

Elazığ, Malatya ve Tunceli İllerinde *Theileria annulata*'nın Seroprevalansı*

Münir AKTAŞ, Murat SEVGİLİ, Nazir DUMANLI

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji ABD, Elazığ - TÜRKİYE

Zafer KARAER, Ayşe ÇAKMAK

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Protozooloji ve Entomoloji Bilim dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 03.02.2000

Özet : Bu çalışma, Mayıs 1997 - Mart 1998 tarihlerinde Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde Tropikal theileriosis'e karşı aşı yapılmamış sığırlarda *Theileria annulata*'nın seroprevalansını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Elazığ merkez ve ilçelerinden 285, Malatya merkez ve ilçelerinden 292 ve Tunceli'nin ilçelerinden 164 olmak üzere, değişik yaş ve ırktan toplam 741 sığırdan kan alınarak serum elde edilmiş ve bu serumlarda İndirek Floresan Antikor (İFA) testi ile *T.annulata*'ya karşı şekillenen antikorlar aranmıştır. Aynı zamanda sığırların kuyruk ucundan yayma frotiler hazırlanmış ve bu frotiler mikroskopik muayene ile *T.annulata*'nın piroplasm formları yönünden incelenmiştir.

Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde İFA testi ve kan frotisi bakışı ile muayene edilen sığırların sırası ile %42,8, %17,1 ve %34,8'i seropozitif; %7, %5,5 ve %3'ünün piroplasm taşıyıcısı olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Theileria annulata, İFA, Sığır

Seroprevalance of *Theileria annulata* in Elazığ, Malatya and Tunceli Provinces

Abstract : This study was carried out to determine the seroprevalance of *Theileria annulata* in non-vaccinated cattle in Elazığ, Malatya and Tunceli provinces between May 1997 and March 1998.

Serum samples were collected from a total of 741 cattle in Elazığ, Malatya, Tunceli and vicinities. Serum antibodies against *T. annulata* were investigated by the Indirect Fluorescence Antibody (IFA) test. In addition, peripheral blood smears were prepared and examined under the microscope.

The seroprevalance of *Theileria annulata* in Elazığ, Malatya and Tunceli provinces was 42.8%, 17.1% and 34.8%; piroplasm forms of *Theileria annulata* in these animals were 7%, 5.5% and 3%, respectively.

Key Words: Theileria annulata, IFA, Cattle

Giriş

Tropikal theileriosis *T.annulata*'nın (Dschunkowsky ve Lush, 1904) sebep olduğu sığırların protozoer bir hastalığıdır (1-3). Hastalık etkeni *Hyalomma* soyuna bağlı kene türleri tarafından transtadial (safhadan safhaya) nakledilir (4-6).

Akut theileriosisin teşhisi klinik bulgular, kan ve lenf yumrusu frotilerinin mikroskopik muayenesi ile yapılırken (3,7), son yıllarda özellikle latent enfeksiyonların saptanmasında serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (8-14).

İndirek Floresan Antikor (İFA) testi ile tropikal theileriosisin prevalansını belirlemeye yönelik seroepidemiolojik çalışmada Hindistan'da %30-60 (15), İspanya'da %40 ve %70 (16,17) oranlarında seropozitiflik tespit edilmiştir. Türkiye'nin değişik bölgelerinde tropikal theileriosisin yaygınlığını belirlemeye yönelik İFA testi ile yapılan çalışmalarda %10 ile %91,4 oranlarında seropozitiflik tespit edilmiş (18-23), kan frotilerinin mikroskopik bakısına dayalı çalışmalarda ise %2,3 ile %43,9 oranlarında *T.annulata*'nın piroplasm formlarına rastlanmıştır (24-31).

* Bu araştırma Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü (Elazığ) tarafından dekteklenmiştir (TAGEM-HS-97-09-04-020).

