

# *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) Türü Akreplerden Değişik Yöntemlerle Elde Edilen Venomların Farelerde Akut LD<sub>50</sub> Miktarlarının Belirlenmesi

Özcan ÖZKAN<sup>1</sup>, Ayhan FİLAZİ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Sıhhiye Ankara;

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara

**ÖZET:** *Androctonus crassicauda* türü akreplerden maserasyon ve elektrik uyarımı ile elde edilen venomların farelerdeki öldürücü doz-50 (LD50) düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı. Şanlıurfa (Harran)'dan toplanan *A. crassicauda* türü akreplere ait kuyruklardan 10 adet telson ile yine aynı yerden gönderilen 20 adet canlı *A. crassicauda* türü akrep kullanıldı. Bu akreplerden 10 tanesi eterle ötenazi edilerek telsonları alındı, diğer 10 tanesi ise 24 V'luk elektrikle uyarılarak venomları sağıldı. Eterle ötenazi edilen akreplerden elde edilen telsonlar ile rastgele seçilen telsonlardan maserasyonla ayrı ayrı venom çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan 3 ana venom çözeltisi LD50 düzeylerinin belirlenmesi için Swiss albino ırkı, yaklaşık 20 g ağırlığında, 6 haftalık, 128 adet sağlıklı erkek fareye deri altı yolla uygulandı. Her gruptaki zehirlenme belirtileri ve ölen fare sayısı kaydedildi. Buna göre satın alınan telsonlarla, ötenazi edilen akreplerden elde edilen telsonlardan hazırlanan venomlar ve elektrik uyarımı ile sağılan venomların LD50 düzeyi sırasıyla 8, 3.46 ve 1.5 ml/kg olarak belirlendi. Sonuç olarak elektrik uyarımı ile elde edilen venomun toksisitesinin maserasyonla elde edilen venomlara göre daha güçlü olduğu bulundu.

**Anahtar kelimeler:** *Androctonus crassicauda*, akrep, venom, öldürücü doz, fare

## **The determination of acute lethal dose-50 (LD50) levels of venom in mice, obtained by different methods from scorpions, *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807)**

**SUMMARY:** The aim of this study was to determine the lethal dose-50 (LD50) levels of venom in mice, collected by maceration and electrical stimulation from scorpions of *Androctonus crassicauda* strains. Ten telsons, belonging to *Androctonus crassicauda* scorpions and 20 live *Androctonus crassicauda* scorpions were collected in the Şanlıurfa (Harran) region. Ten of these scorpions were euthanized by ether and then their telsons were removed. Venom of the other 10 scorpions was removed by electrical stimulation of 24 V. The randomly chosen telsons were taken from scorpions euthanized by ether and then were used to prepare different venom solutions by maceration. Three of the main venom solutions were administered subcutaneously to 128 6-week old healthy Swiss-Albino male mice weighing about 20 g. The symptoms of toxicosis and the numbers of dead mice were recorded. The LD50 levels of commercial venoms, those made from euthanized scorpions' telsons and those acquired by electrical stimulation were found to be 8 ml/kg, 3.46 ml/kg and 1.5 ml/kg, respectively. Finally, the toxicity of venom, obtained by electrical stimulation was found to be much stronger than the venom obtained by maceration.

**Key Words:** *Androctonus crassicauda*, scorpion, venom, lethal dose, mice

## **GİRİŞ**

Dünyadaki teknolojik gelişmeler ve buna bağlı olarak artan refah düzeyi akrep zehirlenmelerinin (skorpionizm) önemini eskiye oranla azaltmıştır. Ancak buna rağmen skorpionizm olgularının hala görülüyor olması, bu hayvanları tıbbi yönden önemli kılmaktadır (14). Türkiye'nin de iklim koşulları ve sosyo – ekonomik yapısı nedeniyle skorpionizm olguları başta Güneydoğu Anadolu olmak üzere tüm bölgelerde önemli sağlık sorunlarından birini teşkil etmektedir (8).

