

## FLORESAN ANTİKOR TEKNİĞİ İLE KOYUNLARDA FASCIOLA GIGANTICA'NIN ERKEN TEŞHİSİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR\*

Recep Tınar\*\*

### Recherches sur le diagnostic précoce de *Fasciola gigantica* par la technique d'immuno-fluorescence chez les ovins

**Résumé:** Dans ce travail, nous nous sommes servis, à cet effet, de la méthode indirecte d'immuno-fluorescence afin de diagnostiquer la distomatose à *Fasciola gigantica*. Pour notre expérience, douze moutons de race Akkaraman, âgés de 1,5 ans, ont été utilisés. Ces douze moutons ont été divisés en quatre groupes de nombre égal. Un groupe est gardé comme témoin. Trois autres groupes ont été infestés par 25, 50 et 75 de métacercaires.

La diagnostic de la maladie n'a été possible qu'après 20 jours d'infestation. En cas positifs, les coupes de parasites présentent de la fluorescence spécifique jaune-verte au niveau de la cuticule et des épithélias caeca digestives des douves.

Soit pour des diagnoses précoces, soit pour des titres d'anticorps, on n'a pas constaté de différence significative chez les moutons infestés par le nombre varié (25; 50; 75) des métacercaires. Après le traitement, le niveau obtenu des titres d'anticorps se manifeste décroissance. On observe seulement une légère augmentation transitoire le 40 ième jour, et on ne trouve plus de réaction positive à partir de 150 ième jour.

Dans cette recherche que nous avons effectué pour le diagnostic de la distomatose, la méthode indirecte d'immuno-fluorescence, à notre sens, semble satisfaisante et une technique sûre.

**Özet:** Bu araştırmada *Fasciola gigantica*'nın erken teşhisinde indirekt floresan antikor tekniği uygulanmıştır. Bu amaç için 1,5 yaşında 12 adet akkaraman koyun kullanılmıştır. Bunlar üçer koyunluk dört gruba ayrılarak, birinci grup 25, ikinci grup 50, üçüncü grup 75 metaserkerle enfeste edilip, dördüncü grup kontrol olarak bırakılmıştır.

Hastalığın teşhisi enfestasyonun 20 inci gününden itibaren mümkün olmuş, müsbet vak'alarda parazit kesitinin kütikülâ ve barsak epitelleri sarı-yeşil floresans vermiştir. 25; 50 ve 75 adet metaserkerle enfeste koyunlarda gerek erken teşhis gerekse antikor seviyesi

\* Doktora çalışmasından özetlenmiştir.

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Genel Parazitoloji ve Helminтологи Kürsüsü Dr. Asistanı. Ankara, Türkiye.

bakımından önemli bir fark tesbit edilememiştir. Sağıtmayı müteakip koyunların serumlarındaki antikor seviyesinde düşme, 40 ıncı günde hafif bir yükselme görülmüş, 150 inci günden itibaren hiç bir müsbet reaksiyon tesbit edilememiştir.

Yaptığımız bu araştırma ile endirekt floresan antikor tekniğinin distomatose'un teşhisinde iyi ve emin bir metod olduğu kanısına varılmıştır.

## Giriş

*Fasciola gigantica* yurdumuzda oldukça yaygın olup, daha ziyade ruminantların karaciğer ve safra yollarında paratizlenen bir trematoddur. Bu parazitin etken olduğu distomatose hayvanlarda kilo kaybına, ölümlere ve karaciğerlerinin insanlar tarafından yenilemeyecek duruma gelmesi dolayısıyla, zaten hayvansal protein açığı büyük olan memleketimizde önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Parazitin genç şekilleri karaciğer dokusunda büyük tahribatlara sebep olduğundan *F. gigantica*'dan mütevellit ölümler daha ziyade hastalığın başlangıç safhasında olmaktadır. Bu kayıpların önlenmesi için hastalığın erken devrede teşhis edilip sağıtılmaya geçilmesi gerekmektedir. Bu güne kadar fasciolose'un teşhisi dışkı, kan serumunda bazı karaciğer enzimlerinin tesbiti, serolojik ve allerjik reaksiyon metodlarıyla yapılabilmekte ise de bunlar erken teşhis yönünden fazla bir değer taşımamaktadırlar.

