



**TÜRKİYE'DE KÜÇÜK RUMİNTLARDA MİDE
BAĞIRSAK NEMATODU TÜRLERİNİN POPÜLASYON
GENETİĞİ VE ANTELMENTİK DİRENÇ DURUMUNUN
TESPİTİ**

Mahmut Sinan EREZ
Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Tez No: 2023-001
Afyonkarahisar

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**TÜRKİYE'DE KÜÇÜK RUMİNANLARDA MİDE BAĞIRSAK
NEMATODU TÜRLERİNİN POPÜLASYON GENETİĞİ VE
ANTELMENTİK DİRENÇ DURUMUNUN TESPİTİ**

**Hazırlayan
Mahmut Sinan EREZ**

**Danışman
Prof. Dr. Esmâ KOZAN**

Tez No: 2023-001

AFYONKARAHİSAR

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı'nda** Mahmut Sinan Erez tarafından hazırlanan “Türkiye’de Küçük Ruminantlarda Mide Bağırsak Nematodu Türlerinin Popülasyon Genetiği ve Antelmantik Direnç Durumunun Tespiti” adlı tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 10/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. *****

İmza

Üye

Prof. Dr. *****

İmza

Üye

Prof. Dr. *****

İmza

Üye

Prof. Dr. *****

İmza

Üye

Prof. Dr. *****

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

07/12/2022

Mahmut Sinan EREZ

ÖZET

Türkiye'de küçük ruminantlarda mide bağırsak nematodu türlerinin popülasyon genetiği ve antelmentik direnç durumunun tespiti

Bu çalışma, Türkiye'de küçük ruminantlarda mide bağırsak nematodu türlerinin popülasyon genetiği ve antelmentik direnç durumunun tespiti amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 2019 yılı Eylül-Aralık aylarında Afyonkarahisar, Konya, Antalya, Aydın, Balıkesir, Batman, Bitlis, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Kars, Kütahya, Maraş, Ordu, Rize, Sakarya, Tekirdağ, Urfa, Uşak olmak üzere Türkiye'nin 7 farklı bölgesinde 19 farklı ilden 1108 koyun, Antalya, Afyon, Konya, Kars olmak üzere 4 farklı bölgeden 4 farklı ilden 200 keçiden tekniğine uygun olarak dışkı örneği toplanmıştır. Toplanan dışkılar Fulleborn doymuş tuzlu su flotasyon yöntemi ile mikroskopik olarak parazitolojik yönden muayene edilmiştir. Dışkı muayenesi yapılan koyunların 813'ü (%81,3), keçilerin 159'u (%79,50) çeşitli parazit yumurta ve/veya ookistleri yönünden pozitif bulunmuştur. Buna göre koyunlarda *Trichostrongylidae* spp.. (%73,20), *Eimeria* spp.. (%27,7), *Nematodirus* spp.. (%26,80), ile *Moniezia* spp. (%20,70), *Marshallagia* spp. (%11,10), *Trichuris ovis* (%5,60) tespit edilirken, keçilerde *Trichostrongylidae* spp. (%77), *Eimeria* spp. (%40), *Nematodirus* spp. (%24,50), *Marshallagia* spp. (%15,50), *Moniezia* spp. (%8,5), *Trichuris ovis* (%4) en yaygın görülen parazitler olmuştur.

Şuhut, İhsaniye ve Çayırbağ'da her birinde 12 koyun bulunan 3 farklı koyun çiftliğinde albendazol, ivermektin ve kontrol grubu için dışkıda yumurta sayısı azalım testi (FECRT) yapılmıştır. Buna göre albendazole olan duyarlılık Şuhut'da %85,9, İhsaniye'de %72,6, Çayırbağ'da %77,6, ivermektine olan duyarlılık Şuhut'da %80,1, İhsaniye'de %69,8, Çayırbağ'da %82,4 olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa koyunlarda üçüncü dönem trichostrongylid tip larvadan (L₃) Proteinaz K enzimi ile elde edilen DNA kullanılarak PZR ile tür tiplendirmeleri yapılmış, tür teşhisi yapılamayan larvalar için sekanslama uygulanmıştır. Çalışmamızda *H. contortus* PZR yöntemiyle koyunlarda en yüksek Antalya ve Sakarya'da (%100), en düşük Rize'de (%2,12), keçilerde ise en yüksek Afyonkarahisar'da %92,55, en düşük Kars'ta %1,06 oranında tespit edilmiştir.

Teladorsagia circumcincta koyunlarda en yüksek Erzurum'da (%89,36), en düşük Kars'ta (%1,06), keçilerde ise en yüksek Konya'da (%54,25), en düşük Kars'ta (%4,25) tespit edilmiştir. *Ostertagia leptospicularis* Çanakkale'de koyunlarda %1,06 oranında tespit edilmiş ve Türkiye'de ilk bildirim olmuştur. *Trichostrongylus axei* koyunlarda en yüksek Bitlis'te (%55,31), en düşük Afyonkarahisar, Kütahya ve Çanakkale'de (%1,06), keçilerde en yüksek Kars'ta (%63,82), en düşük Konya'da (%13,82), *T. vitrinus* koyunlarda en yüksek Uşak'ta (%7,63), en düşük Rize'de (%1,06), keçilerde sadece Afyonkarahisar'da (%1,06), *T. colubriformis* koyunlarda en yüksek Kars'ta (%27,65), en düşük Balıkesir ve Erzurum'da (%1,06), keçilerde en yüksek Kars'ta (%30,85), en düşük Antalya'da (%1,06) tespit edilmiştir. *Chabertia ovina* koyunlarda en yüksek Rize'de (%23,40), en düşük Denizli ve Çanakkale'de (%1,06) tespit edilmiştir. *Oesophagostomum venulosum* koyunlarda en yüksek Çanakkale'de (%25,53), en düşük Denizli'de (%1,06), keçilerde ise en yüksek Konya'da (%29,75) ve en düşük Antalya'da (%5,31) tespit edilmiştir. *Bunostomum trigonocephalum*'a sadece Kars'ta (%1,06), *Marshallagia marshalli*'ye Denizli'de (%1,06), *Cooperia curticei* Konya'da (%1,06) rastlanmıştır.

Allel-spesifik PZR yöntemiyle, koyunlarda *Teladorsagia circumcincta* popülasyonunda Afyonkarahisar, Rize, Uşak ve Erzurum'da benzimidazol karşı direnç geliştiği tespit edilmiştir. Koyunlarda *H. contortus* popülasyonunda Batman, Sakarya, Afyonkarahisar, Antalya, Tekirdağ, Şanlıurfa, Ordu, Balıkesir'de, keçilerde ise Afyonkarahisar ve Antalya'da, benzimidazole karşı direnç geliştiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonları üzerinde allel-spesifik PZR yöntemiyle benzimidazol direnci tespit edilmiştir.

Populasyon genetiği çalışması amacıyla; *T. circumcincta* 3. dönem larvaları için Mtg15, Mtg68, Tc13604, Tc7989, Tc2066, *H. contortus* 3. dönem larvaları için Hc22193, Hc2884, Hc3086, Hc53265, Hc22c03 mikrosatellite primerleri kullanılmıştır. Analizler sonucunda; Türkiye'de *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonlarında yüksek popülasyon içi varyasyon, düşük popülasyon genetik farklılaşması ve yüksek gen akışı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonları üzerinde mikrosatellit markerleri

kullanılarak popülasyon genetiği analizi yapılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez koyun ve keçilerde *T. circumcincta*’nın ve çalışma illerinde *H. contortus*’un moleküler prevalansı belirlenmiş, genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Araştırma yapılan illerde *T. circumcincta* ve *H. contortus* popülasyonlarında benzimidazol dirençliliği moleküler olarak ortaya konmuş, homozigot duyarlı, heterozigot duyarlı ve homozigot dirençli aleller belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, dirençli *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonu açısından veteriner hekim ve yetiştiricilerde antelmantik direnç hakkında farkındalığın artırılması, tedavi ve ilaçlama yöntemlerinin gözden geçirilmesi, alternatif stratejilerin oluşturulmasının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Allel-Spesifik PZR, Benzimidazol direnci, *H. contortus*, Mikrosatellite, Moleküler Prevalans, Populasyon Genetiği, *T. circumcincta*, Türkiye

SUMMARY

Population genetics and detection of anthelmintic resistance of gastro- intestinal nematode species in small ruminants in Turkey

This study was carried out to determine the population genetics and anthelmintic resistance of gastrointestinal nematode species in small ruminants in Turkey. Fecal samples were collected from 1108 sheep from 19 provinces in 7 geographically distinct regions of Turkey, namely Afyonkarahisar, Konya, Antalya, Aydın, Balıkesir, Batman, Bitlis, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Kars, Kütahya, Maraş, Ordu, Rize, Sakarya, Tekirdağ, Urfa, Uşak and 200 goats from 4 provinces in 4 geographically distinct regions, namely Antalya, Afyon, Konya and Kars in accordance with the technique between September-December 2019. The collected feces were examined microscopically in terms of parasitology with Fulleborn saturated salt flotation method. 813 (81,3%) of the sheep and 159 (79,50%) of the goats were found positive for various parasite eggs and/or oocysts. In sheep, *Trichostrongylidae* spp. (73,20%), *Eimeria* spp. (27,7%), *Nematodirus* spp. (26,80%), *Moniezia* spp. (20,70%), *Marshallagia* spp. (11,10%), *Trichuris ovis* (%) 5,60), while in goats *Trichostrongylidae* spp. (77%), *Eimeria* spp. (40%), *Nematodirus* spp. (24,50%), *Marshallagia* spp. (15,50%), *Moniezia* spp. (8,5%), *Trichuris ovis* (4%) was the most common parasites. Fecal egg count reduction test (FECRT) was performed for albendazole, ivermectin and control group with 12 sheep in each of 3 different sheep farms in Şuhut, İhsaniye and Çayırbağ provinces.

Accordingly, susceptibility to albendazole was 85,9% in Şuhut, 72,6% in İhsaniye, 77,6% in Çayırbağ, susceptibility to ivermectin was 80,1% in Şuhut, 69,8% in İhsaniye, and 82,4% in Çayırbağ. In this study, species identification was carried out with PCR using DNA obtained from third stage trichostrongylid type larvae (L₃) with Proteinase K enzyme in sheep for the first time in Turkey. Sequencing was used for larvae that could not be identified. *H. contortus* was detected at the highest prevalence in Antalya and Sakarya (100%) and the lowest in Rize (2,12%) in sheep, and, the highest prevalence in Afyonkarahisar, 92,55%, and the lowest prevalence 1,06% in Kars in goats. *Teladorsagia circumcincta* was detected at the highest prevalence in Erzurum (89,36%) and the lowest in Kars (1,06%) in sheep, and the highest prevalence in Konya (54,25%) and the lowest in Kars (4,25%) in goats. *Ostertagia leptospicularis* was detected as 1,06% in Çanakkale in sheep and was the first report in Turkey. *Trichostrongylus axei* was detected at the highest prevalence in Bitlis (55,31%), and lowest in Afyonkarahisar, Kütahya and Çanakkale (1,06%) in sheep, and highest prevalence in Kars (63,82%), and the lowest in Konya (13,82%) in goats, *T. vitrinus* was highest in Uşak (7,63%), lowest in Rize (1,06%) in sheep, in goats only in Afyonkarahisar (1,06%), *T. colubriformis* was the highest in Kars (27,65%), and the lowest in Balıkesir and Erzurum (1,06%) in sheep, and the highest in Kars (30,85%), and lowest in Antalya (1,06%) in goats. *Chabertia ovina* was found highest in Rize (23,40%) and lowest in Denizli and Çanakkale (1,06%) in sheep. *Oesophagostomum venulosum* was detected at highest prevalence in Çanakkale (25,53%), and the lowest in Denizli (1,06%) in sheep, and the highest in Konya (29,75%) and lowest in Antalya (5,31%) in goats. *Bunostomum trigonocephalum* was found only in Kars (1,06%), *Marshallagia marshalli* in Denizli (1,06%), *Cooperia curticei* in Konya (1,06%). Benzimidazole resistance was determined in *Teladorsagia circumcincta* populations of sheep in Afyonkarahisar, Rize, Uşak and Erzurum with allele-specific PCR method. It was determined that benzimidazole resistance developed in *H. contortus* populations in Batman, Sakarya, Afyonkarahisar, Antalya, Tekirdağ, Şanlıurfa, Ordu, Balıkesir in sheep and in Afyonkarahisar and Antalya in goats. In this study, benzimidazole resistance was detected for the first time in Turkey by allele-specific PCR method on *H. contortus* and *T. circumcincta* populations. For population genetics study, Mtg15,

Mtg68, Tc13604, Tc7989, Tc2066 microsatellite primers were used for third stage larvae of *T. circumcincta*, and Hc22193, Hc2884, Hc3086, Hc53265, Hc22c03 microsatellite primers were used for third stage larvae of *H. contortus*. As a result of the analysis, high within-population variation, low population genetic differentiation and high gene flow were detected in *H. contortus* and *T. circumcincta* populations in Turkey. In this study, population genetic analysis was carried out on *H. contortus* and *T. circumcincta* populations using microsatellite markers for the first time in Turkey. As a result, with this study, the molecular prevalence of *T. circumcincta* was carried out first time in Turkey and the molecular prevalence of *H. contortus* in the study provinces were determined for the first time in Turkey, and genetic characterization was carried out. Benzimidazole resistance was detected molecularly in *T. circumcincta* and *H. contortus* populations in the study provinces and homozygous susceptibility, heterozygous susceptibility and homozygous resistant alleles were determined. It has been concluded that it is necessary to increase awareness of anthelmintic resistance in veterinarians and breeders in terms of resistant *H. contortus* and *T. circumcincta* populations, and review current control ve treatment methods, and creating alternative strategies in Turkey.

Keywords: Allele-Specific PCR, Benzimidazole resistance, *H. contortus*, Microsatellite, Molecular Prevalence, Population Genetics, *T. circumcincta*, Turkey

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimine başladığım günden bu yana gerek tez, gerekse ders aşaması süresince bilgi ve emeğini benden esirgemeyen ve tez çalışmam süresince bana yol gösteren, değerli danışman hocam Prof. Dr. Esma KOZAN'a ve doktora eğitimimime katkı sağlayan Parazitoloji Anabilim Dalı'nın değerli hocaları Prof. Dr. Hatice ÇİÇEK'e, Prof. Dr. Feride SEVİMLİ'ye ve Prof. Dr. Mustafa KÖSE'ye, Glasgow Üniversitesi'nde bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve pandemi sürecinde çalışma ortamı sağlayan Prof. Eileen DEVANEY'e, Dr. Roz LAING'e, Dr. Jennifer MCINTYRE'ye, Dr. Alistair ANTONOPOULOS'a, tezimin istatistik analizinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Serdar KOÇAK'a, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim arkadaşlarım Arş. Grv. Oğuz Kağan TÜREDİ'ye, Veteriner Hekim Ferhat Fatih KARAMAN'a, Uzman Veteriner Hekim Kağan TURAN'a, Cüneyt DOĞAN'a, hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek olan ve bugünlere gelmemde sonsuz özveri ve büyük emek sahibi olan sevgili ANNEME, tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına teşekkür ederim.

Saygılarımla
Mahmut Sinan EREZ
Afyonkarahisar
2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	IV
TEŞEKKÜR	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XI
ŞEKİLLER	XIII
ÇİZELGELER	XV
RESİMLER	XVI
1. GİRİŞ	1
1.1. Türkiye’de Küçükbaş Hayvancılık	2
1.2. Küçük Ruminantlarda Bulunan Bazı Önemli Nematodlar, Sistematikteki Yerleri ve Özellikleri	3
1.2.1. Trichostrongylosis	5
1.2.2. Haemonchosis	6
1.2.3. Teladorsagiosis	8
1.2.4. Cooperiasis	10
1.2.5. Chabertiosis	11
1.2.6. Oesophagostomiosis	12
1.3. Gastrointestinal Nematodların Türkiye’deki Yayılışı	13
1.4. Antelmantikler	15
1.4.1. Grup 1, Benzimidazoller, Bz, (Beyaz Grup)	15
1.4.2. Grup 2, İmidatiazol ve Tetrahidropirimidinler, (I/Ts), (SarıGrup)	16
1.4.3. Grup 3, Makrosiklik Laktonlar, ML (Şeffaf Grup)	16
1.4.4. Grup 4, Amino-asetonitril Türevleri, AAD (Turuncu Grup)	17
1.4.5. Grup 5, Spiroindoller, SI (Mor Grup)	17
1.5. Antelmantik Direnç	21
1.5.1. Benzimidazol Direnci	21
1.5.2. Levamizol Direnci	23
1.5.3. Makrosiklik Lakton Direnci	25
1.5.4. Amino-Asetonitril Türevleri (AAD) Direnci	29
1.6. Antelmantik Direncin Tespiti	31
1.6.1. Antelmantik Direncin Tespitinde Kullanılan In Vivo Testler	31

1.6.1.1. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi (FECRT)	31
1.6.1.2. Kontrollü Etki Testi (CET)	32
1.6.2. Antelmantik Direncinin Tespitinde Kullanılan In Vitro Testler	33
1.6.2.1. Yumurtadan Çıkış Testi (EHT)	33
1.6.2.2. Larval Gelişim Testi (LDT)	34
1.6.2.3. Larval Migrasyon İnhibisyon Testi	35
1.6.2.4. Micro-Agar Larval Gelişim Testi (MALDT)	35
1.6.2.5. Larval Besleme Testi	35
1.6.2.6. Larval Paraliz Testi	36
1.6.2.7. Mikro-Motilite Ölçüm Testi	36
1.6.3. Moleküler Temelli Testler	36
1.7. Refugia	38
1.8. Antelmantik Direnç Gelişimini Etkileyen Faktörler	39
1.9. Antelmantik Kullanımı ve Dirençle Mücadele	40
1.10. Parazitlerle Alternatif Mücadele Yöntemleri	42
1.10.1. Bakır Oksit Tel Parçaları	42
1.10.2. Tanen İçeren Yemler	42
1.10.3. Nematod Yakalayan Mantarlar	42
1.10.4. Aşılar	43
1.10.5. Genetik Islah	43
1.10.6. Besleme	44
1.10.6.1. Antelmantik Özelliği Olan Bitkiler	44
1.11. Türkiye’de Antelmantik Direnç	45
2. MATERYAL METOD	46
2.1. Çalışma Merkezleri ve Hayvanların Seçimi	46
2.2. Dışkı Örneklerinin Toplanması	47
2.3. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi	48
2.3.1. Gram Dışkı Yumurta Sayımı	48
2.3.2. Dışkı Kültürü Hazırlanması	49
2.3.3. Baerman Wetzel Yöntemi	49
2.3.4. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi	49
2.4. Moleküler Yöntem	50
2.4.1. Lizatların Hazırlanması	50

2.4.2. Larvaların PZR ile Tür Tiplendirmelerinin Yapılması	51
2.4.3. Mikrosatellit PZR	53
2.4.4. Nested PZR	56
2.4.5. Enzimatik Parçalanma	56
2.4.6. Allel-spesifik PZR	56
2.5. İstatistiksel Analiz	59
3. BULGULAR	60
3.1. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi Sonuçları (FECRT)	60
3.2. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi Sonuçları	60
3.3. Koyunlarda Tespit Edilen Larvaların PZR ile Tür Tiplendirmelerinin Yapılması	72
3.4. Keçilerde bulunan Strongil Larvalarının PZR Yöntemiyle Tür Tiplendirmelerinin Yapılması	84
3.5. Albendazol Tedavisi Öncesi ve Sonrası Elde Edilen Larvaların PZR ile Tür Tiplendirilmesinin Yapılması	86
3.6. Allel-Spesifik PZR ile <i>H. contortus</i> ve <i>T. circumcincta</i> Populasyonlarında Benzimidazol Direncinin Tespiti	87
3.7. Mikrosatellit Analiz Sonuçları	88
4. TARTIŞMA	90
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	104
6. KAYNAKLAR	103
7. EKLER	120
7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	120
7.2. Türkiye'den Numune Çıkış Bakanlık İzni	121
7.3. İngiltere'ye Numune Giriş Bakanlık İzni	122
7.4. İskoçya'ya Numune Giriş Bakanlık İzni	123
ÖZGEÇMİŞ	124

SİMGELER VE KISALTMALAR

%: Yüzde

AAD : Amino-asetonitril

ABZ : Albendazol

Ala : Alanin

BZs : Benzimidazoller

CET : Kontrollü etki testi

CYP : Sitokrom P450

DQL : Derquantel

ED₅₀: %50 inhibisyon değeri

ED₉₉: %99 inhibisyon değeri

EHT : Yumurta çıkış testi

FECRT : Dışkıda yumurta sayısı azalım testi

GABA : γ -aminobütirik asit

Glu : Glutamik asit

GluCl : Glutamat kapılı klorid

Gly : Glisin

I/Ts : İmidatiazoller ve Tetrahidopirimidinler

L-AChRs : İonotropik asetilkolin reseptörlerinin alt üniteleri

LDT : Larval gelişim testi

MALDT : Mikro-agar larval gelişim testi

MLs : Makrosiklik Laktonlar

PGP : P-glikoprotein

Phe : Fenilalanin

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rr: Homozigot Dirençli

SI : Spiroindol

SNPs : Tek nükleotid polimorfizmi

Sr: Heterozigot Duyarlı

SS: Homozigot Duyarlı

Tyr : Tirozin

WAAVP : Dünya Veteriner Parazitolojiyi Geliştirme Derne



ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 2.1. Örnek alınan koyunların bulunduğu illerin harita üzerindeki dağılımı	46
Şekil 2.2. Örnek alınan keçilerin bulunduğu illerin harita üzerindeki dağılımı	46
Şekil 3.1. Koyunlarda dışkı bakısı ile tespit edilen parazitlerin çalışma alanlarına göre % dağılımı	68
Şekil 3.2. Koyunlarda dışkı bakısı ile Trichostrongylidae spp.'nin çalışma alanlarına göre % dağılımı	68
Şekil 3.3. Keçilerde dışkı bakısı ile tespit edilen parazit türlerinin çalışma alanlarına göre dağılımı	71
Şekil 3.4. Afyonkarahisar'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	72
Şekil 3.5. Antalya'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	73
Şekil 3.6. Konya'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	73
Şekil 3.7. Aydın'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	74
Şekil 3.8. Balıkesir'de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	74
Şekil 3.9. Batman'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	75
Şekil 3.10. Bitlis'te koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	75
Şekil 3.11. Çanakkale'de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	76
Şekil 3.12. Denizli'de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	76
Şekil 3.13. Erzurum'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	77

Şekil 3.14. Kütahya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	77
Şekil 3.15. Kahramanmaraş’ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	78
Şekil 3.16. Ordu’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	78
Şekil 3.17. Rize’de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	79
Şekil 3.18. Sakarya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	79
Şekil 3.19. Tekirdağ’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	80
Şekil 3.20. Uşak’ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	80
Şekil 3.21. Şanlıurfa’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	81
Şekil 3.22. Kars’ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	81
Şekil 3.23. Afyonkarahisar’da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	84
Şekil 3.24. Konya’da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	84
Şekil 3.25. Antalya’da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	85
Şekil 3.26. Kars’ta keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)	85

ÇİZELGELER

SAYFA

Çizelge 1.1. Küçük Ruminantlarda Kullanılan Bazı Antelmantikler ve Özellikleri	18
Çizelge 1.2. Antelmantik İlaçlar ve Direnç Gelişimi	30
Çizelge 2.1. Larvaların Tür Tiplendirilmesinde Kullanılan Primerler	52
Çizelge 2.2. Mikrosatellit Yönteminde Kullanılan Primerler	55
Çizelge 2.3: Allel-Spesifik PZR Primerleri	58
Çizelge 3.1. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi Sonuçlarına Göre, Albendazol ve İvermektene Duyarlılığın Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı	60
Çizelge 3.2. Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı	65
Çizelge 3.3. Koyunlarda Tespit Edilen Trichostrongylidae spp. EPG Değerlerinin Çalışma Alanlarına, Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	66
Çizelge 3.4. Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Yaş, Cinsiyet ve Irka Göre Dağılımları	67
Çizelge 3.5. Keçilerde Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı	70
Çizelge 3.6. Keçilerde Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Yaş, Cinsiyet ve Irklara Göre Dağılımı	70
Çizelge 3.7. Keçilerde Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Trichostrongylidae spp. EPG Değerinin İllere, Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	71
Çizelge 3.8. Koyunlarda EPG ve PZR İle Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı	82
Çizelge 3.9. Keçilerde EPG ve PZR ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı	86

RESİMLER

SAYFA

Resim 2.1. Saha Çalışmaları 1

47

Resim 2.2. Saha Çalışmaları 2

48



1. GİRİŞ

Parazitlerin sebep olduğu enfeksiyonlar dünya genelinde çiftlik hayvanlarının refahını ve verimliliklerini azaltmaktadır. Helmint enfeksiyonlarının kontrolü ise büyük ölçüde antelmantik ilaç kullanımına dayanmaktadır. Modern antelmantik endüstrisi 20. yüzyılın ortalarında fenotiyazin ve piperazinin birinci jenerasyon geniş spektrumlu ilaç olarak piyasaya sürülmesiyle başlamıştır. İlaç endüstrisi 1960 ve 1990 yılları arasında geniş spektrumlu ve güvenli antelmantikler üreterek büyük aşama kaydetmiştir (McKellar ve Jackson, 2004). Bu çalışmalar, üç ana antelmantik grubunu oluşturan ve farklı etki mekanizmalarına sahip olan benzimidazoller (BZs), imidatiyazoller ve tetrahidropirimidinler (I/Ts) ve son olarak makrosikliklaktonların (MLs) keşfine olanak sağlamıştır. Bununla birlikte ilaçların parazitlerle mücadelede yoğun ve bilinçsiz kullanımı sonucu, piyasaya sürülen ilaçların tümüne kısa süreler içinde direnç gelişmiştir (Barnes vd., 1995). Dünya Veteriner Parazitolojiyi Geliştirme Derneği (WAAVP) 1992 yılında bu konuya dikkat çekmek için antelmantik direncin tespitinde kullanılan metodları yayınlamıştır (Coles vd., 1992). Daha sonra 2009 yılında amino-asetonitril (AAD) türevi olan monepantel etken maddesi Yeni Zelanda'da ilk kez piyasaya sürülmüş ve 4 yıl sonra ilk direnç bildirimi yapılmıştır (Scott vd., 2013). Beşinci sınıf antelmantik olarak spiroindol (SI) grubundan derquantel (DQL) etken maddesine, abamektin ilave edilerek 2010 yılında piyasaya sürülmüştür (Little vd., 2010). Antelmantik direnç, günümüzde özellikle koyunlarda ciddi sorun haline gelmiştir. Güney Afrika, Yeni Zelanda, Avustralya ve Birleşik Krallık gibi ülkelerde bazı koyun ve keçi çiftlikleri çoklu ilaç direnci nedeniyle kapatılmıştır (Kaplan, 2004; Geary, 2005; Blake ve Coles, 2007).

Mavrot (2016), 30 Avrupa ülkesinde helmint enfeksiyonlarının etçi koyun sektörüne yıllık maliyetini 157-477 milyon Euro olarak hesaplamıştır. Stubbings ve Lovatt (2017), paraziter enfeksiyonların kuzu başına ortalama 10 pound'luk kayıba neden olduğunu bildirmiştir. Charlier vd. (2020), Avrupa'da araştırma yapılan 18 ülkede mide bağırsak kılkurdu, *Fasciola hepatica* ve *Dictyocaulus viviparus* enfeksiyonları sonucu yıllık maliyeti 1,8 milyar Euro olarak tahmin etmişlerdir. Bu maliyetin %81'i üretim kaybı, %19'u ise tedavi giderleri olarak hesaplanmıştır. Gastrointestinal

nematodların makrosiklik lakton direncinden kaynaklı maliyeti ise 38 milyon Euro olarak hesaplanmıştır. Helmin enfeksiyonlarının maliyetinin süt koyuncululuğuna 151 milyon Euro, et koyuncululuğuna 206 milyon Euro ve süt keçiciliğine ise 86 milyon Euro kadar olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada helmin enfeksiyonlarının yıllık maliyeti Hollanda’da 105 milyon Euro, Almanya’da 146 milyon Euro ve Birleşik Krallık’ta ise 299 milyon Euro olarak hesaplanmıştır.

Türkiye’de çiftlik hayvanlarında helmin enfeksiyonları ve antelmentik dirençten kaynaklı yüksek maliyetler olduğu düşünülse de bununla ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

1.1. Türkiye’de Küçükbaş Hayvancılık

Hayvancılık sektörü, dengeli ve sağlıklı beslenmede olduğu kadar, kırsal ve ekonomik kalkınmada da önemli işlevler yüklenmiş olup, bu sektörün önemli bir alt faaliyet alanı olan koyun yetiştiriciliği üreticilere birçok yönden avantajlar sağlamaktadır. Koyun, farklı çevre şartlarına kolaylıkla uyum gösteren bir hayvan olup sürü halinde yetiştirilebildiğinden çeşitli bölgelerde kolaylıkla üretilmekte ve düşük kalitedeki meralar ile sığırların yararlanamadığı bitki örtüsünü oldukça iyi bir şekilde değerlendirmekte, bakım ve beslemesi kolay olup, daha az emek ve sermayeye ihtiyaç duymaktadır (Paksoy ve Özçelik, 2008; Semerci ve Çelik, 2016). Ayrıca koyunculuk özellikle yılın her döneminde gelir sağlaması ve köyden kente göçü engellemesi açısından önemli bir gelir kaynağıdır. Türkiye’nin doğal ve ekonomik koşulları ile tarımsal yapısı ve gelenekleri koyun yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapılmasına ve hayvancılık içerisinde önemli bir yer tutmasına uygun bir ortam oluşturmakla birlikte, Türkiye’de koyunculuk genellikle ekstansif olarak yapılmaktadır (Akçapınar vd., 2002).

Koyun yetiştiriciliği et, süt, yün ve deri üretimi açısından ülkemiz ekonomisinde önemli yer tutmaktadır. Özellikle Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri’nde halkın önemli bir geçim kaynağını oluşturmaktadır. Kurban Bayramlarında her yıl yaklaşık 2 milyon baş kurbanlık koyun kesimi de koyunculüğün önemini

arttırmaktadır. Tıgем Hayvancılık Sektör Raporuna göre ölkemizin 2019 yılı kırmızı et üretiminin %10,5'i, süt üretiminin ise %8,8'i koyun ve keçiden karşılanmıştır (Int. Kyn. 1).