Akrepler, hayvanlar aleminin Arthropoda şubesi, Chelicerata altşubesi, Arachnida sınıfı, Scorpiones takımında yer alan, üzerleri kalın bir kitin tabakası ile kaplı ve morfolojik yapıları nedeniyle çok kolay tanınan, uzunlukları 13 - 220 mm arasında değişen eklem - bacaklılardır. Varlığı ve zehirlilikleri çok eski çağlardan beri bilinen akrepler hastalık etkenlerini taşımazlar. Ancak çoğu zaman kendilerini korumak amacıyla, insan ve hayvanları sokarak zehirlenme ve ölümlere neden olabilirler (8, 11).

Akrep zehiri, akreplerin telsonlarında bulunan, birçok protein, peptid ve biyolojik yönden etkin bileşiklerden oluşan nörotoksik etkili bir salgıdır. İçeriğindeki etkin maddelerin çeşitliliği nedeniyle fizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda,

Geliş tarihi/Submission date: 23 Eylül/23 September 2003  
Düzeltilme tarihi/Revision date: 02 Aralık/02 December 2003  
Kabul tarihi/Accepted date: 09 Aralık/09 December 2003  
Yazışma /Corresponding Author: Özcan Özkan  
Tel: - Fax: -  
E-mail: -

araştırma materyali olarak sıkça kullanılmaktadır (6). Türkiye’de zehirlenmelere neden olan en önemli akrep türleri *Buthidae* ailesinden *Androctonus*, *Leiurus* ve *Mesobuthus* cinsine ait türlerdir. Bunlardan *Androctonus crassicauda* türünden elde edilen venomun, antivenom üretiminde antijen olarak kullanıldığı ve bunun da diğer akrep türlerinin sokmalarına karşı güvenle uygulanabileceği bildirilmiştir (15).

Akreplerden venomun elde edilmesinde; maserasyon, manuel teknik ve elektrik uyarımı gibi yöntemler uygulanmaktadır. Maserasyon, kullanılan en eski yöntemlerden biri olup, basit olarak telsonların fizyolojik tuzlu suda maserasyona bırakılması; manuel yöntem sivri, hipodermik bir iğneyle venom kesesine girilmesi ve oradaki zehirin alınması ya da venom bezinin baş ve işaret parmağıyla sıkıştırılarak venomun sağılması; elektrik uyarımı ise elektrik akımı verilerek venomun sağılması esasına dayanır. Bu yöntemlerden maserasyon yöntemi yeterli miktarda venom elde etmek için oldukça fazla akrep öldürmek gerektirmesi, manuel yöntemler ise venom bezinde travma oluşturması ve oldukça az venom elde edilmesi yönlerinden dezavantajlı olarak görülmektedir. Günümüzde kullanılan en güvenli yöntem ise elektriksel uyarım olup bütün gelişmiş laboratuvarlarda başarıyla uygulanmaktadır (17).

Türkiye’de antivenom üretiminde antijen olarak halen Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanan ve oradan satın alınan kuyruklardan maserasyonla elde edilen venom kullanılmaktadır. Ancak verilen bilgilerden de anlaşılacağı üzere böyle bir yöntemin kullanılması hem ekonomik külfet oluşturmakta hem de oldukça fazla akrebin öldürülmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada *A. crassicauda* türü akreplerden maserasyon ve elektrik uyarımı ile elde edilen venomların farelerdeki LD<sub>50</sub> düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Materyal olarak Şanlıurfa ilinin Harran ilçesinden toplanıp laboratuvara gönderilen *A. crassicauda* türüne ait örneklerin kuyruklarından rastgele seçilen 10 adet (yaklaşık 200 mg ağırlığında) telson ile yine aynı yerden gönderilen 20 adet 90 - 125 mm boyunda, ince pedipalpli, kalın kuyruk segmentli ve siyah renkli *A. crassicauda* örneği kullanılmıştır.

Örnekler 22 ± 2 °C oda ısısı ve % 60 ± 10 nemin olduğu laboratuvar şartlarında ayrı plastik kaplar (280 x 42 x 140 mm) içerisinde tutuldu. Akreplere, haftada bir peygamber devesi, çekirge veya ölü fare yavrusu ve günlük taze su verildi. Dört hafta aktiviteleri ve beslenmeleri gözlenerek çevreye adapte olmaları sağlandı. Bu süre sonunda her grupta 10 adet olacak şekilde rastgele iki eşit grup oluşturuldu. Birinci gruptaki örnekler ayrı ayrı cam kavanoz içerisinde eterle ötenazi edilerek oda sıcaklığında tutulup telsonları postabdomen kısmından (yaklaşık 200 mg telson) ayrıldı ( 2 ). Diğer grup ise elektrik uyarımı ile sağım için tutuldu.