Son yıllarda floresan antikor tekniği ile gerek virusi ve bakteriyel, gerekse bazı paraziter hastalıkların teşhisi konusunda yapılan çalışmalardan alınan başarılı sonuçlar bizi bu araştırmaya sevk etmiştir.

Floresan antikor tekniğini helmintoloji dalında ilk kez Jackson (16) uygulamış, olgun *Trichinella spiralis*'lerde ve larvalarında antigenik bölgeleri saptamıştır. Daha sonra bu teknik helmint hastalıklarından; schistosomose (2, 20, 22, 23, 24, 28), echinococcose (3, 10), ascariose (25, 27), anguillulose (8), fillariose (7, 13, 15, 22), dictyocaulose (17, 18, 19) ve trichinose (4, 5, 21)' un teşhisinde uygulanmıştır.

*Fasciola hepatica*'dan ileri gelen distomatose'un teşhisinde floresan antikor tekniğini ilk defa Thorpe (26) uygulamıştır. Bazı araştırmacılar (1, 6, 12, 14, 16, 18, 26) antigen olarak genç veya olgun trematodların kesitlerini kullandıkları halde Fraga de Azevedo ve Coelho Rombert (9) miracidiumları kullanmışlardır. Ambroise-Thomas (1), *F. hepatica* kesitlerinin özellikle kütikülâ, sindirim borusu ve uterus çeperinde spesifik floresans gördüğünü, Koch (14), antikor teşekkülünün ve titresinin aynı dozla enfeste hayvanlar arasında farklılık gösterdiğini bildirmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda (14, 16, 18) hastalığın teşhisinin enfestasyonun ikinci haftasından itibaren mümkün olduğu belirtilmektedir.

*F. hepatica* ile enfeste şahıslarda sağıtmeden sonraki serolojik değişmeler incelenmiş, tedaviden sonraki birinci ayda antikor seviyesinin yükseldiği daha sonra tedricen düşerek 7 inci aydan itibaren antikor tesbitinin mümkün olmadığı belirtilmiştir (1, 12).

Biz, bütün literatür araştırmalarımıza rağmen floresan antikor tekniği ile *F. gigantica*'nın teşhisi konusunda bir çalışmaya rastlayamadık.

### Metaryal ve Metod

Araştırmamızda 1,5 yaşında 14 akkaraman koyun ve yine 1,5 yaşında bir dana kullanılmıştır. Hayvanlar denemeye alınmadan önce çeşitli antelmentiklerle sağıtılarak helmintlerden arıtılmıştır.

Enfestasyon metaryali olarak kullanılan 10 günlük metaserkerler laboratuvarımızda suni olarak enfeste edilen Adana orijinli *Limnea auricularia*'lar dan elde edilmiştir.

Antigen olarak 200 *F. gigantica* metaserkeri ile enfeste edilen bir dananın karaciğerinden toplanan 2 aylık genç *F. gigantica*'lar kullanılmıştır. Trematodlar % 0.9 luk fizyolojik suda 5 defa yıkandıktan sonra eni, boyu ve derinliği takriben 1 cm. olan rat karaciğerleri parçalarına dikine saplanarak bloklar hazırlanmıştır. Bu blokların CO<sub>2</sub> gazı ile dondurulmasından sonra Slec marka dondurma mikrotomunda 5 mikron kalınlığında kesitler yapılarak lâmlara monte edilmiştir. Kesitler kurutulduktan sonra 5 dakika Carnoy solüsyonunda, 1 dakika alkol absolüde tutularak tesbit edilmiştir.

Konjugat olarak "2356 Bacto-FA Sheep Globulin Antiglobulin (Rabbit)" ,kontrol serumları olarak da helmintsiz koyun serumu ve *F. gigantica*'ya karşı immün koyun serumu kullanılmıştır. Helmintsiz koyun serumu Berlin Veteriner Fakültesinden temin edilmiş, *F. gigantica*'ya karşı immün serum ise 2 ve 1 ay ara ile 20 + 50 + 350 = 420 metaserkerle enfeste edilen iki koyundan elde edilmiştir.

Helmintlerden arıtılmış 12 koyun 3 er hayvanlık 4 gruba ayrılmış, birinci gruba 25, ikinci gruba 50, üçüncü gruba 75 *F. gigantica* metaserkeri jelâtin kapsüller içinde yutturulmuş dördüncü grup ise kontrol olarak bırakılmıştır. Bu koyunların serumları enfestasyondan 10 gün önce ve enfestasyon tarihinden itibaren her 10 günde bir floresan antikor tekniği ile muayene edilmiştir.