Bu çalışma ile Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde aşılınmamış sığırlarda *Theileria annulata*'nın prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırma Mayıs 1997-Mart 1998 tarihlerinde Elazığ, Malatya ve Tunceli yörelerinde değişik ırk ve yaşta sığırlar üzerinde yapılmıştır. Bu illerden sırası ile 285, 292 ve 164 olmak üzere toplam 741 sığırdan, hastalık mevsimi olan Mayıs-Eylül aylarında bir defa kan alınarak serum elde edilmiş, bu serumlar İFA testi ile inceleninceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Aynı zamanda sığırların kuyruk ucundan alınan kandan yayma frotiler hazırlanarak metanol ile tespit edildikten sonra %5'lik Giemsa boyası ile boyanmış ve *T.annulata*'nın piropiasm formları yönünden mikroskobta incelenmiştir.

İndirek floresan antikor (İFA) testi için gerekli olan *T.annulata* piropiasm ve şizont antijenleri, negatif ve pozitif kontrol serumları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji laboratuvarında hazırlanmıştır. İFA testinde kullanılan konjugatın (SIGMA, Anti-bovine IgG, FITC Conjugate, Cat. No. F-7509) en iyi floresan veren sulandırma basamağı Schachbrett-titrasyon testi ile belirlenmiştir (32-34).

Testin değerlendirilmesinde *T.annulata* piropiasm antijenleri için 1:20 ve üstü, şizont antijenleri için 1:40 ve üstü titreler temel titre olarak kabul edilmiş, bu titrelerin altındaki titreler negatif olarak değerlendirilmiştir.

Yaş grupları sığırların hastalık sezonu geçirip geçirmediklerine göre belirlenmiş ve hastalık sezonu geçirmeyen, bir hastalık sezonu geçiren ve birden fazla hastalık sezonu geçirenler olmak üzere üç gruba ayrılmışlardır.

Oranlar arasındaki farklılıkları değerlendirmek için Fischer exact testi kullanılmış ve % 5 (0,05) düzeyindeki bir farklılık istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Bu testler Epi Info istatistik programı (35) ile yapılmıştır.

Bulgular

Materyal alınan illerde İFA testi ile *T.annulata*'ya karşı elde edilen pozitiflik durumu ile mikroskobik bakı sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'den izleneceği gibi İFA testi ile muayene edilen sığırların Elazığ'da %42,8'i, Malatya'da %17,1'i ve

Tablo 1. Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde serolojik ve mikroskobik muayene sonuçları.

İller	Sığır sayısı	Serolojik bakı (İFA)		Mikroskobik bakı	
		Seropozitif sığır sayısı	%	Müspet sığır sayısı	%
Elazığ	285	122	42,8	20	7,0
Malatya	292	50	17,1	16	5,5
Tunceli	164	57	34,8	5	3,0
Toplam	741	229	30,9	41	5,5

Tunceli'de %34,8'i seropozitif bulunmuş, kan frotisi bakışı ile aynı sığırlar sırası ile %7,0, %5,5 ve %3,0 piropiasm taşıyıcısı olarak tespit edilmiştir. Serolojik ve mikroskobik muayene sonuçları pozitiflik yönünden karşılaştırılmış ve ortaya çıkan farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($P<0,001$).

İFA testi ile kan serumları incelenen 741 sığırın seropozitiflik durumu ile mikroskobik bakı sonuçlarının yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Yaş gruplarına göre serolojik ve mikroskobik muayene sonuçları.

Yaş Grupları	Sığır sayısı	Serolojik bakı (İFA)		Mikroskobik bakı	
		Seropozitif sığır sayısı	%	Müspet sığır sayısı	%
1*	166	29	17,5	9	5,4
2**	226	70	31,0	13	5,8
3***	349	130	37,2	19	5,4
Toplam	741	229	30,9	41	5,5