Öldürücü doz<sub>-50</sub> nin belirlenmesi için, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı deney hayvanları laboratu-

varından temin edilen *Swiss albino* ırkı, 20±1 g. ağırlığında, 6 haftalık, 128 adet sağlıklı erkek fare kullanıldı. Fareler rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Birinci grupta 8; 2., 3. ve 4. grupta ise 40’ar adet fare kullanıldı. Daha sonra 2., 3. ve 4. gruptaki fareler yine rastgele seçilerek her birinde 8 adet olacak şekilde kendi aralarında 5 alt gruba ayrıldı (Tablo 1). Deney süresince hayvanlar, 22 ± 2 °C oda ısısı ve % 60 ±10 nemin olduğu deney odasında, polikarbonat kafes içerisinde ticari fare pelet yemi ile *ad libitum* beslendi.

**Venomların hazırlanması:** *Maserasyon yöntemi:* Atların hiperimmünizasyonunda kullanılmak üzere satın alınan telsonlar ile eterle ötenazi edilmiş akreplerden alınan telsonlar ayrı ayrı olmak üzere bir havana konularak toz haline getirildi ve boş bir şişeye konuldu, üzerine 10 ml %0.9’luk fizyolojik tuzlu su ilave edilerek iyice homojenize edildi. Ağızları sıkıca kapatılan şişeler + 4°C ‘de 72 saat maserasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda karışımlar 2000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant alınarak fizyolojik tuzlu su ile 10 ml’ye tamamlandı (4, 16). Böylece hazırlanan stok venom çözeltileri farelerin LD<sub>50</sub> düzeylerinin belirlenmesi için kullanıldı.

**Elektriksel uyarım yöntemi:** Bunun için Gopalakrishnakone ve ark (1995)’nin bildirdiği yöntemden yararlanıldı (6). Sağlık Bakanlığı Ana Depo Bölge Müdürlüğünden temin edilen ve direkt şebeke enerjisiyle çalışan 24 V’luk güç kaynağının anot ve katot çıkışlarına 10 mm’lik bakır kablo bağlandı. Kafeslerde tutulan akrepler bir maşa yardımıyla postabdomen kısmından tutularak sunta tahta üzerine alındı. Başka bir maşa yardımıyla postabdomen kısmı sabit hale getirildi. Sabitlenmiş telson altına saat camı yerleştirildi. Daha sonra güç kaynağının anot ve katot çıkışları akrebin vücuduna ve telsonuna 5 - 10 sn. dokundurularak venom salınımı uyarıldı. Böylece 10 akrepten salınan venom saat camında toplandı ve 10 ml % 0.9’luk fizyolojik tuzlu su içerisinde çözdürülerek hazırlanan venom solusyonu kullanıldı.

Öldürücü doz 50’nin (LD<sub>50</sub>) saptanması : Maserasyon ve elektrik uyarım yöntemi ile elde edilen venom ana solusyonları % 0.9’luk fizyolojik tuzlu su ile her fareye deri altı yolla 0.5 ml verilecek şekilde farklı konsantrasyonlarda seyreltildi. Kontrol grubunda bulunan farelere deri altı yolla 0.5 ml fizyolojik tuzlu su enjekte edildi. Diğer gruplarda bulunan farelere ise Tablo 1’de belirtilen dozlarda venom uygulandı.

Venom çözeltilerinin uygulanmasını takiben hayvanlar 48 saat izlenerek klinik belirtiler ve ölen hayvan sayısı kaydedildi. Hayvanların %50’sini öldüren doz miktarı Behrens ve Karber yöntemine göre aşağıdaki eşitlikle hesaplandı (10).

