

Androctonus crassicauda antivenomunun *Leiurus abduhbayrami* venomuna karşı çapraz koruyuculuğunun değerlendirilmesi

Evaluation of cross-protection of *Androctonus crassicauda* antivenom against *Leiurus abduhbayrami* venom

Mehmet Ali KANAT¹ (ID), Derya ALTUN¹ (ID), Kübra KILIÇ² (ID), Edibe Nurzen NAMLI BOZKURT¹ (ID), Ertuğrul TURAN³ (ID), Gökhan CENGİZ³ (ID), İlhan BOZYİĞİT³ (ID)

ÖZET

Amaç: Akrep antivenomu hazırlanması, akrep zehirinin uygun bir hayvana, çoğunlukla atlara enjekte edilmesi sonrası uygun bir süre sonra uygulama yapılan hayvanların serumundan spesifik antikorların elde edilmesi gibi titizlikle gerçekleştirilmesi gereken bir süreçtir. Venom enjekte edilen hayvanlarda venomun kalitesi, miktarı ve uygulama yerine bağlı olarak birçok fizyolojik ve patolojik bulgu görülmektedir. *Androctonus crassicauda* venomu ulusal akrep antivenomu üretiminde kullanılmaktadır. *A. crassicauda* Türkiye’de Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde (Elazığ, Diyarbakır, Şanlıurfa, Mardin, Adana, Hatay, Malatya, Mersin) *Leiurus abduhbayrami* ise Güneydoğu Anadolu bölgesinde (Gaziantep, Adıyaman, Kilis, Şanlıurfa, Mardin) sıklıkla görülen türlerdir. Bu çalışmanın amacı, *A. crassicauda* zehiriyle elde edilen ulusal akrep antivenomunun; *L. abduhbayrami* türlerine karşı etkinliğini değerlendirmektir.

Yöntem: Çalışmada, *A. crassicauda* venomu ile immunize edilen atlardan elde edilen ulusal akrep antivenomu kullanıldı. *A. crassicauda* ve *L.*

ABSTRACT

Objective: The preparation of the scorpion antivenom is a process that must be meticulously performed, such as obtaining specific antibodies from the serum of the injected animal after a suitable period of time after the relevant venom has been administered to a suitable animal, mostly horses. Many physiological and pathological symptoms occur in the treated animal, depending on the quality, quantity and application of the venom injected. *Androctonus crassicauda* venom is used in the production of national scorpion antivenom. *A. crassicauda* is a common species in Eastern and Southeastern Anatolia (Elazığ, Diyarbakır, Şanlıurfa, Mardin, Adana, Hatay, Malatya, Mersin) and *Leiurus abduhbayrami* is a common species in Southeastern Anatolia (Gaziantep, Adıyaman, Kilis, Şanlıurfa, Mardin). The aim of this study is that the national scorpion antivenom obtained with *A. crassicauda* venom; to evaluate its effectiveness against *L. abduhbayrami*.

Methods: National scorpion antivenom obtained from horses immunized with *A. crassicauda* venom was used in the study. The venoms of *A. crassicauda* and *L.*

¹Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ankara

²Albula Serum Biyolojik Ürünler, Eskişehir

³Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Derya ALTUN

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi J Blok Sıhhye - Ankara - Türkiye

E-posta / E-mail : derya_pilavci@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.10.2021

Kabul Tarihi / Accepted : 25.01.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2022.34445

Kanat MA, Altun D, Kılıç K, Namlı Bozkurt EN, Turan E, Cengiz G, Bozyiğit İ. *Androctonus crassicauda* antivenomunun *Leiurus abduhbayrami* venomuna karşı çapraz koruyuculuğunun değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2022; 79(1): 47 - 58

abdullahbayrami türü akreplerin zehirleri elektriksel uyarı ile elde edildi. Her iki türün zehirleri 1 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Her iki türün zehiri için farelerde letal doz 50 (LD₅₀) değerleri belirlendi. *A. crassicauda* akrep antivenomunun iki katlı dilüsyonları hazırlandı ve *A. crassicauda* ve *L. abdullahbayrami* venomlarına karşı farelerde etkili doz 50 (ED₅₀) değerleri hesaplanarak nötralizasyon ünitesi (NU) belirlendi. Nötralizasyon testi ile *A. crassicauda* antivenomunun potens değeri ve *L. abdullahbayrami* venomuna karşı antivenomun çapraz koruyuculuğu hesaplandı.

Bulgular: *A. crassicauda* venomunun LD₅₀'si 5,761 µg/fare, *L. abdullahbayrami* venomunun LD₅₀'si 5,265 µg/fare bulundu. ED₅₀, *A. crassicauda*'da 0,1767 bulunurken, *L. abdullahbayrami*'de 0,25 tespit edildi. *A. crassicauda* antivenomuna karşı potens değerleri ise *A. crassicauda* ve *L. abdullahbayrami* için sırasıyla 90,5488 NU/ml ve 64 NU/ml olarak elde edildi.

Sonuç: Çalışmamız, *A. crassicauda* antivenomunun *L. abdullahbayrami* akrep sokmalarında da güvenle kullanılabilirliğini göstermiş olup *A. crassicauda* antivenomunun *L. abdullahbayrami* akrep sokmalarının tedavisinde kullanılabilirliğini gösteren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Akrep, zehir, panzehir, *Androctonus crassicauda*, *Leirus abdullahbayrami*

abdullahbayrami scorpions was obtained by electrical stimulation. The venoms of both species were prepared at 1 mg/ml. Lethal dose 50 (LD₅₀) values were determined in mice for venoms of both species. Two-fold dilutions of *A. crassicauda* scorpion antivenom were prepared and the neutralization unit (NU) was determined by calculating the effective dose 50 (ED₅₀) values in mice against *A. crassicauda* and *L. abdullahbayrami* venoms. Potency value of *A. crassicauda* antivenom and cross-protection of antivenom against *L. abdullahbayrami* venom were calculated by neutralization test.

Results: The LD₅₀ of *A. crassicauda* venom was 5.761 µg/mouse and the LD₅₀ of *L. abdullahbayrami* venom was 5.265 µg/mouse. ED₅₀ was found 0.1767 in *A. crassicauda* and 0.25 in *L. abdullahbayrami*. Potency values against *A. crassicauda* antivenom were obtained as 90.5488 NU/ml and 64 NU/ml for *A. crassicauda* and *L. abdullahbayrami*, respectively.