*: Hastalık sezonu geçirmemiş, **: Bir hastalık sezonu geçirmiş,

***: Birden fazla hastalık sezonu geçirmiş

Tablo 2'den anlaşılacağı gibi hastalık sezonu geçirmemiş 166 dananın 29'u (%17,5), bir hastalık sezonu geçirmiş 226 sığırın 70'i (%31,0) ve birden fazla hastalık sezonu geçirmiş 349 sığırın 130'u (%37,2) seropozitif bulunmuş, aynı yaş gruplarında bulunan hayvanların mikroskobik bakısında ise sırasıyla 9 (%5,4), 13 (%5,8) ve 19 (%5,4) sığırın piropiasm taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Birinci grup ile ikinci ve üçüncü

gruplar arasında seropozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak çok önemli bulunmuş ($P<0,001$), buna karşılık ikinci ve üçüncü gruplar arasındaki farkın ise önemsiz olduğu görülmüştür ($P>0,05$). Gruplar arasında piroplasm taşıyıcılığı yönünden yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı ortaya çıkmıştır ($P>0,05$).

Siğir ırklarına göre serolojik ve mikroskopik muayene sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Siğir ırklarına göre serolojik ve mikroskopik muayene sonuçları.

İller	Siğir sayısı	Serolojik bakı (İFA)		Mikroskopik bakı	
		Seropozitif siğir sayısı	%	Müspet siğir sayısı	%
Yerli	209	88	42,1	22	10,5
Melez	135	53	39,3	12	8,9
Kültür	397	88	22,2	7	1,8
Toplam	741	229	30,9	41	5,5

Tablo 3'de görüldüğü gibi yerli 209 siğirin 88'i (%42,1), melez 135 siğirin 53'ü (39,3) ve kültür ırkı 397 siğirin 88'i (%22,2) seropozitif bulunmuştur. Mikroskopik muayenede aynı siğirlerin sırası ile 22 (%10,5), 12 (%8,9) ve 7'sinin (%1,8) piroplasm taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Hem seropozitiflik hemde piroplasm taşıyıcılığı yönünden yerli ırklar ile melez ırklar arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken ($P>0,05$), yerli ve melez ırklar ile kültür ırkları arasındaki farkın istatistiksel yönden önemli olduğu ($P<0,05$) ortaya çıkmıştır.

Tartışma

Tropikal theileriosisin yaygınlığı uzun yıllar kan ve lenf frotilerinin mikroskopik bakısı ile belirlenmiş, klinik enfeksiyonlar ise semptomlara ve yukarıdaki laboratuvar muayene sonuçlarına göre teşhis edilmiştir. Son yıllarda özellikle subklinik enfeksiyonların teşhisinde serolojik yöntemler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (8,10,11,14).

Fas'in Doukkala bölgesinde mikroskopik muayenede *T.annulata*'nın piroplasm prevalansı %48,5 bulunmuştur

(37). Hindistan'da yapılan bir çalışmada mikroskopik olarak incelenen kan frotilerinin %14,9'unda *T.annulata*'nın piroplasm formlarına rastlanmış, aynı siğirlerin serolojik yoklamalarında %30-60 arasında değişen oranlarda pozitiflik bulunduğu bildirilmiştir (15). İspanya'da tropikal theileriosisin seroprevalansını belirlemeye yönelik araştırmaların birinde %40 (16), diğerinde %70 (17) oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. Bu çalışmada Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde toplam 741 siğir serumu İFA testi ile *T.annulata*'ya karşı şekillenen antikorlar yönünden incelenmiş ve %30,9 oranında pozitiflik saptanmıştır. Bu sonuç Hindistan'da yapılan çalışmadaki oranların sınırları içinde (15), İspanya'da Sanchez ve ark. (17) tarafından yapılan çalışmanın sonucundan düşük, diğer çalışmanın (16) sonucuna yakındır. Yine bu çalışmada mikroskopik muayenede siğirlerin %5,5'inin piroplasm taşıdığı belirlenmiş olup, bu sonuç, Fas'ta yapılan çalışmanın (37) sonucundan (%48,5) çok düşük olmuştur.