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{a.b + \dots + a.b}{n}$$

**a:** birbirini izleyen 2 doz arasındaki fark; **b:** birbirini izleyen 2 dozdan ileri gelen ölümlerin aritmetik ortalaması; **n:** her bir gruptaki hayvan sayısı

## BULGULAR

**Zehirlenme belirtileri ve LD<sub>50</sub> :** Venomların uygulamasını takiben bütün gruplarda venom miktarına göre değişen derecelerde kafes içinde sıçrama, birbirlerinin üzerine çıkma, huzursuzluk ve enjeksiyon yerini yalamayla kendini gösteren belirtiler gözlemlendi. 2A, 3A ve 4A grubunda bulunan hayvanlarda bu belirtiler 10-15 dk sonra hafifledi ve bir süre sonra tamamen kayboldu. Diğer gruplarda ise sıçrama yerini sakinliğe bıraktı. Ancak solunumun hızlandığı, uygulanan venom miktarına bağlı olarak 2 - 3 saatte ağızda ve burunda hipersalivasyon görülmeye başlandı. Bunu takiben ağız, burun ve gözlerde kanamalar, yürümede güçlük, arka bacaklarda felç, yüzü koyun hareketsiz vaziyette yatma, spazm ve koma sonucu ölümler görüldü. 2E, 3E ve 4E'de bulunan hayvanların hepsi 3 - 4 saat içerisinde öldü. 2A, 3A, 4A ve kontrol amacıyla tutulan 1. gruptaki hayvanlarda ise 48 saat içinde hiç ölüm görülmedi.

**Tablo 1.** Hayvan grupları, uygulanan doz ve gruplara göre ölüm sayıları

Grup	Alt Grup	Hayvan sayısı	Uygulanan Venom miktarı (ml/kg)	Ölüm sayısı
1 <sup>1</sup>	-	8	0.5	0
	2A	8	5	0
	2B	8	7	3
2 <sup>2</sup>	2C	8	9	6
	2D	8	11	7
	2E	8	13	8
	3A	8	1.65	0
	3B	8	2.5	2
	3C	8	3.35	3
3 <sup>3</sup>	3D	8	4.20	6
	3E	8	5.50	8
	4A	8	1	0
	4B	8	1.25	3
4 <sup>4</sup>	4C	8	1.50	4
	4D	8	1.75	5
	4E	8	2.00	8

**1:** Yalnızca fizyolojik tuzlu su verilen kontrol grubu; **2:** Satın alınan telsonlardan maserasyonla elde edilen venom verilen grup; **3:** Ötenazi edilen akreplerin telsonlarından maserasyonla elde edilen venom verilen grup; **4:** Canlı akreplerden elektrik uyarımı ile sağılan venom verilen grup

Buna göre satın alınan telsonlarla ötenazi edilen akreplerden elde edilen telsonlardan hazırlanan venomlar ve elektrik uyarımı ile sağılan venomların LD<sub>50</sub> düzeyleri sırasıyla 8, 3.46 ve 1.5 ml/kg olarak belirlendi.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada antivenom üretiminde antijen olarak kullanılmak üzere dış piyasadan satın alınan akrep kuyruklarından

maserasyonla hazırlanan venom ile laboratuvar şartlarında bakılan akreplerden farklı yöntemlerle (maserasyon ve elektrik uyarımı) hazırlanan venomların farelerdeki toksisite güçleri araştırılmıştır. Her iki yöntemle elde edilen venomun derialtı yolla uygulandığı farelerde benzer klinik semptomlar görülmüştür. Ancak elektrik uyarımı ile elde edilen venomun uygulandığı farelerde ölümler daha erken meydana gelmiştir. Tulga (15) tarafından yapılan çalışmada da *A. crassicauda* türü akrep telsonlarından maserasyonla hazırlanan venomların benzer sürelerde fareleri öldürdüğü belirlenmiştir. *A. crassicauda* venomunun parenteral yolla verilmesiyle benzer klinik semptomların görülebileceği Balozet (4) tarafından da bildirilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan ana venom çözeltilerinin 1 ml'si 1 adet telsonu ve her bir kg canlı ağırlık ise 50 adet fareyi temsil etmektedir. Buna göre derialtı yolla uygulanmak suretiyle satın alınan bir telsonun % 16'sı, ötenazi edilen bir akrep telsonunun yaklaşık % 7'si ve elektrik uyarımı ile sağılan bir telsonun % 3'ü bir farenin LD<sub>50</sub> miktarına karşılık gelmektedir. Başka bir deyişle, satın alınan ve ötenazi edilen akreplerden alınan telsonlarla, bir kez elektrikle uyarılarak sağılan bir telson, bir farenin LD<sub>50</sub> miktarının sırasıyla 6.25, 14.5 ve 33.34 katıdır. Bu sonuçlardan maserasyonla elde edilen venomun toksisitesinin düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin ise akreplerin yakalanması ve öldürülmesi sırasında hayvanların kendilerini savunmaları için venomun bir miktarını kullanmış olabileceği gibi toplanma döneminde hayvanların fizyolojik ve beslenme durumuna bağlı olarak değişebileceği düşünülmüştür. Ayrıca telsonların nakil koşulları, kurutma yöntemi, depolanması ve kullanım süresi gibi faktörler de etkili olabilmektedir.