Enfestasyondan sonraki 130 uncu günde enfeste gruplardan birer koyun bırakılmış, diğerlerinin kontrol grubundakilerle birlikte otopsi yapıp, karaciğer ve akciğerlerinde bulunan *F. gigantica*'lar

toplanmıştır. Enfeste gruplardan bırakılan birer koyun 30 mg/kg hexachlorophene ile sağtılıp, 10 günde bir serumları endirekt floresan antikör tekniği ile muayene edilerek, antikör seviyelerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır.

*Endirekt Floresan Antikör Metodunun Uygulanması ve Mikroskopta Muayene*

Tesbit edilmiş kesitler kurutulduktan sonra lâmdaki birinci kesit üzerine Coons-Buffer (PBS), ikinciye helmintsiz koyun serumu, üçüncüye *F. gigantica*'ya karşı immün koyun serumu, dördüncüden

sonraki kesitler üzerine muayene edilecek serumların  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ , ..

$\frac{1}{512}$  ye kadar olan dilusyonları konmuştur.

— Üzerine serum konmuş kesitler 37°C da rutubetli ortamda 30 dakika inkubasyona bırakılmıştır.

— Rutubetli ortamdan alınan lâmlar hafifçe distile su ile yıkandıktan sonra içinde buffer solüsyonu bulunan 3 kaptan 5 er dakika tutularak hafifçe distile sudan geçirilmiştir.

— Lâmlar havada kurutulduktan sonra kesitler üzerine konjugat konup tekrar 37°C da rutubetli ortamda 30 dakika inkubasyona bırakılmıştır.

— Rutubetli ortamdan alınan lâmlar içinde buffer solüsyonu bulunan 3 kaptan 5 er dakika tutulup daha sonra contre - coloration için Evans blau'nun 1/5000 lik dilusyonunda 10 dakika bekletilmiştir.

— Evans blau'dan çıkarılan lâmlar, içinde buffer bulunan 3 kaptan 10 ar dakika tutulup distile su ile hafifçe yıkandıktan sonra kurutulmuş, üzerine 1/9 buffer / gliserin karışımından birer damla konarak lâmelle kapatılıp muayeneye hazır duruma getirilmiştir.

Muayene için Carl Zeiss'in basınçlı civa buharı ihtiva eden (Osram HBO 200) ışık kaynaklı floresan mikroskobu kullanılmıştır. Mikroskopik muayenede *F. gigantica* kesitinin kütikülâ ve barsak epitelinin parlak sarı-yeşil floresans verdiği rat karaciğer dokusunun kırmızı görüldüğü vak'alar müsbet (Resim 1), hem parazit kesitinin hem de rat karaciğer dokusunun kırmızı görüldüğü vak'alar ise menfi (Resim 2) olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme; helmintsiz koyun serumu, *F. gigantica*'ya karşı immün koyun serumu ve buffer solüsyonu ile muamele edilen *F. gigantica* kesitlerinin gösterdiği reaksiyonlarla mukayeseli olarak yapılmıştır.

## Sonuçlar

Uygulanan bu teknikle *F. gigantica*'dan ileri gelen distomatose'un teşhisi enfestasyonun 20 inci gününden itibaren mümkün olmuştur. Enfestasyondan önce ve enfestasyondan 10 gün sonra yapılan bütün muayenelerde hiçbir müsbet reaksiyon tesbit edilmediği halde 20 inci gün yapılan muayenelerde enfeste koyunların ikinci grubundakilerden biri hariç diğerlerinin serumları değişik dilusyonlarda müsbet reaksiyon göstermişlerdir. 20 inci günde menfi bulunan bu koyun 30 uncu günden itibaren müsbet reaksiyon vermiştir. Kontrol koyunlarının serumları bütün muayenelerde menfi bulunmuştur.