Conclusion: Our study showed that *A. crassicauda* antivenom can also be used safely in *L. abdullahbayrami* scorpion stings and our study is the first study showing that *A. crassicauda* antivenom can be used in the treatment of *L. abdullahbayrami* scorpion stings.

Key Words: Scorpion, venom, antivenom, *Androctonus crassicauda*, *Leirus abdullahbayrami*

GİRİŞ

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı (RSHMB) akrep zehiri çalışma laboratuvarında Türkiye'de bulunan akreplere özgü ulusal akrep antivenomu üretimi 1942 yılında yapılmaya başlandı. Türkiye'de görülen tüm akrep sokması vakalarında ulusal akrep antivenomu kullanılmakta olup günümüzde de Serum Üretim Laboratuvarında ulusal akrep antivenomu üretimi devam etmektedir.

Antijenik özelliğinden dolayı *Androctonus crassicauda* (kara akrep) venomu ulusal akrep antivenomu üretiminde kullanılmaktadır. *A. crassicauda* venomunun atlara enjekte edilmesinden uygun bir süre sonra uygulama yapılan hayvanların serumundan spesifik antikörlerin elde edilmesi ile antivenom elde edilmektedir. Uygulama yapılan hayvanlarda enjekte edilen zehirin kalitesi, miktarı ve uygulama yerine bağlı olarak birçok fizyolojik ve patolojik bulgu görülmektedir.



Şekil 1a. *Androctonus crassicauda* (Kara akrep) HSGM Serum Üretim Laboratuvarı (Şanlıurfa)



Şekil 1b. *Leiurus abdullahbayrami* (Sarı akrep) HSGM Serum Üretim Laboratuvarı (Adıyaman)

A. crassicauda'nın Türkiye'de varlığı ilk kez Vachon (1951) tarafından saptanmıştır. *A. crassicauda*; Orta Asya ve Türkiye'de tıbbi yönden en önemli türdür (1, 2). *A. crassicauda* zehirinin tipik etkileri; sokulan sahada şiddetli ağrı ve his kaybının yanı sıra şiddetli nörolojik etkilerle birlikte hipertansiyondur. *A. crassicauda* türünden elde edilen venom, antivenom üretiminde antijen olarak kullanılmaktadır (2, 3). Üretim yönünden monovalan karakterde üretilen *A. crassicauda* kaynaklı ulusal akrep antivenomu; farklı akrep türlerinin venomlarına karşı etkili olması nedeniyle de polivalan özellik gösteren bir antiserumdur (2-4). *A. crassicauda*'nın Türkiye'de daha çok Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde özellikle Elazığ (Palu), Diyarbakır, Şanlıurfa (Harran-Akçakale), Mardin, Adana, Hatay, Malatya, Mersin illerinde bulunduğu bildirilmiştir (5). Türkiye'de görülen *Leiurus* türü akrepler 2009 yılına kadar *L. quinquestriatus* türü olarak bilinmekteydi. *L. quinquestriatus*, Türkiye'de ilk kez Tulga tarafından 1959 yılında Adıyaman'da tespit edilmiş olup tür tayini Shulov tarafından yapılmıştır (1,2). *L. quinquestriatus* dünyanın en zehirli akreplerinden biridir, tıbbi önemi oldukça fazladır. Bol miktarda kardiyotoksin içeren zehiri esas olarak nörotoksiktir; ölümler kardiyovasküler etkiler ve solunum disfonksiyonu sonucudur. Ancak zehiri antijenik yönden antivenom

üretimine elverişli değildir (2). Farelerde 0,16-0,50 mg/kg olarak bildirilen LD₅₀ toksisite seviyeleri, bu türün akreplerde tanımlanan en toksik zehirlerden birine sahip olduğunu göstermektedir. Akrep sokmalarının klinik çerçevede kardiyojenik şok ve/veya pulmoner ödem, akut kalp yetmezliği ya da ölümlerle sonuçlandığı bildirilmektedir. Akrep venom toksinlerinin hipertansiyon ya da hipotansiyon, hipotermi, taşikardi, hipersalivasyon, miyokardit, pankreatit, hiperglisemi, hiperamilazemi, anksiyete, nörotoksisite ve koagülasyon bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (6). *L. quinquestriatus*, ilk olarak Ehrenberg tarafından 1828'de *A. quinquestriatus* olarak tanımlanmıştır. 1949'da Max Vachon, *Leiurus*'u, *L. quinquestriatus quinquestriatus* (Ehrenberg, 1828) ve *L. quinquestriatus hebraeus* (Birula, 1908) alt türlerini içeren *L. quinquestriatus*'tan (Ehrenberg, 1828) oluşan monotipik bir cins olarak tanımlamıştır. Afrika'da daha çok *L. quinquestriatus quinquestriatus* görülürken, Asya'da *L. quinquestriatus hebraeus* populasyonlarının bulunduğu bildirilmiştir (7). Ürdün'den *L. jordanensis* (8), Kamerun'dan *L. savanicola* (7), Yemen'den *L. nasheri* (9) ve Türkiye'den bildirilen *L. abdullahbayrami* ile *Leiurus* cinsinin tür sayısı beşe çıkmıştır. Yagmur ve ark. (10), *Leiurus* cinsinin bilinen tüm Türk populasyonlarını incelemiş ve

hepsinin yeni tür yani *L. abduhbayrami*'yi temsil ettiğini saptamış, Türkiye'de görülen tüm *Leirus* cinsi akreplerin *L. abduhbayrami* türü olduğu kabul edilmiştir. Daha sonra 2010'da Suriye'den de *L. abduhbayrami* bildirim yapılmıştır (11). *L. abduhbayrami* türü akrep Türkiye'ye endemik bir türdür ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde Gaziantep, Adıyaman, Kilis, Şanlıurfa, Mardin illeri ve çevresinde dağılım göstermektedir. Yapılan çalışmalar, *L. abduhbayrami*'nin *L. quinquestriatus*'tan tür düzeyinde farklılıklar içerdiğini göstermiştir (10). Bu tür ayrıca Filistin, Suriye ve Kuzey Afrika'da da bulunmuştur (12). *L. abduhbayrami* 2009 yılına kadar *L. quinquestriatus* olarak tanımlandığı için *L. abduhbayrami* türü ile yapılan çalışmalar çok yeni ve az sayıdadır. Protein sekanslama çalışmalarında BLAST benzerlik analizi ile *L. abduhbayrami* zehrinin peptid dizilimine en yakın dizilim %98'lik oranla *L. quinquestriatus* habraeus'tan saflaştırılan Lqh6 peptidi olarak belirlenmiştir (13). Birçok çalışmada, ham akrep venomları elektriksel uyarı ile çeşitli akreplerden elde edilmiş ve kullanılan antivenomların etkinliği Letal Doz 50 (LD₅₀), Etkili Doz 50 (ED₅₀) değerleri hesaplanarak antivenomların potensleri değerlendirilmiştir (32-36).

