bilinen fascioliosisin etkeni olan bir trematoddur. Başta koyun, keçi, sığır, manda gibi ruminantlar olmak üzere tek tırnaklılar, domuz, tavşan, köpek ve kedileri enfekte eden parazit, insanlarda da görülmektedir. Erişkin parazit; geniş, yassı, kahverengimsi, yaprak görünümünde ve yaklaşık 2.5 x 1 cm boyutundadır. Enfekte hayvanların dışkıları ile atılan büyük (140 x 75 µm), oval, kahverengi-sarı renkli ve kapaklı yumurtalar suda açılarak içlerinden kirpikli mirasidyumlar çıkarlar. Mirasidyumlar gelişimini devam ettirebilmek için ara konak görevi yapan tatlı su salyangozlarına girmek zorundadırlar. Sporokist ve redia dönemlerini takiben oluşan serkerler salyangozu terk ederek suda bulunan su teresi gibi otlarda ankiste olurlar. İnsanlar, üzerinde metaserker adı verilen ankiste enfektif dönemleri ihtiva eden otları çiğ olarak yiyerek enfekte olurlar. Metaserkerler duodenumda kistten çıkıp barsak duvarından geçerek periton boşluğuna ulaşırlar. Larva kapsülünden penetre olarak karaciğere varır ve 9 hafta kadar karaciğer parankimasında dolaşırlar. Sonunda larvalar safra kanallarına girerler, burada erişkin hale geçerler, yumurta oluştururlar ve yumurtalar dışkı ile dışarı atılırlar (1,2).

Kozmopolit bir dağılım gösteren ve asıl olarak geviş getiren hayvanlarda bulunan ve hastalığa yol açan parazit, tüm dünyada her yıl 2 milyon dolarından fazla ekonomik zarara neden olmakta ve zoonoz olan bu hastalık yaklaşık 2,4 milyon insanı etkilemektedir (3). İnsan fascioliosisinin önceleri dünyanın çok özel lokaliteleri ile sınırlı bir yerleşim ve dağılım gösterdiği, bu nedenle önemli bir sağlık sorunu oluşturmayacağı düşüncesiyle üzerinde fazla durulmamıştır. Bununla birlikte son zamanlarda birçok ülkeden artan sayıda insan vakaları bildirilmektedir (4). Hastalığın bir bölgede insanlarda yüksek prevalansa sahip olması ile o bölgede veteriner hekimlikle ilgili hastalıklar yönünden problem olması arasında kesin bir bağlantı bulunmamaktadır (5). Dünyada birkaç milyon insanın parazit ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir.

F. hepatica her yaştaki insanda enfeksiyon oluşturabilse de, hastalığın insan açısından endemik olduğu bölgelerde en çok etkilenenlerin çocuklar olduğu bilinmektedir (6).

Fasciola hepatica enfeksiyonunda birbirinden tamamen farklı semptomların gözleendiği iki dönem görülmektedir. Hastalığın hepatik (akut) dönemi parazitin karaciğere girip ve karaciğer parankiminden safra kanallarına göçü esnasında ortaya çıkar. Bu dönem metaserkerlerin alınmasından 1-3 ay sonra başlar ve ateş, ürtiker, sağ hipokondriumda ağrı, hepatomegali, hipergamaglobulinemi ve belirgin eozinofili görülür. Ayrıca orta şiddette hepatit, subkapsüler hemoraji ve hepatik nekrozis de ortaya çıkabilir. Özellikle mutlak eozinofili, ateş ve sağ üst kadran ağrısı semptomlarının varlığı *F. hepatica* enfeksiyonunu akla getirmelidir. Hastalığın biliyer (kronik) döneminde ise bazen kolanjit veya kolestazın da eşlik ettiği devamlı veya aralıklı sağ üst kadran ağrısı görülmektedir. Eozinofili bu dönemde de sapta-nabilmektedir (1,7).

Dışkı örneklerinde *F. hepatica* yumurtalarının araştırılması ve serolojik yöntemler hastalığın tanısında kullanılmaktadır. Dışkıda parazit yumurtası aranması fascioliosis tanısında sıklıkla güvenilir olmamaktadır. Çünkü yumurtaların dışkıda görülmesi, parazitin safra kanallarına geçip erişkin hale gelmesinden sonra (parazitin alınmasından yaklaşık 12 hafta sonra) mümkün olmakta, klinik bulguların bir kısmı ise çok daha önce ortaya çıkmaktadır. Ayrıca yumurtaların parazit tarafından safra kanallarına atılımı aralıklı olmasından dolayı tanının doğruluğunu artırmak için birbirini izleyen günlerde en az iki dışkı örneğinin incelenmesi gerekmektedir (4,8). Bu yüzden immunofluorescent assay (IFA), indirekt hemaglutinasyon (IHA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ve dot-ELISA gibi çeşitli serolojik yöntemler insan fascioliosisinin tanısında kullanılmaya başlamıştır. IFA, IHA ve ELISA hastalığın tanısında oldukça sensitif ve spesifik (8). Özellikle ultrasonografi (US) ve bilgisayarlı tomografi (BT) gibi radyolojik yöntemler de hastalığın tanısında kullanılmaktadır. US ve BT