25 metaserkerle enfeste birinci gruptaki koyunların titrasyon değerlerinin geometrik ortalaması 20 inci günde  $1/4$  olarak tesbit edilmiş, bu değer 30 uncu günde  $1/3$  e düşmüş daha sonra yükselerek 40 ıncı günde  $1/5$ , 50 inci günde  $1/16$ , 60 ve 70 inci günlerde  $1/25$ , 80 inci günde  $1/64$ , 90 ve 100 üncü günlerde  $1/52$ , 110 uncu günde  $1/64$ , 120 inci günde  $1/80$  ve 130 uncu günde  $1/52$  olarak saptanmıştır (Grafik 1).

50 metaserkerle enfeste ikinci gruptaki koyunların titrasyon değerlerinin geometrik ortalaması 20 inci günde  $1/4$  olarak tesbit edilmiş, 30 uncu günde  $1/2$ , 40 ıncı günde  $1/3$ , 50 inci günde  $1/8$  olarak saptanmıştır. Bu değer, grafik 1 de de görüldüğü gibi 90 ıncı günde  $1/52$  ye, 110 uncu günde  $1/64$  e çıkmış 120 inci günde  $1/48$ , 130 uncu günde  $1/32$  olarak saptanmıştır.

75 metaserkerle enfeste üçüncü grup koyunların titrasyon değerlerinin geometrik ortalaması 20 inci günde  $1/2$ , 30 uncu günde  $1/3$ , 40 ve 50 inci günlerde  $1/6$  olarak tesbit edilmiş, daha sonra tedricen yükselerek 90 ıncı günde  $1/80$  olarak saptanmıştır. Bu değer, grafik 1 de de görüldüğü gibi 100 üncü günden itibaren düşmüş 130 uncu günde  $1/25$  bulunmuştur.

Enfeste 3 gruptan birer koyun sağıtılarak antikor seviyelerindeki değişmeler takip edilmiştir. Tedaviden sonraki 10 uncu günde yapılan muayenelerde her üç koyunun antikor seviyelerinde düşme görülmüştür. Sağıtma gününde yapılan muayenelerde her üç koyun  $1/64$  dilusyonda müsbet reaksiyon gösterdiği halde 10 uncu günde birinci gruptan olan koyun  $1/16$ , iki ve üçüncü gruptan olan koyunlar  $1/8$  dilusyonda müsbet reaksiyon vermişlerdir. Antikor seviyelerindeki bu düşme 30 uncu güne kadar devam etmiş, 30 uncu günde her üç koyunda da  $1/2$  bulunmuştur. Daha sonra yükselerek 40 ıncı günde  $1/8$  e çıkmış, 50'inci günde tekrar  $1/2$  olarak tesbit edilmiştir. 60 ıncı günde tekrar bir yükselme gösteren titrasyon değerleri grafik 2 de de görüldüğü

gibi hafif iniş-çıkışlar göstererek 140 ıncı günde en düşük seviyeye inmiş, 150 ve 160 ıncı günlerde menfi bulunmuştur. İkinci gruptan olan koyun 77 inci günde septisemiden ölmüştür.

Otopsi sonunda: 200 metaserkerle enfeste edilen danadan 121, 20 + 50 + 350 = 420 metaserkerle enfeste edilen koyunların birinden enfeste edilen metaserker sayısına göre  $16 + 40 + 209 = 265$ , diğerinden  $18 + 28 + 154 = 200$  adet *F. gigantica* toplanmıştır. Dene me gruplarında ise; 25 metaserkerle enfeste edilen koyunların birinden 17, diğerinden 23; 50 metaserkerle enfeste edilenlerin birinden 32, diğerinden 35; 75 metaserkerle enfeste edilenlerin her ikisinde 49 ar. adet *F. gigantica* toplanmış, kontrol grubunda ve sağıtılan koyunlarda *F. gigantica* tesbit edilmemiştir.

### Tartışma

Floresan antikor tekniği ile *Fasciola gigantica*'nın teşhisi konusunda bir çalışma bulunmamasına rağmen *F. hepatica* ile yapılmış araştırmalar mevcuttur (1, 6, 9, 14, 16, 18, 26). Araştırmacılar yaptıkları eksperimental enfestasyonlarda hastalığın teşhisinin enfestasyonun 14 üncü gününden itibaren mümkün olduğunu belirtmektedirler (14, 16, 18). Biz *F. gigantica* ile eksperimental olarak enfeste ettiğimiz koyunlarda hastalığın 20 inci günden itibaren teşhis edilebileceğini saptadık.