Türkiye koyun varlığı açısından dünyanın önde gelen ölkelerinden biridir. TUIK'ın 2022 yılı haziran kayıtlarına göre; ölkemizdeki küçükbaş hayvan sayısı 58.448.000 olarak bildirilmiştir. Bunun 46.123.00'u koyun, 12.325.000'i keçi oluşturmaktadır (Int. Kyn. 2). Koyun sayısında; 1980 yılından sonra önemli bir azalma görölmüştür. Koyunculuğa sağlanan devlet destekleri sayesinde 2010 yılından itibaren de koyun yetiştiriciliği tekrar önem kazanmış ve koyun sayısı yaklaşık %52 civarında artış göstermiştir.

1.2. Küçük Ruminantlarda Bulunan Bazı Önemli Nematodlar, Sistematikteki Yerleri ve Özellikleri

Kök: Nemathelminthes Schneider, 1873

Sınıf: Nematoda Rudolphi, 1808

Altsınıf: Secernentea Dougherty, 1958

Takım: Strongylida Molin, 1861

Alt takım: Trichostrongylina

Üstaile: Trichostrongyloidae

Aile: Trichostrongylidae

Altaile: Trichostrongylinae

Cins: Trichostrongylus

Aile: Haemonchidae

Altaile: Ostertagiinae

Cinsler: Ostertagia

Teladorsagia

Altaile: Haemonchinae

Cins: Haemonchus

Aile: Cooperiidae

Altaile: Cooperiinae

Cins: Cooperia
Aile: Chabertiidae
Altaile: Chabertiinae
Cins: Chabertia
Altaile: Oesophagostominae
Cins: Oesophagostomum
Üst aile: Ancylostomatoidea
Alt aile: Bunostominae
Cins: Bunostomum

Koyun ve keçilerde enfeksiyona neden olan başlıca gastrointestinal nematodlar Strongylidae familyasına ait *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* ve *Trichostrongylus* spp.'dir (Anderson, 2000). Sindirim sisteminde cinsel olgunluğa erişmiş parazitler bulunur ve çok sayıda yumurta erişkin dişiler tarafından konak dışkıyla dışarı atılır. Strongylid tip yumurtalarda (70-150 µm) larvalar uygun koşullarda 1-2 gün içinde gelişmeye başlar. Larvalar dışkı içerisinde veya toprakta bakteriler ile beslenmesi sonucunda enfektif üçüncü dönem (L₃) haline gelirler. Enfeksiyon, konakların enfektif L₃'leri ağız yoluyla alması sonucu meydana gelir. Enfektif larva mideden geçerken koruyucu kılıfını kaybeder (Levine, 1968). Elverişsiz koşullar altında (konağın parazite karşı bağışık olduğu durumlarda veya enfektif larvalar konağa girmeden önce dış ortamda kötü koşullar (kuraklık, don) geçirirse) larvalar hipobiyoz (*Teladorsagia* ve *Haemonchus* türleri için tipik) adı verilen bir gelişimsel duraklama aşamasına girerler. Hipobiyotik *Teladorsagia* larvaları aktivite ve gelişimlerine hipobiyozdan sonraki sonbaharda, *Haemonchus* larvaları, hipobiyozu takiben ilkbaharda devam ederler. Kuzulama döneminin başında bu durum, yeni doğum yapmış koyunlarda dışkıdaki yumurta sayısının artmasına ve bağışıklığın azalmasına sebep olur ve periparturient rise olarak adlandırılır. Periparturient rise'dan kaynaklanan bağışıklığın azalması, yalnızca mevcut parazitlerin hayatta kalmasını kolaylaştırmakla kalmaz, aynı zamanda parazitin üreme kapasitesini ve konağın diğer enfeksiyonlara duyarlılığını da artırır. Genç ve duyarlı hayvanlar otlama esnasında meranın L₃'lerle kontamine olmasına neden olur (Hungerford, 1990). Enfeksiyonun şiddetini genellikle, parazitin türü ve

sayısı, konağın sağlık ve immünolojik durumu ile iklim, mera türü, stres, barınma, beslenme gibi çevresel faktörler etkilemektedir. Genel olarak genç, bağışık olmayan hayvanlar, yetişkin, bağışıklık sistemi zayıflamış hayvanlar ve enfektif larvalar ile kontamine olmuş meradan fazla sayıda parazit ile enfekte olan hayvanlar olmak üzere üç hayvan grubu yoğun paraziter enfeksiyonlara yatkındır (Kassai, 1999).

1.2.1. Trichostrongylosis

Trichostrongylosis, tropikal ve subtropikal iklime sahip bölgelerde yüksek oranlarda, ülkemizde ise coğrafya, ırk, yaş, sürü yönetimi gibi etmenlere bağlı olarak farklı oranlarda görülmektedir. Enfekte hayvanlarda kilo kaybı, et ve süt veriminde azalma gibi belirtiler ile seyretmekte olup, ciddi ekonomik kayıba neden olmaktadır. Sürü sağlığı açısından hastalığın ekonomik önemi bulunmaktadır (Kassai, 1999; Taylor vd., 2007).

Morfoloji

Trichostrongylus colubriformis; dişileri 5-9 mm, erkekleri ise 4-8 mm uzunluğundadır. Genellikle koyun ve keçilerin abomazumlarında ve ince bağırsaklarında görülen bu tür taze dışkı örneklerinde açık kahverenkli olarak görülür (Umur vd., 2011).

Trichostrongylus vitrinus; erkekleri 4-7,2 mm, dişileri ise 5-8 mm uzunluğunda, ince bağırsaklarda bulunur. Spikülümleri arkaya doğru incelerek ve sivrilerek sonlanır (Taylor ve Pearson, 1979).

Trichostrongylus capricola; erkekleri 3,5-7 mm, dişileri ise 5-9 mm uzunlukta olan bu tür, gri beyaz renkli olup, ince bağırsaklarda yerleşir. Spikülümler eşit uzunluğa sahip olup, ön uçlarında düğme görünümünde iki adet kabarıklık bulunur ve yan kanatları sivri ucla sonlanır (Taylor ve Pearson, 1979).

Trichostrongylus axei; kırmızımsı açık kahve renkte olan bu türün erkekleri 2,3-6 mm, dişileri ise 3,5-8 mm uzunluğunda olup, abomazumda yerleşirler. Daha kısa olan sağ spikülüm, küt bir uç ile sonlanır, çengel tarzındaki çıkıntısı sol spikülümdekinden daha kısa görülür (Taylor ve Pearson, 1979).

Yaşam Çemberi

Trichostrongylus türleri monoksen (direkt) gelişirler. Prepatent süre optimal koşullarda ortalama 20 gün olup, içerisinde blastomer bulunan yumurtalar meraya dışkı ile atılır. On altı ila otuz iki adet blastomere sahip yumurtalarda, uygun çevre şartlarında 1-2 gün içerisinde (L₁) gelişerek yumurtayı terk eder. Bu larvalar 4-6 günde enfektif (L₃) döneme ulaşır. Koyun ve keçiler tarafından ağız yoluyla alınan (L₃)'ler, sindirim sisteminde gömlek değiştirerek (L₄) genç erişkin (L₅) dönemine ulaşırlar. (Kaufmann, 1996; Urquhart vd., 2000).

Patojenite

Koyun ve keçilerde parazitlenen *Trichostrongylus* türleri, genellikle ince bağırsağın ilk 3-4 metrelik ön kısmındaki mukozaya invaze olarak bulunurlar. *Trichostrongylus axei* abomazum mukozasına tutunarak kataral gastritise sebep olur. *Trichostrongylus colubriformis* bağırsak kriptlerindeki hücre onarımını bozmaktadır. *Trichostrongylus vitrinus* ve *T. colubriformis* 'in plazma proteinlerinin bağırsaklara geçmesine neden olduğu, bunun sonucunda, hipoalbüminemi, iştah ve verim kaybı olduğu kaydedilmiştir (Roy vd., 2004).

1.2.2. Haemonchosis

Haemonchus türleri özellikle genç hayvanlarda hemorajik anemi ve diyare ile karakterizedir. Verim kayıpları ve ölümlere neden olduğu için ekonomik önemi yüksek paraziter hastalıktır (Mortensen, 2003).

Yoğun olarak tropikal ve subtropikal ve benzer iklime sahip bölgelerde (Kassai, 1999) evcil ve yabani ruminantların abomazumlarına yerleşen *Haemonchus contortus* tropik bölgelerden köken alsa da hayvan hareketleri sebebiyle artık kuzey kutup dairesinde bile görülebilmektedir. Salle vd. (2019), parazitin Afrika'dan köken alıp, transatlantik köle ticareti ve Avustralya'nın kolonileşmesi sırasında dünyaya yayıldığını, parazit genomundaki çeşitliliğin ise insan hareketleri ve iklimsel farklılıklar sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir. Haemonchosis, ülkemizde özellikle koyun ve keçilerde, bölge ve iklime göre farklı oranlarda olmakla birlikte, fazlaca ilaçlama yapılmasına rağmen sahada sıklıkla görülmektedir (Doğanay ve Öge, 1997; Toparlak ve Tüzer, 2000).

Morfoloji

***Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803);** erkekleri 400 µm genişlikte ve 10-20 mm uzunlukta, hafif pembe renklidir. Bursa kopulatriks uzun kaburgalarla desteklenmiş olup, uzun ve geniştir. Dorsal kaburga tersine dönmüş 'Y' harfi görünümünde, küçük ve asimetriktir (Güralp, 1981). Dişiler 18-30 mm uzunlukta, yaklaşık 500 µm genişliktedir ve bağırsak çevresinde sarmal olan beyaz renkli yumurtalık nedeniyle dalgalı beyaz, kırmızı-kahverengi renkte görünür. Özafagusun ön üçte birlik bölümünde servikal papil diken görünümünde belirgindir. Kuyruk incelik ve sivri olarak sonlanmaktadır. Yumurtaları dışkıyla dışarı atıldığında 16-32 blastomer içermektedir ve 70-85 X 41-48 µm çapındadır (Umur, 1991).

Yaşam Çemberi

Haemonchus contortus monoksen gelişim gösterir. Dişilerin yumurtalama kapasitesi yüksektir. Otlama sırasında ağız yoluyla alınan L₃'ler rumende kılıfından çıkar ve abomazuma gelirler. Burada gastrik epitelial hücreleri arasına yerleşir ve dördüncü dönem larva (L₄) haline gelirler. Gelişimi takiben 18 gün sonra L₄'ler genç erişkin (L₅) olurlar ve dışkıda parazit yumurtaları ilk kez yaklaşık yedi gün sonra görülmeye başlar. Ağız kapsüllerinde meydana gelen delici lanset aracılığıyla, son gömlek değişiminden önceki gelişim döneminde damarlardan kan emerler. Hava sıcaklığı ve

yağışa bağlı gelişen olumsuz koşullarda L₄'ler gelişimini durdurarak hipobiyozaya girerler (Soulsby, 1965; Kaufmann, 1996; Urquarth, 2000; Andrews, 2004).

Patojenite

Haemonchus türlerinin en patojen özelliği enfekte hayvanlarda anemiye sebep olmalarıdır. Koyunlarda *H. contortus*'un hem erginleri hem de dördüncü dönem larvaları kan emerler, konaktan ayrıldıklarında da kanama bir süre daha devam eder. Parazit başına günlük olarak ortalama 0.05 ml kan kaybı görülür (Soulsby, 1986).

1.2.3. Teladorsagiosis

Ostertagiinae alt ailesinde yer alan Teladorsagia cinsindeki parazitlerin neden olduğu bir nematod enfeksiyonudur. Etkenler genellikle abomasumda bulunmakla birlikte bazı türler ince bağırsaklarda da yerleşebilmektedir. Abomasum bezlerinin hasarı sonucunda konaklarda önemli verim kayıplarına neden olan teladorsagiosis ekonomik öneme sahip bir hastalıktır. Direkt gelişim gösteren bu parazitlerin yayılışında çevre ve iklim koşulları oldukça önemli rol oynamaktadır. Koyunlarla kıyaslandığında beslenme alışkanlıkları nedeni ile enfeksiyonlar keçilerde daha az önem taşımaktadır (Craig, 2009).

Morfoloji

***Teladorsagia circumcincta* (Stadelman, 1894);** erkekleri 7,5-8,5 mm olup, spikülümleri incedir. Spikülümlerin distal uçları yuvarlakçadır ve uçlardan birinde küçük balonumsu bir çıkıntı vardır. Gubernakulum raket şeklindedir. Dişileri 9,8-12,2 mm uzunlukta olup, vulva vücudun son beşte birinde yer almaktadır ve üzeri küçük bir kapakla kaplıdır. Yumurtaları 80-100 X 40-50 µm çapındadır (Craig, 2009).

Yaşam çemberi

Teladorsagiosis homoksen bir yaşam siklusuna sahiptir. (Schinieder, 2006). Preparaziter gelişmede larvaların üzerinde ikinci dönemden bir kılıf kalmakta ve bu kılıf 3. dönem larvaların ağız da dahil olmak üzere her tarafını kaplamaktadır. Bu nedenle 3. dönemdeki bu larvalar depoladıkları gıda maddelerini kullanmaktadırlar. Dış ortamdaki larvaların gelişmesinde nem ve sıcaklık büyük önem taşımaktadır, ancak nem olması tek başına yeterli değildir. Larva gelişiminin devamı için çevre sıcaklığının da mutlaka uygun şartlarda olması gerekmektedir. Yeterli sıcaklık ve nem varlığında 3. dönem larvaların oluşması için geçen süre 1-2 hafta olup, ilkbahar ve sonbaharda 2-3 haftaya, yaz aylarında ise 3-5 haftaya kadar uzayabildiği bildirilmektedir (Toparlak ve Tüzer, 2004; Schinieder, 2006).

Kılıfı atan larvalar abomazum bezlerine girip kriptlere veya lümene yerleşerek gelişirler (Schinieder, 2006). Abomasum bezlerini terk ederek mukoza yüzeyine yerleşmesi yaklaşık 5-10 gün kadar sürer (Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007). Parazitler eşeyssel olgunluğa mukoza yüzeyinde erişirler. Konaktaki parazitlerin büyük bir kısmı 35'inci günden sonra atılmaya başlar. (Toparlak ve Tüzer, 2004; Schinieder, 2006).

Patojenite

Mide bezleri ve mide mukozasında önemli ölçüde hasara neden olur. Enfekte hayvanlarda görülen patolojik değişiklikler birbirini izleyen üç devrede meydana gelir. Parazit bulunduran bezlerde proliferatif hücreler yeterince farklılaşamaz, zimojen hücreler ve asit salgılayan parietal hücreler, bez epitelinde enzim salgılayan mukus hücrelerine dönüşemez. Böylece plasma pepsinojen düzeyi ve abomazumun pH'sinde yükselme gözlenir (Fox, 1997; Simpson, 2000; Schinieder, 2006).

Esas patojen etki, parazitlerin bulundukları bezleri terk ettiği devrede gözlenir. Bitişik halde bulunan fazla sayıdaki nodülün çökmesi sonucu mukozada difterik görünümlü alanlar meydana gelir. Mukoza kalınlaşması ve hiperplaziye bağlı olarak

abomazum mukozası makro molekülleri geçirir hale gelir. Bunun sonucunda pepsinojen kana geçer, kandaki plazma proteinleri (albümin) ise abomazum lümenine geçer ve hipoalbumemi oluşur. Böylece vücudun alt kısımlarında, özellikle çene altında ödemler meydana gelir (Toparlak ve Tüzer, 2004).

Parazitli koyunlarda abomazum pH'sının 4 ve üzerine çıkması sonucunda aneorobik bakteri popülasyonu oluşur. Artan bakteri sayısına bağlı olarak diyare gözlenir (Simpson, 2000).

1.2.4. Cooperiasis

Morfoloji

En belirgin özellikleri saat yayı biçimindeki görünümüdür ve büyüklükleri *Teladorsagia*'ya benzemektedir. Spikulumların ortasında kanata benzeyen genişlemeler vardır ve özafagusta bulunan baş vezikülü ve enlemesine kütiküler çizgiler türe özgüdür (Craig, 2009).

Yaşam çemberi

Cooperia oncophora ve *C. curtucei* konağın bağırsak mukozası yüzeyinde gelişirken, diğer türler bağırsak mukozası epitelini delerler. Prepatent süre 15-21 gündür (Craig, 2009).

Patojenite

Bağırsak epitelinin delinmesi sonucu villus atrofi meydana gelir ve bağırsağın absorpsiyon yüzeyinin azalmasına sebep olurlar. Ağır enfeksiyonlarda diyare, kilo kaybı ve çene altı ödem görülebilir (Craig, 2009).

1.2.5. Chabertiosis

Chabertiosis, *Chabertia ovina*'nın koyun ve keçilerde neden olduğu bir nematod enfeksiyonudur. Konakların kalın bağırsaklarına yerleşen parazitler konaklarda protein kaybına neden olurlar (Marchiondo vd., 2019).

Morfoloji

Chabertia ovina; Beyazımsı renkte olup, ön kısımları hafifçe şişkin ve ventrale dönüktür. Erkekleri 11-14 mm, dişileri ise 17-20 mm uzunluğundadır. Ağız kapsülü küresel ve geniştir ve ağız boşluğunda iki adet testere görünümünde levha bulunur (Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007; Umur vd., 2011). Parazitlerin ağız kapsülünde diş yoktur, servikal yarık belli belirsizdir. Erkeklerde *Oesophagostomum* türlerine benzeyen iyi gelişmiş bir bursa copulatriks bulunmaktadır. (Taylor vd., 2007).

Yaşam Çemberi

Parazitin gelişmesi monoksen olup, yaşam çemberini tamamlamak için herhangi bir ara konağa ihtiyaç duymamaktadır. Erişkin dişi parazitler tarafından dışkı ile atılan yumurtaların içinde birinci dönem (L_1) larvalar gelişerek yumurtayı terkederler (Taylor vd., 2007). Bu larvalar dış ortamda iki defa gömlek değiştirerek önce L_2 daha sonra da L_3 haline gelir (Schinieder, 2006). Üçüncü dönem larvalar konak için enfektif olan larvalar olup, koyun ve keçiler L_3 'leri otlarla birlikte yemek suretiyle enfekte olurlar. Genç erişkin parazitler kolona yerleşirler. Enfektif dönem larvaların alınmasından L_5 'lerin gelişmesine kadar geçen süre ortalama 25 gün olup, prepatent süre 6-7 haftadır (Kaufmann, 1996; Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007).

Patojenite

Chabertia ovina koyun ve keçilerde paraziter gastroenteritis etkenlerinden biridir ve ciddi bozukluklara neden olmaktadır. Parazitin genç erişkinleri kolon mukozasına

tutunup, mukozayı ağız kapsülleri ile parçalayarak ülser ve erozyonlara neden olurlar. Parazitin tutunduğu bağırsak kısmı mukozada meydana gelen bu hasardan dolayı ödemli ve kalınlaşmış bir hal alır. Goblet hücrelerinde şekillenen hipertrofi nedeni ile mukus artar ve bağırsağın bu kısmı mukus ile kaplanır (Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007).

1.2.6. Oesophagostomiosis

Oesophagostomiosis, *Oesophagostomum* cinsinde yer alan nematodların neden olduğu ekonomik öneme sahip bir enfeksiyondur. Koyun ve keçilerde önemli başlıca dört tür bulunmaktadır; Bunlar; *O. venulosum*, *O. columbianum*, *O. multifoliat* ve *O. asperum*'dur. *Oesophagostomum venulosum* enfeksiyonlarında genellikle nodül oluşmamakta, ender durumlarda küçük boyutlu nodüller meydana gelmekteyken, diğer türler kalın bağırsakta nodüller meydana getirmektedir. Etkenlerin koyun ve keçi bağırsaklarında oluşturduğu lezyonlardan dolayı hastalık 'nodüllü bağırsak" ya da "sivilceli bağırsak" hastalığı olarak da bilinmektedir. Kesim sonrası lezyon bulunan bağırsakların imhası sonucunda ekonomik kayıplar ortaya oluşmaktadır (Delano vd., 2002).

Morfoloji

Oesophagostomum columbianum; baş vezikülü iyi gelişmemiş olan parazitlerin erkekleri 12-17 mm, dişileri ise 15-22 mm olup, belirgin bir servikal papil yoktur. Bursa copulatriks erkeklerde iyi gelişmiştir ve iki adet boyları eşit spikülüne sahiptir. Ayrıca gubernakulum ve telamon bulunmaktadır. (Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007; Umur vd., 2011).

Oesophagostomum venulosum; şişkin bir baş vezikülüne sahip olup bu türün erkekleri 11-16 mm, dişileri 13-24 mm uzunluğundadır. Üçüncü dönem enfektif larvalar *O. columbianum*'un üçüncü dönem larvalarına benzemektedir (Schinieder, 2006; Taylor vd., 2007; Umur vd., 2011).

Yaşam Döngüsü

Oesophagostomum türlerinin gelişmeleri monoksendir. Dışkı ile atılan yumurtaların içerisinde önce birinci dönem larvalar gelişerek yumurtayı terkeder ve yaklaşık 4-6 gün sonra enfektif dönem larva (L₃) olurlar (Schinieder, 2006; Umur vd., 2011). Yumurta ve larval formları çevre sıcaklığına ve yağışa çok duyarlıdır, uygun olmayan koşullarda gelişim gecikmektedir (Love ve Hutchinson, 2003). Prepatent süre *O. columbianum* enfeksiyonlarında 45 gün, *O. venulosum* enfeksiyonlarında ise yaklaşık 42 gündür (Taylor vd., 2007).

Patojenite

Oesophagostomiosiste patolojik bozukluklar iki dönemde ortaya çıkmaktadır. Mukozal göç-erişkin parazit dönemi ve nodül dönemi olup, bunlardan mukozal göç-erişkin parazit dönemi genç hayvanlarda ilk gelişen enfeksiyonlarda, nodül dönemi ise sekonder enfeksiyonlarda görülmektedir. Mukoza göçü döneminde larvalar mukozayı terk ederek bağırsak lümenine dönerken, erişkin parazit döneminde ise parazitler lümeninde yerleşerek burada erişkin hale gelmektedirler (Toparlak ve Tüzer, 2004; Schinieder, 2006). Bazen şiddetli enfeksiyonlarda ülseratif kolit oluşabilmektedir (Taylor vd., 2007).

1.3. Gastrointestinal Nematodların Türkiye'deki Yayılışı

Türkiye'de koyun ve keçilerde ***Haemonchus* cinsinde** sadece *H. contortus* türünün varlığı bildirilmiştir (Umur vd., 2011). Parazitin yayılışı koyunlarda Trakya' da %31,5 (Vuruşaner, 1996), Van'da %40 (Cengiz ve Değer, 2009), Güney Marmara Bölgesi'nde %30 (Tınar vd., 2001), Konya'da %37,5 (Güçlü vd., 1996), Kırıkkale'de %3,6 (Gökpinar ve Yıldız, 2013) olarak bildirilmiştir. Afyonkarahisar ili koyunlarında *Haemonchus spp.* %18 (Sevimli vd., 2006), Şanlıurfa ili kıl keçilerinde %39,79 (Altaş vd., 2009) oranında bildirilmiştir.

Burdur'da nekropsi yapılan koyunların %80'inde *O. circumcincta*, %38'inde *O. occidentalis*, %22'sinde *O. trifurcata*, %6'sında *T. davtiani*, %2'sinde *O. ostertagia* bulunduğu bildirilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Şanlıurfa yöresindeki koyunlarda *O. marshalli* %32, *O. circumcincta* %26,6, *O. occidentalis* %14,6, *O. trifurcata* %0,4 belirlenmiş, aynı yörenin kıl keçilerinde ise *T. circumcincta* %72,4, *T. trifurcata* %45,7, *T. occidentalis* %14,4 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (Altaş vd., 2009). Van'da koyunlarda gerçekleştirilen bir çalışmada (Cengiz ve Değer, 2009) *T. circumcincta*, *T. occidentalis*, *T. trifurcata* ve *T. davliani*'nin sırasıyla %88, %78, %30, %10 ve %16 oranlarında yaygın olduğu ortaya konmuştur.

Yapılan çalışmalarda ülkemiz koyun ve keçilerinde Cooperiosis 'e neden olan, *C. curticei*, *C. punctata*, *C. onchophora* ve *C. memasteri* olmak üzere başlıca 4 tür bulunduğu bildirilmiştir (Doğanay ve Öge, 1997). Konya yöresinde keçiler üzerinde yürütülen bir çalışmada %20,5 oranında *C. onchophora* saptandığı bildirilmiştir (Cantoray vd., 1992). Trakya'da yapılan bir çalışmada ise koyuların %3 'ünün *C. onchophora*, %2 'sinin de *C. memasteri* ile enfekte oldukları ortaya konmuştur (Vuruşaner ve Tüzer, 1996).

Güney Marmara yöresi koyunlarında *T. axei* %32,5, *T. colubriformis* %7,5, *T. vitrinus* %25, *T. capricola* %2,5, *T. longispicularis* %2,5 oranında tespit edilmiştir (Tınar vd., 2001). Trakya'daki kıvırcık koyunlarında *T. axei* %42, *T. vitrinus* %44, *T. colubriformis* %35, *T. capricola* %35 oranında bulunmuştur (Vuruşaner ve Tüzer, 1996). Niğde yöresi koyunlarında *T. vitrinus* %18,8 ve *T. capricola* %8,8 oranında rastlanmıştır (Akkaya vd., 2004), Konya yöresi koyunlarında *T. probolurus* ve *T. vitrinus* %2,08 oranında tespit edilmiştir (Güçlü vd., 1996). Van yöresi koyunlarında *T. axei* %33, *T. probolurus* %19 (Cengiz ve Değer, 2009), Burdur yöresi koyunlarında *T. axei* %4, *T. vitrinus* %42 ve *T. colubriformis* %6 oranında tespit edilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005).

Ankara'nın kazan mezbahasında kesimi yapılan koyunların %14' ünde, keçilerin %48'inde *C. ovina*'ya rastlandığı bildirilmiştir (Kırcalı, 2004). Bu parazitin yayılışı Şanlıurfa ilindeki kıl keçilerinde %25,3 (Altaş vd., 2009), Burdur ili keçilerinde %8

olarak bildirilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Güney Marmara bölgesinde kıl keçilerinde %16 (Şenlik vd., 2001), koyunlarda da %28 (Öncel, 2000) olarak tespit edilmiştir.

Yapılan değişik çalışmalarda Oesophagostomiosis etkeni olan türlerden ülkemiz koyun ve keçilerinde genellikle *O. venulosum* görülmektedir. Ankara'da gerçekleştirilen bir mezbaha çalışmasında, koyun ve keçilerde sırası ile %8 ve %26 oranlarında *O. venulosum* görüldüğü bildirilmiştir (Kırcalı, 2004). Bu türün Burdur'daki keçi ve koyunlardaki yayılışı ise %10 olarak belirlenmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Güney Marmara bölgesinde yapılan çalışmalarda ise bu parazitin yaygınlığı koyunlarda %14 (Öncel, 2000), kıl keçilerinde %32 (Şenlik vd., 2001) olarak saptanmıştır.

1.4. Antelmantikler

Antelmantikler, helmintlerle mücadelenin temel taşı oluşturmaktadır. Yakın geçmişe kadar piyasada geniş spektrumlu üç ana antelmantik grubu bulunmaktaydı. Bunlar; benzimidazoller (BZs); imidatiyazol ve tetrahidropirimidinler ile makrosiklik laktonlar (MLs)'dır. Bunlar aynı zamanda beyaz, sarı ve şeffaf ilaç grubu olarak da sınıflandırılmaktadır (Abbott vd., 2012). Daha sonra Amino-asetonitril türevi (AAD) yeni bir antelmantik bulunmuş ve 4. grup antelmantik olarak sınıflandırılmıştır (Kaminsky vd., 2008). Bu ilaç küçük ruminantlar için önce Yeni Zelanda'da daha sonra ise Birleşik Krallık'ta piyasaya sürülmüştür. Son olarak Derquantel (DQL) ismiyle spiroindol grubu bir antelmantik bulunmuş ve 2010'da satışa sunulmuştur (Abbott vd., 2012). Küçük ruminantlarda helmint hastalıklarına karşı kullanılan bazı antelmantikler ve özellikleri Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

1.4.1. Grup 1, Benzimidazoller, Bz, (Beyaz Grup)

Albendazol (ABZ), tiabendazol ve fenbendazol gibi ilaçları içeren benzimidazol grubu ilaçlar 1960'lı yıllarda satışa sunulmuştur. Geniş spektrumlu ilaçlar olan Benzimidazoller'in, güvenlik marjı da geniş olup mg/kg cinsinden dozlaması

yapılmaktadır (McKellar ve Jackson, 2004). Bu grup ilaçlar rumenden, kademeli olarak kan dolaşımına salınırlar. İlaç, parazitte β -tubuline bağlanıp, nematodun bağırsak hücrelerindeki tubulin aktivitesini inhibe ederek glikoz alımını önlemektedir. (McKellar ve Jackson, 2004; von Samson-Himmelstjerna vd., 2007; Abbott vd., 2012).

1.4.2. Grup 2, İmidatiazol ve Tetrahidropirimidinler, (I/Ts), (Sarı Grup)

Bu grupta levamizol, pirantel, oksantel ve morantel gibi ilaçlar bulunmaktadır. Bu grup içerisinde en sık kullanılan etken madde levamizol olup, 1968 yılında satışa sunulmuş, geniş spektrumlu bir antelmektiktir. Levamizol, nikotinik nöromuskular kavşakta kolinerjik agonist etkiye sahiptir ve asetilkolin reseptör aracılı katyon kanallarının önce açılıp sonra bloke olmasını sağlamaktadır. Böylece sürekli nöromuskular depolarizasyona sebep olarak parazitin somatik kaslarında geri dönüşümsüz, hızlı ve kasları geren bir felç şekillenir ve parazit vücuttan atılır. Terapötik indeksi diğer antelmektiklere kıyasla düşüktür. Ovasidal etkisi yoktur. (Dobson vd., 1986; Martin vd., 1998; Prichard, 2001; Rayes vd., 2004; Prichard ve Geary, 2008).