tanıda birbirini tamamlamaktadır. US hastalığın hepatik döneminde negatif olabilir ancak parazit safra kanalına geçtikten sonra hareketinin görüntülenmesinde faydalıdır (9).

Bu çalışma, Kayseri-Karpuzsekisi Havzası'nda yaşayan insanlarda *F.hepatica* seroprevalansının araştırılması amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, Kayseri-Karpuzsekisi Havzası'nda bulunan köylere gidilerek yöre sakinlerine çalışmanın amacı ve yöntemi anlatılmış, gönüllü katılımcılara bir anket formu doldurularak kan ve dışkı örnekleri alınmıştır. Çalışmalar etik kurallara uygun olarak yürütülmüştür. Çalışmaya alınan kişilerden yaklaşık 5 ml. venöz kan alınıp laboratuvarımızda 3000 devir/dak. da santrifüj edilerek ayrılan serumlar çalışılncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Alınan dışkı örnekleri laboratuvarımızda kopro-parazitolojik yöntemlerden Nativ-Lugol ve Sedimentasyon yöntemleri uygulanarak, mikroskopta X20 ve X40 büyütmede incelenmiştir. Şüpheli sero-pozitif bulunan kişilerin dışkı örnekleri tekrar alınarak parazit yumurtası araştırılmış, ayrıca bu kişiler US ile incelenerek olası erişkin parazit varlığı araştırılmıştır. Tüm serum örneklerinde *F.hepatica*'ya spesifik antikorların varlığını araştırmak amacıyla, IHA ve ELISA yöntemleri kullanılmıştır. IHA yöntemi, ticari kit (Distomatose, Fumouze Laboratoires, France) test prosedürüne uygun olarak çalışılmıştır. ELISA yönteminde ise, mezbahada yeni kesilmiş enfekte sığır karaciğerlerinden safra kanallarındaki erişkin *F.hepatica*'lar canlı olarak çıkarılmış, bu şekilde elde edilen ES (Ekskretor-Sekretör) antijeni ve erişkin antijeni ile ELISA plakları kaplanmıştır. Bloking işleminin ardından test edilecek serum örnekleri 1/100 oranında PBS-T (Phosphate Buffered Saline - Tween 20) ile sulandırılarak her test örneği için 2 çukur olmak üzere her çukura 100 ml olacak şekilde konulmuştur. Serum sulandırılmılarından sonra plak 37°C'de 60 dakika inkübasyon için bekletilmiş ve bu sürenin bitiminde çukurlardaki serum

sulandırılmaları PBS-T solüsyonu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra çukurlara daha önce 1/7500 sulandırımında çalıştığı belirlenen konjuge, PBS-T ile sulandırımı yapıldıktan sonra her çukura 100 ml olacak şekilde konmuş ve plaklar yine 37°C'lik etüvde 60 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda çukurlardaki konjuge, PBS-T solüsyonu kullanılarak 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra çukurlara, dietanolamin tampon (pH 9.8) solüsyonuna 1/1000 oranında para-nitrofenilfosfat konulmasıyla taze olarak hazırlanan solüsyondan 100 ml ilave edilerek; plaklar 30 dakika karanlıkta oda ısısında bekletilmiş ve çukurlardaki renk değişimi ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okutulularak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Kayseri-Karpuzsekisi havzasında bulunan Karpuzsekisi, Dokuzpınar, Hanyeri, Sarı Kürklü köylerinde yaşayan yaşları 1 ile 90 arasında değişen, 146 (%39)'sı erkek, 228 (%61)'i kadın, toplam 374 kişi ile yürütülen çalışmada toplanan serumlarda IHA ve ELISA yöntemleri ile anti-*Fasciola hepatica* antikorları araştırıldığında; serum örneklerinin 11 (%2.97)'inde IHA ve ELISA yöntemlerinin her ikisi birden şüpheli sınırlarda pozitif iken, iki serum örneğinde sadece ELISA ile şüpheli sınırlarda pozitif sonuç elde edilmiştir. Serum örneklerinin serolojik incelemesinde pozitif çıkan 13 (%3,48) kişinin dışkı örnekleri tekrar alınarak incelendiğinde parazit yumurtasına rastlanmamıştır (Tablo I).