Bazı araştırmacılar antigen olarak *F. hepatica* miracidiumlarını (9), bazıları ise genç veya olgunlarının kesitlerini (1, 6 12, 14, 16, 18, 26) kullanmışlardır. Biz araştırmamızda genç *F. gigantica*'ları rat karaciğeri parçalarına saplayarak dondurduktan sonra yaptığımız kesitleri kullandık.

*Fasciola hepatica* ile yapılan araştırmalarda parazitin kesitinde floresans veren bölgelerin, özellikle kütikülâ, kütikülâ altındaki hücre tabakası, barsak kanalı, uterus çeperi ve spermatogenik hücreler olduğu belirtilmiştir (1, 16, 18). Biz , yaptığımız bu araştırmada *Fasciola gigantica* kesitlerinin özellikle kütikülâ ve barsak epitelinde spesifik floresans gördük (Resim 1).

Ambroise-Thomas (1), Kien-Truong ve arkadaşları (12), endirekt floresan antikor tekniği ile, *Fasciola hepatica*'lı şahısların sağıtılmasından sonra, kanlarında mevcut antikor seviyesindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Araştırmacılar (1, 12), sağıtımadan sonraki birinci ayda antikor seviyesinde, sağıtma öncesine nazaran önemli bir yükselme saptamışlar, sonraları ise titrenin düşerek 7 inci aydan itibaren kaybolduğunu, bazı vak'alarda ise düşük titrelerde bir yıla kadar devam ettiğini belirtmişlerdir.

Biz alışmamızda antikor seviyesinin sağıtmadan sonraki birinci ayda, sağıtma öncesine nazaran önemli derecede düştüğünü, 40 ıncı günde biraz yükselip, daha sonraki günlerde hafif iniş ve ıkışlar göstererek düşmeye devam ettiğini 140 ıncı günde en düşük seviyeye indiğini ve 150, 160 ıncı günlerde kaybolduğunu saptadık. Bizim yaptuğımız araştırmada, sağıtmadan sonra koyunlardaki antikor hiçbir zaman tedavi anındaki seviyeye çıkmamıştır. 40 ıncı günde antikor seviyesinde saptanan yükselmenin, *Fasciola*'ların tahribi ile somatik antijenlerin serbest kalması neticesi olduğu kanısına varılmıştır.

Teşhis, enfeste 9 koyunun 8 inde enfestasyonun 20 inci, 1 inde ise 30 uncu gününden itibaren mümkün olmuştur. 25, 50 ve 75 metaserkerle enfeste 3 grup koyunda, gerek erken teşhis, gerekse antikor seviyeleri yönünden önemli bir fark görülmemiştir. Enfeste koyunlardaki antikor seviyesi 80 ile 120 inci günler arasında en yüksek değerlerde bulunmuştur.

Koyunların deneysel olarak enfestasyonundan önce yapılan, dışkı ve endirekt floresan antikor tekniği ile kan muayeneleri, fasciolose yönünden menfi bulunmuştur. Bu muayenelere göre, koyunların *Fasciola* ile enfeste olmadıkları, daha önceden fasciolose geçirmiş olsalar bile *Fasciola*'ya karşı antikor taşımadıkları saptanmıştır. Bundan dolayı elde ettiğimiz sonuçlar, doğrudan doğruya deneysel olarak yapılan *Fasciola gigantica* enfestasyonuna bağlıdır.

Dışkı muayene metodlarıyla, *Fasciola gigantica*'nın sebep olduğu distomatose'un teşhisi ancak prepatent periyodun sonunda yani enfestasyonun 93-115 inci günlerinde yapılabilmekte iken, endirekt floresan antikor tekniği ile bu sre 20 gün olmaktadır. Hastalığın bu teknik yardımıyla erken teşhis edilerek sağıtılmasıyla, sebep olduğu büyük ekonomik kayıpların önlenmesi mümkün olabilecektir.

### Literatür

- 1- **Ambroise-Thomas, P.** (1969): *Etude sro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence*. Thèse Doct. Sci., Lyon, p 644.
- 2- **Anderson, R.I., E.H. Sadun and J.S. Williams** (1961): *A technique for the use of minute amounts of dried blood in the fluorescent antibody test for schistosomiasis*. Expl Parasit., II, 111-116.
- 3- **Beggs, W.A and A. Fischman** (1970): *A preserved antigen for the hydatid fluorescent-antibody and other tests utilizing scolices*. Bull.