Bu çalışmanın amacı, *A. crassicauda* zehiriyle elde edilen ulusal akrep antivenomunun; *L. abduhbayrami* türlerine karşı etkinliğini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Akrepler ve zehirleri

A. crassicauda akrepleri (Şanlıurfa) ve *L. abduhbayrami* akrepleri (Adıyaman) Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanmış; Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (HSGM) Serum Üretim Laboratuvarında beslenen akreplerdir. Akreplere günlük olarak su verilmekte ve her sağımdan sonra çekirge ile beslenmektedirler. Ham venomun eldesi elektrostimülasyon sağım yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elektrostimülatör ile 20 V, 10

Hertz' lik elektrik akımı pens yardımı ile tutulan akreplerin telsonuna anot ve katot uç olmak üzere iki adet elektrot kullanılarak uygulanmıştır (14).

Venomun eldesi ve peptid miktarının belirlenmesi

1,5 ml'lik tüp içerisine toplanan venomlar deiyonize su ile çözülerek 4 °C'de, 15 dakika, 14.000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı yeni bir tüpe alınarak soğutmalı vakum kurutucuda kurutulmuştur. Elde edilen liofilize venomlar etiketlenerek daha sonraki deney aşamalarında kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır (15). Elde edilen ham venomun venom konsantrasyonu hesaplanmıştır. Spektrofotometrik ölçümler 280 nm (A280) dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (16). Venom konsantrasyonları 1mg/ml olacak şekilde NanoDrop spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Antivenom

Ulusal akrep antivenomu; üretim yönünden monovalan, farklı akrep türlerinin venomlarına karşı etkili olması nedeniyle de polivalan özellik gösteren, *A. crassicauda* zehrinin atlara enjeksiyonu ile hazırlanan bir antiserumdur. Uygun bir süre sonra aşılınmış hayvanların serumundan spesifik antikörlerin toplanması ile elde edilmekte; uygulama yapılan atların serumlarının eş-volümetrik havuzlarından oluşturulmaktadır.

Deney Hayvanları

Letal doz 50 (LD₅₀), Etkili doz 50 (ED₅₀), nötralizasyon ünitesi (NU) ve potens değerlerini belirlemek için 18-20 g laboratuvarda yetiştirilmiş dişi Swiss Albino fareler kullanılmıştır (17). Tüm fare deneyleri, HSGM Deney hayvanları laboratuvarlarında Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu'na uygun olarak gerçekleştirilmiştir (4). Deney hayvanları %60 ± 10 nem ile laboratuvar ortam sıcaklığında tutulmuş ve ticari kemirgen peletleri ve yeteri kadar su ile beslenmiştir.

Letal Doz 50 (LD₅₀) Tayini

A. crassicauda ve *L. abduhbayrami* zehirlerinin farklı dozları, geleneksel tekniklere ve akrep serum monografına göre farelere intravenöz olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 48 saat sonra ölümlerin

sayısı kaydedildi ve LD₅₀ değerleri (%50 istatistiksel ölüme neden olan zehir dozu) µg/fare cinsinden hesaplanmıştır. Hesaplama işlemi Spearman-Kärber metodu ile yapılmıştır (17,18).

Letalite nötralizasyonu

A. crassicauda ve *L. abduhbayrami* venomları 5 LD₅₀/0,25ml olacak şekilde test venomu (Tv) solüsyonu hazırlanmıştır. HSGM Serum Üretim Laboratuvarı tarafından üretilen *A. crassicauda* akrep antivenomunun iki katlı dilüsyonları hazırlanmıştır. Farklı antivenom dilüsyonları, *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* venomlarının Tv solüsyonları ile 30 dakika süreyle 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, örnekler farelere (n=6) kuyruk veninden intravenöz (i.v.) olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 48 saat sonra ölümlerin sayısı kaydedilmiştir. Antivenomun *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* venomlarına karşı farelerde Etkili Doz 50 (ED₅₀) değeri Reed&Muench metodu ile hesaplanarak nötralizasyon ünitesi (NU) değerleri belirlenmiştir. Antivenomun potens değerleri NU/ml cinsinden her iki akrep venomu için hesaplanmıştır (17).

Akrep zehirlerinin jel elektroforezi (SDS-PAGE)

L. abduhbayrami venomunun protein profilinin belirlenmesi için sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yapılmıştır (19). Tris Tricine yürütme çözeltisi kullanılmıştır. İndirgenmemiş metot ile %12 ayırma jeli, %4 yükleme jeli oranlarına sahip jeller hazırlanarak yürütme yapılmıştır. Düşük moleküler ağırlığa sahip küçük proteinlerin analizi için de %16 ayırma jeli, %4 yükleme jeli oranlarına sahip jeller hazırlanmış ve hem indirgenmiş hem de indirgenmemiş metot ile çalışma yapılmıştır. Proteinlerin moleküler ağırlıklarını hesaplamak için Ultra Low Range Marker (SİGMA 1,060-26,600 Da) ve Wide Range Marker (SİGMA 6,500- 200,00 Da) paralel olarak çalıştırılmıştır. SDS-PAGE çalışması oda sıcaklığında 120 V'da yaklaşık 2,5-3 saat yürütülerek yapılmıştır. Yürütmenin sonunda jeller Coomassie brilliant blue ile boyanmıştır.

Etik Kurulu Onayı

Bu çalışma, Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz kurumu Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'nun onayından sonra Biyolojik Ürünler ve Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda yapılmıştır (Onay numarası: E.39634851-1121844, Onay tarihi: 29.09.2021).

Bu çalışmada, gerçekleştirilen tüm işlemler Helsinki Deklarasyonu'nun (2008) etik standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Hayvanları ilgilendiren tüm prosedürler, benimsenen hayvan araştırmaları etik ilkelerine uygundur.