1.4.3. Grup 3, Makrosiklik Laktonlar, ML (Şeffaf Grup)

Makrosiklik laktonlardan, ivermektin 1974 yılında *Streptomyces avermectinius*' dan izole edilmiş ve 1981 yılında satışa sunulmuştur (Omura, 2008). Bu grup, avermektinler (ivermektin, doramektin, abamektin) ve milbemis (moksidektin) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Makrosiklik laktonlar büyük oranda lipofilik olup, yağ dokuda depolanmakta ve buradan yavaş yavaş salınmaktadır. İvermektin γ -aminobütirik asit (GABA) ve glutamat kapılı klorid (GluCl) kanallarına geri dönüşümsüz olarak bağlanıp, faringeal ve somatik kas hücrelerinde hiperpolarizasyon ve yumuşak felce neden olmaktadır. Bunun sonucunda parazit aç ve hareketsiz kalmaktadır (Blackhall vd., 1998; Martin vd., 1998; Blackhall vd., 2003; Gilleard ve Beech, 2007; Prichard ve Roulet, 2007; Stenhouse, 2007; James ve Davey, 2009). Milbemis ise *Streptomyces cyanogriseus*'dan izole edilmiştir

(Takahashi vd., 2002, Taylor vd., 2007). Avermektin ve milbemisin aynı merkez halka yapısına sahiptir ancak yan zincirleri farklıdır. Moksidektin, ivermektine kıyasla daha fazla lipofiliktir, hızlı absorbe olur ve canlı vücudunda daha uzun süre kalmaktadır (Lespine vd., 2007; Ardelli vd., 2009).

1.4.4. Grup 4, Amino-asetonitril Türevleri, AAD (Turuncu Grup)

Bu grupta kullanıma sunulan ilk ticari etken madde monepanteldir ve 2009 yılında Avustralya’da piyasaya sürülmüştür. Amino-asetonitril, makrosiklik laktonlardan sonra bulunan ilk antelmentik olup, nematodlardaki nikotinik asetilkolin reseptörlerine etkiyen yeni bir mekanizmaya sahiptir. Amino-asetonitril, nematodun somatik kas hücrelerinin aşırı kontraksiyonu sonucu felç olmasına sebep olur. Ayrıca farinksin ön bölümünde spazm şeklinde kasılmalara da sebep olmaktadır. Her iki etki şekli de parazitin ölümüne sebep olmaktadır. Memelilerde düşük toksiteye sahipken, larval ve erişkin nematod parazitlere karşı etkilidir (Kaminsky vd., 2008; Besier, 2009).

1.4.5. Grup 5, Spiroindoller, SI (Mor Grup)

Derquantel, abamektinle kombine halde 2010 yılında piyasaya sürülmüş spiroindol grubu bir antelmentiktir. Nikotinik kolinerjik antagonist olup, nöromuskular iletimi bloke ederek nematodlarda yumuşak felce neden olmaktadır (Little vd., 2011; Abbott vd., 2012).

Çizelge 1.1: Küçük Ruminantlarda Kullanılan Bazı Antelmentikler ve Özellikleri

İlaç Grubu	Etki Spektrumu	Etki Mekanizması	EtkenMaddeleri	Doz (mg/kg)	Gastroin testinal Nematod	Cestod	Akciğer Kalkırdu	Karaciğer Kelebeği	Ektoparazit
Benzimidazol	Geniş	Tubuline Bağlanma	Tiyofanat	5	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
			Tiyobendazol	44	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
			Fenbendazol	5	Evet	Evet	Evet	Hayır	Hayır
			Mebendazol	15	Evet	Evet	Evet	Hayır	Hayır
			Albendazol	5	Evet	Evet	Evet	Evet**	Hayır
			Oksibendazol	10	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
			Oksfendazol	5	Evet	Evet	Evet	Hayır	Hayır

Çizelge 1.1. Devam

			Febantel	5	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Hayır
			Triklabendazol	12	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Hayır
Imidazoller	Geniş	Kolinerjik Agonist	Levamisol	7.5	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Hayır
/Tetrahidroksipir imidinler			Morantel	7.5	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Hayır
Makrosiklik Laktonlar	Geniş	Glutamat Kapılı Klorid Kanallarına Bağlanma	Ivermektin	0.2	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Evet
			Moksidektin	0.2	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Evet
			Doramektin	0.2	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Evet
			Eprinomektin	0.2	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Evet
Salisilanidler	Dar	Oksidatif FosforulasyonuBozma	Oksiklazonid	15	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Hayır

Çizelge 1.1. Devam

Amino-asetonitril Türevleri	Geniş	Nikotinik Asetilkolin ReseptörlerineBağlan ma	Rafoksanid	7.5	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Evet*
			Nitroksinil	10	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Hayır
			Klosantel	10	Evet	Hayır	Hayır	Evet	Evet*
			Monepantel	2.5	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Spiroindoller	Geniş	Nikotinik kolinerjik antagonist	Derquantel	2	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Not: *= çeşitli etki, **= nematodlara verilen dozun 2 katı									

1.5. Antelmantik Direnç

Bir parazit popülasyonunun daha önce duyarlı olduğu bir ilaca karşı gelişen ve genetik olarak aktarılan duyarlılık kaybına direnç adı verilmektedir. Diğer bir deyişle direnç; bir popülasyonda normal dozda verildiğinde canlılığını yitiren parazitlerin, aynı dozda tamamının ya da bir kısmının canlı kalması ve bunun nesilden nesile aktarılmasıdır (Prichard vd., 1980). Antelmintiklerin terapötik etkinliği, ilaç direncinin gelişim hızını etkileyen önemli bir faktördür. Dirençli genotiplere ve özellikle heterozigotlara karşı yüksek etkinliği olan bir ilaç, dirençli nematodlara karşı düşük tedavi etkinliği olan bir ilaca kıyasla, direnç gelişimini önemli ölçüde yavaşlatmaktadır (Barnes vd., 1995; Dobson vd., 1996). Uzun etkili antelmintikler sayesinde, konağın almış olduğu dirençli parazitlerin ilaca uzun süre maruz kalması sonucu ilaç etkinliği azalabilmektedir (Le Jambre, 1976). Bununla birlikte, uzun etkili antelmintiklerin gittikçe azalan etkisi direnç gelişimini hızlandırabilmektedir. Uzun etkili ilaçların aktivitelerinin azalmasının duyarlı nematodların ölmesine konakta sadece dirençli nematodların kalmasına ve bu yönde bir seleksiyona sebep olabileceği bildirilmektedir (Dobson vd., 1986; Sutherland ve Leathwick, 2002).

1.5.1. Benzimidazol Direnci

Benzimidazoller yüksek affinite ile nematodların tübülünlerine bağlanarak mikrotubullerin yapısını bozmaktadır (Lubega ve Prichard, 1990). Mikrotubullerin, hücre içi madde trafiği, hücresel emilim, sekresyon, mitoz, mayoz, aksonların uzaması, hücrenin silya ve yalancı ayaklarla hareketin sağlanması gibi önemli görevleri vardır (Caviston ve Holzbaur, 2006). Tiabendazol, mebendazol, albendazol, fenbendazol, oksfendazol, flubendazol gibi benzimidazol grubu ilaçlar α - β tubulindimerlerine ya da mikrotubullerin uzayan ucuna bağlanarak başka dimer eklenmesini önleyerek, mikrotubul yapısının bozulmasına sebep olur. Bu durum mikrotubullerin birçok fonksiyonunu engelleyerek, hücrenin ölümüne neden olur (Nare vd., 1996; Prichard, 2001; Robinson vd., 2004). Benzimidazole karşı dirençli mide bağırsak nematodları üzerinde yapılan genetik çalışmalarda, β -tubulin kodlayan sekansta meydana gelen birkaç spesifik değişiklik, nokta mutasyonlarına sebep

olmakta ve böylece ilaç duyarlılığı azalmaktadır (von Samson-Himmelstjerna vd., 2007; Dicker, 2010). *Teladorsagia circumcincta*, *T. colubriformis*, *H. contortus* ve *Cooperia oncophora* üzerinde yapılan genetik çalışmalarda β -tubulin geninin 1.isotipinin 200. kodonunda (Phe200Tyr veya F200Y) bulunan fenilalanin (duyarlı, TTC) yerine tirozine (dirençli, TAC) kodlanarak nokta mutasyonuna neden olmaktadır (Kwa vd., 1994; von Samson-Himmelstjerna vd., 2007). İkinci daha az yaygın benzimidazol direnci mekanizması ise 167. kodonda meydana gelen ve özellikle atların nematodlarında görülen fenilalanin-tirozin (Phe-Tyr) polimorfizmidir (Silvestre ve Cabaret, 2002; Wolstenholme vd., 2004; Gilleard, 2006; Hodgkinson vd., 2008). *Haemonchus contortus*'ta benzimidazol direnci için 200. kodonda Tyr (Tirozin) gerekli iken; *T. circumcincta*'da 200. kodonda homozigot fenilalanin-fenilalanin (Phe/Phe), 167. kodonda ise heterozigot fenilalanin-tirozin (Phe/Tyr) veya homozigot tirozin-tirozin (Tyr/Tyr) olması parazitin dirençli hale gelmesine sebep olabilmektedir (Silvestre ve Cabaret, 2002; von Samson-Himmelstjerna vd., 2007). İki yüzüncü kodonu duyarlı genotipe sahip *T. circumcincta*, benzimidazol tedavisi sonrası yaşamını devam ettirmiş ve başka bir direnç mekanizmasının olabileceğini akıllara getirmiştir (Stenhouse, 2007). *Haemonchus contortus*'ta bulunan alternatif benzimidazol direnç mekanizması ise 198. kodondaki nokta mutasyon sonucu glutamik asit (Glu) yerine alanin (Ala) kodlanması ile meydana gelmektedir (Ghisi vd., 2007; de Lourdes Mottier ve Prichard, 2008). Ayrıca P-glikoproteinlerinde nematod benzimidazol direncinde dolaylı olarak rol aldıkları yönünde çalışmalar bulunmaktadır (von Samson-Himmelstjerna vd., 2007). Bir diğer benzimidazol direnç mekanizması ise *H. contortus* popülasyonunda β -tubulin isotip 2 lokusunda meydana gelen silinmeler sonucunda ortaya çıkmıştır. Benzimidazol direncinde heterozigot parazitler, duyarlı parazitlere göre avantajlı olsa da tamamen dirençli değildirler. Özellikle yetersiz dozda antelmantik uygulamasında canlı kalma şansı yüksektir (Roos vd., 1995).

Yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemlerin hiçbiri, üç kodonun hepsinin bir defada tespitine izin vermez, en az iki PZR gerektirir. Benzimidazol direncinin tespitinde *H. contortus* ve *T. circumcincta* saha örnekleri üzerinde pyrosequencing metodu da kullanılmıştır (von Samson-Himmelstjerna vd., 2009; Ramünke vd.,

2016). Ayrıca alel spesifik PZR ile 200. kodon (Elard ve Humbert, 1999; Silvestre ve Humbert, 2000) ve 198. kodondaki alanını (Rufener vd., 2009) tespit etmek mümkündür. Protokolde tür teşhisini de içeren alel spesifik PZR, Silvestre ve Humbert (2000) tarafından bildirilmiştir. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi kullanılarak tür tespiti yapılmış ve sonrasında β -tubulin izotip-1 türe özgü primerler kullanılarak 200. kodondaki SNP aleli belirlenmiştir. Yeni nesil dizileme hızlı teşhis ve birçok türden oluşan parazit havuzu içerisinde benzimidazol direncinin belirlenmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Kurulumu nisbeten kolay olsa da pahalıdır. Saha örneklerinde kullanım için daha ucuz bir moleküler test olan döngü aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP), BZ fungusit karbendazim'e direnç sağlayan bir SNP'nin üç alelini tespit etme yeteneğine sahiptir ve diğer testlere alternatif olarak kullanılabilir (Duan vd., 2014). Diğer BZ direnç mekanizmalarının varlığı bildirilse de (Sangster vd., 1998; Beech vd., 2011; Kotze vd., 2014; Hahnel vd., 2018), bunların tespiti sınırlıdır.

1.5.2. Levamizol Direnci

Levamizol (LEV), somatik kas hücreleri üzerindeki asetilkolin reseptörlerine (AChR) bağlanarak nematodlarda spastik bir felç oluşturur (Lewis vd., 1980). Türler arasında değişen birçok AChR bulunmaktadır (Neveu vd., 2007; Boulin vd., 2008) ve ligand spesifikite ve sensivitelerinde doğal bir değişkenlik gözlemlenmektedir. Ayrıca, nAChR alt birim gen ailesi içinde, LEV direncinin anlaşılmasını zorlaştırabilecek bir çeşitlilik olduğu görülmektedir. Levamizol, imidatiazol ve pirantel de dahil olmak üzere tetrahidropirimidinlerin direnç mekanizmaları üzerine yeterince çalışma bulunmamaktadır (Kopp vd., 2009). *Caenorhabditis elegans* üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; levamizol direncinde duyarlı ionotropik asetilkolin reseptörlerinin alt ünitelerini (L-AChRs) kodlayan 5 gen bulunmaktadır. Bunlar; 3 α -altünite gen (*lev-8*, *unc-63* ve *unc-38*) ve 2 α olmayan altünite gen (*lev-1* ve *unc-29*)'dir (Fleming vd., 1997; Culetto vd., 2004; Towers vd., 2005; Boulin vd., 2008). Bunlara ek olarak, *ric-3*, *unc-74* ve *unc-50* meydana gelen mutasyon sebebiyle kas hücrelerinde L-AChR ekspresyonu kaybolmaktadır ve bunun sonucunda levamizole karşı duyarlılık yok olmaktadır (Millar vd., 2008). Levamizol

direncinin oluşması için *C. elegans*'ın *unc-38* genindeki 153. kodonda bulunan glutamik asit (Glu) yerine mutasyon sonucu glisin (Gly) kodlanması gerekmektedir (Rayes vd., 2004; Martin ve Robertson, 2007). Levamizol, memeli kaslarında bulunan asetilkolin reseptörlerinin zayıf agonistidir ve düşük toksiteye sahipken, Glu153Gly mutasyonu memeli kaslarında bulunan asetilkolin reseptörlerine agonist etki göstererek levamizolün etkisini artırmaktadır (Rayes vd., 2004). Nikotinik asetilkolin reseptörleri merkezi iyon kanalı etrafına dizilmiş 5 glikoprotein alt ünitesinden oluşmaktadır ve her bir alt ünite AChR'e farklı farmakolojik özellik kazandırmaktadır (Kopp vd., 2008). Bir gen fragmenti olan HA17, levamisole duyarlı ve dirençli parazitlerde farklı eksprese olduğu cDNA-AFLP tekniği ile tespit edilmiş ve levamizol direnci için potansiyel marker olması amaçlanmıştır (Neveu vd., 2007). Kopp vd. (2008), *Ancylostoma caninum*'da pirantel alt üniteleri olan ARR-29, ARR-38 ve ARR-63'de önemli polimorfik farklılıklar görmezken, bu genlerin dirençli parazitlerde ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını kanıtlamışlardır. Bu genler *C. elegans*'ta bulunan *unc-29*, *unc-38* ve *unc-69* genleri ile ortologdur (Kopp vd., 2008). Bununla birlikte, parazitik nematodlardan olan, *H. contortus* ve *T. circumcincta*'da, lev-8 ortologu bulunmamaktadır (Neveu vd., 2010; Blanchard vd., 2018). *Xenopus* oositlerinde Hco-unc-38, Hco-unc-63, Hco-unc-29 ve Hco-acr-8 kullanılarak fonksiyonel bir LEV duyarlı reseptör üretilmiştir (Boulin vd., 2008). Hco-lev-1'in ek ekspresyonu, LEV'nin hücrelere uygulanmasını takiben çok küçük bir fark oluşturmuştur. Hco-acr-8'in olmaması, mevcut yanıtı büyük ölçüde azaltmış olsa da tamamen ortadan kaldırmamıştır (Boulin vd., 2008). Bu genlerin homologlarının fonksiyonel ekspresyonları henüz araştırılmamasına rağmen *T. circumcincta*'da tanımlanmıştır (Waller vd., 2001; Neveu vd., 2010). Son olarak, *H. contortus* L₂'de siRNA kullanılarak acr-8'in baskılanması, kontrol larvalarına kıyasla LEV direnç fenotipini indüklemiştir (Blanchard vd., 2018).

Parazitik nematodlarda LEV direnci ağırlıklı olarak AChR'lerin alfa alt birimlerinin kesikli formlarıyla ilişkilendirilmiştir. Acr-8'in kesikli izoformu *H. contortus*'ta *acr-8b* olarak adlandırılmıştır (Fauvin vd., 2010). *Unc-63*'ün kesikli izoformu ise *unc-63b* olarak adlandırılmış ve *H. contortus*, *T. circumcincta* ve *Trichostrongylus colubriformis*'de tanımlanmıştır (Neveu vd., 2010).

Direnç, delesyon içeren LEV-dirençli ve LEV-duyarlı izolatlar ile daha karmaşık hale gelmektedir (Barrère vd., 2013). *Hco-acr-8b*, *Hco-unc-63b* ve üç yardımcı faktör genleri de dahil olmak üzere çeşitli alt birimlerin ekspresyon paternleri, bir izolat içinde ve izolatlar arasında yaşam döngüsü aşamalarında değişkenlik göstermektedir. Bu alt birimlerin ekspresyonu, duyarlı izolatların aksine *H. contortus*'un çoklu ilaç direnci bulunan 3 izolatında korunmamıştır (Sarai vd., 2013). Bu varyasyonların bazıları, genel bir popülasyon içinde farklı LEV fenotipine sahip nematodların alt popülasyonları ile açıklanabilir. *H. contortus* dirençli L₃'leri incelendiğinde, AChR alt birimlerinin ve yardımcı genlerin ekspresyonunun daha az olduğu görülmüştür. *Caenorhabditis elegans*'ta ise daha önce yapılan çalışmalarda levamizol direnci ile alakalı 11 gen tespit edilmiştir ve bu da levamizol direncinin mekanizmasının anlaşılmasını karmaşık hale getirmektedir (Fleming vd., 1997). Her ne kadar *acr-8* indellerinin *H. contortus*'ta LEV duyarlılığı ile bağlantısı için güçlü kanıtlar olsa da, delesyonlar izolatlar arasında değişkenlik göstermektedir ve diğer strongil türlerinde rastlanmamıştır (Fauvin vd., 2010; Blanchard vd., 2018).

1.5.3. Makrosiklik Lakton Direnci

İvermektin flask paralizini indükler (Arena vd., 1995) ve konakçıdan parazitlerin atılmasına yol açar. Ancak makrosiklik lakton direncinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Glutamat kapılı klorid kanalları ile asetilkolin reseptörleri benzer yapıya sahiptir ve 5 alt ünitenin (α ve β) bir araya gelmesi ile merkez iyon kanalını oluştururlar. α alt üniteler glutamat bağlanma bölgesini ve β alt üniteler ise ivermektin bağlanma bölgesini içerirler (Martin vd., 1997). İvermektin direncinde rol alan genlerin bir kısmı glutamat ve GABA kapılı klorit kanallarını içermektedir (Njue vd., 2004; Gilleard, 2006). *Haemonchus contortus* 'un farklı popülasyonlarında glutamat ve GABA klor alt ünitelerinin alel frekanslarında değişiklikler gözlemlenmiş ancak tek bir alelde meydana gelen değişiklik direnç ile bağlantılı bulunmamıştır (Blackhall vd., 1998; Blackhall vd., 2003). Bildirilen tek bir vakada, *C. oncophora*'nın alt ünitesi GluCla3'ün 256. kodonunda lösin yerine fenilalanin kodlanması (Leu256Phe) sonucu ivermektin direnci geliştiği bildirilmiş ancak bu *H.*

concoratus, *T. circumcincta*, *O. ostertagi* ve diğer *C. oncophora* isolatlarında tespit edilememiştir (Njue vd., 2004; Van Zeveren, 2009). *Caenorhabditis elegans*'ta ise makrosiklik lakton direnci için birkaç glutamat kapılı klorit kanalı alt ünite genlerinde mutasyon oluşmasının gerekli olduğu bildirilmiştir (McCavera vd., 2007). *Caenorhabditis elegans*'ta yüksek düzeyde ivermektin direnci oluşması için glutamat kapılı klorit kanalı α -alt ünite kodlayan 3 gende de (*avr-14*, *avr-15* ve *glc-1*) eş zamanlı mutasyon gerekirken, 2 gende eş zamanlı meydana gelen mutasyonun düşük seviyede direnç oluşturduğu ya da hiç direnç oluşturmadığı bildirilmiştir (Dent vd., 2000; Cook vd., 2006). *Avr-15*, *C. elegans*'ın faringeal kaslarında eksprese olan GluCla2 kodlarken; *Avr-14*, *C. elegans*'ın ekstra faringeal sinir sisteminde eksprese olan GluCla3 kodlamaktadır. İvermektenin en önemli etki mekanizmasından biri ise faringeal pompanın inhibisyonu sonucunda parazit in aç kalmasıdır (Dent vd., 2000; Cook vd., 2006). *Caenorhabditis elegans* ile kıyaslandığında parazitik nematodlar farklı GluCla alt ünite genlere sahip olsa da, *C. oncophora*'da bulunan *avr-14* gibi ivermektin duyarlılığını azaltan ortologlar da bulunmaktadır (McCavera vd., 2007). Trichostroglylid parazitlerde ivermektin direncinin genetik mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (Geary, 2005; Prichard vd., 2007).

γ -aminobutirik asit (GABA) reseptör genlerinde meydana gelen değişikliklerin makrosiklik lakton direncinde payı olduğu düşünülmektedir (Blackhall vd., 2003).

Makrosiklik lakton direncinde rol oynadığı düşünülen diğer bir mekanizma ise P-glikoproteinlerin (PGP) detoksifikasyon sürecidir. P-glikoproteinler, ATP bağlayıcı kaset süper ailesi içerisinde yer alıp, endojen ve ekzojen hidrofobik moleküllerin membran boyunca aktif taşınımını sağlarlar (Sangster ve Dobson, 2002). P-glikoproteinler büyük ölçüde sindirim sisteminde bulunmakta olup, bağırsak ve faringeal hücrelerin memberanlarında yüksek miktarda eksprese olmaktadır. P-glikoproteinlerin asıl görevi toksik etkenleri hücre dışına pompalayarak, organizmayı korumaktır. Koyundan elde edilen ivermektin dirençli *T. circumcincta* üzerinde yapılan çalışmada bir çeşit PGP olan, *Tci-Pgp-9*'un mRNA düzeyinde ekspresyonunun arttığı, sekans diziliminde yüksek düzeyde polimorfizm görüldüğü ve helmintlerin ivermektine karşı direncinde önemli rol alabileceği belirtilmiştir (Dicker

vd., 2011). *Caenorhabditis elegans*'ta 15, *H. contortus*'ta 9, *T. circumcincta*'da ise 11 kısmi *pgp* sekansı tanımlanmıştır (Zhao vd., 2004; Lespine vd., 2008, Dicker vd., 2011, Williamson vd., 2011).

Verapamil, bir kalsiyum kanalı blokörü olarak *Pgp*'nin ilaca bağlanma bölgesini inhibe ederek, antelmantik ilacın etkisini artırmaktadır (Molento ve Prichard, 1999). Demeler vd. (2013), *Pgp* inhibitörü olan verapamil kullanılarak in vitro testlerde makrosikliklakton dirençli parazitlerin daha duyarlı hale geldiklerini belirtmişlerdir. Ardelli vd. (2009), *Caenorhabditis elegans* üzerinde yaptıkları çalışmada benzer sonuçları elde etmişlerdir.

İvermektinin *H. contortus* ve *T. circumcincta* L1'leri üzerindeki etkinliğini araştıran in vitro çalışmalar sonucunda, ivermektinin, P-gb inhibitörlerine maruz kalan hem duyarlı (MTci3 ve MHco3 (ISE)) hem de dirençli (MTci4 ve MHco4 (WRS)) izolatları üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgulara rağmen, yapılan birkaç çalışmada ivermektin direnci ile P-gb arasında bir bağlantı tespit edilememiştir (Dicker vd., 2011; Rezansoff vd, 2016).

Bununla birlikte, daha önceki çalışmalarda (Rolfe ve Fitzgibbon, 1996; Barnes vd., 2001) moksidektinin uzun süreli etkisinin dirençli izolatların larvalarına karşı önemli bir etkisi olmadığını bildirmiştir. *T. circumcincta*'nın dirençli ve duyarlı yetişkin parazitlerinin çaprazlanması sonucu elde edilen heterozigot F₁ jenerasyonuna ve dirençli L₃'lere karşı moksidektinin etkinliği benzerdir ve makrosiklik lakton direnci dominant karakter göstermiştir. Bu sonuç Barnes vd. (2001)'nin bulduğu *H. contortus*'taki makrosiklik lakton direncinin moksidektinin uzun süreli etkisine karşı dominant karakter göstermesiyle uyumluluk göstermektedir. Sutherland vd. (2002), *T. circumcincta*'da oral ivermektinle teröpatik tedavi sonrasında makrosiklik lakton direnci dominant karakter gösterirken, moksidektinle teröpatik tedavi sonrasında yarı dominant/çekinik karakter gösterdiğini bildirmişlerdir. Teröpatik etkisi ele alındığında direnç gelişimini geciktirmek için ivermektin yerine moksidektinin tercih edilebileceği ortaya konulmuştur (Murphy, 2001).

Sutherland vd. (2003), moksidektin ile tedaviden 9-21 gün sonrasında konakçının L₃ alması halinde, uzun etkili döneminde direncin dominant karakter kazandığını bildirmiştir. Bu özellik ilacın ivermektinden yüksek teröpatik özelliği olsa da ivermektin kadar iyi profilaktik özelliği olmadığını ortaya koymuştur. Ivermektinin uzun etkili profilaktik etkisinin; yeni alınan duyarlı, heterozigot ve çoklu ilaç direnci bulunan L₃'lere karşı önemli olduğu ve makrosiklik lakton direncinin bu dönemde yarı dominant/çekinik karakter kazandığı tespit edilmiştir. Bu bulgu Barnes vd. (2001)'nin bulgularıyla örtüşmüştür. Bu çalışmaların sonucunda, moksidektinin yüksek teröpatik, düşük profilaktik özelliğe sahipken, ivermektinin düşük teröpatik, yüksek profilaktik özelliğe sahip olduğu ortaya konmuştur (Sutherland vd., 2003).

Avustralya *H. contortus* izolatında ivermektin direncinin genetik analizi sonucunda dirençten sorumlu genlerin ekspresyonunun larvalarda otozomal ve tam baskın olduğunu bildirilmiştir, bununla birlikte, erişkinlerde ekspresyon cinsiyete göre farklılık göstermektedir ve erkeklerde ivermektine direnç dişilere göre daha düşüktür (Le Jambre vd., 2000).

Saha çalışmalarından elde edilen bulgular, IVM ile in vivo tedavinin parazitik nematodların üreme sistemini etkilediğini göstermektedir. Dirençli dişi *H. contortus*'la enfekte koyunlarda ivermektin tedavisi sonrası 7. günde tedavi öncesine göre daha yüksek sayıda yumurta üretimi gözlenmiştir (Scott vd., 1991).

İvermektin ile tedavi edilen *T. circumcincta* ile enfekte yedi aylık kuzularda, yumurta sayısının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca yumurtadan larva çıkış kapasitesi ve süresine anlamlı bir etkisi bulunmamıştır (Sutherland vd., 2003).

Ivermektin direncinin moleküler temelini çok genli olması muhtemeldir ve direnç kazandıran genler veya mutasyonlar popülasyonlar arasında değişebilir (Kotze vd., 2014). Bugüne kadar pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, IVM direnci sağlayan tek bir dominant gen veya tek nükleotid polimorfizmi (SNP) bulunamamıştır (Kotze vd., 2014).

Çoğu çalışmada, IVM direnci çoklu ilaç direncine sahip izolatlar kullanılarak araştırılmıştır. Örneğin, MTci5 BZ, LEV ve IVM'ye karşı dirençlidir. Tanımlanan mekanizmalar, birden fazla antelmantik sınıfın etkisine direnç konusunda dahil olabileceğinden, bu faktörler çalışmanın sonucunu etkileyebilir. Birçok çalışmada, genetik seçim baskısını etkileyecek ve IVM duyarlılığı üzerinde çok az etkisi sonucu genotip farklılıklarına yol açabilecek olan ayrı coğrafi bölgelerden veya konakçılardan elde edilen izolatları ve parazit popülasyonlarını karşılaştırılmaktadır (Sallé vd., 2019). Son olarak, nematod parazit popülasyonları genetik olarak oldukça çeşitlidir ve dirençli nematodların alt popülasyonları, tüm çoklu dirence sahip nematod popülasyonlarında bulunabilir (Sarai vd., 2013).

1.5.4. Amino-Asetonitril Türevleri (AAD) Direnci

Amino-asetonitril türevi olan monepantel nikotinik reseptörleri hedef alarak etki göstermektedir. Bu reseptörler DES-2 ve ACR-23 gibi faringeal kaslarda, sinir kordonundaki sinirler arasında ve duyu sinirlerinde bulunan alt üniteleri içermektedir (Treinin vd., 1998). Amino asetonitril türevlerine duyarlı nikotinikasetilkolin reseptörlerinin alt üniteleri sadece nematodlara etkiyen bir mekanizmaya sahiptir ve bu sebeple memelilere, insektlere ve diğer omurgalılara karşı toksitesi yoktur. *Haemonchus contortus* üzerinde yapılan in vitro çalışmalarda, iki genin direnç üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Bunlardan birisi *monepantel-1* (*Hco-mptl-1*, diğer bir isimle *Hc-acr-23H*) geni olup, monepantel dirençli *H. contortus*'ta intron ekson sınırında silinmeler sonucu normalden önce stop kodonu oluşumuna neden olmaktadır. *Hco-des-2H* geninde ise 135 baz çiftinin 5' ucuna eklenmesi sonucu mutasyon meydana gelmekte ve ilaca olan duyarlılık azalmaktadır (Rufener vd., 2009; Kennedy ve Harnet, 2013).

Monepantel, ilk olarak 2009 yılında Yeni Zelanda'da küçük ruminantlarda kullanılmaya başlanmış ve bundan 4 yıl sonra ilk direnç bildirimi yayımlanmıştır (Scott vd., 2013). Avustralya'da ise 2010 yılında piyasaya sürülmüş ve yine 4 yıl sonra ilk direnç bildirimi yapılmıştır (Love, 2015). Daha sonra dünyanın çeşitli

yerlerinden yapılan direnç bildirimleri mevcuttur (Mederos vd., 2014; Brom vd., 2015; Sales ve Love, 2016; Cintra vd., 2016).

Bazı antelmentiklere yıllara göre direnç gelişimi Çizelge 1.2'de verilmiştir.

Çizelge 1.2: Antelmentik İlaçlar ve Direnç Gelişimi (Graef vd., 2013; Scott vd., 2013).