Şüpheli sınırlarda seropozitif olup da dışkılarında yumurta saptanmayan kişilerle aralıklı olarak görüşülmüş ve dışkı takipleri önceki yöntemlerle tarifi-mizden yapılmış fakat bu tetkiklerde de parazite rastlanmamıştır. Ayrıca, çalışma grubunda değişik parametrelere göre seropozitiflik durumu araştırıldığında elde edilen sonuçlar Tablo II'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede; cinsiyet, su teresi yeme, diğer yeşillikleri yeme ve kişilerde alerjik şikayetlerin varlığı ile parazit görülmesi arasındaki ilişki araştırılmış fakat anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır (p<0.05).

Tablo I. Yerleşim bölgelerine göre IHA ve ELISA pozitif olgu sayıları

Yerleşim Bölgesi	Nüfus	Çalışmaya alınan olgu n (%)	IHA pozitif olgu n (%)	ELISA pozitif olgu n (%)
Karpuzsekisi	654	196 (%30,0)	5 (%2,6)	6 (%3,1)
Dokuzpınar	280	62 (22,1)	6 (%9,7)	7 (%11,3)
Hanyeri	101	48 (%47,5)	0(0,0)	0(0,0)
Sarı Kürklü	75	68 (%90,7)	0(0,0)	0(0,0)
Toplam	1110	374 (33,7)	11 (%2,9)	13 (%3,5)

Tablo II. Çalışma grubundaki değişik parametrelere göre seropozitiflik durumu

	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam n (%)	p değerleri
Cinsiyet				
Erkek	2 (%1,4)	144 (%98,6)	146 (%100,0)	0.150
Kadın	9 (%4,0)	219 (%96,0)	228 (%100,0)	
Su Teresi Yeme				
Evet	3 (%1,5)	202 (%98,5)	205 (%100,0)	0.062
Hayır	8 (%4,7)	161 (%95,3)	169 (%100,0)	
Diğer Yeşillik Yeme				
Evet	10 (%2,9)	333 (%97,1)	343 (%100,0)	0.922
Hayır	1 (%3,2)	30 (%96,8)	31 (%100,0)	
Allerjik Şikayet				
Evet	4 (%3,9)	98 (%96,1)	102 (%100,0)	0.492
Hayır	7 (%2,6)	265 (%97,4)	272 (%100,0)	

TARTIŞMA

İnsanda fascioliosis sık görülmediği için önceleri önemsiz bir enfeksiyon olarak değerlendirilmekteydi. Fakat son yıllarda yeni tanı yöntemlerinin gelişmesi ve patogenezi hakkında daha fazla bilgi edinilmesiyle insan fascioliosisi artık sadece sekonder bir zoonoz olarak değil, önemli bir insan paraziter hastalığı olarak değerlendirilmektedir (10,11).

İnsan fascioliosis vakaları sıklıkla Latin Amerika ülkeleri, Hindistan, Mısır'da Nil Deltası ve bazı Batı Avrupa ülkelerinden (Portekiz, Fransa ve İspanya) bildirilmektedir. Asya ülkelerinden son 25 yılda başta İran olmak üzere Çin ve Vietnam'dan, daha az miktarlarda ise Türkiye, Japonya, Kore, Yemen, İsrail, Suudi Arabistan'dan insan vakaları bildirilmiştir (12). Esteban ve arkadaşları (13) son 25 yıl içinde; Afrika'dan 486, Amerika'dan 3.267, Asya'dan 354, Avrupa'dan 2.951 ve Okyanusya'-

dan 12 olmak üzere 51 ülkeden toplam 7.071 insan vakası bildirildiğini yayınlamışlardır. Bu enfeksiyon Peru başta olmak üzere hastalığın endemik olduğu Şili, Bolivya ve Ekvator gibi ülkelerde halk sağlığı problemi olarak değerlendirilmektedir (14).

Peru'da fascioliosis insan ve hayvanlarda başta Andean bölgesi olmak üzere birçok bölgede endemiktir. Koprolojik incelemeler ile elde edilen en yüksek prevalanslar; Santa Ana'da %34,2, Asillo Puno'da %15,7, Cajamarca'da %8 olarak, serolojik testlerle ise Jun'in'de %36,3 olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda vakaların büyük oranda 5–15 yaş arası okul çocukları olduğu vurgulanmıştır (15).