- Wld. Hlth. Org., 42, 331-332 (Helminth. Abst., 1972, 41, 604).
- 4- **Chroust, K. and V. Dubansky** (1967): *Fluorescent-antibody studies on muscle larvae Trichinella spiralis* (Owen, 1835). II. *The indirect fluorescent-antibody method*. Acta Üniv. Agric. Fac. vet. Brne., 36 (2), 299-305. (Helminth. Abst., 1971, 40, 2025).
  - 5- **Chroust, K. and V. Dubansky** (1970): *The indirecct fluorescent antibody method in experimental thrichinosis diagnostics*. Acta vet. Brno., 39, 157- 163.
  - 6- **Coudert, J., J.P. Garin, P. Ambroise Thomas, T. Kien-Truong, J. Despeignes et M. A. Pothier** (1967): *La réaction d'immuno-fluorescence sur coupes de Fasciola hepatica: Une nouvelle technique pour le séro-diagnostic de la distomatose Premiers résultats*. Bull. Soc. Path. exot., 60, 71-79.
  - 7- **Coudert, J., P. Ambroise-Thomas, T. Kien-Truong et Mlle S. Terreno** (1968): *Diagnostic sérologique des filarioses par immuno-fluorescence sur coupes de Dirofilaria immitis et de Dipetalonema viteae. Résultats préliminaires portant sur 200 examens*. Bull. Soc. Path. exot., 61, 435-441.
  - 8- **Courdert, J., P. Ambroise-Thomas, T. Kien-Truong et M. A. Pothier** (1968): *Diagnostic sérologique de l'anquillulose humaine par immuno-fluorescence (Résultats préliminaires)*. Bull. Soc. Path. exot., 61, 74-80.
  - 9- **Fraga de Azevedo, J. et P. Coelho Rombert** (1965) *L'application de l'immuno-fluorescence au diagnostic de la Fasciolose hépatique*. Ann. Parasit., Hum. Comp., 40, 529-542.
  - 10- **Gore, R.W., E. H. Sadun and R. Hoff** (1970): *Echinococcus granulosus and E. multilocularis soluble antigen fulorescent antibody test*. Expl Parasit., 28, 272-279.
  - 11- **Jackson, G. J.** (1959): *Fluorescent antibody studies of Trichinella spiralis infection*. J. Infect. Dis., 105, 97-118.
  - 12- **Kien-Truong, T., M. Mojon and P. Ambroise-Thomas** (1970): *Diagnostic et controle post-thérapeutique de la fasciolose humaine par immuno-fluorescence sur coupes de Fasciola hepatica. Etude 349 cas*. J. Parasit., 56 (4, Sect. 2) (Int. Congr. Parasit (2 nd) Washington. D. C. Sept. 6-12, 1970, Proceedings Part I) pp. 347-348.
  - 13- **Kien-Truong, T. et P. Ambroise-Thomas** (1970): *Serodiagnostic simultané de bilharzioses et des filarioses par immuno-fluorescence*

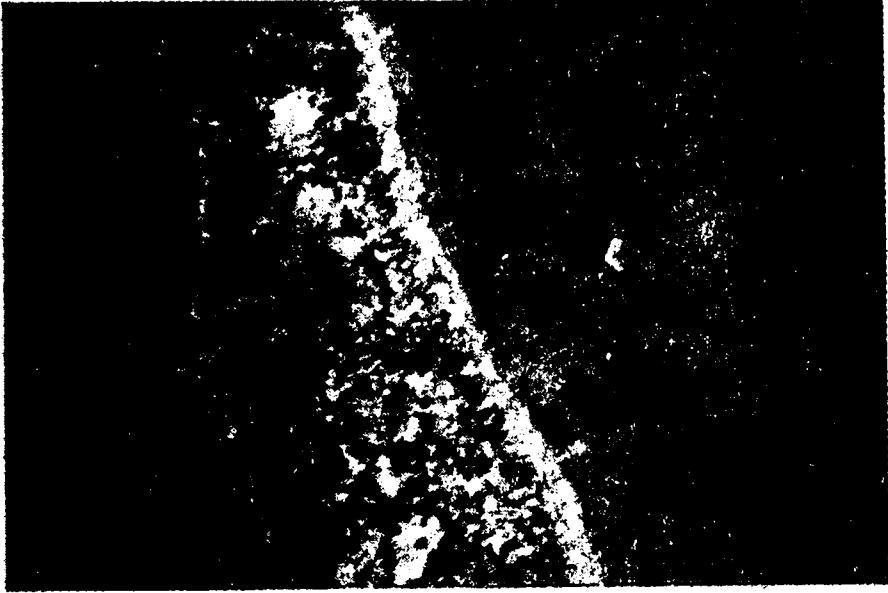


*indirecte sur coupes juxtaposées de Schistosoma mansoni et de Dipetalonema viteae.* Bull. Soc. Path. exot., 63, 351-356.