Antelmentik ilaç sınıfı	Etki mekanizması	Etken maddesi	Piyasaya giriş yılı	Direnç bildirim yılı
Heterosiklik bileşikler	Dopaminerjik iletim blokajı	Fenotiyozin	1940	1957
	GABA-inhibe edici reseptör agonisti	Piperazin	1954	1966
Benzimidazoller	Mikrotübülpolimerizasyoninhibisyonu	Tiabendazol	1961	1964
		Kambendazol	1970	1975
		Oksibendazol	1970	1985
		Mebendazol	1972	1975
		Albendazol	1972	1983
		Fenbendazol	1975	1982
		Oksfendazol	1976	1981
		Triklabendazol	1983	1998
İmidatiazol ve tetrahidropirimidinler	Nikotinikasetilkolin reseptör agonisti	Levamisol	1970	1979
		Pirantel	1974	1996
		Oksantel	1976	-
		Morantel	1970	1979
Makrosikliklaktolar	Glutamat kapılı klorit kanalı allosterik modülatörü	Abamektin	1970'lerin sonu	2001
		İvermektin	1981	1988
		Moksidektin	1991	1995
		Doramektin	1993	2007
		Eprinomektin	1996	2003
Amino-asetonitril türevleri	Nikotinerjikasetilkolin reseptör agonisti	Monepantel	2009	2013
	Kasyon kanalı antagonisti	Derquantel	2010	-

1.6. Antelmantik Direncin Tespiti

Düzenli antelmantik kullanımı parazit popülasyonundaki direnç alellerini artırmaktadır. Bu durumda antelmantik konak için tedavi edici özelliğini kaybetmekte ve başka bir etki mekanizmasına sahip antelmantik kullanımı ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Bir parazit popülasyonundaki antelmantik direncini, alellerin sıklığı düşüken belirlemek oldukça önemlidir. Böylece antelmantik direncin oluşması geciktirilebileceği ve kullanılan ilacın etkinliğinin korunabileceği kaydedilmiştir (Martin vd., 1989).

Dünya Veteriner Parazitolojiyi Geliştirme Derneği (WAAVP), antelmantik direncin tespiti için bir kılavuz yayımlamıştır (Coles vd., 1992). Buna göre günümüzde, antelmantik direncin tespiti in vitro ve in vivo testlere dayanmaktadır. Bu testler uzun zaman gerektiren, pahalı, iş gücüne dayalı olduğu ve testlerin bazıları denek hayvanlar gerektirdiği için kullanımı kısıtlıdır. Kullanılan testlerin bazıları sadece hedef parazit popülasyonu %25 ve üzerinde fenotip olarak dirençli ise sonuç vermektedir. Benzimidazol direncinin tespiti için kullanılan DNA tabanlı testlerde bireysel veya toplu örnekler kullanılarak çok daha yüksek duyarlı sonuçlar elde edilmektedir (Coles vd., 1992).

1.6.1. Antelmantik Direncin Tespitinde Kullanılan In Vivo Testler

Antelmantik direncin tespitinde en çok kullanılan iki metod; dışkıda yumurta sayısı azalım testi (FECRT) ve kontrollü etki testi (CET) dir. Kontrollü etki testi en güvenilir metod olmasına rağmen, dışkıda yumurta azalım testi en sık kullanılan testtir (De Graef, 2013).

1.6.1.1. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi (FECRT)

Bu metod; Dünya Veteriner Parazitolojiyi Geliştirme Derneği tarafından tavsiye edilen ve sahada antelmantiklere karşı oluşan direncin tespitinde kullanılan en pratik in vivo metoddur. Gram dışkıda bulunan nematod yumurtalarının, tedavi öncesi ve

10-14 gün sonrası sayımına, aradaki farkın yüzde olarak hesaplanmasına dayanır. Gram dışındaki yumurtaların sayıca %95'in altında bir yüzde ile azalması durumunda direnç geliştiği kabul edilir (Coles vd., 1992). Küçük ruminantlarla karşılaştırıldığında, sığırlarda direncin doğru bir şekilde tespiti, dışındaki yumurta sayısının az olması sebebiyle daha zordur (Taylor vd., 2002; Sutherland ve Leathwick, 2011).

Bu test tüm antelmentikler için uygundur. Eğer parazitlerin %25' den fazlası dirence sahip ise bu tekniğin güvenilir olduğu söylenebilir. İdeal olarak her grup için, EPG'si 150'den yüksek 10'ar hayvan seçilir. Kullanılacak hayvanların canlı ağırlık tespiti, verilecek ilacın dozunu ayarlamak için önemlidir. Benzimidazol direncini belirlemek için antelmentik verildikten 8-10 gün sonra, makrosikliklakton direncini belirlemek için ise tedaviden 14-17 gün sonra dışkı örneği alınır (Coles vd., 2006).

Bir gram dışkıda 50'den az yumurta olması halinde modifiye McMaster tekniği kullanılamamaktadır ve bu durum tekniğin kullanımını kısıtlamaktadır. Tedavi öncesi dışkıdaki yumurta sayısı 150'den az ise daha duyarlı bir metodun kullanılması tavsiye edilmektedir. Bu yöntemin bir diğer dezavantajı ise tür spesifitesinin olmamasıdır. Bunun için parazitin morfolojik ya da moleküler olarak incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca miks enfeksiyonlarda farklı nematod yumurtalarının birbirinden ayırt edilmesi zordur (Christie ve Jackson, 1982; Levecke vd., 2009). Ayrıca dışkıdaki nematod yumurta sayısı her zaman erişkin parazit sayısını yansıtmamaktadır ve bu test dışkıdaki yumurta sayısına dayanmaktadır. *Haemonchus contortus* için yumurta sayısı ve erişkin parazit sayısı arasında doğru orantı bulunurken, *T. colubriformis*, *T. circumcincta* ve *Nematodirus spp.*'de genelde dışkıdaki yumurta sayısı erişkin parazit sayısına göre az olmaktadır (Sangster vd., 1979; Martin vd., 1985).

1.6.1.2. Kontrollü Etki Testi (CET)

Kontrollü etki testi, antelmentiklerin gerçek etkisini tespit etmek için altın metod olarak görülmektedir (McKellar ve Jackson, 2004; Coles vd., 2006). Bu testte,

hayvanlar bilinen dirençli ve duyarlı L₃ ile deneysel olarak enfekte edilmekte ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda antelmentikle tedavi edilmektedir. Belirli bir zaman sonra, nekropsi yapılarak parazitler abomasumdan toplanmaktadır. Parazit sayısındaki azalma %90' dan az ise ya da tedaviden sonra 1000 ve daha fazla parazit canlı kalırsa direncin olduğu kabul edilmektedir. Metodun ayrıntılarını standardize etmişler ve bu metod dünya genelinde ilaç çalışmalarında kullanılmıştır. Bu yöntemin dezavantajları ise; pahalı ve zaman alıcı olmasının yanı sıra, yoğun işgücü gerektirmesidir. Ayrıca test için hayvan kullanmanın da etik olarak doğurduğu sorunlar bulunmaktadır (Coles vd., 1992; Taylor vd., 2002).

1.6.2. Antelmentik Direncinin Tespitinde Kullanılan In Vitro Testler

Düşük maliyetli olması, konaktan konağa farklılık göstermemesi ve hayvan kullanımına gerek olmaması in vitro testlerin avantajlarındandır. Nematod larvalarını kullanarak antelmentik direnci tespit etmek amacıyla birçok metod geliştirilmiştir. Ancak bu testlerin çoğu, güvenilirliği, tekrar edilebilirliği, duyarlılığı ve kolay yorumlanması istenilen düzeyde olmadığı için sahada yaygın olarak kullanılamamaktadır. Sadece yumurta çıkış testi (EHT) ve larval gelişim testi (LDT) yaygın olarak kullanılmaktadır (Graef vd., 2013).

1.6.2.1. Yumurtadan Çıkış Testi (EHT)

Yumurtadan çıkış testi sadece benzimidazol ve levamizol direncini tespit etmek için kullanılırken, ovisidal olmaması sebebiyle makrosiklik laktonlarda kullanılamamaktadır. Bu yöntemde yumurtalar dışkıdan elde edildikten sonra çeşitli konsantrasyonlarda antelmentik ile inkübe edilip yumurtadan çıkış yüzdesi hesaplanmaktadır (Le Jambre, 1976; Taylor vd., 2002; Coles, 2005). Bu test yumurtadan çıkış süresi kısa olan nematodlarda iyi çalışmaktadır (Coles vd.,1992). Bu yöntemle, miks mide bağırsak nematod enfeksiyonlarında yumurtadan çıkan larva ile tür ayrımı yapmak mümkündür. Dobson vd. (1986), bu yöntemi modifiye ederek levamizol direnci tespitini mümkün hale getirmiştir. Tiabendazolün duyarlılığı embriyogenez ile birlikte azaldığı için taze (3 saat içerisinde toplanmış)

yumurtaları kullanmak oldukça önemlidir. Beklemiş yumurtalarda yanlış negatif sonuç alma olasılığı artmaktadır. Buna ek olarak yumurtalar anaerobik ortamda 7 güne kadar muhafaza edilebilmektedir (Hunt ve Taylor, 1989). Bu yöntemde duyarlı izolatlar kullanılarak optimal doz hesaplanır. Test edilen örneklerde bu dozla yumurtadan çıkış yüzdesi aynı zamanda direnç yüzdesi olarak kabul edilir. Bu yöntemin bir avantajı da sadece bir kez dışkı toplanmasının yeterli olmasıdır (Coles vd., 2006). Yumurta çıkış testinin sonuçları genelde ED₅₀ (%50 inhibisyon değeri) ya da ED₉₉ (%99 inhibisyon değeri) kullanılarak yorumlanmaktadır. Eğer ED₅₀ eşik değeri olarak kullanılırsa, benzimidazol direncini tespit etmek için popülasyondaki dirençli parazit oranı en az %25 olmalıdır (Martin vd., 1989). ED₉₉ kullanımı ile testin duyarlılığı artmış, popülasyondaki düşük yüzdeye sahip dirençli parazitleri tespit edebilmek mümkün hale gelmiştir (Varady vd., 2007).

1.6.2.2. Larval Gelişim Testi (LDT)

Larval gelişim testi, antelmantik ilacın yumurta gelişimini inhibe etme potansiyelini ölçmek için 1990'lı yıllarda Avustralya'da geliştirilmiştir. Bu testte trichostrongylid tip yumurtalar *Escherichia coli* içeren besi yerinde 6-8 gün test edilen antelmantikle birlikte inkübe edilir. Daha sonra gelişen L₃'lerin oranı hesaplanır. Bu testin verimli çalışması için, taze toplanmış yumurtaların kullanılması en önemli faktördür (Gill vd., 1995; Demeler vd., 2010). Koyun ve keçi nematodlarında benzimidazol ve levamisol direncini tespit etmek için ticari larval gelişim testi geliştirilmiştir (Tandon ve Kaplan, 2004). Larval gelişim testi, yumurta çıkış testine göre daha çok iş gücü gerektiren ve zaman alıcı bir test olmasına rağmen, makrosikliklaktonlar da dahil olmak üzere birçok antelmantiğin direnç tespitinde kullanılmaktadır (Jabbar vd., 2006). Elde edilen sonuçlara göre, koyun ve keçilerde makrosikliklaktonlara karşı direnci tespit etmek için en etkili metottur (Varady vd., 2011). Larval gelişim testi, dışkıda yumurta azalımı (FECRT) ve yumurtadan çıkış (EHT) testine göre daha duyarlıdır; popülasyonda direnç taşıyan parazitleri %10'a kadar tespit edebilmektedir (Dobson vd., 1986).

1.6.2.3. Larval Migrasyon İnhibisyon Testi

Migrasyon ve motilite testleri trichostrongylid nematodların vücut kaslarını antelmentik yardımıyla felç etmeye dayanır. Üçüncü dönem larvalar 24 saat süre ile antelmentik seri dilusyonlarıyla inkube edilir ve sonrasında 24 saat bekletilmek üzere bir meş üzerine aktarılır. Dirençli L₃'ler eleğin altına geçerken, duyarlı L₃'ler ise eleğin üzerinde kalmaktadır. Göç geçiren larvaların yüzdesi hesaplanır. Farklı konsantrasyonlar sonucu ortaya çıkan eğri ile migrasyon inhibisyonu tespit edilmektedir (Folz vd., 1987; Demeler vd., 2010).

1.6.2.4. Mikro-Agar Larval Gelişim Testi (MALDT)

Sıvı veya agar bazlı iki varyasyon kullanılmaktadır (Várady vd., 2009). Her iki test türü de yumurtaların üçüncü larva aşamasına (L₃) kadar gelişmesi prensibine dayanır. Gill vd. (1995), avermektinlere ve milbemislinlere karşı direnci saptamak için bir test geliştirmiştir. Benzer şekilde, Coles vd. (2006), ilaç emdirilmiş agar içeren 96 oyuklu mikropate kullanarak mikro-agar larva geliştirme testini (MALDT) geliştirmiştir. MALDT ile ivermektin aglikon kullanılarak, ivermektine dirençli izolatları duyarlı izolatlardan kolayca ayırt edilebilmektedir.

1.6.2.5. Larval Besleme Testi

Larval besleme testi, makrosiklik lakton ve levamizol direncini tespit etmek için kullanılan bir metottur. Dışkıdan elde edilen yumurtalardan L₁ oluştuktan sonra 2 saat boyunca seri antelmentik dilüsyonlarında bekletilir. Larvalar, floresan izotiosiyanat ile işaretlenmiş *E. coli* ile beslenir ve 24 saat inkube edilir. Daha sonra floresan mikroskobu altında besini alan ve almayan larvalar incelenir ve besini alan larvalarda direnç oranı hesaplanır (Álvarez-Sánchez vd., 2005).

1.6.2.6. Larval Paraliz Testi

Larval paraliz testi levamizol ve morantel-tartrat direncini tespit etmek için geliştirilen ilk testtir. Seri antelmentik dilusyonları sonucu felç olmuş L₃ larvaların yüzdesini belirlemeye dayanır (Martin ve Le Jambre, 1979). Gill vd. (1995) ivermektinin *H. contortus* larvası üzerindeki felç edici etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmaya göre; ivermektinin yüksek ve düşük dozlarda *H. contortus* larvası üzerine etkili olduğu görülmüştür. Levamizol ve benzimidazole karşı dirençli *H. contortus* larvalarına da etkisi gözlemlenmiştir ancak dirençli *H. contortus* izolatlarında ilaç etkisini tam gösterememiştir.

1.6.2.7. Mikro-Motilite Ölçüm Testi

Mikro-motilite ölçüm testinde, L₃ ya da erişkin parazitlerin hareketleri foto dedektör yardımıyla ölçülmektedir. Ölçülen sinyalin sayısal değeri, motilite endeksi olarak adlandırılmaktadır. Aktif parazitler, felç olmuşlara göre daha yüksek indekse sahiptir (Folz vd., 1987; Demeler vd., 2010).

1.6.3. Moleküler Temelli Testler

DNA temelli testler, genetik tabanlı niteliksel (mutasyonlar) ya da niceliksel (gen ekspresyonunda farklılık) değişiklikleri belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. Moleküler temelli testlerin gelişmesi ile in vitro metotlarla tespit edilemeyen düşük benzimidazol direnci belirlenebilmektedir. Moleküler temelli testler pahalı ekipmanı ve malzemesi olmasına rağmen, in vivo ve in vitro testlere oranla daha duyarlı ve hızlıdır. Bu testler, popülasyonda bulunan ve direnç geni taşıyan parazitlerin, bireysel olarak tespitine olanak sunmaktadır (Elard vd., 1999; von Samson-Himmelstjerna, 2006). Teorik olarak, popülasyondaki direnç alleli sıklığı düşük olsa bile moleküler temelli testler direnç allellerini tespit edebilmektedir. Bu sebepten, direnci belirlemek için yapılan testlerde moleküler bilgiye sahip olmak gerekir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) temelli testler, tek nükleotid polimorfizmlerinden (SNPs)

yararlanarak benzimidazol direncini tespit etmektedir. Şu ana kadar antelmantik direncini belirlemeye yönelik moleküler çalışmaların çoğu benzimidazoller üzerinde yapılmıştır. Diğer antelmantiklerin direnç mekanizması, henüz benzimidazoller kadar iyi bilinmemekte ancak çalışmalar devam etmektedir (Kwa vd., 1994). Bir parazit popülasyonundaki dirençli bireylerin oranı %1 bile olsa PZR ile tespit edilebilmektedir (Roos vd., 1995). PZR tekniğinin geliştirilmesinden sonra popülasyondaki parazitlerin bireysel olarak tür ve direnç durumunun belirlenmesine olanak sağlayan PZR-RFLP tekniği geliştirilmiştir. Bu yöntem geliştirilerek daha hızlı sonuçlar veren, duyarlı ve dirençli allellerin örnek havuzundan dahi tespit edilmesine olanak sağlayan real-time PZR geliştirilmiştir. Özellikle problemlerin geliştirilmesi ile real-time PZR ve pyrosequencing metodu yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Kwa vd., 1994; Silvestre ve Humbert, 2002; von Samson-Himmelstjerna, 2006). Antelmantik direnci belirlemek için tek bir mutasyonu temel alan testlerde, direncin birden çok mekanizmadan kaynaklanabileceği unutulmamalıdır. Duyarlı moleküler testlerin sonuçları doğrultusunda stratejiler geliştirilerek, antelmantik direncin gelişiminin yavaşlatılması hedeflenmektedir (Coles, 2005; Coles vd., 2006; von Samson-Himmelstjerna, 2009).

İlk mikrosatellit 1984 yılında Weller tarafından Leicester Üniversitesi'nde insan miyogloblin geninde bulunan polimorfik bir GGAT tekrarı olarak tanımlansa da, "mikrosatellit" terimi daha sonra 1989'da Litt ve Luty tarafından yapılmıştır (Richard vd., 2000).

Son yıllarda DNA üzerinde yapılan araştırmalarda; DNA'daki bazların ve baz dizilerinin birbiri ardı sıra tekrar ettiği belirlenmiştir. Tekrarlayan diziler genellikle kodlanmayan (noncoding) bölgelerde bulunurlar. Tekrarlayan bu nükleotit dizileri; kromozomal sentromeri çevreledikleri için "satellit (uydu)" ismini almıştır (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2010).

Bir mikrosatellit, uzunluğu bir ila altı veya en fazla on nükleotit arasında değişen, art arda tekrarlanan (yani bitişik) DNA motiflerinin bir yoludur ve tipik olarak 5-50 kez tekrarlanır. Örneğin, TAATATATATA dizisi bir dinükleotid mikrosatelittir ve

GTCGTCGTCGTCGTC bir trinükleotid mikrosatellitir. Basit, ard arda tekrarlanan di-, tri- nükleotit dizilerinin genomda polimorfik oldukları ortaya konulmuştur. Bu dizilerin tekrarlanma sıklıkları yani frekansları yüksek oranda polimorfizm gösterirler ve bu diziler genom boyunca rastgele dağılmıştır. Bu özellikleri dolayısıyla mikrosatellitler gen haritalama çalışmalarında kullanılabilir (Vieira vd., 2016).

Mikrosatellitler, kanser tanısında kromozomal DNA delesyonlarının değerlendirilmesinde, suç lekelerinin (adli tıpta) ve dokuların (nakil hastalarında) "genetik parmak izi" olarak da bilinen DNA profillemesinde ve akrabalık analizinde (en yaygın olarak babalık testinde) sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, belirli bir özellik veya hastalıktan sorumlu bir geni veya bir mutasyonu bulmak için özellikle genetik bağlantı analizinde, genom içindeki konumların haritalanması, gen duplikasyonu veya delesyonu çalışmaları için kullanılabilirler. Mikrosatellitler, popülasyon genetiğinde tür içerisindeki yakınlığın belirlenmesi ve türlerin korunması çalışmalarında da kullanılmaktadır (Vieira vd., 2016).

1.7. Refugia

Bir parazit popülasyonunda antelmantik ilaca maruz kalmamış, parazitler refugia olarak isimlendirilmektedir. Sürdürülebilir parazit kontrol programlarının büyük çoğunlukla temelini oluşturmaktadır. Refugia, re-enfeksiyonların kaynaklarından birini oluşturmaktadır ve dirençli parazitlerin popülasyonda çoğunluk haline gelmesini önlemektedir (Boa vd., 2001; Pomroy vd., 2006; Waghorn vd., 2008). Doğada bulunan yumurtadan L₃'e kadar olan parazitin gelişim aşamaları, abomazal bezlerde bulunan kistlenmiş larvalar ve konakta bulunan tedaviye maruz kalmamış parazitler refugiayı oluşturmaktadır (Abbot vd., 2014). Dirençli parazitlerin popülasyondaki oranını azaltıp, duyarlı parazitlerin oranını artırarak direnç gelişimini geciktirmek refugianın prensibini oluşturmaktadır (Soulsby, 2007). Kısa tedavi aralıkları, duyarlı parazitlerin çoğalma şansını azaltırken, ilaca maruz kalmamış parazitlerin sayısının azalmasına neden olmaktadır. Entansif yetiştiriciliğin yapıldığı çiftliklerde buzağılar kısa aralıklarla antelmantik ilaca maruz kalmakta ve genelde

yetişkinlerden ayrı otlatılmaktadır. Böylece tedaviden sonra yaşamaya devam eden dirençli parazitler merayı kontamine etmektedir. Bunun yerine genç hayvanlar, önceki yıl yetişkin hayvanların otlatıldığı meralara çıkarılmalıdır. Ayrıca duyarlı parazit varlığının azalmaması için sürüdeki bazı hayvanlara tedavi uygulanmamalıdır (Coles, 2005).

1.8. Antelmantik Direnç Gelişimini Etkileyen Faktörler

Paraziti yok eden doz uygulandığında, yaşamına devam etmesi sonucu direnç gelişir. Direnç kalıtsaldır ve sonraki nesillere aktarılır. Aynı antelmantik gurubunda bir ilaca karşı direnç gelişirse, gruptaki diğer ilaçlarda etkilenmektedir. Buna yan direnç adı verilmektedir. Çapraz ve çoklu direnç ise farklı gruptaki iki ya da daha fazla ilaca karşı gelişen direnci ifade etmektedir. Çoklu ilaç direnci Güney Afrika, Yeni Zelanda ve Avustralya'da birkaç koyun ve keçi çiftliğinin kapanmasına neden olmuştur (Kaplan, 2004; Geary, 2005).

Başlangıçta antelmantik direncin gelişimi yavaş gözükse de yapılan her tedavi sonrasında oluşan direnç artarak devam etmekte ve nihayetinde ilaca olan duyarlılık kaybolmaktadır. Parazit popülasyonunda direnç oluşuktan sonra, o popülasyonu tekrar duyarlı hale getirmek şu ana kadar mümkün gözükmemektedir. (Barnes vd., 1995; Sangster, 1999; Sangster ve Dobson, 2002). Popülasyonda bulunan parazitler genetik çeşitlilikleri sebebiyle tedaviye eşit oranda tepki vermemektedir. Genetik çeşitlilik popülasyonun büyüklüğü ve üreme kapasitesiyle ilgilidir. İlaç uygulanmadan önce bile parazit popülasyonunun dirençli aleller taşıdığı düşünülmektedir (Wolstenholme vd., 2004). Bir başka hipoteze göre ise direncin kendiliğinden ve tekrar eden mutasyonlar sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. Birey bir genin iki kopyasını yani alelini taşıyorsa homozigot, aynı genin farklı alellerini taşıyorsa heterozigot olarak adlandırılır. Homozigot parazitler duyarlı ya da dirençli olabilirler. Direnç genetiği tam olarak anlaşılamamasına rağmen, direnç oluşumuna tek bir genin katılması daha hızlı direnç oluşumuna neden olmaktadır. Direnç genleri dominant ise çekinik genler ile kıyaslandığında daha hızlı direnç gelişimi görülecektir. Homozigot ve heterozigot parazitlerin tedavi sonrası canlı

kalmasından dolayı bir sonraki nesile direnç aktarılacaktır (Sangster vd., 1998; Le Jambre vd., 2000; Coles, 2005). Bazı parazitlerin arakonak kullanmadan direkt gelişim göstermesi, kısa yaşam siklusu ve yüksek fertilite oranı gibi bazı biyolojik özelliklere sahip olması popülasyonda direnç gelişimini hızlandırmaktadır. Dirençli parazitler, artmış adaptasyon ya da dayanıklılığa sahipse, parazit popülasyonunda direncin yayılması daha hızlı olmaktadır. Artmış adaptasyon ya da dayanıklılık; daha çok parazitin yaşam siklusunu tamamlaması, yüksek sayıda yumurta çıkarması, parazitin konaktaki kalış süresi, merada canlı kalması ve otların üzerindeki hareket kabiliyeti gibi özellikleridir (Coles, 2005). Sığırlarda ivermektine dirençli olan *C. oncophora*'nın duyarlı parazitlere oranla daha patojen olduğu bildirilmiştir (Coles vd., 2001; Wolstenholme vd., 2004).

Tedavinin tamamen etkili olduğundan emin olmak için önce hayvanlar tartılmalı ve uygun doz hesaplanarak verilmelidir. Düşük doz ilaç kullanımı tedavi sonrası daha çok parazitin canlı kalmasına ve antelmentik direncin gelişiminin hızlanmasına neden olmaktadır. İlacın biyoyararlanımının azalması ise ilacın uygulanış şekli ve hayvan türüyle ilgilidir. Özellikle düzensiz topikal (pour-on) uygulamaları antelmentik direncin oluşumuna yatkınlık oluşturmaktadır. Belçika mavisini ya da keçi gibi bazı hayvan ırkları ya da türlerinde, normalin üzerindeki ilaç metabolizması sebebiyle direnç oluşumuna yatkınlık bulunmaktadır (Vercruysse ve Rew, 2002; Vercruysse vd., 2008).

Direnç gelişiminde antelmentik ilacın farmakokinetiği de etkilidir. Uzun etkili ya da yavaş salınan ilaçların kullanımı sonucu, eliminasyon fazının sonlarında konakçı düşük dozda ilaca maruz kalmaktadır. Bu sebeple kısa etkili ilaçlar tercih edilmektedir (Bisset vd., 1990; Wolstenholme vd., 2004; Sutherland ve Leathwick, 2011).

1.9. Antelmentik Kullanımı ve Dirençle Mücadele

Antelmentik kullanımı ve dirençle mücadele etmek için;

1. Antelmentik kullanım stratejisi veteriner hekime danışılmalıdır.

2. Sürüye yeni girecek hayvanlara karantina uygulanmalıdır.

- Sürüye alınacak hayvanlar iki farklı antelmentik grubundan ilaçla tedavi edilerek dirençli ve duyarlı parazitlerden arındırılmalıdır.
- Kontaminasyonu önlemek için tedaviden sonra 24-48 saat süre ile hayvanlar meradan uzak tutulmalıdır.

3. Sürüler antelmentik direnç yönünden test edilmelidir.

4. Antelmentikler etkili bir biçimde uygulanmalıdır.

- Mümkünse ilaç uygulanmadan hayvanlar tartılmalıdır.
- Doğru dozdan emin olmak için ilaç uygulama tabancası, sık sık kontrol edilmelidir.
- İlaç prospektüsüne uygun yolla hayvana verilmelidir.
- İlacın etkisini artırmak için uygulama öncesi hayvan yaklaşık 24 saat aç bırakılmalıdır.
- Antelmentikler etkisinin azalmaması için başka bir ilaçla karıştırılmamalıdır.

5. Gereksiz antelmentik kullanımından kaçınılmalıdır.

6. Uygun antelmentik seçilmelidir.

- Dar spektrumlu ilaçlar tercih edilmelidir.
- Bir antelmentik grubuna karşı direnç gelişmişse başka bir grup antelmentik seçilmelidir.

7. Sürüde antelmentik ilaca maruz kalmamış parazit popülasyonu korunmalıdır.

- Sürünün yaklaşık %10 u tedavi edilmemelidir.

8. Antelmentiklere olan bağımlılık azaltılmalıdır.

- Yoğun tedaviler yerine, iklim, coğrafi durum, sürünün durumu gibi etkenler göz önünde bulundurularak risk analizi yapılmalı ve ona göre tedavi programı uygulanmalıdır.

9. Meraların dönüşümlü ve stratejik kullanımı sağlanmalıdır (Abbott vd., 2012).

1.10. Parazitlerle Alternatif Mücadele Yöntemleri

Dünya üzerinde birçok bölgede antelmentiklere karşı direnç problemi gözlenmesi nedeniyle alternatif tedavi yöntemleri üzerine arayış gelişmiştir. En yaygın kullanılan tedavi yöntemleri ise; bakır oksit tel parçaları, tanen içeren yemlerin kullanımı, nematod yakalayan mantarlar, aşılar, genetik ıslah, besleme ve antelmentik özelliği olan bitkilerdir (Fleming vd., 2006; Jabbar vd., 2006).

1.10.1. Bakır Oksit Tel Parçaları

Bakır oksit tel parçaları, yıllardır özellikle bakırdan eksik topraklara sahip bölgelerde çiftlik hayvanlarında destek ürün olarak kullanılmaktadır. Koyunlarda toksite ihtimali sebebiyle yılda 1 doz tavsiye edilmektedir. Ayrıca bakırın abomasumda yerleşen parazitlere karşı etkili olduğu da bilinmektedir ve bu durum bakıra dar spektrumlu antelmentik özelliği kazandırmaktadır (Burke vd., 2004). Son çalışmalarda bakır oksitinde ağızdan uygulanması sonucu koyunlarda *H. concortus* enfeksiyonunu azalttığı görülmüştür (Campigotto vd., 2019).

1.10.2. Tanen İçeren Yemler

Yeni Zelanda ve Avrupa'da yapılan çalışmalarda tanen içeren otların bulunduğu meraların ya da yem bitkilerinin dışkıdaki larval gelişimini, yumurta sayısını, abomasumdaki ve bağırsaklardaki olgun parazit sayısını azalttığı bildirilmiştir. Birçok yem tanen içermesine rağmen antelmentik etkileri üzerine yeterli çalışma bulunmamaktadır. *Sericea lespedeza* (*Lespedeza cuneata*) üzerinde yapılan çalışmalarda koyun ve keçilerde dışkıdaki yumurta sayısını azalttığı görülmüştür (Athanasiadou vd., 2001; Niezen vd., 2002; Paolini vd., 2003).

1.10.3. Nematod Yakalayan Mantarlar

Yapılan çalışmalarda nematodları yakalayan mantarların nematodların serbest yaşayan gelişim dönemlerine karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabileceği

belirtlmifltir. Bu mantarlar toprağın rizosfer tabakasında meydana gelip özellikle serbest yaşayan toprak nematodlarıyla beslenmekte ve hif adı verilen yapışkan bir yapıyla nematodları yakalamaktadırlar. Test edilen mantarlar arasında ruminantların sindirim sistemine en dayanıklı olanı *Duddingtonia flagrans* olarak belirlenmiştir. Sindirim sistemini geçen sporlar, gelişerek dışkıda bulunan nematodların larval formlarının etrafını bu yapışkan yapıyla sarmaktadır. Mantar sporları yem katkı maddelerine katılarak hayvanlara günlük olarak verilmektedir. Ayrıca günlük uygulamanın maliyetli ve iş gücü gerektirmesi sebebiyle 60 günde yavaş bir şekilde salınan bolus formu da mevcuttur (Waller vd., 2001; Knox ve Faedo, 2001; Terril vd., 2004).