BULGULAR

Letal Doz 50 (LD₅₀) Tayini

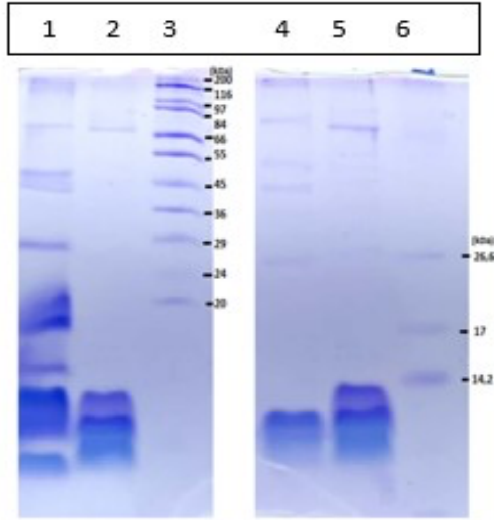
A. crassicauda ve *L. abduhbayrami* zehirlerinin farklı dozları ile LD₅₀ değerleri sırasıyla 5,265 µg/fare ve 5,761 µg/fare olarak hesaplanmıştır.

Letalite nötralizasyonu

A. crassicauda antivenomunun *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* venomlarına karşı farelerde ED₅₀ değerleri sırasıyla 0,25 ve 0,1767 olarak belirlenmiştir. Spesifik nötralizasyon potansı, *A. crassicauda* zehirinden 90,5488 NU/ml iken, *L. abduhbayrami* zehirinden 64 NU/ml bulunmuştur. Bu sonuç; 1 ml ulusal akrep antivenomu, 90,5488 LD₅₀ gücünde *A. crassicauda* venomunu nötralize etmekte iken, 64 LD₅₀ gücünde *L. abduhbayrami* venomunu nötralize etmektedir şeklinde yorumlanmaktadır.

Akrep venomlarının jel elektroforezi (SDS-PAGE)

L. abduhbayrami venomuna ait indirgenmemiş %12 SDS-PAGE çalışması'nda (Şekil 2) 84-66 kDa aralığında yaklaşık 70 kDa'da çok yoğun olmayan bir protein bandı görülmüştür. *L. abduhbayrami*'de asıl bant yoğunlukları 14,2 kDa altında olduğu tespit edilmiştir. 70 kDa ile 14,2 kDa aralığında herhangi bir bant görülemedi. Diğer akrep venomlarına ait profiller protein bantları açısından çok daha zengin olduğu belirlenmiştir. *L. quinquestriatus quinquestriatus*'a ait profillerde 84 kDa ile 24 kDa aralığında dört temel protein bandı bulunmuştur. 14,2 kDa ile 6,5 kDa aralığında da düşük moleküler



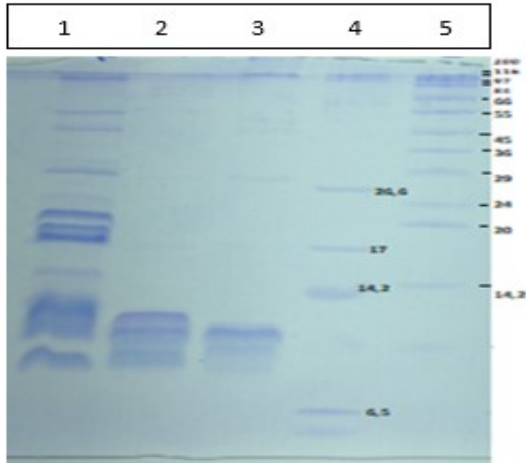
Şekil 2. İndirgenmemiş %12 SDS-PAGE çalışması

1-*Androctonus crassicauda*
 2-*Leiurus abdullahbayrami*
 3-Wide Range Marker
 4-*Leiurus quinquestriatus*
quinquestriatus
 5-*Leiurus abdullahbayrami*
 6-Low Range Marker

ağırlığa sahip yoğun bir protein bant profili görülmüştür. *A. crassicauda*'ya ait profillerde 84 kDa - 66 kDa aralığında yoğun olmayan bir bant, 55 kDa - 36 kDa aralığında iki protein bandı ve 29 kDa - 6,5 kDa aralığında beş yoğun protein bandı belirlenmiştir.

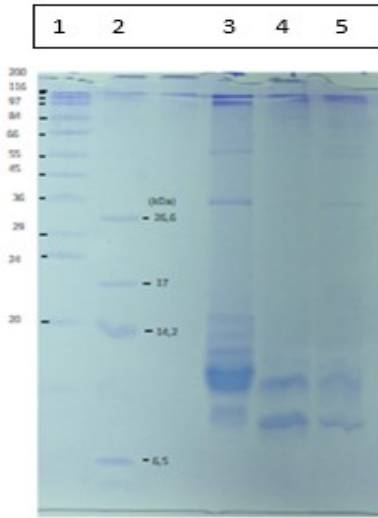
L. abdullahbayrami venomu karakteristik olarak geniş bir protein profiline sahip olmadığı ve daha yoğun olarak düşük moleküler ağırlıklı peptitleri içerdiği belirlenmiştir. *L. abdullahbayrami* ve *L. quinquestriatus quinquestriatus* venomunun düşük

moleküler ağırlıklı profillerinin ayırımını sağlamak için %16'lık jelde hem indirgenmiş hem de indirgenmemiş Tris-Tricine SDS-PAGE yöntemi (Şekil 3 ve Şekil 4) çalışılmıştır. *L. abdullahbayrami* ve *L. quinquestriatus quinquestriatus* venomunda 14,2 kDa altında bulunan yoğun bant profiline peptit içeriği ayırımı net olarak sağlanamamıştır. Bu ayırımı sağlamak için daha ayrıntılı moleküler, biyokimyasal ve proteomik analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 3. İndirgenmemiş %16 SDS-PAGE çalışması

1-*Androctonus crassicauda*
 2-*Leiurus abdullahbayrami*
 3-*Leiurus quinquestriatus*
quinquestriatus
 4- Low Range Marker
 5- Wide Range Marker



Şekil 4. İndirgenmemiş %16 SDS-PAGE çalışması

1-Wide Range Marker
 2-Low Range Marker
 3-*Androctonus crassicauda*
 4-*Leiurus abduallahbayrami*
 5-*Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*

Deney Hayvanlarının Klinik Gözlemi

Farelerin venom enjeksiyonundan sonra aşırı uyanılma, ajitasyon, agresif davranış, gıcırta ve kavga, taşipne, konvülsiyonlar, halsizlik, felç, koma gibi zehirlenme semptomları sonrası öldüğü gözlenmiştir. Ayrıca farelerde hipersalivasyon veya lakrimasyon saptanmamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Akrep sokma vakalarının çoğunda akrep ne görülebilmekte ne de tanımlanabilmektedir. Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde meydana gelen akrep sokmalarında en çok *A. crassicauda* ve *L. abduallahbayrami*'nin görüldüğü, geri kalan vakalara ise tanımlanamayan akreplerin neden olduğu bilinmektedir. Her iki akrep türü de *Buthidae* familyasında yer almaktadır (10). Akrep sokma vakalarının yarısından fazlasının Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde olduğu ve daha çok yaz aylarında görüldüğü rapor edilmektedir (20, 21). Tüm akrep türlerinin zehirli olduğu ve akrep sokmalarında, kişinin yaşına, kilosuna, sokulan bölgeye ve vücuda giren doz miktarına bağlı olarak hayati tehlike oluşturabilecek komplikasyonların gelişebileceği bildirilmektedir.