Türkiye'de tropikal theileriosisin yaygınlığını belirlemeye yönelik çalışmalar uzun yıllar lenf ve perifer kan frotilerinin mikroskopik bakısı ile, klinik bulgulara göre yapılmıştır. Son yıllarda ise özellikle subklinik enfeksiyonların belirlenmesinde serolojik testlerden yararlanılmıştır (18-23). İndirek Floresan Antikor testi ile yapılan çalışmalarda, Elazığ, Adana ve Bursa illerinde (18) sırası ile %41,%14 ve %10; Adana'da (19) %10,7;Ege bölgesinde %40, Karadeniz bölgesinde %46,8, İç Anadolu bölgesinde %29, Marmara bölgesinde %33,3 ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde %91,4 (20); Elazığ'da (21) %27,5; Ankara ve civarında (22) %16,7, Kayseri'de (23) aşı yapılan siğirlerde %92,7, aşı yapılmayan siğirlerde %33,5 oranında *T. annulata* 'ya karşı seropozitiflik tespit edilmiştir. Aynı yöntemle yapılan bu çalışmada Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sırası ile %42,8, %17,1 ve %34,8 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Gerek bu çalışma ve gerekse diğer çalışmalardan, değişik bölgelerde pozitiflik oranlarının farklılık gösterdiği ortaya çıkmıştır. Yine bu çalışma ile Elazığ bölgesinde elde edilen %42,8'lik sonucun, aynı bölgede daha önce Sayın ve ark. (18) tarafından yapılan çalışmanın sonucu (%41) ile benzerlik arzettiği görülmüştür. Buna karşılık aynı yörede Aktaş (21) tarafından yapılan çalışmanın sonucundan (%27,5) daha yüksek olmuş, bu farklılığın daha önceki çalışmanın (21) hastalık mevsiminden önce kan alınan

siğirilerde yapılmış olmasından kaynaklandığı kanısına varılmıştır.

Kan frotilerinin mikroskopik bakısına göre siğirilerde *T.annulata*'nın Ankara ve civarında %43,9 (25); Ege bölgesinde %43,2 (26); İstanbul ili ve çevresinde %20,7 (27); Elazığ bölgesinde %2,3 (28); Orta Anadolu'da %17,8 (29); Malatya ve bazı Güneydoğu Anadolu illerinde (31) %26 ile %32 oranları arasında; Karadeniz bölgesinde Mimioğlu'na göre (24) %22,8, Dinçer ve ark.'na göre (30) %32,8 oranında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde kan frotileri ile muayene edilen siğirilerin sırası ile %7, %5,5 ve %3'ü piroplozom taşıyıcısı olarak saptanmış olup, bu oranlar diğer araştırmaların (24-26,28-30) sonuçlarından düşük, Elazığ bölgesinde Dumanlı ve Özer (28) tarafından yapılan araştırmanın sonucundan

yüksektir. Bu farklılığın araştırmaların farklı zaman ve yerlerde yapılmış olmalarından kaynaklandığı kanısına varılmıştır. Ayrıca bu çalışmalarda elde edilen gerek serolojik ve gerekse mikroskopik muayene sonuçları, bölgeler arasında farklılıklar olsa da tropikal theileriosisin Türkiye'nin hemen her yöresinde yaygın olarak görüldüğünü göstermektedir.

Sonuç olarak, İFA testi ile tropikal theileriosisin seroprevalansının Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sırası ile %42,8, %17,1 ve %34,8 olduğu, seropozitiflik oranının gençlere oranla yaşlılarda ve kültür ırklarına göre yerli ve melez ırklarda daha yüksek bulunduğu ve bu gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önem arzettiği ($P<0,001$), serolojik yoklamalarda tespit edilen latent enfeksiyon oranlarının kan frotileri sonuçlarına göre çok yüksek olduğu ortaya çıkmıştır.