1.10.4. Aşılar

İlaç direnciyle sıkça karşılaşılması sonucu son yıllarda aşı çalışmalarına hız verilmiştir. Sığırlarda akciğer kılkırtlarına, koyunlarda ise cestodlara karşı geliştirilen aşılar mevcuttur. Bunlar arasında başarılı denebilecek tek aşı *Dictyocaulus viviparus* (Urquhart, 1985) ve *D. filaria*'ya (Sharma vd., 1988) karşı geliştirilen iradiye larval aşılardır. En umut vaat eden çalışmalardan birisi de küçük ruminantlarda 'hidden gut' isimli antijen ile üretilmiş *H. concortus* aşısıdır. Bu antijen parazitin sindirim sisteminden elde edilmekte ve konak hayvanlara enjekte edildiğinde bu antijene karşı antikorlar üretilmektedir. Parazit beslenmek için kan emdiği sırada bu antikorları da almaktadır. Bu antikorlar parazitin beslenmesini engelleyerek ölmesine neden olmaktadır. Bu aşı koyunlarda laboratuvar çalışmalarını başarıyla geçmiş ancak saha çalışmalarında başarılı sonuçlar alınamamıştır. Diğer kanla beslenmeyen i parazitler için aşı çalışmalarında parazite ait sekret ve ekstretler antijen olarak kullanılmaktadır (Kabagambe vd., 2000; Smith vd., 2001; Knox vd., 2003).

1.10.5. Genetik Islah

Yapılan çalışmalarda nematod enfeksiyonlarında meydana gelen direncin genetik temeli ortaya konmuştur. Scottish Blackface, Red Maasai, Romanov, St. Croix,

Barbados Blackbelly ve Gulf Coast Native gibi koyun ırklarının hastalıklara daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda Katahdin ırkı koyunların parazit enfeksiyonlarına karşı daha dirençli olduğu belirtilmiştir. Sürüde bulunan bazı hayvanlar hastalıklara daha duyarlı olmaktadır ve parazit popülasyonunun büyük bir kısmına rezervuarlık yapmaktadırlar. Özellikle Yeni Zelanda ve Avustralya’da, azınlığı oluşturan bu hayvanları sürüden çıkararak uygulanan 8-10 yıllık ıslah programları sonucu dirençli sürüler elde edildiği bildirilmektedir (Gasbarre vd., 1999; Stear vd., 2001; Bisset vd., 2001).

1.10.6. Besleme

Besleme ile parazitizm arasındaki en güçlü bağlantı protein alımının mide bağırsak nematodları üzerine etkisi ile ortaya konmuştur. Bağışıklık, protein doygunluğu ile yakından ilgilidir. Mide bağırsak nematodları ile enfekte kuzuların yüksek proteinli yemleri tüketme eğiliminde oldukları belirlenmiştir. Yeme fosfor ilavesinin iç parazitlere karşı etkili olduğu ispatlanmıştır. Kobalt eksikliği de mide bağırsak nematodlarına karşı immunitiyi azaltmaktadır. (Coop ve Kyriazakis, 2001, Sykes ve Coop, 2001).

1.10.6.1. Antelmantik Özelliği Olan Bitkiler

Tıbbi önemi olan birçok bitki, insan ve hayvanlarda parazit enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanları; *Allium sativum*, *Nigella sativa*, *Artemisia* spp, *Balanites aegyptiaca*, *Acacia* spp, *Semen cucurbitae*, *Commiphora molmol*, *Calendula micrantha officinalis*, *Peganum barmala* ve *Curcum alonga*’dır (Akhtar vd., 2000; Shalaby vd., 2009; Massoud vd., 2012; Shalaby vd., 2012).

Vicia pannonica var. *purpurascens*’in kloromformlu, asetonlu, metanollu ve sulu ekstraktların larval motilite testi sonucunda %100 etkili olduğu görülmüştür (Kozan vd., 2013).

Pelargonium endlicherianum köklerinin metanollü ekstresinin *H. concortus*'un yumurta, ilk dönem larva ve erişkinlerine karşı in vivo olarak antelmentik etkiye sahip olduğu tespit edilmiş ve bitkinin tanen içeriğinden ötürü bu etkiye sahip olduğu düşünülmüştür (Kozan vd., 2016).

1.11. Türkiye’de Antelmentik Direnç

Çırak vd. (2004) Batı Anadolu’da 10 çiftlikte at strongylidlerinin direnç durumunu belirlemek amacıyla dışkıda yumurta azalım testi (FECRT) yapmışlardır. Yedi çiftlikte benzimidazole karşı dirençli *Cyathostomum* popülasyonu tespit edilmiştir. Beş çiftlikte pirantel embonat ve 6 çiftlikte makrosiklik lakton direnci ölçülmüş ancak direnç varlığı tespit edilmemiştir.

Tınar vd. (2005) 12 koyun ve keçi çiftliğinde yaptıkları çalışmada dışkıda yumurta azalım (FECRT) metoduyla küçük ruminantların trichostrongylid nematodlarında antelmentik direnci test etmişlerdir. Söz konusu çalışmada albendazol, tiabendazol, tetramizol ve ivermektin direnci test edilmiş ve sadece 1 koyun çiftliğinde tetramizol direnci tespit edilmiştir.

Köse vd. (2007) Afyonkarahisar’da 7 koyun çiftliğinde dışkıda yumurta azalım (FECRT) metodu ile albendazol, oksfendazol-oksiklozanid ve ivermektin direncini test etmiş ve 5 çiftlikte ivermektinin istenilen düzeyde çalışmadığını tespit etmişlerdir.

Çırak vd. (2010) bir at çiftliğinde *Parascaris equorum*’a karşı makrosiklik lakton grubu ilaçların etkisiz kaldığını saptamışlardır.

Önder vd. (2016) *H. concortus* popülasyonunda benzimidazol duyarlı ve dirençli allellerin sıklığını sırasıyla %87,1 ve %12,9 belirlemiş ve BZ dirençliliğini moleküler metodla ortaya koymuşlardır.

2. MATERİYAL METOT

2.1 Çalışma Merkezleri ve Hayvanların Seçimi

Çalışma 2019 yılı Eylül ve Aralık ayları arasında Türkiye'nin 7 farklı bölgesinde yer alan rastgele seçilmiş 19 farklı ilinden 1108 koyun, 4 farklı ilinden 200 keçi üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada örnek alınan koyunların bulunduğu iller Şekil 2.1'de, keçilerin bulunduğu iller Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.1: Örnek alınan koyunların bulunduğu illerin harita üzerindeki dağılımı

Resim 2.1: Saha alışmaları 1



Resim 2.2: Saha alışmaları 2

2.3. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi

Dışkı örneklerinde trichostrongylid yumurtaların aranması amacıyla Fulleborn doymuş tuzlu su flotasyon metodu kullanılmıştır. Steril bir dışkı kabına 3-5 gr dışkı rneği alınmış, üzerine 50-100 ml doymuş tuzlu su solüsyonu eklenerek steril spatula veya cam baget ile iyice ezilmiştir. Dışkı süspansiyonu steril çay süzgeci ile başka bir dışkı kabına süzülerek üzerine kabın yüzeyine yaklaşık 1 cm mesafe kalıncaya kadar doymuş tuzlu su solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışım üzerine 2 adet lamel atılarak 10-15 dakika beklenmiştir. Bu srenin bitiminde lameller bir pens ile temiz bir lam üzerine alınarak mikroskop altında trichostrongylid yumurtalar yönünden incelenmiştir (Kassai, 1999).

2.3.1. Gram Dışkı Yumurta Sayımı (EPG)

Homojen olarak karışmış dışkıdan 4 g alınarak 56 ml doymuş tuzlu su ile plastik kap içinde karıştırılıp, çay süzgeci yardımıyla bir başka kaba süzölmüştür. Daha sonra hazırlanan süspansiyondan bir pastör pipeti ile bir miktar alınarak McMaster lamının her iki kamarası dikkatlice doldurulmuştur. Yumurtaların yüzmesini sağlamak amacıyla 2-3 dakika beklenmiş, McMaster lamının her iki kamarasındaki, kare içinde bulunan tüm yumurtalar 10x büyötmeli objektifle sayılmıştır. İki karedeki yumurtaların toplam sayısı 50 ile çarpılarak, bir gram dışkıdaki yumurta sayısı (EPG) elde edilmiştir (Ballweber vd., 2014).

2.3.2. Dışkı Kültürü Hazırlanması

Aynı çiftlikten toplanan dışkılar aynı kapta su ve talaş eşliğinde karıştırılarak dışkı havuzu oluşturulmuştur. Dışkılar 3. dönem larva gelişiminin sağlanması için sıcaklığı 27°C'ye sabitlenmiş etüvde 11 gün bekletilmiştir. Bu sürede dışkılar düzenli olarak karıştırılarak su ile nemlendirilmiştir. Bekleme süresi sonunda gelişen 3. dönem larvaları toplamak amacıyla Baerman-Wetzel yöntemi kullanılmıştır (Kassai, 1999).

2.3.3. Baerman Wetzel Yöntemi

Bu yöntemde mide bağırsak kılkurdu larvalarının hidrofilik olması prensibine dayanarak bir düzenek hazırlanmıştır. Bu amaçla kullanılan Baerman Wetzel düzeneğinde bir huni tutucuya 12-15 cm çapında cam huni yerleştirilmiştir. Bunun da ucuna uygun 5-10 cm uzunluğunda kauçuk hortum takılmıştır. Daha sonra cam huninin içi ılık (25-27°C) çeşme suyu ile 3/4 oranında doldurulmuştur. Dışkıdan 5 gram veya ceviz büyüklüğünde alınıp, bir gazlı bez içerisine konarak çıkın haline getirilmiştir. Dışkı çıkını tamamı su içinde kalacak şekilde huniye yerleştirilmiştir. Yirmi dört saat beklendikten sonra, dışkı çıkını atılıp kauçuk hortumun dibindeki tortudan bir damla alınarak lam-lamel arasında 10x büyötmeli objektifle incelenmiştir. Elde edilen enfektif dönem mide bağırsak kılkurdu larvaları %70'lik

alkolde tespit edilerek, +4°C’de sonraki işlemler için muhafaza edilmiştir (Barrère vd., 2013).

2.3.4. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi

Afyonkarahisar’da dışkıda yumurta sayısı azalım testi yapmak için 3 koyun çiftliği seçilmiştir. Eylül-Aralık 2019 arasında, her üç çiftlikteki tüm yetişkin koyunların gram dışkıdaki yumurta sayıları (EPG) belirlenmiştir. Dışkıda yumurta sayısı azalım testi için 6 aydan büyük, Epg’si 150 ve üzeri olan, en az son 8 haftada herhangi bir antelmentik ilaç kullanılmamış koyunlar seçilmiştir. Dışkıda yumurta sayısı azalım testi (FECRT), Coles vd. (1992) tarafından hazırlanan World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) kılavuzuna göre yapılmıştır. Hayvanlar rastgele her grupta 12 koyun bulunan 2 tedavi ve 1 kontrol grubuna ayrılmıştır. Koyunlara gruplarına göre önerilen dozlarda albendazol (ALB; 1200 mg, Vetalba® oral 7.5 mg/kg Vetaş, Türkiye) veya ivermektin (IVM, 0.2 mg/kg c.a., Ivomec®, Merial, 10 mg/ml solüsyon) ile tedavi protokolü uygulanmıştır. Kontrol grubuna, herhangi bir tedavi uygulanmamıştır.

Dışkıda yumurta sayısı azalımı;

$FECR = 100 \times (1 - [T2/T1] [C1/C2])$ formülü ile hesaplanmıştır.

Dışkı örnekleri (en az 10 gram dışkı) tedavi gününde (0. gün) ve tedaviden 14 gün sonra (14. gün) usulüne uygun bir şekilde doğrudan rektumdan alınmıştır. En geç 24 saat sonra W.A.A.V.P kılavuzuna göre 50 EPG’lik hassasiyetle modifiye McMaster tekniği ile incelenmiştir. Tedavi günü ve tedaviden sonraki 14. günde her hayvandan toplanan dışkılardan 5 gram alınarak karıştırılmış ve her grup için ayrı ayrı larva kültürü hazırlanmıştır. Dışkılar enfektif dönem L3’lerin gelişmesi için 27°C’de 11 gün bekletilmiş, her gün kontrol edilerek nemli kalması sağlanmıştır. Larvalar Baerman-Wetzel tekniği ile toplanmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası koyunlarda bulunan mide bağırsak kılkuurtlarının dağılımı PZR yöntemi ile belirlenmiştir.

2.4. Moleküler Yöntem

2.4.1. Lizatların Hazırlanması

Lizatlar, 3. dönem (L₃) larvalardan 96 gözlü pleytlerde elde edilmiştir. Kısaca, 100 örneklik reaksiyon karışımı şu şekilde hazırlanmıştır: 1000 µl Direct PZR Lysis Reagent (Cell; Viagen Biotech), 50 µl 1 M DTT (Thermofisher Scientific) ve 10 µl Proteinaz K (Fungal; Invitrogen) 100 mg/ml DEPC işlem görmüş su (Ambion) ile karıştırılarak master miks oluşturulmuştur. Pleytte her kuyu başına 10 µl dağıtılmıştır ve her birine ≤ 1 µl su/ PZR Lysis Reagent ile bir larva eklenmiştir. 60°C'de 2 saat inkübasyonun ardından 45 dakika boyunca 85°C'de proteinaz K denatürasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Lizatlar, DEPC arıtılmış su kullanılarak 1:20 oranında seyreltilip -80°C'de saklanmıştır (McIntyre vd., 2018).

2.4.2. Larvaların PZR ile Tür Tiplendirmelerinin Yapılması

Hazırlanan L3 lizatları, türe özgü ITS2 bölgesi içeren primerler kullanılarak tür düzeyinde PZR ile tanımlanmıştır (Wimmer vd., 2004; Redman vd., 2008; Burgess vd., 2012; Bisset vd., 2014). Tekli PZR ve multipleks PZR olmak üzere iki PZR yöntemi üreticinin talimatlarına göre GoTaq Flexi polimeraz (Promega) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyonun toplam hacmi 12.5 µl olup, bunun 1 µl'sini 1:21 oranında sulandırılmış DNA lizatı oluşturmuştur. Kullanılan primerler türe özgü olup, ITS2 bölgesini amplifiye etmek için tasarlanmıştır. Primerlerin orijinal referansları, baz uzunlukları ve erime sıcaklıkları Çizelge 2.1'de verilmiştir. Yapılan PZR reaksiyonlarında; 94°C' de 2 dakikalık denatürasyon basamağını takiben, 35 döngüden oluşan 94°C'de 30 saniye, T_A °C 30 saniye ve 7 °C 30 saniyelik reaksiyonu son olarak 72°C 10 dakikalık ekstensiyon basamağı izlemiştir.

Çizelge 2.1: Larvaların Tür Tiplendirilmesinde Kullanılan Primerler

Tür Adı	Primer Adı	Sekans dizilimi	Erime Sıcaklığı (°C)	Baz Uzunluğu (Bp)	Referans
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Tc_ITS2	F: ATACCGCATGGTGTGTACGG R: CAGGAACGTTACGACGGTAAT	52	421	(Burgess vd., 2012)
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	Tv_ITS2	F: AGGAACATTAATGTCGTTACA R: CTGTTTGTCTGAATGGTTATTA	52	100	(Wimmer vd., 2004)
<i>Haemonchus contortus</i>	Hc_ITS2	F: GTTACAATTTTCATAACATCACGT R: TTTACAGTTTGCAGAACTTA	50	321	(Redman vd., 2008)
Generic ITS2	ITS2GF	F: CACGAATTGCAGACGCTTAG	54	370-398	(Bisset vd., 2014)
Generic ITS2	ITS2GR	R: GCTAAATGATATGCTTAAGTTCAGC	54		(Bisset vd., 2014)
<i>Chabertia ovina</i>	ChovFd2	F: CAGCGACTAAGAATGCTTTGG	54	115/117	(Bisset vd., 2014)
<i>Cooperia curticei</i>	CocuFd3	F: TAATGGCATTGTCTACATTGGTTC	53	252	(Bisset vd., 2014)
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	OeveRv1	R: CGACTACGGTTGTCTCATTTCA	54	323-329	(Bisset vd., 2014)
<i>Trichostrongylus axei</i>	TraxFd2	F: GATGTTAATGTTGAACGACATTAATATC	52	186	(Bisset vd., 2014)

Multipleks PZR protokolü Bisset vd., (2014)' den modifiye edilerek uygulanmıştır. Her bir 12,5 µl'lik Multipleks PZR reaksiyonu ; 2,5 µl 5X GoTaq Green Buffer, 1,25 µl MgCl₂ 25 mM, 0,06 µl GoTaq Flexi polimeraz 5 U/µl (Promega), 0,25 µl dNTP 10 mM (NEB Inc.), 0,15 µl Generik Forward primer 10 µM, 0,15 µl Generik Reverse primer 10 µM, 0,25 µl *Trichostrongylus axei* Forward primer 10 µM, 0,35 µl *Cooperia curticei* Forward primer 10 µM, 0,1 µl *Oesophagostomum venulosum* Reverse primer 10 µM, 0,15 µl *Chabertia ovina* Forward Primer (Eurofins Genomics) ve 6,29 µl DEPC-nükleazdan arındırılmış su (Ambion) içermiştir. Ayrıca 1 µl 1:21 oranında sulandırılmış DNA lizati eklenmiştir. Touchdown PZR protokolü: 94°C'de 2 dakika denaturasyon aşaması ile başlatılmış, 12 döngü halinde 94°C'de 15 saniye, 60°C'den 54,5°C'ye 15 saniye boyunca kademeli bir şekilde 0,5°C düşüşten sonra 72°C'de 30 saniye olarak devam etmiş, 94°C'de 15 saniye, 54°C'de 15 saniye, 72°C 15 saniye ve son olarak 72°C'de 7 dakikalık ekstensiyon basamağı gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri, tek tür PZR için %2 agaroz jel ve Multipleks PZR için %2,5 agaroz jel ile koşturulmuştur. PZR ürünlerinin SafeView (NBS Biologicals) yardımıyla UV ışık altında görüntülenmesi yapılmıştır.

Multipleks PZR reaksiyonunda genericprimer ile pozitif bant verdiği halde sonrasında kullanılan spesifik primer ile tanımlanamayan örnekler, Generic ITS2 primer seti ve Phusion-High Fidelity Polymeraz (NEB) ile amplifiye edilmiştir (Bisset vd., 2014). Sekans işlemi için Eurofins Genomics şirketine gönderilmiştir. Sekans sonucu parazitlerin tür identifikasyonu için NCBI kullanılarak BLAST analizi yapılmıştır (Altschul vd., 1990).

2.4.3. Mikrosatellit PZR

Beş mikrosatellit primeri, PZR'de amplifikasyon için kullanılmıştır. Mikrosatellit yönteminde kullanılan primerler Çizelge 2.2'de verilmiştir. Her 20 µl'lik reaksiyon: 4 µl %10 Tween 20, 1,8 µl 11,1x buffer, 1 µl Forward primer, 1µl Reverse primer (Eurofins Genomics), 0,1 µl GoTaq Flexi polimeraz (Promega), 11,1 µl DEPC-nükleazdan arındırılmış su (Ambion) ve 1 µl 1:21 DNA lizati içermiştir. Primer sekansları ve orijinal referansları, tahmin edilen ampikon büyüklük aralığı,

mikrosatellit tekrar dizisi ve erime sıcaklığı Çizelge 2.2’de gösterilmiştir. 11,1x’lik tampon çözelti laboratuvarda hazırlanmış ve 334 µl 2M TrisHCl (pH 8,8), 166 µl 1M Amonyum sülfat, 67 µl 1M MgCl₂, 7,2 µl %100 2-merkaptoetanol, 6,8µl 10 mM EDTA (pH 8), 150 µl 100mM dATP, 150 µl 100 mMd CTP, 150 µl 100mM dGTP, 150 µl 100 mM dTTP ve 170 µl 10 mg/ml bovin serum albümin içermiştir. Sulandırmalar -20°C’de saklanmıştır. Mikrosatellit analizi için Türkiye’nin farklı bölgelerinden 6 ildeki koyunlardan elde edilen *T. circumcincta* ve 5 ilden elde edilen *H. contortus* örnekleri kullanılmıştır. Her ilden 30 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. PZR koşulları: 2 dakika boyunca 94°C, ardından 15 saniye boyunca 94°C, 45 saniye süreyle T_A °C ve 72 °C’de bir dakikalık toplamda 40 döngü ve 15 dakika boyunca 72°C’lik bir ekstensiyon aşamasından oluşmuştur. Mikrosatellit PZR ürünleri SafeView (NBS Biologicals) ile görüntülenmiş ve görüntülenen bandın parlaklığı, sonraki seyreltme adımları için DNA miktarının kalitatif bir tahmini için aynı hacimde 50 µg/ml QuickLoad® 100 bp DNA ladderi (NEB) ile karşılaştırılmıştır. PZR ürünleri folyoya sarılarak ve 4 °C’de muhafaza edilmiş ve Dundee Üniversitesi’ndeki MRC PPU DNA Dizileme ve Servisleri laboratuvarına gönderilmiştir. Amplifiye edilmiş her parçanın boyutunu nicel olarak ölçmek için 50 cm kılcal borulara sahip bir Abi Prism 3730xl Genetik Analiz Cihazı (Applied Biosystems) ve GeneScan™ 500 ROXTM boya boyutu standardı (Uygulamalı Biyosistemler) kullanılmıştır.

Sonuçlar, tahmin edilen tandem tekrar boyutu ve parça boyutu aralığı gibi bilgiler kullanılarak Geneious Yazılımı ile analiz edilmiş ve pikler otomatik olarak belirlenmiştir. Takiben, pikler manuel olarak kontrol edilmiş ve veriler Microsoft Excel’e aktarılmıştır. TANDEM v1.09 programı, ham aleller analiz edilmiştir (Matschiner ve Salzburger, 2009). Veriler Convert v1.31 yazılımı kullanılarak Arlequin formatına dönüştürülmüştür (Glaubitz, 2004). Arlequin v3.5.2.2, numuneler arasındaki genetik ilişkiyi istatistiksel olarak analiz etmek için kullanılmıştır (Excoffier vd., 2005).

Çizelge 2.2: Mikrosatellit Yönteminde Kullanılan Primerler

Primer İsmi	Tekrar Sekansı	Sekans	Marker	T _A (°C)	Baz Uzunluğu (bp)	Kaynak
Mtg15	[GT] ₆ GC[GT] ₆ GGGTTTGT	F: TGCAAGGAAACTGCTAAGAAGGAG R: ATCATGGAACCTTGATACCGCAAG	5' FAM	58	233-275	(Grillo vd., 2006)
Mtg68	[ACA] ₂ [ACC] ₂ TCG[ACA] ₄ ACTA CAACCACAACCTACG[ACAACC] ₂	F: ATCACCAGGCGGCTGCTACG R: CGAAAAGTAGAGTATGAGC	5' FAM	50	420-453	(Grillo vd., 2006)
Tc13604	[CAGGTA] ₁₂ TAGGTACAGGCACAG	F: CGATAAATGGTATTATCTG R: GCTGCTATTAGAGGATAT	5' HEX	50	250-386	(Redman vd., 2015)
Tc7989	[GTCT] ₁₇ GTCCGTTTGTGTG	F: GATCTCACGTACTATGAA R: CTATTGAATGTCGTACAG	5' FAM	50	133-232	(Redman vd., 2015)
Tc2066	[GGCGAGTA] ₉ GGCGATTAGGCGA GAAGGCGTGTAGGTGAGTAGGCG AG	F: GAGCAACGACTGAACCTCAC R: GCTGGAAGCATATTCTGCGC	5' HEX	50	189-309	(Redman vd., 2015)
Hc22193	[ACACAT] ₁₀ [ACACAC] ₂ [ATACAT] ₂ ATACAC ACATAC ACA	F: ATCCACTTTCCTCCTATATCA R: GTGTGCGTGTATCTGTTG		54	203-221	(Redman vd., 2015)
Hc2884	[CGAGCGAG] ₆ [CGACCGAC] ₆ CGAGC	F: TCGGCTGCTTTCATAGAC R: GGTATCGACCAAGATTCAG		54	151-193	(Redman vd., 2015)
Hc3086	[ACAG] ₅₈ AGAG GCAG TCAG ACGG ACA	F: AAGCCAACAAAAGACAAT R: CACATATAGAGCACTTCTCTT		54	304-389	(Redman vd., 2015)
Hc53265	[TGT] ₂₇ TGC [TGG] ₅ [CGT] ₈ GGT T	F: TGTAGCTGGACTTACTTTAAATA R: AGAAGTGGAATGCTAGATG		54	167-226	(Redman vd., 2015)
Hc22c03	[GACACACC][GACATACC] ₈ [GAC ATACA] [GACATACC]	F: GAGCTTCATTGAGAGAATGGAA TT R: GGTCCCTCATATACGATCAACTAA		54	227-258	(Redman vd., 2008)

2.4.4. Nested PZR

İzotip 1 β -tubulin geninin ilk PZR, *T. circumcincta* ve *H. contortus* dizilerine dayalı primerler kullanılarak yapılmıştır: Pn1 (5' GGC AAA TAT GTC CCA CGT GC 3') ve Pn2 (5' GAT CAG CAT TCA GCT GTC CA 3'). İlk PZR'de mastermiks; 1 U Taqpolimeraz (Promega), 2,5 μ l 10x tampon, 1 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP (Promega), 18 pmol Pn1 ve Pn2 primerleri ve 7 μ l DNA'sı elde edilmiş larva olmak üzere toplamda 25 μ l olmuştur. PZR koşulları, 94°C'de 2 dakika denatürasyon, 57°C'de 55 saniye bağlanma ve 72°C'de 55 saniye uzama olmak üzere 20 döngü ve ardından 72°C'de 10 dakika son uzama aşamasını içermiştir. Nested PZR için ilk reaksiyondan sonra 3 μ l, iki primer Pn3 (5' GGA ACA ATG GAC TCT GTT CG 3') ve Pn4 (5' GGG AAT CGAAGG CAG GTC GT 3') içeren 22 μ l mastermiks eklenmiştir. Bu PZR'de, ilk aşamayla aynı koşullarda 33 döngü uygulanmıştır (Coles vd., 2006)

2.4.5. Enzimatik Parçalanma

Amplifiye edilmiş Pn3-Pn4 ürününün bir alikotu (10 μ l), restriksiyon enzimi RsaI (Eurogentec) ile 37°C'de 1,5 saat boyunca parçalanmıştır. Elde edilen fragmentler, %2,5'lik bir agaroz jel üzerinde elektroforez ile ayrılmıştır (Coles vd., 2006).

2.4.6. Allel-spesifik PZR

Benzimidazol direncini tespit etmek için Humbert ve Elard (1997) tarafından geliştirilmiş olan yöntem ile her larvanın Pn3-Pn4 reaksiyonu sonucu elde edilen alikotları (1,5 μ l) kullanılmıştır. Alele özgü ürünler; dört primer, iki alele özgü olmayan primer ve iki alele özgü primer ile amplifiye edilmiştir. Allel-Spesifik PZR primerleri Çizelge 2.3' de verilmiştir. Bu sistem, biri spesifik olmayan ve ikisi spesifik olmak üzere üç fragment meydana getirebilmektedir. Spesifik olmayan fragment iç standart görevi görmektedir. Bu nedenle dirençli ve duyarlı parazitleri tespit etmek için, her biri iki spesifik olmayan primer ve bir allel spesifik primer içeren iki farklı mastermiks hazırlanmıştır. Böylece her reaksiyon, bir allel spesifik

olmayan ve bir allel spesifik olmak üzere sadece iki fragment üretebilmiştir. *H. contortus* için kullanılan primerler, Ph1, spesifik olmayan forward primer (5' GGA ACG ATG GAC TCC TTT CG 3'); Ph3, spesifik direnç alel primeri (5' CTG GTA GAG AAC ACC GAT GAA ACA TA 3'); Ph4, spesifik duyarlı alel primeri (5' ATA CAG AGC TTC GTT GTC AAT ACA gA 3'); ve Ph2, Pn2 dizisine özdeş spesifik olmayan reverse primerden oluşmaktadır. *T. circumcincta* için kullanılan primerler, tek reaksiyon içerisinde kullanılan Pt1 (5' GGAACAATGGACTCTGTTCG 3'), Pt2 (5' GATCAGCATTTCAGCTGTCCA 3'), Pt3 (5' TTGGTAGAAAACACCGATGAAACATA 3') ve Pt4 (5' GTACAGAGCTTCATTATCGATGCAGA 3')'tür. Elde edilen fragmentler, sabit voltajda (125 V) 1 saat boyunca TBE tamponunda bulunan %1,5 agaroz jel içinde elektroforez ile ayrıştırılmıştır (Coles vd., 2006).

Çizelge 2.3: Allel-Spesifik PZR Primerleri

Reaksiyon Basamakları	Primer İsimleri	Primer Sekansları	Amplikon (bp)	Referans numarası
1.Basamak	<i>Pn1</i>	5' GGCAAATATGTCCCACGTGC 3'	580	Z69258.1
	<i>Pn2</i>	5' GATCAGCATTTCAGCTGTCCA 3'		
2.Basamak	<i>Pn3</i>	5' GGAACAATGGACTCTGTTCG 3'	518	Z69258.1
	<i>Pn4</i>	5' GGGAATCGAAGGCAGGTCGT 3'		
<i>H. contortus</i> ASA- PCR (1) (Duyarlı)	<i>Ph1</i>	5' GGAACGATGGACTCCTTTTCG 3'	NS 750 + S	M76493.1
	<i>Ph2</i>	5' GATCAGCATTTCAGCTGTCCA 3'	550	
	<i>Ph4</i>	5' ATACAGAGCTTCGTTGTCAATACAGA3'		
<i>H. contortus</i> ASA- PCR (2) (Dirençli)	<i>Ph1</i>	5' GGAACGATGGACTCCTTTTCG 3'	NS 750 + R	M76493.1
	<i>Ph2</i>	5' GATCAGCATTTCAGCTGTCCA 3'	250	
	<i>Ph3</i>	5' CTGGTAGAGAACACCGATGAAACATA 3'		
<i>T. circumcincta</i> ASA- PCR (Duyarlı+Dirençli)	<i>Pt1</i>	5' GGAACAATGGACTCTGTTCG 3'	NS 750 + S	Z69258.1
	<i>Pt2</i>	5' GATCAGCATTTCAGCTGTCCA 3'	550 + R 250	
	<i>Pt3</i>	5' TTGGTAGAAAACACCGATGAAACATA 3'		
	<i>Pt4</i>	5' GTACAGAGCTTCATTATCGATGCAGA 3'		

2.5. İstatistiksel Analiz

Koyun ve keçilerde cinsiyet, yaş ve çalışma alanlarına göre EPG verilerinin değerlendirilmesinde ANOVA kullanılmıştır. Aralarındaki farklılık önemli bulunan grupların karşılaştırılması ise Duncan Testi ile yapılmıştır. PZR sonucunda bulunan *T. circumcincta*, *H. contortus* ve *Trichostrongylus* spp. varlığının iller arası karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiki analizlerde SPSS programından yararlanılmıştır.