Akrep sokması sonucu; sokulan bölgede şiddetli lokal ağrılar, yüksek ateş ve kızarma, yoğun terleme, ağız suyu akıntısı, karın bölgesinde kramp, hipotermi ve hipertansiyon gibi rahatsızlıklar oluşabilmektedir. Ölümle sonuçlanan vakalar genellikle çocuklarda ve bağışıklığı zayıf yaşlı bireylerde görülmektedir. Akrep sokmalarında ilk 24 saatteki antiserum uygulamasının hayati tehlikeyi büyük ölçüde azalttığı bildirilmektedir (20, 22-24). Bir çalışmada, *L. abduallahbayrami* zehirlenmesinin özellikle çocuklarda akreple ilişkili kardiyomiyopati ve akut akciğer ödemine neden olabileceğini gösterilmiştir (25). Altınkaynak ve ark. (26) Türk antivenomunun (*A. crassicauda* antivenomu) *Mesobuthus gibbosus* türü akrep sokma vakalarının %91,6'sında etkili olduğu için akrep sokması tedavisinde kullanılmasını önermişlerdir. Soker ve Haspolat (27) ise Güneydoğu Anadolu'da akreple ilgili tüm vakaların %90,3'ünde Türk antivenomunun etkili olduğunu doğrulamışlardır. Günümüzde de ulusal akrep antivenomu tedavide başarıyla kullanılmaktadır (23, 24). Ozkan ve Alcigir (28), tavşan modelleme çalışması ile *L. abduallahbayrami* ve *A. crassicauda* zehirlerinin patomorfolojik bulgularını inceledikleri çalışmalarında, yeni tanımlanan *L. abduallahbayrami* venomunun, *A. crassicauda* venomundan daha zehirli olduğunu

ve vücut ağırlıklarının daha düşük olması nedeniyle özellikle bebekler için *L. abduhbayrami*'nin ciddi tehdit oluşturabileceğini bildirmişlerdir. Akrep sokmasının ardından türe özgü antivenom ile tedavinin mümkün olmadığı durumlarda, *A. crassicauda*'ya karşı kullanılan antivenom diğer akrep türlerinin sokmaları için kullanılabilir (29). Türkiye'de monovalan *A. crassicauda* antivenomu 1942'den beri tüm akrep sokmalarında kullanılmaktadır (20). Bu nedenle, ulusal akrep antivenomunun diğer akrep zehirlerine karşı da etkililiği araştırılmalıdır. Akrep zehirlerinin kalitesi; akreplerin cins, tür, cinsiyet, vücut ağırlığı, coğrafi kökeni, yapı ve zehir miktarına göre değişiklik gösterebilir. Zehir çıkarma prosedürleri ve LD₅₀ belirleme yöntemine bağlı olarak da toksisiteyi değiştirir. Antivenom üretimi sırasında zehir toksisitesi ve kalitesindeki değişiklik de dikkate alınmalıdır (29, 30). Çeşitli ülkelerdeki potens analizleri incelendiğinde en kabul edilebilir testin standart murin letalite testi (zehirin LD₅₀ ve antivenomun ED₅₀'sinin belirlenmesi) olduğu fark edilmiştir. Bunun yanı sıra testin gerçekleştirilme şekli, enjekte edilen hacimler, venom/antivenom karışımlarının enjekte edilme yolları, LD₅₀ değeri, kullanılan fare cinsi ve hayvanların ağırlıkları gibi önemli farklılıkların potens etkilediği de bildirilmiştir (29). Hayvanların %50'sini öldürmek için gerekli zehir miktarı olan LD₅₀, standart bir toksin potens ölçüsü olmasına rağmen, akrep zehirinin değişikliği nedeniyle yapılan çalışmalarda farklı gözlemlenen bir gösterge olmuştur (20, 31, 34-37). Ozkan ve ark. (31)'nin farelerde subkutan enjeksiyonla *L. abduhbayrami* zehrinin medyan letal dozunu (MLD) 0,19 mg/kg olarak buldukları çalışmaları *L. abduhbayrami*'nin letal dozu hakkındaki ilk rapor olmuştur (31). Çalışmamızda *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* LD₅₀ değerleri sırasıyla 5,265 µg/fare ve 5,761 µg/fare olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda, LD₅₀ ve ED₅₀ değerleri kullanılarak *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* zehirlerinin LD₅₀'sini nötralize etmek için gerekli olan ulusal akrep antivenom miktarları hesaplanmıştır. Sonuçlarımıza göre, 1 ml

ulusal akrep antivenomu, 90,5488 LD₅₀ gücünde *A. crassicauda* venomunu nötralize etmekte iken, 64 LD₅₀ gücünde *L. abduhbayrami* venomunu nötralize etmiştir. Ozkan ve ark. (31), çalışmalarında *L. abduhbayrami* venom protein içeriğini 0,513 mg/ml olarak bulmuşlardır. SDS-PAGE ile 4 ile 6 kDa da daha güçlü olmak üzere 4, 6, 31 ve 46 kDa dört farklı protein bandı tespit etmişler. *L. abduhbayrami* akrep venomunun, elektroforetik protein modellerine göre hem kısa hem de uzun zincirli nörotoksinlere sahip olduğunu göstermişlerdir (31).

Çalışmamızda, *L. abduhbayrami* venomuna ait SDS-PAGE çalışmasında (Şekil 2) 84-66 kDa aralığında yaklaşık 70kDa'da çok yoğun olmayan bir protein bandı tespit edilmiştir. *L. abduhbayrami*'de asıl bant yoğunluklarının 14,2 kDa altında olduğu saptanmıştır. 70 kDa ile 14,2 kDa aralığında ise herhangi bir bant tespit edilememiştir. *L. abduhbayrami* venomunda 4 ila 6 kDa'lık moleküler ağırlıklara karşılık gelmesi beklenen uzun zincirli ve kısa zincirli peptid toksinleri ayrılanamamıştır. Bu ayrımın sağlanabilmesi için daha ayrıntılı moleküler, biyokimyasal ve proteomik analizler yapılması gerekmektedir.