- 14- **Koch, H. W.** (1969): *Untersuchungen über die Brauchbarkeit von Haemagglutination, flocculation, Mikro-Agar-Prazipitation und der immunfluoreszens zum frühzeitigen Nachweis der Fasciolose des Rindes.* Diss. Berlin.
- 15- **Mantovani, A. and A. J. Sulzer** (1967): *Indirect fluorescent antibody technique for diagnosis of canine filariasis.* Am. J. vet. Res., 28, 351-354.
- 16- **Movsesijan, M., A. Sokolic and S. Sibalic** (1967): *Dijanoza infekcijsa Fasciola hepatica premenom antitela onbelezjenih fluoresceinom* Acta. Vet. Beogr., 17, 409-413.
- 17- **Movsesijan, M. and A. Sokolic** (1968): *Detection of antibodies to Dictyocaulus filaria by using fluorescent microscopy.* Acta Vet. Beogr., 18, 363-368.
- 18- **Movsesijan, M. and D. Dorojević** (1970): *Primena fluorescentne mikroskopije u dijagnozi nekih parazitnih infekcija ovaca.* Vet. Glasn., 12, 1019-1022.
- 19- **Movsesijan, M. and R. Lalic** (1971): *Tehnika fluorescentnih antitela (TFA) u seroloskoj dijagnozi diktiokauloze ovaca.* Acta Parasit. Jugosl., 2, 57-65. (Helminth. Absrt., 1972, 41, 4444).
- 20- **Sadun, E. H., R.I. Anderson et J.S. Williams** (1961): *Fluorescent antibody test for the laboratory diagnosis of schistosomiasis in human using dried blood smears on filter paper.* Expl Parasit., 11, 117-120
- 21- **Sadun, E.H., R. I. Anderson and J.S. Williams** (1962) : *A fluorescent antibody test for the serological diagnosis of trichinosis.* Expl Parasit., 12, 423-433.
- 22- **Sadun, E.H.** (1963): *Seminar on immunity to parasitic helminths. VII. Fluorescent antibody technique for helminth infections.* Expl Parasit., 13, 72-82.
- 23- **Sato, S.** (1965): *Immunological studies on schistosomiasis japonica VII. Diagnostic aspect of the indirect fluorescent antibody test for schistosomiasis.* Jap. J. Parasit., 14, 217-219. (Helminth. Abst., 1968, 37, 1899).
- 24- **Shamma, A.H., A.J. Thewaini Ali and A. Rassam** (1966): *Demonstration of auto-antibodies in Schistosoma haematobium infections by the fluorescent antibody technique.* J. Path. Bact., 92, 589-591.

- 25- **Taffs, L.** (1968): *The immunology of Ascaris as indicated by immunofluorescence*. Vet med. Rev., Leverkusen, Yearl 1968 (Proc. Int. Conf. Wld. Ass. Advmt. vet. Parasit (3 rd), Lyons, July 25-27, 1967) pp. 224-241. (Helminth. Abst., 1970, 39, 4259).
- 26- **Thorpe, E.** (1965): *An immunocytochemical study with Fasciola hepatica*. Parasitology, 25, 209-214.
- 27- **Vereta, L. E.** (1969): *Immunofluorescence technique with soluble antigens for diagnosis of ascariasis (a preliminary report)*. Trudy vses. inst. Gel'mint., 15, 61-65. (Helminth. Abst., 1971, 41, 717).
- 28- **Vernes, A., J. Fruit, F. Bout hemy et A. Capron** (1969): *L'immunofluorescence indirecte appliquée au diagnostic de bilharzioses. Etude de la spécificité de la réaction sur coupes a congélation et comparaison avec les techniques d'immuno-électrophorèse et de fixation du complement*. Bull. Soc. Path. exot., 62, 548-556.