3. BULGULAR

3.1. Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi Sonuçları (FECRT)

Şuhut ilçesinde bulunan koyun çiftliğinde albendazole olan duyarlılık %85,9, ivermektine olan duyarlılık ise %80,1, İhsaniye ilçesinde bulunan koyun çiftliğinde albendazole olan duyarlılık %72,6, ivermektine olan duyarlılık ise %69,8, Çayırbağ'da bulunan koyun çiftliğinde albendazole olan duyarlılık %77,6, ivermektine olan duyarlılık ise %82,4 olarak hesaplanmıştır ve dışkıda yumurta sayısı azalım testi sonuçlarına **Çizelge 3.1**'de verilmiştir.

Çizelge 3.1: Dışkıda Yumurta Sayısı Azalım Testi Sonuçlarına Göre, Albendazol ve İvermektene Duyarlılığın Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı

	Koyun Sayısı(n)	Şuhut	İhsaniye	Çayırbağ
Albendazol	12	%85,9	%72,6	%77,6
İvermektin	12	%80,1	%69,8	%82,4

3.2. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi Sonuçları

Afyonkarahisar, Konya, Antalya, Aydın, Balıkesir, Batman, Bitlis, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Kars, Kütahya, Maraş, Ordu, Rize, Sakarya, Tekirdağ, Urfa, Uşak olmak üzere Türkiye'nin 7 farklı bölgesinde yer alan 19 farklı ilden son 8 hafta içerisinde ilaç kullanılmamış 1000 koyun ve Antalya, Afyon, Konya, Kars olmak üzere 4 farklı bölgesinden 4 farklı ilden 200 keçinin dışkı örnekleri alınmıştır. Dışkı örneği alınan 1000 koyunun 57'si erkek 943'ü ise dişidir, 269'u 2 yaş altı, 721'i ise 2 yaş üzeri koyunlardır.

Konvansiyonel dışkı muayenesi yapılan koyunların 732'si *Trichostrongylidae* spp. yumurtası (%73,2) yönünden pozitif bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 732 koyunun ortalama EPG değeri $170,17 \pm 15,721$ bulunmuştur.

Dışkı muayenesi sonuçlarına göre; Afyonkarahisar'da 100 pırlak ırkı koyunun 70'i (%70) *Trichostrongylidae* spp., 18'i (%18) *Moniezia* spp., 26'sı (%26) *Eimeria* spp., 34'ü (%34) *Nematodirus* spp., 11'i (%11) *Marshallagia* spp. 7'si (%7) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 70 koyunun ortalama EPG değeri $60,47 \pm 25,740$ 'dır.

Kahramanmaraş'ta 50 Akkaraman ırkı koyunun 35'i (%70) *Trichostrongylidae* spp., 12'si (%24) *Moniezia* spp., 21'i (%42) *Eimeria* spp., 13'ü (%26) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 35 koyunun ortalama EPG değeri $121,83 \pm 32,289$ 'dur.

Batman'da 50 pırlak ırkı koyunun 41'i (%82) *Trichostrongylidae* spp., 7'si (%14) *Moniezia* spp., 15'i (%30) *Eimeria* spp., 10'u (%20) *Nematodirus* spp., 4'ü (%8) *Marshallagia* spp., 2'si (%4) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 41 koyunun ortalama EPG değeri $312,56 \pm 29,968$ 'dir.

Balıkesir'de 50 kıvrıcık ırkı koyunun 40'ı (%80) *Trichostrongylidae* spp., 12'si (%24) *Moniezia* spp., 18'i (%36) *Eimeria* spp., 16'sı (%32) *Nematodirus* spp., 12'si (%24) *Marshallagia* spp., 8'i (%16) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 40 koyunun ortalama EPG değeri $220,16 \pm 30,690$ 'dır.

Kars'ta 50 tuj ırkı koyunun 29'u (%58) *Trichostrongylidae* spp., 5'i (%10) *Moniezia* spp., 9'u (%18) *Eimeria* spp., 6'sı (%12) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 29 koyunun ortalama EPG değeri $23,99 \pm 34,159$ 'dur.

Ordu'da 50 Karayaka ırkı koyunun 45'i (%90) *Trichostrongylidae* spp., 15'i (%30) *Moniezia* spp., 24'ü (%48) *Eimeria* spp., 22'si (%24) *Nematodirus* spp. 10'u (%20) *Marshallagia* spp., 4'ü (%8) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster

yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 45 koyunun ortalama EPG değeri $447,93 \pm 28,677$ 'dir.

Tekirdağ'da 50 Merinos ırkı koyunun 42'si (%84) *Trichostrongylidae* spp., 7'si (%14) *Moniezia* spp., 14'ü (%28) *Eimeria* spp., 20'si (%40) *Nematodirus* spp. 8'i (%16) *Marshallagia* spp., 3'ü (%6) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 42 koyunun ortalama EPG değeri $175,86 \pm 30,078$ 'dir.

Denizli'de 50 Sakız Melezi koyunun 38'i (%76) *Trichostrongylidae* spp., 6'sı (%12) *Moniezia* spp., 10'u (%20) *Eimeria* spp., 7'si (%14) *Nematodirus* spp. 4'ü (%8) *Marshallagia* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 38 koyunun ortalama EPG değeri $165,06 \pm 30,834$ 'dür.

Uşak'ta 50 Kıvırcık ırkı koyunun 32'si (%64) *Trichostrongylidae* spp., 9'u (%18) *Moniezia* spp., 12'si (%24) *Eimeria* spp., 10'u (%20) *Nematodirus* spp. 8'i (%16) *Marshallagia* spp., 2'si (%4) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 32 koyunun ortalama EPG değeri $54,85 \pm 33,486$ 'dır.

Aydın'da 50 Merinos ırkı koyunun 40'ı (%80) *Trichostrongylidae* spp., 15'i (%30) *Moniezia* spp., 17'si (%34) *Eimeria* spp., 14'ü (%28) *Nematodirus* spp. 9'u (%18) *Marshallagia* spp., 5'i (%10) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 40 koyunun ortalama EPG değeri $221,30 \pm 30,190$ 'dır.

Şanlıurfa'da 50 İvesi ırkı koyunun 37'si (%74) *Trichostrongylidae* spp., 10'u (%20) *Moniezia* spp., 12'si (%24) *Eimeria* spp., 16'sı (%32) *Nematodirus* spp. 10'u (%20) *Marshallagia* spp., 6'sı (%12) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 37 koyunun ortalama EPG değeri $171,45 \pm 31,540$ 'dır.

Bitlis'te 50 İvesi ırkı koyunun 30'u (%60) *Trichostrongylidae* spp., 8'i (%16) *Moniezia* spp., 15'i (%30) *Eimeria* spp., 7'si (%14) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 30 koyunun ortalama EPG değeri $16,28 \pm 34,538$ 'dir.

Rize'de 50 Hemşin ırkı 48'i (%96) *Trichostrongylidae* spp., 16'sı (%32) *Moniezia* spp., 20'si (%40) *Eimeria* spp., 25'i (%50) *Nematodirus* spp. 13'ü (%26) *Marshallagia* spp., 8'i (%16) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 48 koyunun ortalama EPG değeri $131,15 \pm 28,232$ 'dir.

Erzurum'da 50 Morkaraman ırkı koyunun 27'si (%54) *Trichostrongylidae* spp., 5'i (%10) *Moniezia* spp., 18'i (%36) *Eimeria* spp., 3'ü (%6) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 27 koyunun ortalama EPG değeri $41,35 \pm 35,822$ 'dir.

Antalya'da 50 Merinos ırkı koyunun 46'sı (%92) *Trichostrongylidae* spp., 15'i (%30) *Moniezia* spp., 12'si (%24) *Eimeria* spp., 14'ü (%28) *Nematodirus* spp., 4'ü (%8) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 46 koyunun ortalama EPG değeri $282,98 \pm 30,555$ 'dir.

Kütahya'da 50 Pırlak ırkı koyunun 32'si (%64) *Trichostrongylidae* spp., 12'si (%24) *Moniezia* spp., 10'u (%20) *Eimeria* spp., 16'sı (%32) *Nematodirus* spp., 11'i (%22) *Marshallagia* spp., 5'i (%10) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 32 koyunun ortalama EPG değeri $238,46 \pm 34,267$ 'dir.

Sakarya'da 50 Suffolk ırkı koyunun 37'si (%74) *Trichostrongylidae* spp., 4'ü (%8) *Moniezia* spp., 4'ü (%8) *Eimeria* spp., 10'u (%20) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 37 koyunun ortalama EPG değeri $277,40 \pm 30,849$ 'dur.

Çanakkale’de 50 Tahirova ırkı koyunun 33’ü (%66) *Trichostrongylidae* spp., 17’si (%34) *Moniezia* spp., 12’si (%24) *Eimeria* spp., 8’i (%16) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 33 koyunun ortalama EPG değeri $210,64 \pm 32,914$ ’dir.

Konya’da 50 Akkaraman ırkı koyunun 30’u (%60) *Trichostrongylidae* spp., 14’ü (%28) *Moniezia* spp., 8’i (%16) *Eimeria* spp., 17’si (%34) *Nematodirus* spp. 10’u (%20) *Marshallagia* spp., 2’si (%4) *Trichuris ovis* ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 30 koyunun ortalama EPG değeri $59,47 \pm 34,444$ ’dür.

Konvensiyonel dışkı muayeneleri sonucunda koyunlarıda tespit edilen parazitlerin çalışma alanlarına göre dağılımı Çizelge 3.2 ile Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’ de verilmiştir.

Trichostrongylidae spp. ile enfekte toplamda 732 koyundan 40’ı erkek, 692’si ise dişidir. Erkek koyunların ortalama EPG değeri $84,91 \pm 28,465$, dişi koyunların ortalama EPG değeri ise $255,42 \pm 8,822$ ’dir ve istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P < 0.001$).

İki yaş ve altında *Trichostongylidae* spp. ile enfekte 118 koyunun ortalama EPG değeri $76,44 \pm 21,292$, iki yaş üzeri 614 enfekte koyunun ortalama EPG değeri ise $263,89 \pm 14,066$ ’dır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($P < 0.001$). Koyunlarda tespit edilen *Trichostrongylidae* spp. EPG değerlerinin çalışma alanlarına, yaş ve cinsiyete göre dağılımı Çizelge 3.3’te, dışkı bakısı ile tespit edilen parazitlerin yaş, cinsiyet ve ırka göre dağılımları Çizelge 3.4’te verilmiştir.



Çizelge 3.2: Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı

Şehir	İncelenen Hayvan Sayısı	<i>Trichostrongyli</i> <i>dae</i> spp.		<i>Moniezia</i> spp.		<i>Eimeria</i> spp.		<i>Nematodirus</i> spp.		<i>Marshallagia</i> spp.		<i>Trichuris</i> ovis	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Afyonkarahisar	100	70	70	18	18	26	26	34	34	11	11	7	7
Kahramanmaraş	50	35	70	12	24	21	42	13	26	0	0	0	0
Batman	50	41	82	7	14	15	30	10	20	4	8	2	4
Balıkesir	50	40	80	12	24	18	36	16	32	12	24	8	16
Kars	50	29	58	5	10	9	18	6	12	0	0	0	0
Ordu	50	45	90	15	30	24	48	22	44	10	20	4	8
Tekirdağ	50	42	84	7	14	14	28	20	40	8	16	3	6
Denizli	50	38	76	6	12	10	20	7	14	4	8	0	0
Uşak	50	32	64	9	18	12	24	10	20	8	16	2	4
Aydın	50	40	80	15	30	17	34	14	28	9	18	5	10
Şanlıurfa	50	37	74	10	20	12	24	16	32	10	20	6	12
Bitlis	50	30	60	8	16	15	30	7	14	0	0	0	0
Rize	50	48	96	16	32	20	40	25	50	13	26	8	16
Erzurum	50	27	54	5	10	18	36	3	6	0	0	0	0
Antalya	50	46	92	15	30	12	24	14	28	0	0	4	8
Kütahya	50	32	64	12	24	10	20	16	32	11	22	5	10
Sakarya	50	37	74	4	8	4	8	10	20	0	0	0	0
Çanakkale	50	33	66	17	34	12	24	8	16	0	0	0	0
Konya	50	30	60	14	28	8	16	17	34	10	20	2	4
Toplam	1000	732	73.20	207	20.70	277	27.7	268	26.80	110	11.10	56	5.60

Çizelge 3.3: Koyunlarda Tespit Edilen Trichostrongylidae spp. EPG Değerlerinin Çalışma Alanlarına, Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

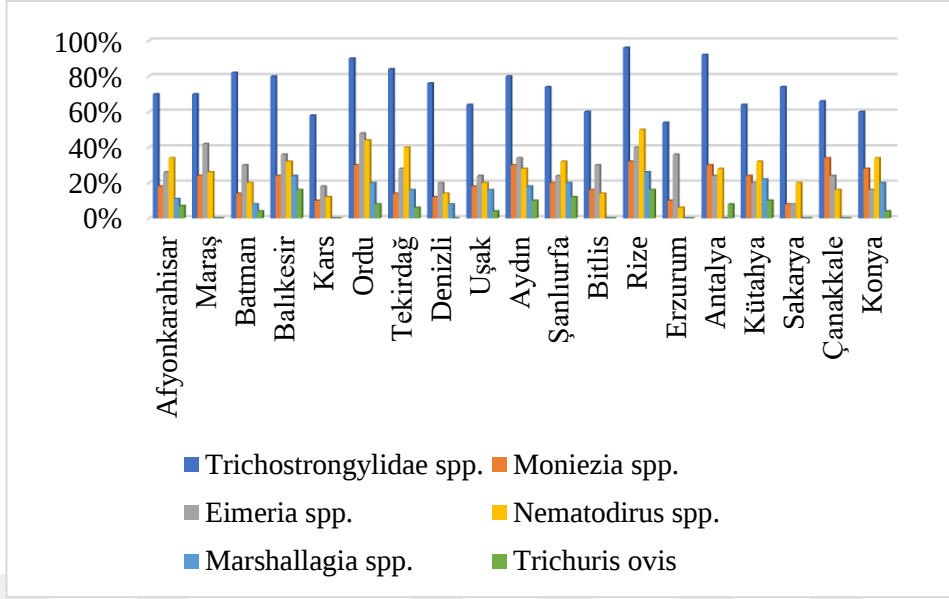
	n	Ortalama ±Standart Hata
Beklenen Ortalama (μ)	732	170,17 ± 15,721
İl		***
Afyonkarahisar	70	60,47 ± 25,740 ^{hij}
Kahramanmaraş	35	121,83±32,289 ^{ghı}
Batman	41	312,56±29,968 ^{bc}
Balıkesir	40	220,16±30,690 ^{cdef}
Kars	29	23,99±34,159 ^j
Ordu	45	447,93±28,677 ^a
Tekirdağ	42	175,86±30,078 ^{efg}
Denizli	38	165,06±30,834 ^{fgh}
Uşak	32	54,85±33,486 ^{ij}
Aydın	40	221,30±30,190 ^{cdefg}
Şanlıurfa	37	171,45±31,540 ^{efg}
Bitlis	30	16,28±34,538 ^j
Rize	48	131,15±28,232 ^{ghı}
Erzurum	27	41,35±35,822 ^{ij}
Antalya	46	282,98±30,555 ^b
Kütahya	32	238,46±34,267 ^{bcd}
Sakarya	37	277,40 ±30,849 ^{bcde}
Çanakkale	33	210,64±32,914 ^{defg}
Konya	30	59,47±34,444 ^{ij}
Cinsiyet		***
Erkek	40	84,91±28,465 ^b
Dişi	692	255,42±8,822 ^a
Yaş		***
2 yaş ve altı	118	76,44 ± 21,292 ^b
2 Yaş üzeri	614	263,89 ± 14,066 ^a

***: P<0.001

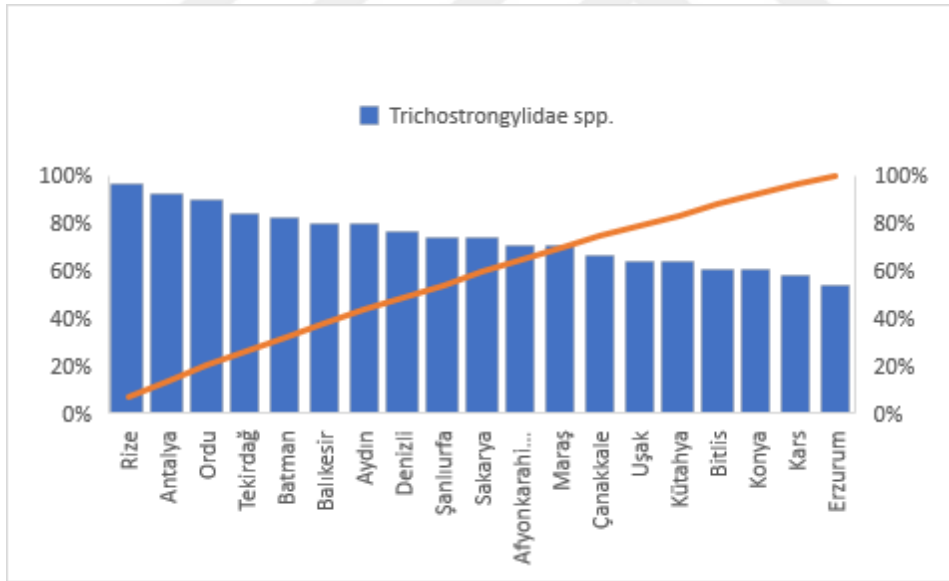
a, b, c, d, e,f,g,h,j,t : Her alt grupta aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).

Çizelge 3.4: Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitlerin Yaş, Cinsiyet ve Irka Göre Dağılımları

Parazit	Yaş		Cinsiyet		İrk												
	<2	>2	Erkek	Dişi	Pırlak	Akkaraman	Tahirova	Suffolk	İvesi	Kıvırcık	Merinos	Karayaka	Norduz	Hemşin	Morkaraman	Sakız	Tuj
																Melezi	
<i>Trichostrongylidae</i> spp.	204	528	39	693	102	65	33	37	78	72	128	45	30	48	27	38	29
<i>Moniezia</i> spp.	23	184	9	198	30	26	17	4	17	21	37	15	8	16	5	6	5
<i>Eimeria</i> spp.	82	195	21	256	36	29	12	4	27	30	43	24	15	20	18	10	9
<i>Nematodirus</i> spp.	32	246	14	254	50	30	8	10	26	26	38	22	17	25	3	7	6
<i>Marshallagia</i> spp.	13	97	11	99	22	10	0	0	14	20	17	10	0	13	0	4	0
<i>Trichuris ovis</i>	6	44	4	52	12	2	0	0	8	10	12	4	0	8	0	0	0



Şekil 3.1: Koyunlarda dışkı bakışı ile tespit edilen parazitlerin çalışma alanlarına göre % dağılımı



Şekil 3.2: Koyunlarda dışkı bakışı ile tespit edilen Trichostrongylidae spp.'nin çalışma alanlarına göre % dağılımı

Afyonkarahisar, Kars, Konya ve Antalya olmak üzere 4 farklı ilde 200 keçiden dışkı örneği alınmıştır. Bunların 19'unun erkek 181'inin ise dişi, 67'sinin 2 yaşından küçük, 133'ünün ise 2 yaşından büyük olduğu tespit edilmiştir. Konvansiyonel dışkı

muayenesi yapılan toplam 200 keçinin 159'u (%79,50) parazit yumurta ve/veya ookist yönünden pozitif bulunmuştur. Keçilerde dışkı bakısı ile tespit edilen parazitlerin çalışma alanlarına göre dağılımı Çizelge 3.5 ve Şekil 3.3'te, yaş, cinsiyet ve ırklara göre dağılımı ise Çizelge 3.6'da verilmiştir. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 154 keçinin ortalama EPG değeri $151,41 \pm 17,462$ bulunmuştur.

Afyonkarahisar'da 50 kılkeçisinin 39'u (%78) *Trichostrongylidae* spp., 5'i (%10) *Moniezia* spp., 26'sı (%52) *Eimeria* spp., 15'i (%30) *Nematodirus* spp. 18'i (%36) *Marshallagia* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 39 keçinin ortalama EPG değeri $117,52 \pm 23,732$ 'dir.

Kars'ta 50 kılkeçisinin 34'ü (%68) *Trichostrongylidae* spp., 21'i (%42) *Eimeria* spp., 8'i (%16) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 34 keçinin ortalama EPG değeri $115,76 \pm 23,929$ 'dur.

Antalya'da 50 Honamlı ırkı keçinin 44'ü (%88) *Trichostrongylidae* spp., 15'i (%30) *Eimeria* spp., 10'u (%20) *Nematodirus* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 44 keçinin ortalama EPG değeri $211,69 \pm 20,808$ 'dir.

Konya'da 50 Honamlı ırkı keçinin konvansiyonel dışkı muayenesi yapılmış, 37'si (%74) *Trichostrongylidae* spp., 12'si (%24) *Moniezia* spp., 18'i (%36) *Eimeria* spp., 16'sı (%32) *Nematodirus* spp. 13'ü (%26) *Marshallagia* spp. ile enfekte bulunmuştur. McMaster yöntemiyle gram dışkıda yumurta sayımı sonucu 37 keçinin ortalama EPG değeri $160,68 \pm 22,923$ 'dur.

Trichostrongylidae spp. ile enfekte toplamda 154 keçiden 12'si erkek, 144'ü ise dişidir. Erkek keçilerin ortalama EPG değeri $121,01 \pm 31,645$, dişi keçilerin ortalama EPG değeri ise $181,82 \pm 10,545$ 'dir ve istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır.

İki yaş ve altında *Trichostrongylidae* spp. ile enfekte 33 keçinin ortalama EPG değeri $131,32 \pm 23,905$, iki yaş üzeri 121 enfekte keçinin ortalama EPG değeri ise $171,51 \pm 16,155$ 'dir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. Keçilerde dışkı bakışı ile tespit *Trichostrongylidae* spp. EPG değerlerinin illere hayvanların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.5: Keçilerde Dışkı Bakışı ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı

Şehir	İncelenen Hayvan Sayısı	<i>Trichostrongylidae</i> spp.		<i>Moniezia</i> spp.		<i>Eimeria</i> spp.	
		n	%	n	%	n	%
Afyonkarahisar	50	39	78	5	10	26	52
Kars	50	34	68	0	0	21	42
Antalya	50	44	88	0	0	15	30
Konya	50	37	80	12	24	18	36

Şehir	İncelenen Hayvan Sayısı	<i>Nematodirus</i> spp.		<i>Marshallagia</i> spp.		<i>Trichuris ovis</i>	
		n	%	n	%	n	%
Afyonkarahisar	50	15	30	18	36	3	6
Kars	50	8	16	0	0	0	0
Antalya	50	10	20	0	0	0	0
Konya	50	16	32	13	26	5	10

Çizelge 3.6: Keçilerde Dışkı Bakışı ile Tespit Edilen Parazitlerin Yaş, Cinsiyet ve Irklara Göre Dağılımı

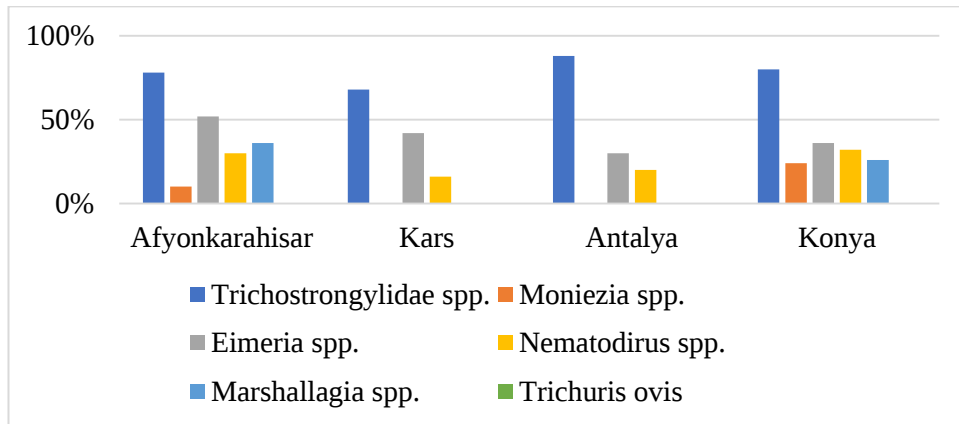
Parazit	Yaş		Cinsiyet		İrk	
	<2	>2	Erkek	Dişi	Kılkeçisi	Honamlı
<i>Trichostrongylidae</i> spp.	41	114	9	146	75	82
<i>Moniezia</i> spp.	4	15	0	19	5	12
<i>Eimeria</i> spp.	32	48	4	76	47	33
<i>Nematodirus</i> spp.	14	35	5	44	23	26
<i>Marshallagia</i> spp.	6	25	1	30	18	13
<i>Trichuris ovis</i>	0	4	0	4	1	3

Çizelge 3.7: Keçilerde Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Trichostrongylidae spp. EPG Değerinin İllere, Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

	n	Ortalama ±Standart Hata
Beklenen Ortalama (μ)	154	151,41±17,462
İl		***
Afyonkarahisar	39	117,52±23,732 ^b
Kars	34	115,76±23,929 ^b
Antalya	44	211,69±20,808 ^a
Konya	37	160,68±22,923 ^b
Cinsiyet		-
Erkek	12	121,01±31,645
Dişi	142	181,82±10,545
Yaş		-
2 yaş ve altı	33	131,32±23,905
2 Yaş üzeri	121	171,51±16,155

-. Önemli değil ((P>0.05).***:P< 0.001,

a, b: Her alt grupta aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).



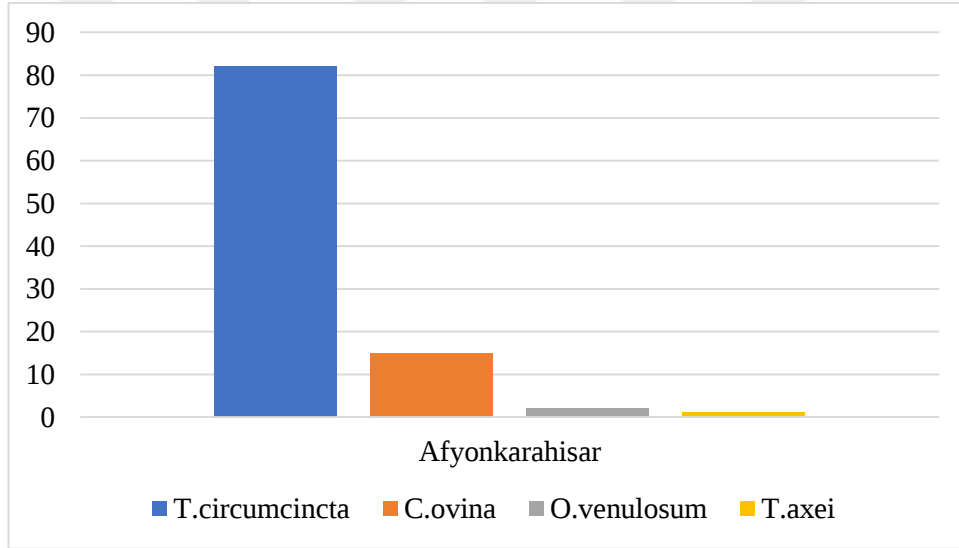
Şekil 3.3: Keçilerde dışkı bakısı ile tespit edilen parazit türlerinin çalışma

alanlarına göre dağılımı

3.3. Koyunlarda Tespit Edilen Larvaların PZR ile Tür Tiplendirmelerinin Yapılması

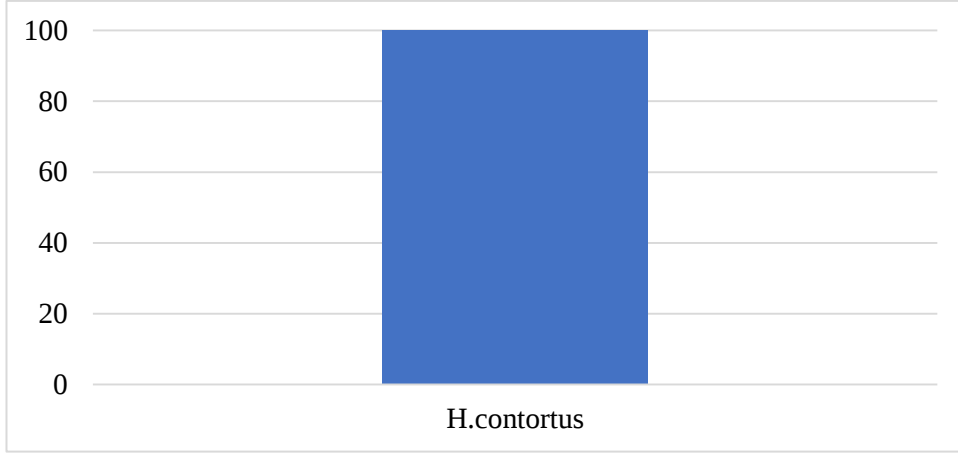
Her ili temsilen rastgele seçilen 94'er larvanın *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Chabertia ovina*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichostrongylus axei* ve Generic ITS2 primerleri kullanılarak PZR ile tür tiplendirilmeleri yapılmıştır. Buna göre;

Afyonkarahisar için seçilen larvaların 77'si (%81,9) *T. circumcincta*, 14'ü (%14,89) *C. ovina*, 2'si (%2,12) *O. venulosum* ve 1'i (%1,06) *T. axei* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.4).