Akrep sokması tedavisinde antivenomlar hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Çok sayıda epidemiyolojik ve klinik çalışma, antivenomun akrep sokması vakalarında başarıyla kullanıldığını göstermektedir (2, 20, 22-24, 31-36). Tulga (2), *L. quinquestratus* venomundan ürettiği antivenom ile 150 g ağırlığındaki sıçanlarda nötralizasyon testi yapmış ve 200 µl *L. quinquestratus* antivenomunun, sadece 2 MLD *L. quinquestratus* venomunu nötralize ettiğini, ancak 2.5 MLD *A. crassicauda* venomunu nötralize etmediğini bulmuştur. Bununla birlikte, eşit miktarda (0.2 ml) *A. crassicauda* antivenomunun, 2 MLD *L. quinquestratus* venomunu nötralize ettiğini de bildirmiştir. Ayrıca, *L. quinquestratus* zehirinin *A. crassicauda* zehirinden dört ila beş kat daha toksik olduğunu vurgulamıştır. Fakat antijenitesinin düşüklüğünden dolayı *L. quinquestratus* venomu antivenom üretiminde etkin kullanılamamaktadır. Tulga'nın (2) tespitlerine göre akrep venomlarında,

zehirlilik ile antijenite arasında bir ilişki olamayacağı, venomlarda türe özgü ayrı bir antijen bileşenin varlığını düşünmenin gerektiği belirtilmiştir. *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami*'ye karşı iki ayrı spesifik monovalan antivenom elde edildikten sonra, laboratuvar hayvanlarında nötralizasyon deneylerinden alınan sonuçlara göre, *A. crassicauda* antivenomunun 2 ml'lik miktarı beş akrebin homolog venomunu nötralize edebiliyorken aynı miktarda *L. abduhbayrami* antivenomunun ancak bir akrebe karşılık gelen homolog venomunu nötralize edebildiği görülmüştür. Bu sonuç, *A. crassicauda* venomunun *L. abduhbayrami* akrebinin venomuna göre daha üstün bir antijenik nitelik taşıdığını ortaya koymaktadır. Bu nötralizasyon deneylerine paralel olarak yapılan çapraz koruma deneylerinden alınan sonuçlara göre ise, *A. crassicauda* antivenomunun aynı ölçüler içinde *L. abduhbayrami* venomunu da nötralize ettiği, fakat aksinin mümkün olmadığı tespit edilmiştir. Türkiye'nin her yerinde güvenle kullanılacak akrep antivenomunun, çok zehirli *L. abduhbayrami* venomuna karşı hazırlanmış antivenom değil, bundan 4-5 kez daha az zehirli *A. crassicauda*'ya karşı hazırlanmış monovalan serum olabileceği ortaya konulmuştur (12). Tulga (3) 1964'de İsrail'de yapılan çalışmada, *A. crassicauda* zehirine karşı hazırlanan Türk antivenomunun *L. quinquestriatus* zehirini nötralize edebildiğini gözlemlediklerini bildirmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yürütülen bir çalışmada, Türkiye'de Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nde hazırlanan Türk antivenomunun kendi homolog venomunu uygun seviyede nötralize ettiği gözlenmiştir. Birbirinden farklı sekiz monovalan antivenom (Cezayir, Brezilya, Güney Afrika ve Meksika gibi ülkelerde üretilen) denenmiş ve Türk antivenomunun Cezayir'deki *A. australis* akrebinin venomunu kendi antivenomundan daha etkili nötralize ettiği bulunmuştur. Türk antivenomunun ayrıca, Güney Avrupa ile Kuzey Afrika'da bulunan *Buthus occitanus* ile Güney Amerika türü olan *Tityus serrulatus* türlerinin venomlarını da kendi antivenomlarıyla eşit seviyede nötralize ettiği bildirilmiştir. Türkiye'nin ürettiği

antivenomun Kuzey Amerika akrep türleri *Centruoides sculpturatus* ve *C. vittatus*'un venomlarıyla, Güney Afrika akrep türü olan *Parabuthus* spp.'nin venomunu ise homolog antivenom derecesinde olmasa da, onlara yakın bir seviyede nötralize ettiği gösterilmiştir (32). DSÖ'nün çalışmasında, Türkiye'de *A. crassicauda*'dan üretilen antivenomun bilinen antivenomlardan daha iyi sonuç verdiği görülmüştür (12, 32). Günümüzde, *A. crassicauda* antivenomunun, diğer akrep türlerinin sokmalarına karşı koruyuculuğunu bildiren başka çalışmalar da mevcuttur. Ozkan ve ark. (33) çalışmalarında *A. crassicauda* antivenomunun, hem *A. crassicauda* hem de *M. gibbosus* zehirlerini nötralize ettiğini bildirmiştir. *A. crassicauda* antivenomunun farelerde 20 MLD (MLD'nin 20 katı) *M. gibbosus* venomunu nötralize edebildiğini belirtmişlerdir. Ozkan ve Carhan (34), *A. crassicauda* antivenomunun Türkiye'deki *Mesobuthus eupeus* akrep sokmalarının tedavisinde de kullanılabileceğini göstermişlerdir. *A. crassicauda* antivenomunun *M. eupeus* ve *A. crassicauda* akrep zehirlerine karşı nötralizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında LD₅₀ değerlerini sırasıyla 0,18 mg/kg, 15,45 µg/kg olarak bulmuşlardır. Bir ml *A. crassicauda* antivenomunun farelerde 464 LD₅₀ *M. eupeus* zehirini ve 940 LD₅₀ *A. crassicauda* zehirini nötralize ettiğini ve monovalan *A. crassicauda* antivenomunun, *M. eupeus* akrep zehirine karşı da immünoaktiviteye ve nötralize etme kapasitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ozkan ve ark. (35) *A. crassicauda* antivenomunun *L. quinquestriatus* zehirine etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, farelerde 0,4 ml *A. crassicauda* antivenomunun 10 MLD *L. quinquestriatus* zehirini nötralize ettiğini göstermişlerdir. Ozkan ve Yagmur (36), ulusal akrep antivenomunun *M. eupeus eupeus*, *M. gibbosus* akrepleri üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında *M. eupeus eupeus*, *M. gibbosus* ve *A. crassicauda* akrep zehirleri için sırasıyla 1,92 mg/kg (i.v.), 0,67 mg/kg (s.c.) ve 0,24 mg/kg (s.c.) LD₅₀ değerlerini bulmuşlardır. Bir ml ulusal akrep antivenomunun farelerde 23 LD₅₀ *M. e. eupeus*, 32 LD₅₀ *M. gibbosus* ve 42 LD₅₀ *A. crassicauda* zehirini nötralize ettiğini tespit etmişlerdir. Ulusal akrep antivenomunun

hem spesifik zehir ile hem de *Mesobuthus* türü zehirleri ile güçlü bir şekilde reaksiyona girdiği gösterilmiş ve *M. eupeus eupeus* ve *M. gibbosus* akrep sokmaları tarafından zehirlenmelerin tedavisinde kullanılabilceği bildirilmiştir.