Kaynaklar

1. Barnett, S.F.: *Theileria*. Parasitic Protozoa. Academic Press, INC., New York, 77-113,1977.
2. Uilenberg, G.: *Theileria* Species of Domestic Livestock. Advances in the Control of Theileriosis. Martinus Nijhoff, The Hague, London,5-37,1981.
3. Soulsby, E.J.L.: Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Bailliere Tindall, London, 1986.
4. Robinson, P.M.: *Theileria annulata* and Its Transmission. A Review. Trop. Anim. Health,1982; 14: 3-12.
5. Dumanlı, N.: Elazığ ve Yöresinde *Hyalomma excavatum* (Koch, 1844)'un Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. Doğa Turk Vet. ve Hay. Derg., 1983; 7: 23-31.
6. Gautam, O.P., Dhar, S.: Bovine Tropical Theileriosis -A Review 1. Prevalance, Transmission and Symptoms. Trop. Vet. Anim. Sci. Res.,1983; 1, (1):1-18.
7. Mimioğlu, M., Özcan, C., Keskintepe, H., Ulutaş, M., Güler, S.: Siğir Theileriosisinin Yayılışı ve Tedavisi Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1972; 19 :471-487.
8. Pipano, E., Cahana, M.: Fluorescent Antibody Test for the Serodiagnosis of *Theileria annulata*. J. Parasitol.,1969; 55: 765.
9. Pipano, E.: Immunological Aspects of *Theileria annulata* Infection. Bull. Off. Int. Epiz., 1974; 31, 1-2:139-159.
10. Dhar, S., Gautam, O.P.: *Theileria annulata* Infection of Cattle. 2. Capillary tube agglutination Test for Serodiagnosis. Indian J. Anim. Sci., 1977; 47, (8): 458-462.
11. Fujinaga, T., Minami, T.: Indirect Fluorescent Antibody and Complement Fixation Test in the Diagnosis of Bovine Theileriosis and Babesiosis in Japan. Vet. Parasitol., 1981; 8: 115-126.
12. Kachani,M., Spooner, R.L., Rae, P., Bell-Sakyi, L., Brown, C.G.D.: Stage Specific Responses in *Theileria annulata* Evaluated Using an ELISA. Orientation and Coordination of Research on Tropical Theileriosis. Anand, India, 46, 1991.
13. Kachani, M., Flach, E., Williamson, S., McDonald, F., Shiels, B., Spooner, R. L., Ouhelli, H.: The Use of ELISA in Theileriosis Studies in Morocco. European Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis, Antalya, Turkey, 49-51, 1994.
14. Campbell, J., El-Hasnaoui, M., Ahmet, J., Spooner, R.L.: An Improved Serum Antibody Test for *Theileria annulata*. European Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis, Antalya, Turkey,55-58, 1994.
15. Singh, D.K.: Theileriosis in India. In: Orientation and Coordination of Research on Tropical Theileriosis. Proceedings of the second EEC Workshop, Anand, India, 23-28, 1991.
16. D'Oliveira, C., Van Der Weide, M., Habela, M.A., Jacquet, P., Jongejan, F.: Detection of *Theileria annulata* in Blood Samples of Carrier Cattle by PCR. J. Clin. Microbiol., 1995; 33:2665-2669.
17. Sanchez, J.M., Viseras, J., Adroher, P., Fernandez, G.: Nested Polymerase Chain Reaction for Detection of *Theileria annulata* and Comparison with Conventional Diagnostic Techniques: its Use in Epidemiology Studies. Parasitol Res. 1999; 85:243-245.
18. Sayın, F., Dinçer, Ş., Dumanlı, N., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H., Beyazit, A., Spooner, R.L., Brown, C.G.D.: Epidemiology of Tropical Theileriosis in Turkey. European Union Third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis, Antalya, Turkey, 1-2, 1994.
19. Çakmak, A., Öz, İ.: Adana Yöresi Siğirilerinde Kan Protozoonlarının Serodiagnozu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 1993; 40, (1):70-77.