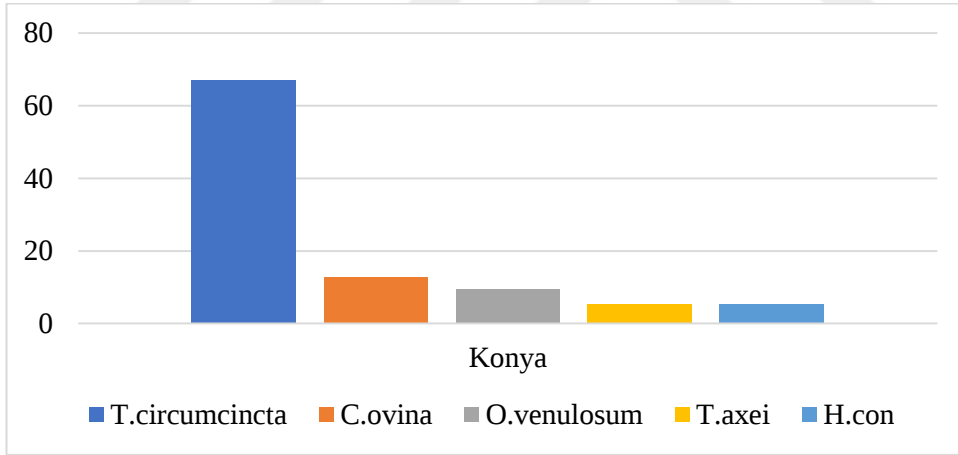
Şekil 3.4: Afyonkarahisar'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Antalya için seçilen larvaların tümünün (%100) *H. contortus* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.5).



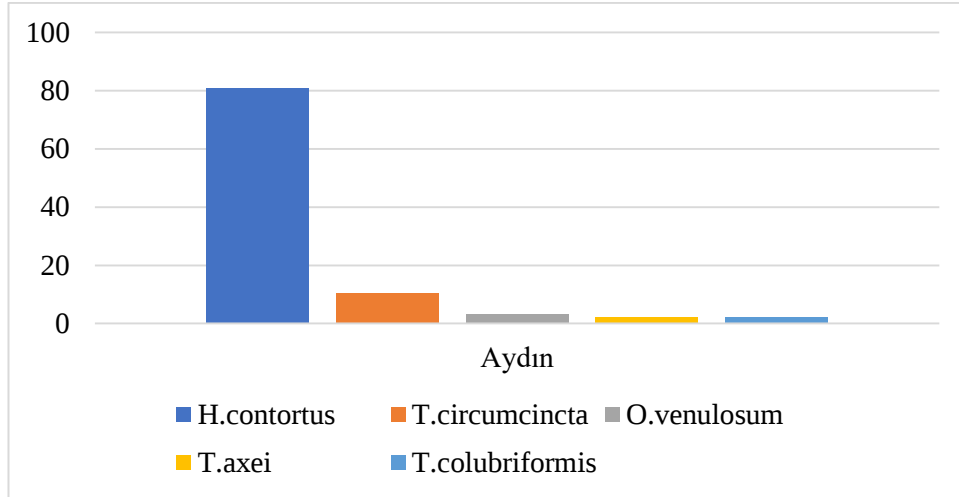
Şekil 3.5: Antalya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Konya ili için seçilen larvaların 63’ü (%67,02) *T. circumcincta*, 12’si (%12,76) *C. ovina*, 9’u (%9,57) *O. venulosum*, 5’i (%5,31) *H. contortus* ve 5’i *T. axei* (%5,31) olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.6).



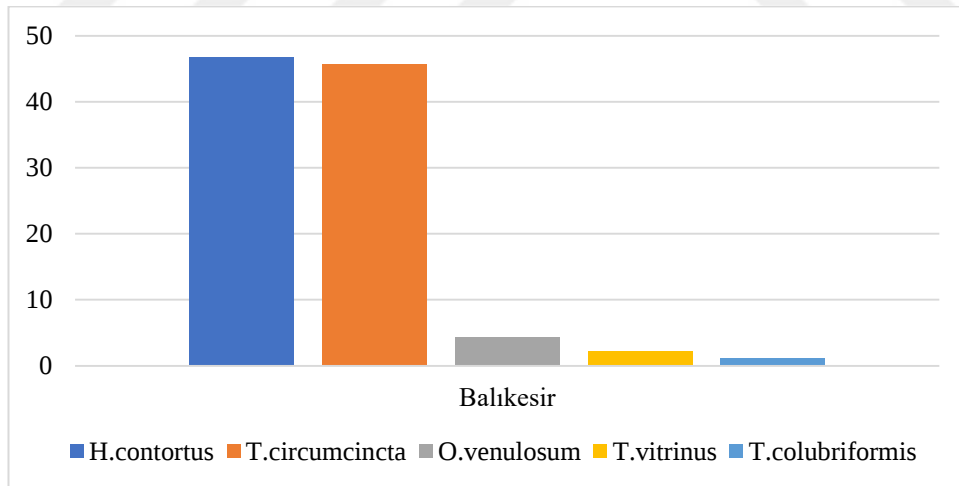
Şekil 3.6: Konya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Aydın için seçilen larvaların 76’sı (%80,85) *H. contortus*, 10’u (%10,63) *T. circumcincta*, 3’ü (%3,19) *O. venulosum*, 2’si (%2,12) *T. axei* olarak teşhis edilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 2 örneğin (%2,12) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.7).



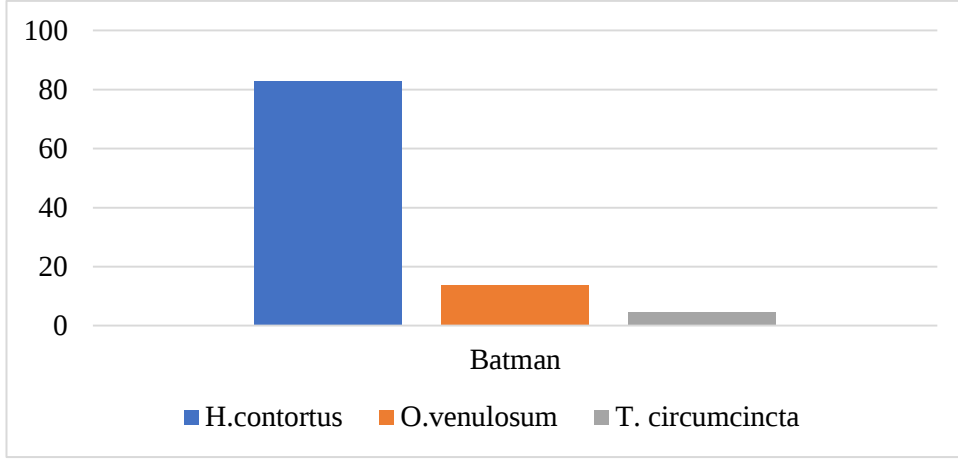
Şekil 3.7: Aydın’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Balıkesir ili için seçilen larvaların 44’ü (%46,80) *H. contortus*, 43’ü (%45,74) *T. circumcincta*, 4’ü (%4,25) *O. venulosum*, 2’si (%2,12) *T. vitrinus* olarak teşhis edilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 1 örneğin (%1,06) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.8).



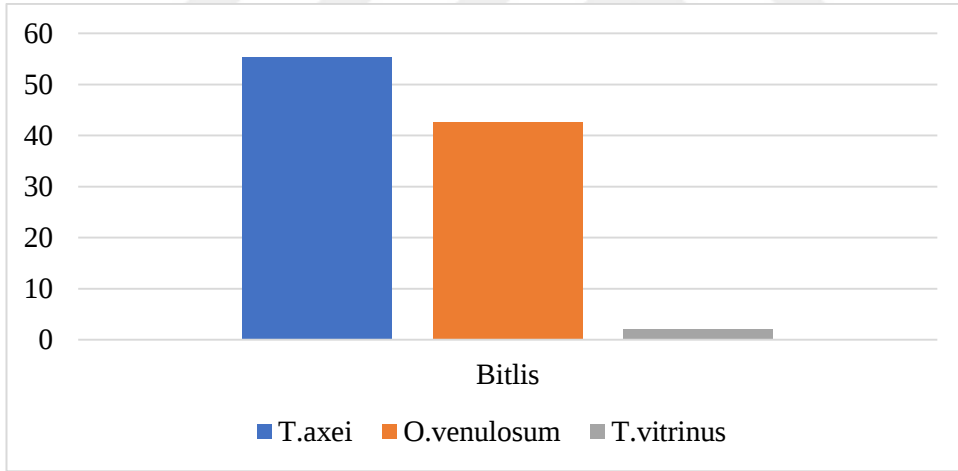
Şekil 3.8: Balıkesir’de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Batman için seçilen larvaların 78’ü (%82,97) *H. contortus*, 13’ü (%13,82) *O. venulosum* ve 4’ü (%4,55) *T. circumcincta* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.9).



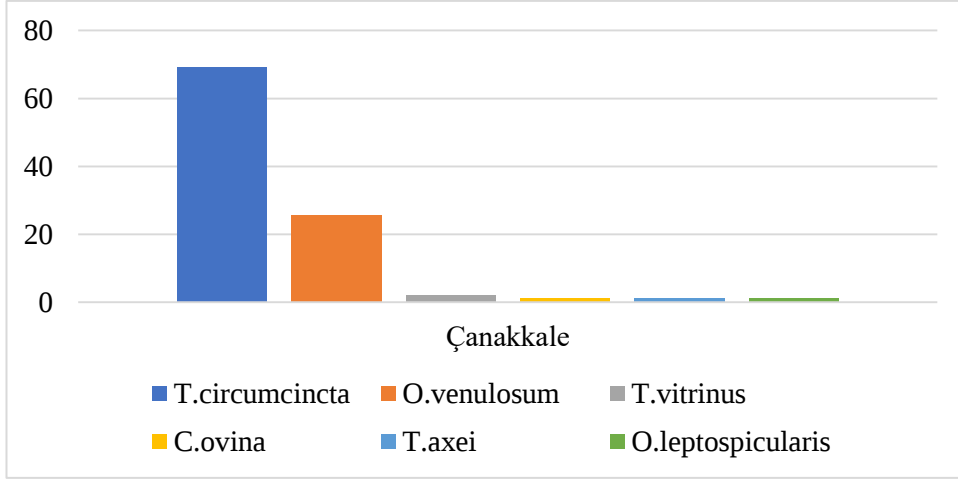
Şekil 3.9: Batman’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Bitlis ili için seçilen larvaların 52’sinin (%55,31) *T. axei*, 40’ının (%42,55) *O. venulosum* ve 2’sinin de (%2,12) *T. vitrinus* olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.10)



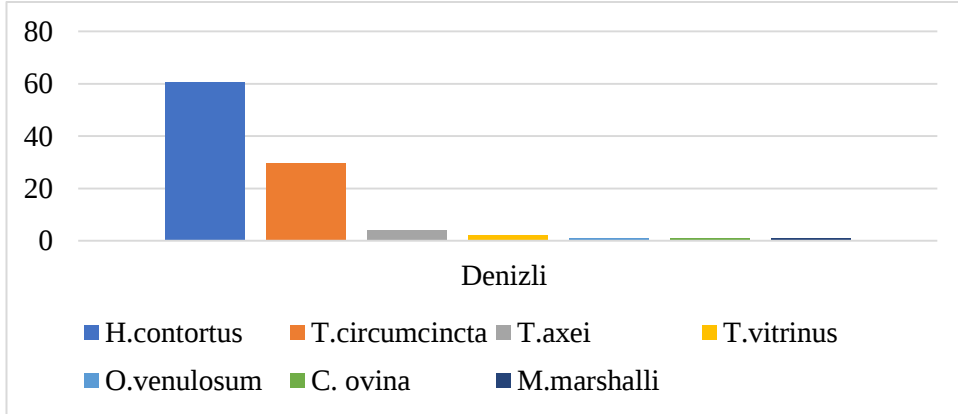
Şekil 3.10: Bitlis’te koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Çanakkale için seçilen larvaların 65’i (%69,14) *T. circumcincta*, 24’ü (%25,53) *O. venulosum*, 2’si (%2,12) *T. vitrinus*, 1’i (%1,06) *C. ovina*, 1’i (%1,06) *T. axei* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 1 örneğin (%1,06) sekans sonucu *O. leptospicularis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Çanakkale’de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

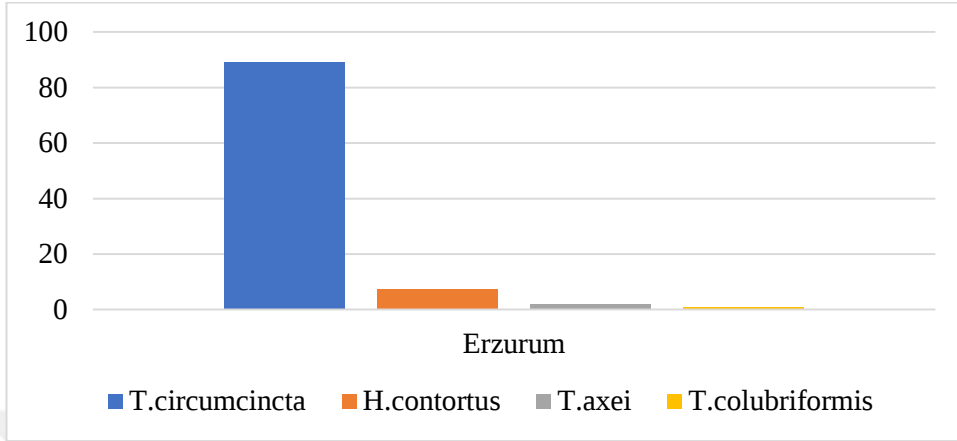
Denizli için seçilen larvaların 57’si (60,63) *H. contortus*, 28’i (%29,78) *T. circumcincta*, 4’ü (%4,25) *T. axei*, 2’si (%2,12) *T. vitrinus*, 1’i (%1,06) *O. venulosum* ve 1’i (%1,06) *C. ovina* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 1 örneğin (%1,06) sekans sonucu *Marshallagia marshalli* olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Denizli’de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

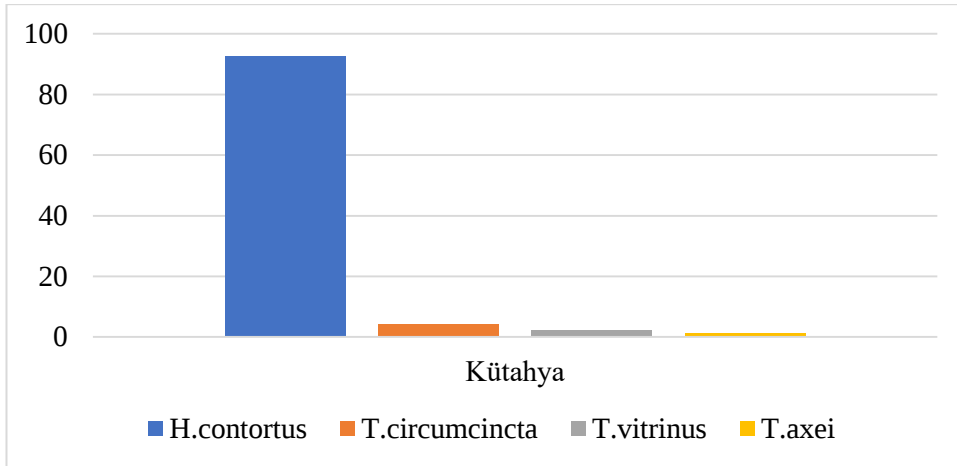
Erzurum için seçilen larvaların 84’ü (%89,36) *T. circumcincta*, 7 ‘si (%7,44) *H. contortus* ve 2’si (%2,12) *T. axei* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi

yapılamayan 1 örneğin (%1,06) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.13).



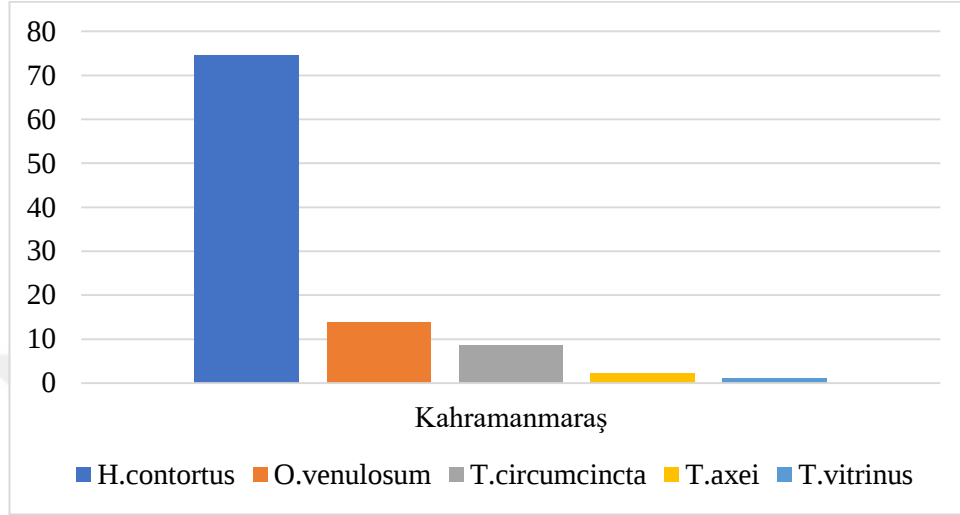
Şekil 3.13: Erzurum’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Kütahya için seçilen larvaların 88’i (%92,55) *H. contortus*, 4’ü (%4,25) *T. circumcincta*, 2’si (%2,12) *T. vitrinus* ve 1’i (%1,06) *T. axei* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.14).



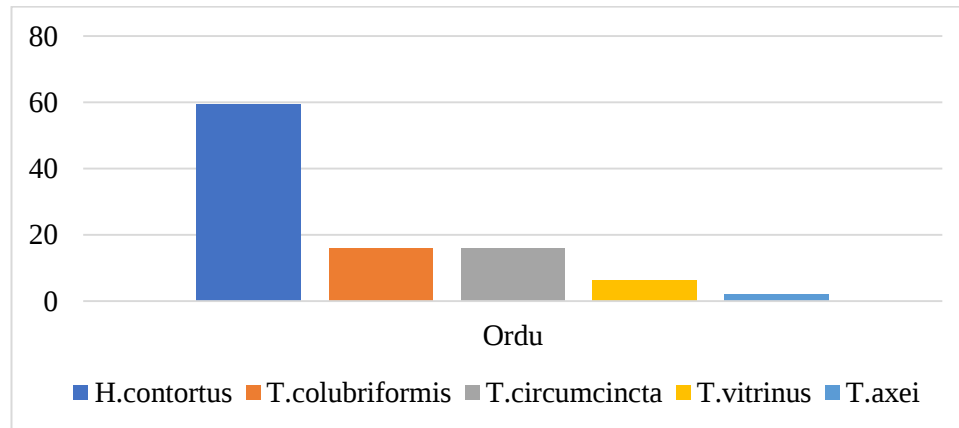
Şekil 3.14: Kütahya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Kahramanmaraş için seçilen larvaların 70'i (%74,46) *H. contortus*, 13'u (%13,82) *O. venulosum*, 8'i (%8,51) *T. circumcincta*, 2'si (%2,12) *T. axei* ve 1'i (%1,06) *T. vitrinus* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.15).



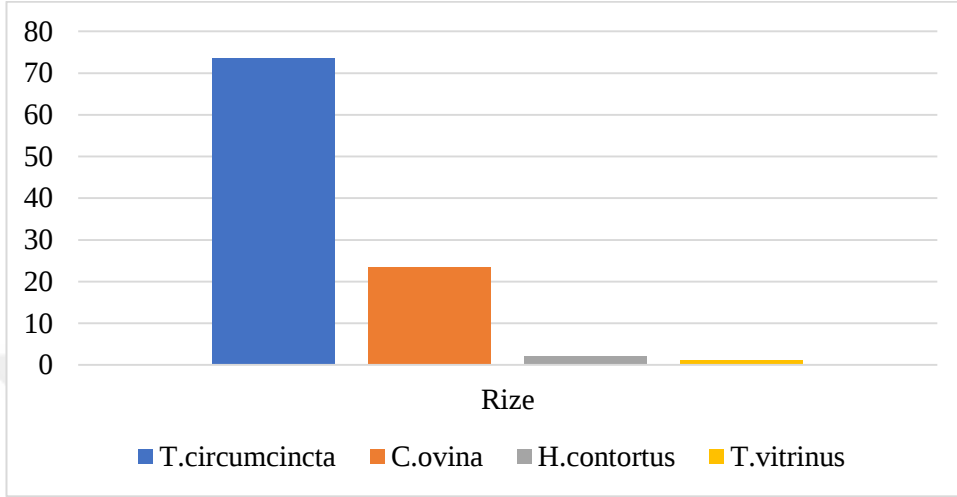
Şekil 3.15: Kahramanmaraş'ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Ordu için seçilen larvaların 56'sı (%59,57) *H. contortus*, 15'i (%15,95) *T. circumcincta*, 6'sı (%6,38) *T. vitrinus*, 2'si (%2,12) *T. axei* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 15 örneğin (%15,95) sekans sonucu *T. colubriformis* olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.16).



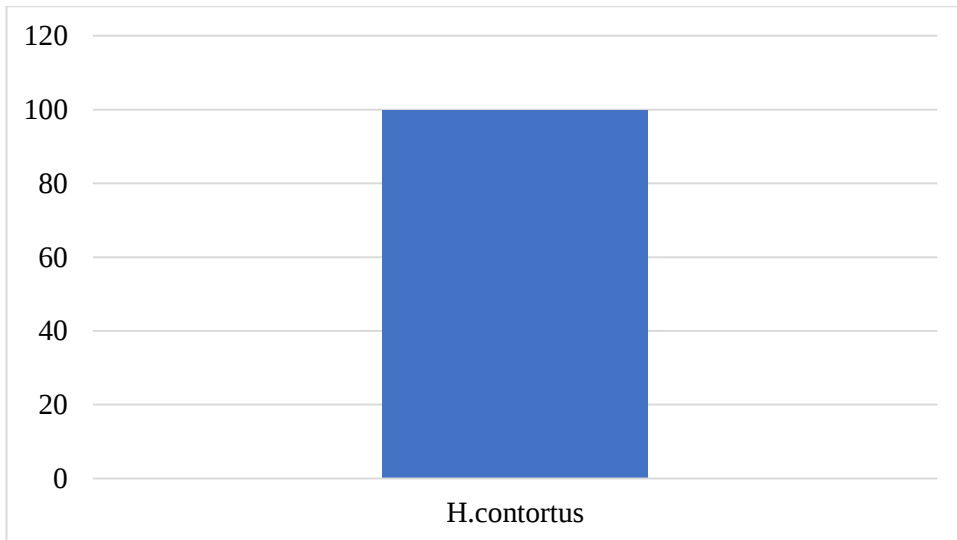
Şekil 3.16: Ordu'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Rize için seçilen larvaların 69'u (%73,40) *T. circumcincta*, 22'si (%23,40) *C. ovina*, 2'si (%2,12) *H. contortus* ve 1'i (%1,06) *T. vitrinus* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.17).



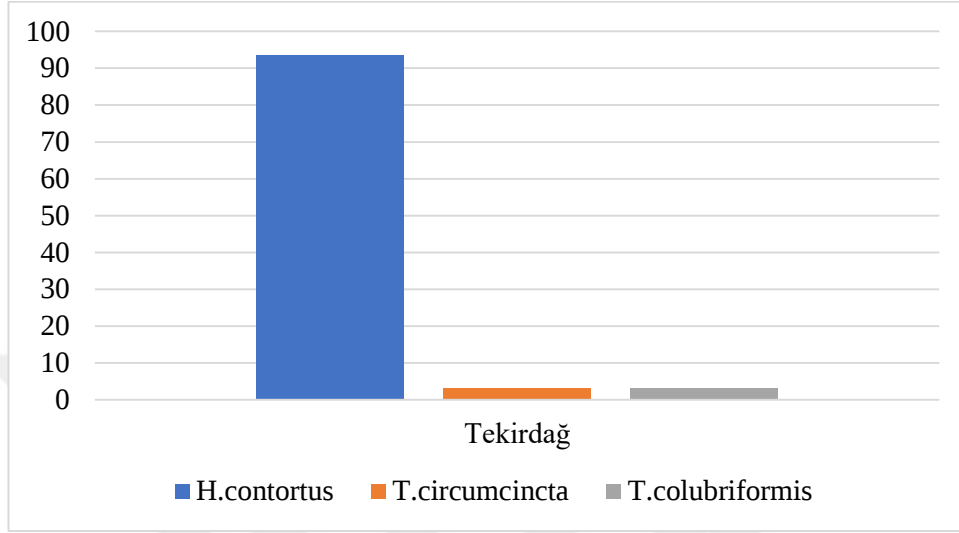
Şekil 3.17: Rize’de koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Sakarya için seçilen larvaların tümünün (%100) *H. contortus* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.18).



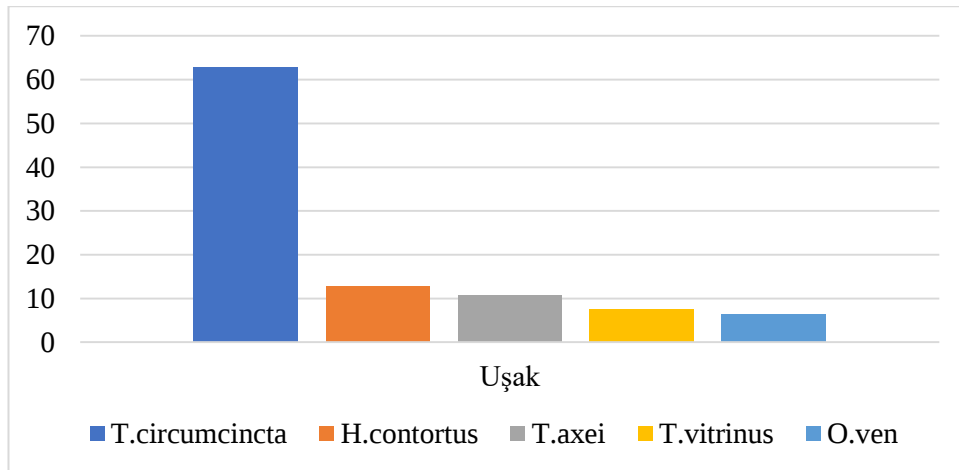
Şekil 3.18: Sakarya’da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Tekirdağ için seçilen larvaların 88'ü (%93,61) *H. contortus* ve 3'ü (%3,19) *T. circumcincta* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 3 örneğin (%3,19) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.19).



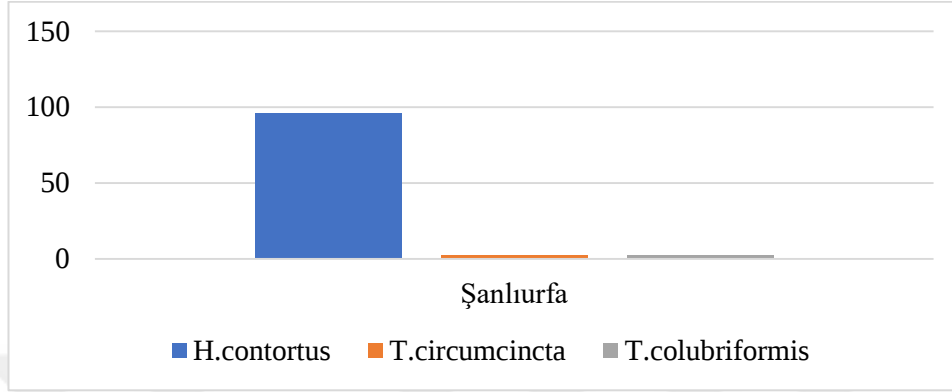
Şekil 3.19: Tekirdağ'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Uşak için seçilen larvaların 59'u (%62,76) *T. circumcincta*, 12'si (%12,76) *H. contortus*, 10'u (%10,63) *T. axei*, 7'si (%7,63) *T. vitrinus*, 6'sı (%6,38) *O. venulosum* olarak tiplendirilmiştir (Şekil 3.20).



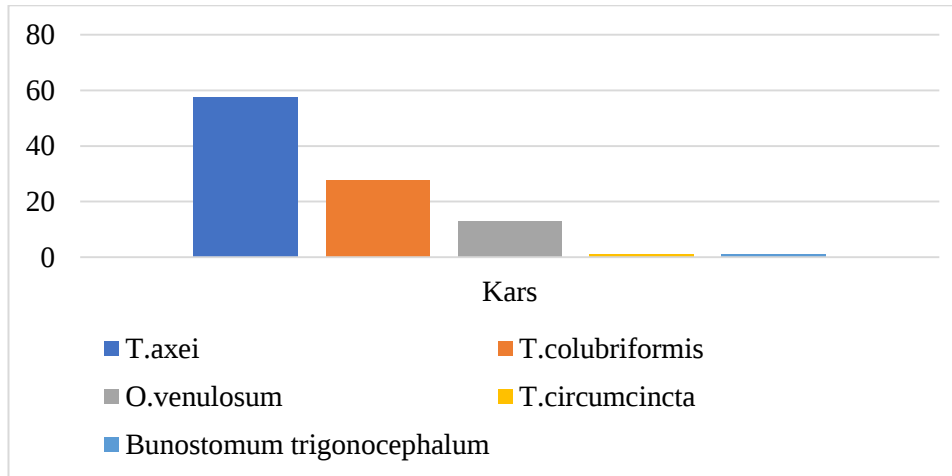
Şekil 3.20: Uşak'ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Şanlıurfa ili için seçilen larvaların 90'ının (%95,74) *H. contortus* ve 2'sinin de (%2,12) *T. circumcincta* olduğu belirlenirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 2 örnek (%2,12) sekans sonucu *T. colubriformis* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21: Şanlıurfa'da koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Kars için seçilen larvaların 54'ü (%57,44) *T. axei*, 12'si (%12,76) *O. venulosum* ve 1'i (%1,06) *T. circumcincta* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 27 örneğin sekans sonucu 26'sı (%27,65) *T. colubriformis*, 1'i (%1,06) *Bunostomum trigonocephalum* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 3.22).