Akrep sokmalarının sıklıkla yaşandığı ülkelerde polivalan ve monovalan karekterde akrep antiserumu üretimi yapılmaktadır (37,38). VACSERA polivalan at kaynaklı akrep antiserumunun Mısır ve Yemen akrepleri üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, Mısır kaynaklı *L. quinquestriatus*, *A. crassicauda*, *A. amorexi* ve *A. australis* türleri için LD₅₀ değerleri sırasıyla 6,9, 8,3, 12,5 ve 6,94 LD₅₀/fare bulunurken, Yemen kaynaklı *L. quinquestriatus*, *Buthus* spp. ve *A. australis* türleri için 6,4 ± 6, 20,7 ve 7,0 LD₅₀/fare bulunmuştur. *L. quinquestriatus* ve *A. crassicauda* zehirlerinin atlara enjeksiyonu ile elde edilen polivalan akrep antiserumunun Mısır kaynaklı *L. quinquestriatus*, *A. crassicauda*, *A. amorexi* ve *A. australis* türlerinin sırasıyla 70, 35, 45 ve 60 LD₅₀/fare potens değerleri ile nötralize etmede etkili olduğu saptanmıştır. Yemen kaynaklı *L. quinquestriatus*, *Buthus* spp. ve *A. australis* türleri için ise 70, 20 ve 60 LD₅₀/fare potens değerleri tespit edilmiştir (37). Farelerde *L. quinquestriatus* quinquestriatus akrep zehirinin öldürücü ve patofizyolojik değişikliklerine karşı polivalan iki antivenomun (Suudi Arabistan ve Mısır) etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmada, Mısır antivenomunun protein konsantrasyonunun Suudi Arabistan antivenomunun üç katı olduğu ve her iki antivenomun beklenen nötralizasyon kapasitelerini (60-70 LD₅₀) sağladıkları bildirilmiştir (38).

Sonuç olarak; çalışmamız *L. abduhbayrami* zehirlenmelerine karşı *A. crassicauda* antivenomunun etkinliğinin *invitro* ve *invivo* gözlemlendiği ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuç, *A. crassicauda* antivenomunun *L. abduhbayrami* akrep sokmalarında kullanıldığında akrep zehirlenmesinin önlenmesindeki etkinliğini göstermektedir. *A. crassicauda* antivenomunun klinik yararlarını belirlemek için diğer tür akrep sokmaları üzerinde de çalışmalar yapılmalıdır. *A. crassicauda* antivenomunun akrep sokmaları üzerindeki etkileri epidemiyolojik ve klinik çalışmalarla daha iyi tespit edilmelidir. Çalışmamız, *A. crassicauda* antivenomunun *L. abduhbayrami* ile akrep sokmalarında antivenom dozunda yapılacak ayarlama ile güvenle kullanılabilceğini göstermiştir. Türkiye'nin bugün için bilinen en zehirli akrebi *L. abduhbayrami* olmasına rağmen Türkiye'de antivenom üretimi bakımından en uygun antijen *A. crassicauda*'nın venomudur. Bu venomla hayvanların bağışıklanması çok kolay olduğu gibi, zehirlenmeler nedeniyle antivenom üretim hayvanı kaybı da yok denecek kadar az olmaktadır. Ayrıca *A. crassicauda* akrep türüne karşı hazırlanmış antivenomun oldukça geniş bir paraspesifik etki alanı olduğu ve bu antivenomun hem Türkiye'nin hem de Dünya'nın birçok bölgesinde bulunan *L. abduhbayrami* akrep sokmalarında tam bir güvenle uygulanabileceği gözlenmiştir. Diğer ülkelerde görülen *A. crassicauda* ve *L. abduhbayrami* türü akrep sokmalarına bağlı zehirlenmelerde de ulusal akrep antivenomunun rahatlıkla ve etkili bir şekilde kullanılabilceği bu çalışma ile ilk kez ortaya konulmuştur.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz kurumu Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih:29.09.2021 ve Karar No: E.39634851-1121844).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Oytun HŞ. Tıbbi Entomoloji. Ankara Ü Tıp Fak. Yayınları Sayı: 218. 1969.
2. Tulga T. Türkiye’de varlığı ilk defa tespit edilen bir akrep türü (*Buthus quinquestriatus*) ile *Prionurus crassicauda*’ya karşı hazırladığımız akrep serumları arasında çapraz proteksiyon deneyleri. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 1960; 20:191-203.
3. Tulga T. Türkiye’deki akrep serumu üretimindeki gelişmeler. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 1964; 24: 147-55.
4. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington DC: National Academy Press. Eighth Edition. 2011.
5. Ozkan O., Karaer K.Z. Türkiye Akrepleri. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2003; Cilt 60, No 2, S: 55-62.
6. Ortiz E, Gurrola GB, Schwartz EF, Possani LD. Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*, 2015;93:125-35.
7. Lourenço WR, Qi JX, Cloudsley-Thompson JL. The African species of the genus *Leiurus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones: Buthidae) with the description of a new species. *Bol Soc Entomol Aragonesa*, 2006;39:97-101.
8. Lourenço WR, Modry D, Amr Z. Description of a new species of *Leiurus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones, Buthidae) from the South of Jordan. *Revue Suisse de Zoologie*, 2002;109(3):635-42.
9. Kovarik F. *Leiurus nasheri* sp. nov. from Yemen (Scorpiones, Buthidae). *Acta Soc Zool Bohem*, 2007;71:137-41.
10. Yagmur EA, Koç H, Kunt KB. Description of a new species of *Leiurus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones: Buthidae) from Southeastern Turkey. *Euscorpius*, 2009;85(85):1-20.
11. Khalil N, Yagmur EA. *Leiurus abdullahbayrami* (Scorpiones: Buthidae), a new species for the scorpion fauna of Syria. *Serket*, 2010;12(1):1-6.
12. Filazi A, Ozkan O. The history of scorpion serum in Turkey. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2021;78(1): 107-116.
13. Ulutaş V. *Leiurus abdullahbayrami* türü akrep venomunun proteomik analizi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2017.
14. Corzo G, Escoubas P, Villegas E, Barnham KJ, He W, Norton RS, Nakajima T. Characterization of unique amphipathic antimicrobial peptides from venom of the scorpion *Pandinus imperator*. *Biochem J*, 2001;359(Pt 1):35-45.
15. Caliskan F, Quintero-Hernandez V, Restano-Cassulini R, Batista CVF, Zarnudio F Z, Coronas FI, et al. Turkish scorpion *Buthacus macrocentrus*: general characterization of the venom and description of Bu1, a potent mammalian Na-channel α -toxin.. *Toxicon* : official journal of the International Society on Toxinology, 2012; 59(3): 408-15.
16. Götze S, Saborowski R. NanoDrop fluorometry adopted for microassays of proteasomal enzyme activities. *Anal Biochem*, 2011;413(2):203-5.
17. Ozkan O. Scorpion antivenom production. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2008; 65(2): 97-108.
18. Bozyigit I, Koç F, Katili F, Ozkan O, Filazi A. Scorpion serum monograph. *Türk Pharmacopoeia Derg*, 2018; 10.13140/RG.2.2.28306.91845.
19. Çalışkan F, Sivas H, Sahin Y. A Preliminary study for the detection of gelatinolytic proteases from the scorpion *Androctonus crassicauda* (Turkishblack scorpion) venom. *Türk J Biochem*, 2009; 34(3): 148-53.
20. Adiguzel S, Ozkan O, Inceoglu B. Epidemiological and clinical characteristics of scorpionism in children in Sanliurfa, Turkey. *Toxicon*, 2007;49(6):875-80.
21. Ozkan O, Adiguzel S, Inceoglu B, Lango J, Ertek M, Hammock BD. Evaluation of the neutralizing capacity of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) antivenom against *Leiurus quinquestriatus* (Ehrenberg, 1928) venom (Scorpiones: Buthidae). *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2008; 14(3), 481-96.
22. Yakıncı C, Almış H, Demirbağ Ö, Kayhan E, Elkıran Ö. Son beş yıldaki akrep sokması olgularımız. *Ege Tıp Derg*, 2015; 54(2): 74-7.