Tulga (15), yine aynı şekilde atların hiperimmunizasyonu amacıyla piyasadan satın alınan *A. crassicauda* türüne ait telsonlardan maserasyonla elde ettiği venomu, farelere derialtı yolla vermiş ve sonuçta bir telsonun % 3.3-5 miktarının bir farenin LD<sub>50</sub> düzeyine karşılık geldiğini bildirmiştir. Bu da neredeyse bu çalışmada elektrik uyarımı ile sağılan venomun LD<sub>50</sub> düzeylerine yakın bir sonuç olarak görülmektedir. İsmail ve ark. (9) ise Arabistan bölgesi *A. crassicauda* türü akreplerden elektrik uyarımı ile sağılan venomun farelere deri altı yolla uygulandığında LD<sub>50</sub>'sinin 0.64 mg/kg olduğunu bildirmesine rağmen Latoxan laboratuvarından temin ettiği aynı türe ait akrep venomunun LD<sub>50</sub>'sinin 0.87 mg/kg olduğunu belirtmiştir. Balozet (4) yine farklı olarak boş bir telsonun 15, dolu bir telsonun ise 66 adet fareyi öldürebileceğini bildirmiştir.

*A. crassicauda* türü akreplerden değişik şekillerde elde edilen venomların farelerdeki deri altı LD<sub>50</sub> düzeylerinin 0.08 mg/kg (7), 0.40 mg/kg (8) ve 0.50 mg/kg (13) olduğu ve maserasyonla elde edilen liyofilize venomun ise farelerdeki intraperitoneal LD<sub>50</sub> düzeyinin 11.5 mg/kg (1) olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bunun yanı sıra diğer akrep

türlerinden elde edilen venomların öldürücü dozlarına ilişkin yapılan araştırmalarda İzmir ve civarından toplanan *Mesobuthus gibbosus* türüne ait akreplerin sıçan (3) ve farelerdeki (12) derialtı LD<sub>50</sub>'sinin 10 ml/kg olduğu bulunmuştur. Yine Türkiye'de bulunan ve medikal öneme sahip türlerden *Leirus quinquestratus*'a ait venomun farelerdeki derialtı LD<sub>50</sub>'si ise 0.25 mg/kg olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi her araştırmada belirlenen LD<sub>50</sub> düzeylerinin farklı olması nedeniyle sonuçlar arasında tam bir uyum bulunmamaktadır. Bu da daha önce belirtildiği şekilde hem akreplerin toplanma döneminin hem de fizyolojik durumları ve beslenme şeklinin değişmesine bağlı olarak venomun toksisitesinin de değişebileceğini göstermektedir.

Özellikle Türkiye'de antivenom üretiminde bir atın hiperimmünizasyonunda 1500 - 2000 adet telson kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada laboratuvar şartlarında bakım, besleme ve sağlımları tam bir güven ve başarıyla yapılacak 400 - 500 adet akrepten elde edilen saf venomun bir atın hiperimmünizasyonunu karşılayabileceği bulunmuştur. Ayrıca elektrik uyarımı ile sağılan akrepler düzenli olarak kontrol edilmiş ve normal günlük aktivitelerini sürdürdükleri, ölüm veya herhangi bir klinik belirti göstermedikleri belirlenmiştir. Böylece özellikle Güney Doğu Anadolu Bölgesinden toplanan binlerce akrebin öldürülmemesiyle hem bölge akrep faunası korunmuş olacak hem de telson alımı ile harcanan ekonomik değer antivenom üretimin modernizasyonuna kullanılarak üretim daha etkin hale getirilebilecektir.