Trueba ve arkadaşları (16) Ekvator'un farklı dağlık bölgelerinde yaptıkları bir çalışmada bu bölgelerdeki 20 koyunun dışkı örneklerini incelemişler ve bir bölgede koyunların tamamında, diğer bölgelerde ise %40–60 oranında *F.hepatica* yumurtası saptamışlardır. Araştırmacılar ayrıca aynı bölgelerde yaşayan 150 insandan aldıkları serum örneklerinde ELISA ile anti-*F.hepatica* antikorları araştırmışlar ve 9'unda (%6) seropozitiflik saptamışlar, bunların biri hariç diğerlerinin 9–12 yaş grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Seropozitifliğin bu yaş grubunda fazla bulunması çocukların metaserker ile kontamine suları içmelerine ve koyun sürülerinin otladığı alanların çevresindeki sebzeleri yemelerine bağlanmıştır. ELISA pozitif 4 kişiden aldıkları dışkı örneklerini formol-eter yöntemiyle incelemişler ve 2'sinde *F.hepatica* yumurtası bulmuşlardır. ELISA pozitif kişilerin dışkı örneklerinde *F.hepatica* yumurtalarının düşük oranda bulunmasını parazitolojik incelemelerin düşük sensitivitesine veya serolojik testlerin schistosomiosis gibi diğer trematod enfeksiyonlarına bağlı çapraz reaksiyon vermesi olasılığına bağlamışlardır. ELISA pozitif vakaların çoğunun (%80) abdominal ağrıdan yakındıklarını, eozinofil sayılarının ise ELISA negatif kişilere göre belirgin farklılık göstermediğini vurgulamışlardır. Çoğu hasta sebzeleri çiğ olarak tükettiklerini iddia ederken, su teresi tüketimiyle ELISA pozitifliği arasında bir ilişki kurulamadığını bildirmişlerdir (16).