23. Caglar A, Köse H, Babayigit A, Oner T, Duman M. Predictive factors for determining the clinical severity of pediatric scorpion envenomation cases in southeastern Turkey, Wilderness Environ Med, 2015; 26(4): 451-8.
24. Zengin, N., Anil, M., Anil, A. B., Can, F. K., Bal, A., Bicilioglu, Y., . . . Gökalp, G. Clinical characteristics of pediatric scorpion envenomation in the aegean region: An experience of a training and research hospital. Çocuk Acil Ve Yogun Bakım, 2016; 3(2), 69-75.
25. Dokur M, Doğan M, Yağmur E. Scorpion-related cardiomyopathy and acute pulmonary edema in a child who is stung by *Leiurus abduhbayrami*. Turk J Emer Med. 2017;17.
26. Altınkaynak S, Ertekin V, Alp H. Scorpion envenomation in children. Turk Arch Ped, 2002; 37: 48-54.
27. Soker M, Haspolat K. Güneydoğu ve Anadolu bölgesinde çocuklarda akrep sokması: 64 vakanın değerlendirilmesi. Çocuk Sağ Hast Derg, 2000; 43: 43-50.
28. Ozkan O, Alcigir ME. A comparative pathomorphological findings between *Leiurus abduhbayrami* and *Androctonus crassicauda* (Scorpion: Buthidae) envenomation in rabbit animal model. J Arthropod Borne Dis, 2019;13(1):104-15.
29. Theakston RD, Warrell DA, Griffiths E. Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. Toxicon, 2003; 41:541-57.
30. Krifi MN, Marrakchi N, el Ayeb M, Dellagi K. Effect of some variables on the in vivo determination of scorpion and viper venom toxicities. Biologicals, 1998; 26(4):277-88.
31. Ozkan O, Yagmur EA, Ark M. A newly described scorpion species, *Leiurus abduhbayrami* (Scorpion: Buthidae), and the lethal potency and in vivo effects of its venom. J Venom Anim Toxins incl Trop Dis, 2011; 17(4), 414-21.
32. Whittemore FW, Keegan HL, Borowitz JL. Studies of scorpion antivenins. 1. paraspecificity. Bull World Health Organ, 1961;25:185-8.
33. Ozkan O, Adiguzel S, Kar S, Yakistiran S, Cesaretti Y, Karaer KZ. Determination of potency and paraspecific effects of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) antivenom against *Mesobuthus gibbosus* (Brullé, 1832) venom (Scorpiones: Buthidae). J Venom Anim Toxins incl Trop Dis, 2007; 13(2): 500-8.
34. Ozkan O, Carhan A. The neutralizing capacity of *Androctonus crassicauda* antivenom against *Mesobuthus eupeus* scorpion venom. Toxicon, 2008 Aug; 1;52(2):375-9.
35. Ozkan O, Adiguzel S, Onceoglu B, Lango J, Ertek M, Hammock BD. Evaluation of the neutralizing capacity of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) antivenom against *Leiurus quinquestratus* (Ehrenberg, 1928) venom (Scorpiones: Buthidae). J Venom Anim Toxins incl Trop Dis, 2008;14(3):481-96.
36. Ozkan O, Yağmur EA. Neutralization capacity of monovalent antivenom against existing lethal scorpions in the Turkish scorfiofauna. Iran J Pharm Res. 2017;16(2):653-60.
37. Elfiky A, Attia H, Abd Elaziz M. CROSS neutralization of some kinds of scorpion venoms from Africa and south east using *Vacsera* polyvalent scorpion antisera. J Egypt Soc Parasitol, 2019; 49(2): 443-9.
38. Fatani AJ, Ahmed AA, Abdel-Halim RM, Abdoon NA, Darweesh AQ. Comparative study between the protective effects of Saudi and Egyptian antivenoms, alone or in combination with ion channel modulators, against deleterious actions of *Leiurus quinquestratus* scorpion venom. Toxicon, 2010;55(4):773-86.