Sonuç olarak, elektrik uyarımı ile elde edilen venomun toksisitesinin maserasyon yöntemiyle elde edilen venomlara göre daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. Bu da laboratuvar şartlarında bakımı yapıp ve 2 - 4 haftada bir sağlımları güvenilir ve başarılı bir şekilde yapılabilecek akreplerin kullanılmasının büyük bir ekonomik değer kaybını önleyebileceğini, dolayısıyla bölge akrep faunasının korunabileceğini göstermektedir.

#### KAYNAKLAR

1. **Altınkurt O, Altan M**, 1980. Pharmacological effects of the scorpion (*Androctonus crassicauda*) venom from Urfa enviroment on laboratuvar animals and the antagonistic effects of streptomycin to most of these effects. *J Fac Pharm Ankara*, 10:41-61.
2. **Ay I, Tuncer M, Onur R**, 1996 Effects of *Androctonus crassicauda* scorpion venom on endothelium dependent and independent vascular responses of rabbit aorta. *Gen Pharmac*, 27(3): 519-523.
3. **Aytaç G**, 1992. *Mesobuthus gibbosus* türü akrep zehrinin sıçanlarda etkili minimal lethal dozunun(MLD50)saptanması E.Ü. Sağlık Bilimleri Enst. Parazitoloji Anabilimdalı Yüksek lisans tezi, 1992.
4. **Balozet L**, 1971. Scorpionism in the old world. Bücherl W, Buckley EE eds. *Venomous Animals and their venoms*. Volume 3. Venomous intervertebrates Academic, New York, p.349-371.
5. **Garry RM, Stockwell SA**, 2002. Scorpions (Scorpiones). *Med Vet Entomol*, :411-423.
6. **Gopalakrishnakone P, Cheah J, Gwee MCE**, 1995. Black scorpion (*Heterometrus longimanus*) as laboratory animal: maintenance of a colony of scorpion for milking of venom for research, using a restraining device. *Laboratory Animals* 29:456-458.
7. **Hassan F**, 1984. *Production of scorpion antivenom*. Tu AT ed. *Handbook of Natural Toxins*. Volume 2. Marcel Dekker, Inc, New York, p. 577-605.
8. **Helvacı S**, 1997. Zehirli artropodlar. Özcel MA, Daldal N eds. *Parazitolojide artropod hastalıkları ve vektörler*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:13, İzmir.
9. **Ismail M, Abd-Elsalam MA, Al-Ahaidip MS**, 1994. *Androctonus crassicauda* (Oliver), a dangerous and unduly neglected scorpion-I. Pharmacological and clinical studies. *Toxicon*, 32:1599-1618.
10. **Kaya S**, 2002. Doz-yoğunluk ve doz -etki ilişkisi. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. eds. *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. 2. baskı. Medisan Yayın serisi No:53, s.43-50.
11. **Oytun Ş**, 1969. *Tıbbi Entomoloji*. 3. baskı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın No:218, 1969.
12. **Özkan N**, 1992. *Mesobuthus gibbosus* türü akrep zehrinin farelerde minimal lethal dozunun(MLD50) saptanması E.Ü Sağlık Bilimleri Enst.Parazitoloji Anabilimdalı Yüksek lisans tezi. İzmir.
13. **Radmanesh M**, 1990. *Androctonus crassicauda* sting and its clinical study in Iran. *J Tropical Medicine Hyg*, 93:323-326.
14. **Reeves JJ**, 1999. Scorpion envenomation. [http://www.mapoison.org/ctr/9803\\_scorpion.html](http://www.mapoison.org/ctr/9803_scorpion.html), Erişim tarihi 12.02.1999.
15. **Tulga T**, 1960. Türkiye'de varlığı ilk defa tespit edilen bir akrep türü (*Buthus quinquestratus*) ile *Prionurus crassicauda*'ya karşı hazırladığımız akrep serumları arasında çapraz proteksiyon deneyleri. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, 20: 191-203.
16. **Whittemore FW, Keegan HL, Borowitz JL**, 1961. Studies of scorpion antivenins. 1. Paraspecificity. *Bull World Hlth Org*, 25:185-188.
17. **Whittemore FW, Keegan HL, Fitzgerald CM, Bryant HA, Flanigan JF**, 1963. Studies of scorpion antivenins. 2. Venom collection and scorpion colony maintenance. *Bull World Hlth Org*, 28:505-511.