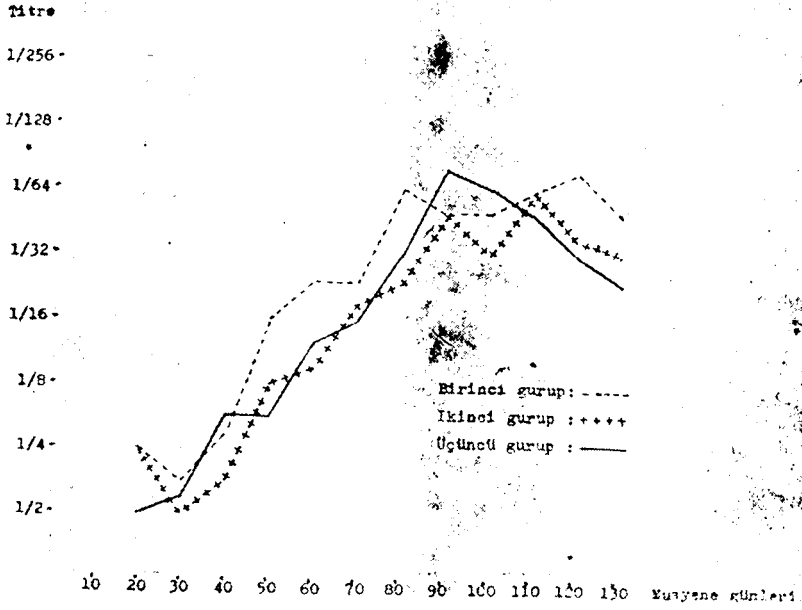
Yazı "Dergi yazı kuruluna" 16.9.1975 günü gelmiştir.



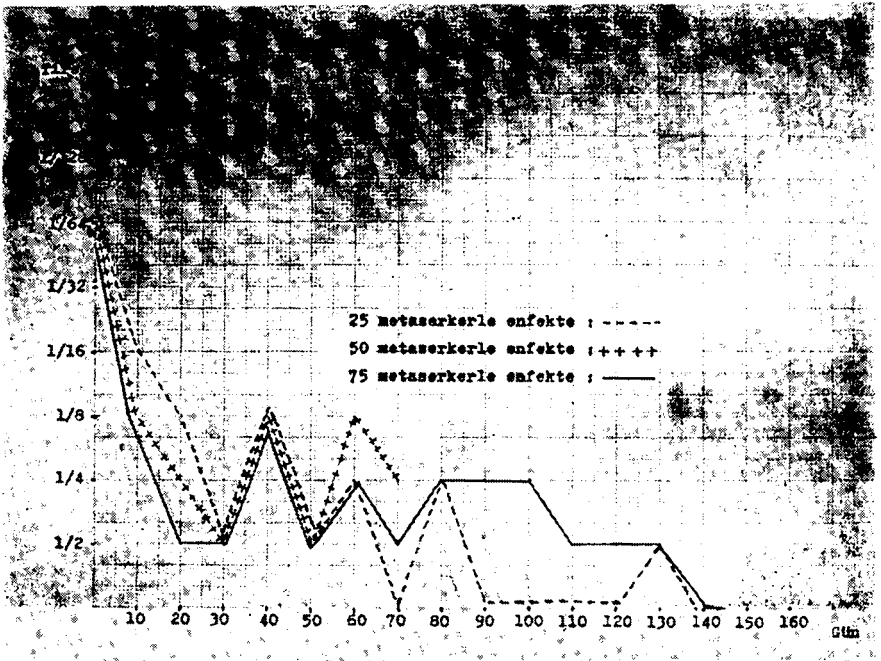
Resim 1. Msbet reaksiyon.  
(Photo 1. Réaction positive.)



Resim 2. Menfi reaksiyon.  
(Photo 2. Réaction négative.)



Grafik 1. Enfeste grupların titrasyon değerlerinin geometrik ortalaması.  
(Tableau 1. Moyennes géométriques des titres d'anticorps chez des groupes infestés.)



Grafik 2. Sağıtma sonrası enfeste koyunların antikor seviyelerindeki değişimler.  
(Tableau 2. Changements sur les titres d'anticorps chez des moutons après leur traitement.)