20. Eren, H., Çakmak, A., Yukarı, B.A.: Türkiye'nin Farklı Coğrafik Bölgelerinde *Theileria annulata*'nın Sero-Prevalansı. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 1995, 42: 57-60.
21. Aktaş, M., Dumanlı, N.: Elazığ Yöresinde Tropikal Theileriosis Karşı Aşılana Sığırlarda Saha Çalışmaları. F.Ü. Sağlık Bil. Derg., 1999; 13 (2) : 79-87.
22. Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Zeybek, H., Dündar, B., Nalbantoğlu, S., Vatansver, Z., Deniz, A ve Çizmeci, Ş.G. Aşılama Sonrası Tropikal Theileriosisin Epidemiyolojisi Üzerinde Çalışmalar. 10. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Ankara, 1997, 110.
23. İnci, A., Çakmak, A., Karaer, Z., Atasever, A., Dinçer, Ş., Sayın, F., İçal, A., Çam, Y.: Kayseri Yöresinde Tropikal Theileriosisin Epidemiyolojisi. 11. Ulusal Parazitoloji Kongresi.Sivas,1999, 161.
24. Mımiöğlu, M.: Samsun, Ordu, Giresun ve Bolu Vilayetlerinde 'Haematuria Vesicalis Bovis'li Sığırlarda Parazitolojik Araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.,1955; 1-2:183-192.
25. Göksu, K.: Ankara ve Cıvanı Sığırlarında Theileriosis Üzerinde Sistemik Araştırmalar. Tez, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. No: 115/60, Yeni Matbaa, Ankara, 1959.
26. Erkut, H.M.: Ege Bölgesinde Sığırlarında Piroplasmosis Durumu ve Tedavide Yeni İlaçlamalar. Bornova Vet. Araş. Enst. Derg., 1967; 8, 16:120-130.
27. Tüzer, E.: İstanbul İli ve Çevresinde Sığırlarda Görülen Babesia, Theileria ve Anaplasma Türleri ve Bunlardan Oluşan Enfeksiyonların Yayılışı Üzerinde Araştırma. İ.Ü. Vet.Fak.Derg., 1982; 8, (1): 97-110.
28. Dumanlı, N., Özer, E.: Elazığ Yöresinde Sığırlarda Görülen Kan Parazitleri ve Yayılışları Üzerinde Araştırmalar. S. Ü. Vet. Fak. Derg. 1987; 3, (1): 159-166.
29. Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Eren, H., Yukarı, B.A., Kirvar, E.: Studies on Tropical Theileriosis in Turkey. Workshop on *Theileria annulata*, Ilrad,Nairobi, Kenya,1990.
30. Dinçer, Ş., Sayın, F., Karaer, Z., Çakmak, A., Friedhoff, K.T., Müller, I., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren,H.: Karadeniz Bölgesi Sığırlarında Bulunan Kan Parazitlerinin Sero-İnsidensi Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak.Derg., 1991; 38 (1-2): 206-226.
31. Özer, E., Erdoğmuş, S.Z., Köroğlu, E.: Malatya ve Güneydoğu Anadolu İllerinde Sığır, Koyun ve Keçilerde Bulunan Kan Parazitleri ve Yayılışları. Doğa-Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 1993; 17:209-215.
32. Beutner, E.H.: Defined Immunofluorescent Staining: Past Progress, Present Status, and Future Prospects for Defined Conjugates. Annals of The New York Academy of Sciences. Published by The New York Academy of Sciences, Vol. 177, 506-526,1971.
33. Storch, W.: Immunfluoreszenz. 1. Auflage, Jena, VEB Gustav, Fisher Verlag, 17-43, 1979.
34. Çakmak, A.: Ankara Yöresinde Bir Sığır Sürüsünde Hemoparazitlerin İnsidensinin Araştırılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.1990; 37 (3): 632-645.
35. Dean, A.G., Dean, J.A., Coulombier, D., Brendel, K.A., Smith, D.C., Burton, A.H., Dicker, R.C., Sullivan, K.M., Fagan, R.F., Amer, T.G.: Epi-Info, Version 6 : A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Center for disease control and prevention, Atlanta, Georgia, U.S.A, 1994.