Demirci ve arkadaşları (17) 2000 yılında Isparta bölgesindeki 756 eozinofilili hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada ELISA ile %6,1 seropozitiflik bulmuşlardır. Turhan (18), Antalya ve Göller Bölgesi'nde yer alan 10 köyde 597 kişi üzerinde yaptıkları seroepidemiolojik çalışma ile %3,01 seropozitiflik bildirmişlerdir. Yılmaz ve Gödekmerdan (19), Van-Erciş'de yaşayan 500 asemptomatik kişinin dışkı örneklerini incelemişler ve bunların %1,8'inde *F.hepatica* yumurtası bulmuşlardır. Kaplan ve arkadaşları (20) Elazığ yöresinde *F.hepatica* seropozitifliği araştırmış ve %2,78 pozitiflik bildirmişlerdir. Kaya ve arkadaşları (21) Isparta ve kırsalında toplam 586 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada %4,4 pozitiflik saptamışlar ve Türkiye'nin diğer bölgelerinde daha önce yapılan çalışmalara göre daha yüksek bulunan pozitifliği bölgede artan gölet ve sulama kanallarına ve su teresi ve benzer bitkilerin insanlar tarafından sıklıkla yeniyor olmasına bağlamışlardır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre bölgede yaşayan insanlardaki seropozitiflik (%3,48) olup; bu değer Turhan (18), Yılmaz ve Gödekmerdan (19), Kaplan ve arkadaşlarının (20) sonuçlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun bölgenin sulak yapısı, daha önce yaptığımız bir araştırmada (22) bölgede *F.hepatica*'ya ara konaklık yapan yumuşakça türlerinin bulunduğu saptanması, bölgedeki insanların su teresi tüketmeleri ve ayrıca söz konusu bölgede yetiştirilip kesilen hayvanlarda parazite sık rastlanması ile bağlantılı olduğu düşünülmüştür. Sunulan çalışmada belirtilen %3,48'lik seropozitifliğin Demirci ve arkadaşlarının (17) belirledikleri %6,1'lik değerden düşük olmasının ise, %6,1'lik seropozitiflik belirlenen grubun yörede yaşayan insanlar arasındaki eozinofilili hastalardan oluşmasına karşın, bizim çalışmamızda araştırma grubu oluşturulurken böyle bir ayrımın yapılmaması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmada elde edilen %3,48'lik seropozitiflik, diğer çalışmaların (17-21) sonuçları ile kıyaslandığında; bölgede yaşayan insanlarda *Fasciola hepatica* yaygınlığının bölgenin sulak yapısı ve bölge insanının su teresi ya da diğer bazı yeşil sebzeleri çiğ tüketmesi ile ilişkili olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Aksoy DY, Kerimoglu U, Oto A, et al. Infection with *Fasciola hepatica*. *Clin Microbiol Infect* 2005, 11(11):859-61.
2. Özcel MA. *Tıbbi Parazit Hastalıkları*. Meta Basım İzmir 2007, ss 499-518.
3. McManus DP, Dalton JP. Vaccines against the zoonotic trematodes *Schistosoma japonicum*, *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. *Parasitology* 2006, 133 Suppl:S43-61.
4. O'Neill SM, Parkinson M, Strauss W, Angles R, Dalton JP. Immunodiagnosis of *Fasciola hepatica* infection (fascioliasis) in a human population in the Bolivian Altiplano using purified cathepsin L cysteine proteinase. *Am J Trop Med Hyg* 1998, 58(4): 417-423.
5. Esteban JG, González C, Bargues MD, Angles R, Sánchez C, Náquira C, Mas-Coma S. High fascioliasis infection in children linked to a man-made irrigation zone in Peru, 2002, 7 (4):339-348.
6. Mas-Coma S, Bargues MD, Marty AM & Neafie RC. Hepatic Trematodiasis. In: Meyers WM, Neafie RC, Marty AM & Wear DJ (eds) *Pathology of Infectious Diseases, Vol. 1. Helminthiasis*. Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washington DC 2000 pp 69-92.
7. Hughes DL. Trematodes, excluding schistosomes with special emphasis on fasciola. *Curr Top Microbiol Immunol* 1985, 120: 241-260.
8. Dalimi A, Hadighi R, Madani R. Partially purified fraction (PPF) antigen from adult *Fasciola gigantica* for the serodiagnosis of human fascioliasis using Dot-ELISA technique. *Ann Saudi Med* 2004, 24(1): 18-20.
9. Kabaalioğlu A, Çubuk M, Şenol U, et al. Fascioliasis: US, CT, and MRI findings with new observations. *Abdom Imaging* 2000, 25: 400-404.
10. Kaya S, Demirci M, Demirel R, Aridogan B, Ozturk M, Korkmaz M. Seroprevalence of fasciolosis between rural area and city center in Isparta, Turkey. *Saudi Med J* 2006, 27 (8) :1152-1155.
11. Mas-Coma MS, Esteban JG, Bargues MD. Epidemiology of human fascioliasis : a review and proposed new classification *Bulletin of the World Health Organization*. *Int J Public Health* 1999, 77(4): 340-346.
12. Moghaddam AS, Massoud J, Mahmoodi M et al. Human and animal fascioliasis in Mazandaran province, northern Iran. *Parasitol Res* 2004, 94(1):61-9.
13. Esteban JG, Bargues MD, Mas-Coma S. Geographical distribution, diagnosis and treatment of human fascioliasis: a review. *Res Review Parasitol* 1998, 58: 13-48.
14. Cordova M, Reategui L and Espinoza JR. Immunodiagnosis of human fascioliasis with *Fasciola hepatica* cysteine proteinases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999, 93(1): 54-57.
15. Marcos L, Maco V, Samalvides F, Terashima A, Espinoza JR, Gotuzzo E. Risk factors for *Fasciola hepatica* infection in children: a case-control study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006, 100(2): 158-166.
16. Trueba G, Guerrero T, Fornasini M, Casariego I, Zapata S, Ontaneda S, and Vasco L. Detection of *Fasciola hepatica* Infection in a Community Located In The Ecuadorian Andes. *Am J Trop Med Hyg* 2000, 62(4): 518.
17. Demirci M, Korkmaz M, Kaya S, Kuman A. Fascioliasis in eosinophilic patients in Isparta region of Turkey. *Infection* 2003, 31: 15-18 .
18. Turhan OA. *Antalya Yöresinde Fasciola Hepatica Seroepidemiolojisi*. (Uzmanlık Tezi). Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya 2002.
19. Yılmaz H, Gödekmerdan A. Human fasciolosis in Van province, Turkey. *Acta Tropica* 2004, 92(2): 161-162.

20. Kaplan M, Kuk S, Kalkan A, Demirdag K, Ozdarendeli A. *Fasciola hepatica* seroprevalence in Elazig Region. *Mikrobiyoloji Bul* 2002, 36:337-342.
21. Kaya S, Demirci M, Demirel R, Aridogan B, Ozturk M, Korkmaz M. Seroprevalence of fasciolosis between rural area and city center in Isparta, Turkey. *Saudi Med J* 2006, 27(8): 1152-1155.
22. Akman MAA, Yazar S, Sahin I, Yıldırım Z. Kayseri Karpuzsekisi Havzasında Tatlı Su Gastropodlarının Araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2005, 14(1): 1-5.