Şekil 3.22: Kars'ta koyunlarda tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Çalışma alanlarına göre koyunlarda EPG değerlerinin ve PZR ile tür teşhisi yapılan parazitlerin çalışma alanlarına göre dağılımı Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.8: Koyunlarda EPG ve PZR ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı

Şehir	EPG	Bakılan Örnek Sayısı	<i>T. circumcincta</i>		<i>H. contortus</i>		<i>Trichostongylus</i> spp.	
			n	%	n	%	n	%
Afyonkarahisar	60,47±25,740	94	77	81,91 ^{ab}	0	0	1	1,06 ^d
Maraş	121,83±32,289	94	8	8,51 ^{fgh}	70	74,46 ^b	3	3,18 ^d
Batman	312,56±29,968	94	4	4,25 ^{ghi}	78	82,97 ^b	0	0
Balıkesir	220,16±30,690	94	43	45,74 ^d	44	46,80 ^c	3	3,18 ^d
Kars	23,99±34,159	94	1	1,06 ⁱ	0	0	80	85,10 ^a
Ordu	447,93±28,677	94	15	15,95 ^f	56	59,57 ^c	23	24,45 ^c
Tekirdağ	175,86±30,078	94	3	3,19 ^{hi}	88	93,61 ^a	3	3,19 ^d
Denizli	165,06±30,834	94	28	29,78 ^e	57	60,63 ^c	6	6,37 ^d
Uşak	54,85±33,486	94	59	62,76 ^c	12	12,76 ^d	17	18,26 ^c
Aydın	221,30±30,190	94	10	10,63 ^{fg}	76	80,85 ^b	4	4,24 ^d
Şanlıurfa	171,45±31,540	94	2	2,12 ^{hi}	90	95,74 ^a	2	2,12 ^d
Bitlis	16,28±34,538	94	0	0	0	0	54	57,43 ^b
Rize	131,15±28,232	94	69	73,40 ^{bc}	2	2,12 ^e	1	1,06 ^d

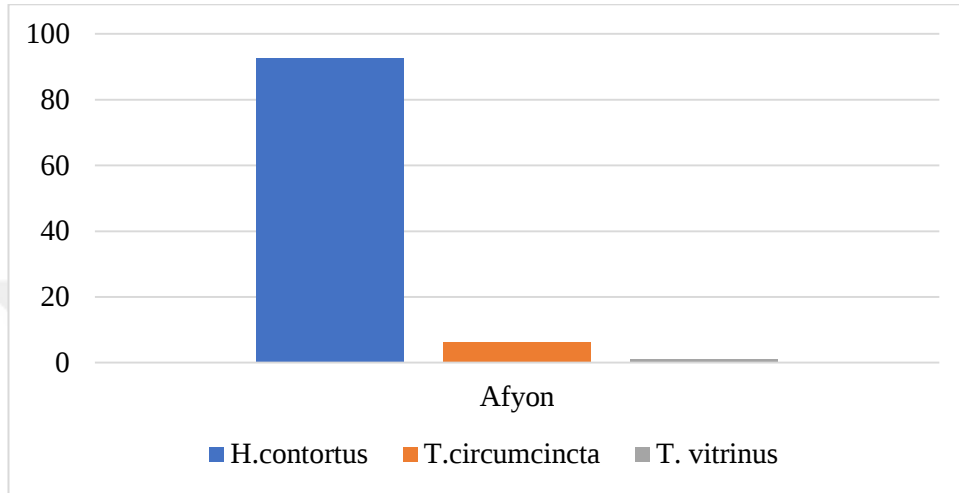
Çizelge 3.8. Devam

Erzurum	41,35±35,822	94	84	89,36 ^a	7	7,44 ^{de}	3	3,18 ^d
Antalya	282,98±30,555	94	0	0	100	100 ^a	0	0
Kütahya	238,46±34,267	94	4	4,25 ^{ghⁱ}	88	92,55 ^a	3	3,18 ^d
Sakarya	277,40	94	0	0	100	100 ^a	0	0
Çanakkale	210,64±32,914	94	65	69,14 ^c	0	0	3	3,18 ^d
Konya	59,47±34,444	94	63	67,02 ^c	5	5,3 ^{de}	5	5,31 ^d

a, b, c, d, e, f, g, h, i : aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arası farklar önemlidir (p<0.05).

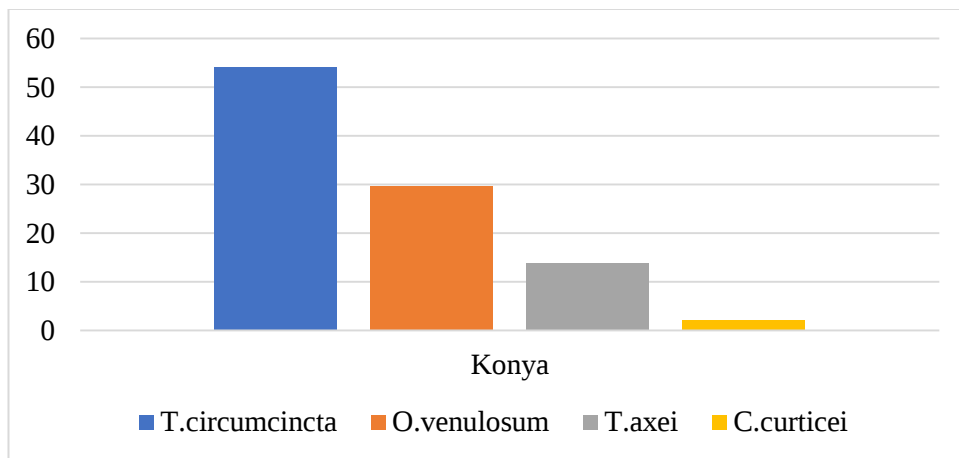
3.4. Keçilerde Tespit Edilen Larvaların PZR ile Tür Tiplendirmelerinin Yapılması

Afyonkarahisar için seçilen larvaların 87'si (%92,55) *H. contortus*, 6'sı (%6,38) *T. circumcincta* ve 1'i (%1,06) *T. vitrinus* olarak tiplendirilmiştir (Şekil 3.23).



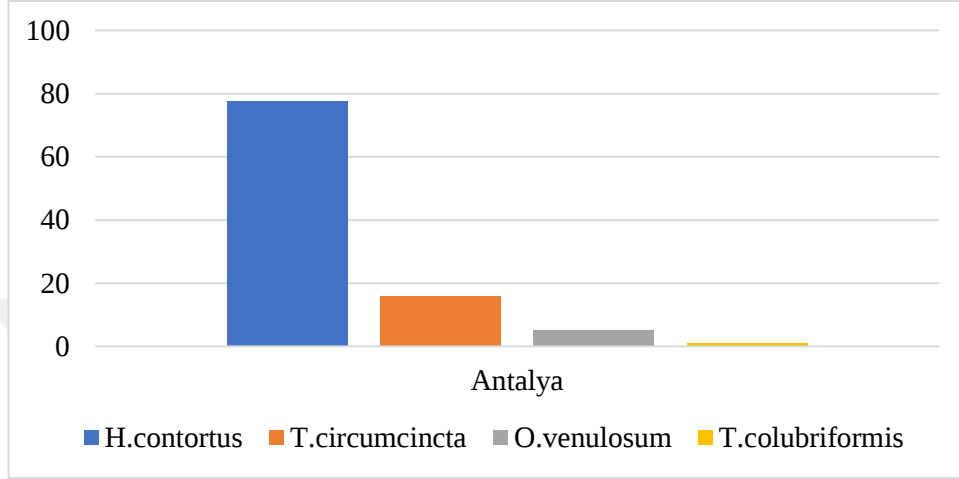
Şekil 3.23: Afyonkarahisar'da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Konya için seçilen larvaların 51'i (%54,25) *T. circumcincta*, 28'i (%29,75) *O. venulosum*, 13'ü (%13,82) *T. axei* ve 2'si (%2,12) *C. curticei* olarak tiplendirilmiştir (Şekil 3.24).



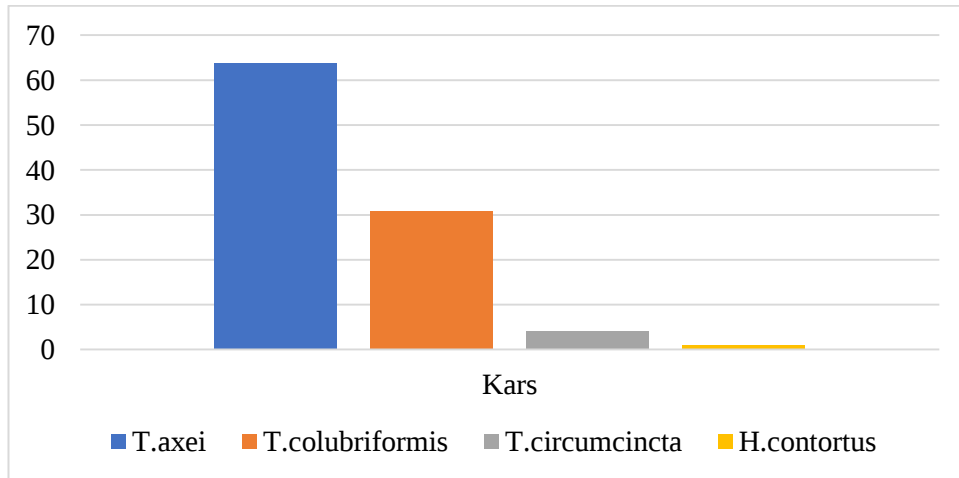
Şekil 3.24: Konya'da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Antalya için seçilen larvaların 73'ü (%77,65) *H. contortus*, 15'i (%15,95) *T. circumcincta*, 5'i (%5,31) *O. venulosum* olarak tiplendirilirken, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 1 örneğin (%1,06) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.25).



Şekil 3.25: Antalya'da keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi sonuçları (%)

Kars için seçilen larvaların 60'ı (%63,82) *T. axei*, 4'ü (%4,25) *T. circumcincta* ve 1'i (%1,06) *H. contortus* olarak tiplendirilmiş, PZR ile tür tiplendirilmesi yapılamayan 29 örneğin (%30,85) sekans sonucu *T. colubriformis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.26).



Şekil 3.26: Kars'ta keçilerde tespit edilen larvaların PZR ile tür tiplendirmesi

sonuçları (%)

Çalışma alanlarına göre keçilerde EPG değerlerinin ve PZR ile tür teşhisi yapılan parazitlerin çalışma alanlarına göre dağılımı Çizelge 3.9’de verilmiştir.

Çizelge 3.9: Keçilerde EPG ve PZR ile Tespit Edilen Parazitlerin Çalışma Alanlarına Göre Dağılımı

Şehir	EPG	Bakılan Örnek Sayısı	T. circumcincta n	T. circumcincta %	H. contortus n	H. contortus %	Trichostongylus spp. n	Trichostongylus spp. %
Afyonkarahisar	168,918	94	6	6,38 ^c	87	92,55 ^a	1	1,06 ^c
Kars	154,411	94	4	4,25 ^c	1	1,06 ^b	89	94,68 ^a
Antalya	244,318	94	15	15,95 ^b	73	77,65 ^c	1	1,06 ^c
Konya	195,945	94	51	54,25 ^a	0	0	13	13,82 ^b

^{a, b, c} : Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arası farklar önemlidir (p<0.05).

3.5. Albendazol ile Tedavi Öncesi ve Sonrası Tespit Edilen Larvaların PZR ile Tür Tiplendirilmesinin Yapılması

Şuhut’ta bulunan çiftlikte 0. günde elde edilen 67 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu 43’ü (%64,17) *T. circumcincta*, 9’u (%13,43) *T. axei*, 8’i (%11,94) *O. venulosum*, 6’sı (%8,95) *T. vitrinus* ve 1’i (%1,94) *H. contortus* olarak teşhis edilmiştir.

Tedaviden sonraki 14.günde elde edilen 56 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu tamamı (%100) *T. circumcincta* olarak teşhis edilmiştir.

İhsaniye’de bulunan çiftlikte 0.günde elde edilen 85 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu 46’sı (%54,11) *T. circumcincta*, 22’si (%25,88) *H. contortus*, 15’i (%17,64) *O. venulosum* ve 2’si (%2,35) *T. axei* olarak teşhis edilmiştir.

Tedavi sonrası 14.günde elde edilen 83 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu 36'sı (%43,37) *H. contortus*, 35'i (%42,16) *T. circumcincta*, 10'u (%12,04) *O. venulosum* ve 2'si (%2,04) *T. axei* olarak teşhis edilmiştir.

Çayırbağ'da bulunan çiftlikte 0.günde elde edilen 88 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu 66'sı (%75) *T. circumcincta*, 11'i (%12,50) *T. axei*, 6'sı (%6,81) *T. colubriformis* ve 5'i (%5,68) *O. venulosum* olarak teşhis edilmiştir.

Tedavi sonrası 14.günde elde edilen 56 larvanın tür tiplendirilmesi sonucu 55'i (%98,21) *T. circumcincta* ve 1'i (%1,78) *T. Colubriformis* olarak teşhis edilmiştir.

3.6. Allel-Spesifik PZR ile *H. contortus* ve *T. circumcincta* Populasyonlarında Benzimidazol Direncinin Tespiti

T. circumcincta populasyonlarında benzimidazol direncini tespit etmek için allel-spesifik PZR ile Konya, Rize, Uşak, Afyonkarahisar, Çanakkale, Erzurum'dan 30'ar larva seçilmiştir. Seçilen larvalardan Konya'da 30'u (%100) homozigot duyarlı (SS), Rize'de 27'si (%90) homozigot duyarlı (SS), 3'ü (%10) ise heterozigot duyarlı (Sr), Uşak'ta 28'i (%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,66) heterozigot duyarlı (Sr) Afyonkarahisar'da 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 3'u (%10) heterozigot duyarlı (Sr), 1'i (%3,33) ise homozigot dirençli (rr), Çanakkale'de 30'u (%100) homozigot duyarlı (SS), Erzurum'da 28'i (%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,66) ise heterozigot duyarlı (Sr) bulunmuştur.

Haemonchus contortus populasyonlarında benzimidazol direncini tespit etmek için allel-spesifik PZR ile Afyonkarahisar'ın İhsaniye ilçesinde albendazol ile tedavi sonrası 14.günde, Batman, Sakarya, Antalya, Tekirdağ, Şanlıurfa, Aydın, Ordu, Balıkesir'de koyunlardan, Afyon ve Antalya'da keçilerden elde edilen 30'ar larva seçilmiştir. Batman'daki 30 larva örneğinden 27'si (%90) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,6) heterozigot duyarlı (Sr) ve 1'i (%3,33) homozigot dirençli (rr), Sakarya'da 16'sı (%53,33) homozigot duyarlı (SS), 12'si (%40) heterozigot duyarlı (Sr) ve 2'si (%6,6) homozigot dirençli (rr), Afyonkarahisar'da 26'sı (%86,66) heterozigot duyarlı (Sr) ve 4'ü (%13,33) homozigot duyarlı (SS), Antalya'da 28'i

(%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,66) heterozigot duyarlı (Sr), Tekirdağ'da 26'sı (%86,66) heterozigot duyarlı (Sr), 4'ü (%13,33) ise homozigot duyarlı (SS), Şanlıurfa'da 15'i (%50) heterozigot duyarlı (Sr), 15'i (%50) ise homozigot duyarlı (SS), Aydın'da 30'u (%100) heterozigot duyarlı (Sr), Ordu'da 28'i (%93,33) heterozigot duyarlı, 2'si (%6,66) homozigot duyarlı, Balıkesir'de 25'i (%83,33) homozigot duyarlı (SS), 5 'i (%16,66) heterozigot duyarlı (Sr), Afyonkarahisar keçilerinde 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 4'u (%13,33) heterozigot duyarlı (Sr), Antalya keçilerinde 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 4'u (%13,33) heterozigot duyarlı (Sr) tespit edilmiştir.

3.7. Mikrosatellit Analiz Sonuçları

Yapılan analizler sonucunda, Türkiye'de *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonlarında, yüksek popülasyon içi varyasyon, düşük popülasyon genetik farklılaşması ve yüksek gen akışı tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Nematodlar, dünya çapında, otlayan hayvanlar için en büyük hastalık tehditlerinden birini oluşturmaktadır. Nematoda şubesi (yuvarlak solucanlar), büyük sosyo-ekonomik öneme sahip birçok paraziti içermektedir. Örneğin, otlayan geviş getiren hayvanlar genellikle parazitik gastroenterite (PGE) neden olabilen bir veya daha fazla nematod (Strongylida takımı) tarafından parazitlenir (Taylor vd., 2007).

Bu parazitlerle enfeksiyon, et, yün ve süt üretiminin kaybına ve yem alımının, ağırlık artışının ve büyüme hızının azalmasına neden olur. Ayrıca geviş getiren hayvanlarda ve diğer otlayan ruminantlarda ciddi ve hatta ölümcül belirtilere neden olabilmektedir. Örneğin bu parazitlerden *H. contortus*, geviş getiren hayvanlarda şiddetli anemi, hipoproteinemi, ödem ve hatta ölüme neden olan kan emerek beslenen en patojen nematodlardan biridir. Hayvanlar enfeksiyona genellikle enfektif dönem larvalarla kontamine su ve otları oral yolla almak suretiyle yakalanırlar (Qamar vd., 2011).

Halen günümüzde Helmint enfeksiyonlarının hayvancılık üzerindeki olumsuz etkileri, küresel boyutta hayvancılık endüstrisinde büyük problem olmaya devam etmektedir. Mavrot (2016), 30 Avrupa ülkesinde helmint enfeksiyonlarının etçi koyun sektörüne yıllık maliyetini 157-477 milyon Euro olarak hesaplamıştır. Stubbings ve Lovatt (2017), paraziter enfeksiyonların kuzu başına ortalama 10 pound'luk kayıba neden olduğunu bildirmiştir. Charlier vd. (2020), Avrupa'da araştırma yapılan 18 ülkede mide bağırsak kılkurdu, *Fasciola hepatica* ve *Dictyocaulus viviparus* enfeksiyonları sonucu yıllık maliyeti 1,8 milyar Euro olarak tahmin etmişlerdir. Bu maliyetin %81'i üretim kaybı, %19'u ise tedavi giderleri olarak hesaplanmıştır. Gastrointestinal nematodların makrosiklik lakton direncinden kaynaklı maliyeti ise 38 milyon Euro olarak hesaplanmıştır. Helmint enfeksiyonlarının maliyeti süt koyuncululuğuna 151 milyon Euro, et koyuncululuğuna 206 milyon Euro ve süt keçiciliğinde ise 86 milyon Euro olarak hesaplanmıştır. Aynı çalışmada helmint enfeksiyonlarının yıllık maliyeti Hollanda'da 105 milyon Euro,

Almanya’da 146 milyon Euro ve Birleşik Krallıkta ise 299 milyon Euro olarak hesaplanmıştır.

Belçika’da yapılan bir çalışmada FECRT sonucunda 8 çiftlikte benzimidazole karşı etki kaybı, 9 çiftlikte ise makrosiklik lakton grubuna karşı etki kaybı tespit edilmiştir (Claerebout vd., 2020). Afyonkarahisar’ın Şuhut ilçesinde bulunan koyun çiftliğinde dışkıda yumurta sayısı azalım testi (FECRT) sonucunda albendazole olan duyarlılık %85,9, ivermektine olan duyarlılık ise %80,1, İhsaniye ilçesinde albendazole olan duyarlılık %72,6, ivermektine olan duyarlılık ise %69,8, Merkez Çayırbağ kasabasında albendazole olan duyarlılık %77,6, ivermektine olan duyarlılık ise %82,4 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre Afyonkarahisar’da seçilen çiftliklerde elde edilen parazitlerde de Claerebout vd. (2020)’nin çalışmasına benzer şekilde albendazol ve ivermektine olan duyarlılığın azaldığı tespit edilmiştir.

Önder (2014) 2 yaş üzeri koyunlarda EPG sayısını iki yaş altına göre yaklaşık 2 kat yüksek bulmuştur. Bu çalışmada 732 enfekte koyunda gram dışkıdaki yumurta sayısı (EPG) ortalama $170,17 \pm 15,721$ olarak belirlenmiş, EPG ortalaması 2 yaş üzeri koyunlarda $263,89 \pm 14,066$, iki yaş altı koyunlarda ise $76,44 \pm 21,292$ bulunmuştur ve bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Bulgularımız Önder (2014)’in sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. EPG ortalaması erkeklerde $84,91 \pm 28,465$, dişilerde ise $255,42 \pm 8,822$ hesaplanmış ve bu farklılık istatistiksel açıdan önemli olmuştur ($P < 0.001$). Bu sonuçlar Khajuria vd. (2013) ve Singh vd. (2017)’nin çalışmaları ile benzerlik göstermiştir. Mide bağırsak nematodları ile enfekte koyunlarda gebelik dönemi ve doğum sonrasında dışkı ile atılan yumurta sayısındaki artış (PPR), bu parazitlerin yayılışına, doğrudan veya dolaylı olarak etki etmekte ve böylece hastalığın patojenitesinin artmasına neden olmaktadır. Yaşlı hayvanlar enfeksiyonun yayılmasında ve mera kontaminasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yaşlı hayvanlarda meraya çıkmadan önce, önceden bahar yükselmesi (spring rise) olarak da bilinen başta PPR’nin etkisiyle hipobiyotik larvalar yeniden gelişmeye başlar. Otlatma sezonunun ilerlemesiyle birlikte hayvanlarda mide bağırsak nematodlarına karşı gelişen immunité ve meradan alınan yüksek sayıdaki larvaların antijenik etkisiyle olgun parazitler vücuttan atılması (self-cure) hızlanmaktadır (Courtney vd., 1986). EPG ortalaması Ordu’da $447,93 \pm 28,677$,

Batman'da $312,56 \pm 29,968$, Antalya'da $282,98 \pm 30,555$, Sakarya'da $277,40 \pm 30,849$, Kütahya'da $238,46 \pm 34,267$, Aydın'da $221,30 \pm 30,190$, Balıkesir'de $220,16 \pm 30,690$, Çanakkale'de $210,64 \pm 32,914$, Tekirdağ'da $175,86 \pm 30,078$, Şanlıurfa'da $171,45 \pm 31,540$, Denizli'de $165,06 \pm 30,834$, Rize'de $131,15 \pm 28,232$, Kahramanmaraş'ta $121,83 \pm 32,289$, Afyonkarahisar'da $60,47 \pm 25,740$, Konya'da $59,47 \pm 34,444$, Uşak'ta $54,85 \pm 33,486$, Erzurum'da $41,35 \pm 35,822$, Kars'ta $23,99 \pm 34,159$, Bitlis'te $16,28 \pm 34,538$ olarak hesaplanmıştır. Bu iller içerisinde EPG ortalaması en yüksek il Ordu $447,93 \pm 28,677$, en düşük il ise Bitlis $16,28 \pm 34,538$ olmuştur. İller arasında görülen EPG ortalama farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). *Haemonchus contortus*'un dominant olduğu illerde EPG sayısı daha yüksek, *T. circumcincta*'nın dominant olduğu illerde EPG sayısı daha düşük bulunmuştur. *Trichostrongylus spp.*'nin dominant olduğu Bitlis ve Kars en düşük EPG ortalamasına sahip illerdir ve istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu farklılığın *H. contortus*'un biyotik potansiyelinin daha yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada 154 enfekte keçinin gram dışındaki yumurta sayısı (EPG) ortalama $151,41 \pm 17,462$ olarak belirlenmiştir. EPG ortalaması 2 yaş üzeri keçilerde $171,51 \pm 16,155$, iki yaş altı keçilerde ise $131,32 \pm 23,905$ bulunmuştur. EPG ortalaması 12 enfekte erkek keçi $121,01 \pm 31,645$, 144 dişi keçi $181,82 \pm 10,545$ 'tir ve istatistiksel açıdan farklılık yoktur ($P > 0.05$). Ancak bu noktada cinsiyet bazında çalışmada analiz edilen erkek keçi sayısının dişilere oranla oldukça düşük olması göz ardı edilmemelidir. EPG ortalaması keçilerde Antalya'da $211,69 \pm 20,808$, Konya'da $160,68 \pm 22,923$, Afyonkarahisar'da $117,52 \pm 23,732$, Kars'ta $115,76 \pm 23,929$ bulunmuştur ve iller arasında istatistiksel farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Türkiye'de çiftlik hayvanlarında helmint enfeksiyonları ve antelmentik dirençten kaynaklı yüksek maliyetler olduğu düşünülse de bununla ilgili yapılmış çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Parazit kontrolünün temelini paraziter hastalıkların ve antelmantik direncin doğru teşhisi, oluşturmaktadır. Şöyle ki, enfeksiyon etkeni parazitlerin başarılı ve hassas bir şekilde identifikasyonları, bu hastalıkların erken teşhisi, tedavi ve kontrol stratejilerinin oluşturulmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Geleneksel tanı yöntemlerinin uygulanması uzun zaman alabilmekte, özgüllükleri ve duyarlılıkları da sınırlıdır (Gasser, 2006). Özellikle, miks enfeksiyon durumlarında, dışkı yumurta sayımı (FEC) ve larval kültür gibi teknikler zahmetli ve zaman alıcı olabilmektedir (MAFF, 1986).

DNA teknikleri nükleik asitlerin amplifikasyonu temeline dayanır (Saiki vd., 1988) ve özellikle polimeraz zincir reaksiyonu parazitlerin spesifik tanımlanması için etkilidir ve uygun genetik belirteçler kullanılıyorsa, çok küçük miktarlardaki hedef şablondan enfeksiyonların teşhisine yardımcı olmaktadır. Bu tür yöntemler, parazit epidemiyolojisine ilişkin temel araştırmaları desteklemek ve paraziter hastalıkların kontrolünü iyileştirmek için geleneksel tekniklere göre daha etkili alternatif yöntemlerdir (Gasser, 2006).

Türkiye'nin iklim ve ekolojik faktörler yönünden nematodların konak dışındaki gelişme dönemlerini geçirmesi için çok uygun olması, hayvancılıkta bilinç ve eğitim düzeyinin az olması, takip, kontrol ve mücadele stratejilerinin yetersiz olması mide-bağırsak kılkurdu enfeksiyonlarının prevalansını artırmakta ve bu sebeple verim kayıplarının da yükselmesine neden olmaktadır. Türkiye'de koyunlarda mide-bağırsak kılkurdu enfeksiyonları ile ilgili çalışmalar daha çok dışkı muayenesi ve nekropsi üzerine olmakla birlikte, az sayıda moleküler prevalans ve genotipleme çalışmaları bulunmaktadır (Önder vd., 2016).

Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa koyunlarda trichostrongylid tip üçüncü dönem larvadan (L₃) proteinaz K enzimi kullanılarak DNA elde edilmiştir.

Türkiye'de koyun ve keçilerde sadece *H. contortus* türünün varlığı bildirilmiştir (Umur, 2011). Parazitin yayılışı Trakya' da kıvrıcık koyunlarda %31,5 (Vuruşaner, 1996), Van yöresi koyunlarında %40 (Cengiz ve Değer, 2009), Güney Marmara

Bölgesi koyunlarında %30 (Tınar vd., 2001), Konya yöresi koyunlarında %37,5 (Güçlü vd., 1996), Kırıkkale yöresi koyunlarında %3,6 (Gökpinar ve Yıldız, 2013), olarak bildirilmiştir. Afyonkarahisar ili koyunlarında *Haemonchus spp.* %18 (Sevimli vd., 2006), Şanlıurfa ili kıl keçilerinde %39,79 (Altaş vd., 2009) oranında bildirilmiştir. Çalışmamızda *H. contortus* PZR ile koyunlarda Kahramanmaraş'ta %76,46, Batman'da %82,97, Balıkesir'de %46,80, Ordu'da %59,57, Tekirdağ'da %93,61, Denizli'de %60,63, Uşak'ta %12,76, Aydın'da %80,85, Şanlıurfa'da %95,74, Rize'de %2,12, Erzurum'da %7,44, Antalya'da %100, Kütahya'da %92,55, Sakarya'da %100, Konya'da %5,31 oranında bulunmuştur. Keçilerde ise Afyonkarahisar'da %92,55, Kars'ta %1,06, Antalya'da %77,65 oranında tespit edilmiştir. Keçiler, koyunlardan daha fazla helmint enfeksiyonlarına karşı duyarlı bulunmuştur. Bunun nedeni, koyunların güçlü bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarabildikleri için parazit enfeksiyonuna karşı daha dirençli olmaları olabilir (Watson ve Hosking, 1990). Keçilerin beslenme şekli itibarıyla koyunlara kıyasla daha az parazite maruz kalmaları da konaklarda parazite karşı direnç gelişimini azaltmış olabilir. (Abosse vd., 2022). Türkiye'de bu illerde ilk defa moleküler yöntemler kullanılarak koyun ve keçilerde *H. contortus* teşhis edilmiş ve sekanslanarak parazitin genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Parazit, tropikal ve subtropikal ülkelerde oldukça elverişli sıcak ve nemli koşullarda bulunurken (O'Connor vd., 2006), yıllar içinde iklim değişiklikleri nedeniyle ılıman bölgelerden de yayılış bildirilmiştir (Emery vd., 2016; Rose vd., 2016). Bu çalışmada ülkemizde de *H. contortus*'un ılıman bölgelerde dominant tür olduğu ancak bununla birlikte çoğu bölgede görüldüğü tespit edilmiştir.

Burdur 'da nekropsi yapılan koyunların %80'inde *O. circumcincta*, %38'inde *O. occidentalis*, %22'sinde *O. trifurcata*, %6'sında *T. davtianii*, %2'sinde *O. ostertagia* bulunduğu bildirilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Şanlıurfa yöresindeki koyunlarda *O. marshalli* %32, *O. circumcincta* %26,6, *O. occidentalis* %14,6, *O. trifurcata* %0,4 belirlenmiş, aynı yörenin kıl keçilerinde ise *T. circumcincta* %72,4, *T. trifurcata* %45,7, *T. occidentalis* %14,4 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (Altaş vd., 2009). Van'da koyunlarda gerçekleştirilen bir çalışmada (Cengiz ve Değer, 2009) *T. circumcincta*, *T. occidentalis*, *T. trifurcata* ve *T. davliani*'nin sırasıyla %88, %78,

%30, %10 ve %16 oranlarında yaygın olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda *T. circumcincta* PZR ile koyunlarda Afyonkarahisar'da %81,90, Kahramanmaraş'ta %8,51, Batman'da %4,55, Balıkesir'de %45,74, Kars'ta %1,06, Ordu'da %15,95, Tekirdağ'da %3,19, Denizli'de %29,78, Uşak'ta %62,76, Aydın'da %10,63, Şanlıurfa'da %2,12, Rize'de %73,40, Erzurum'da %89,36, Kütahya'da %4,25, Çanakkale'de %69,14 ve Konya'da %67,02 oranında bulunmuştur. Keçilerde ise Afyonkarahisar'da %6,38, Kars'ta %4,25, Antalya'da %15,95, Konya'da %54,25 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de bu illerde ilk defa moleküler yöntemler kullanılarak *T. circumcincta*'nın teşhisi yapılmış ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu belirlenmiştir. *Teladorsagia circumcincta*, serin ılıman bölgelerdeki koyunların ekonomik açıdan en önemli gastrointestinal nematod parazitlerinden biridir (Venturina vd., 2013). Serbest yaşam evrelerinin ılıman bir iklimin daha düşük sıcaklıklarında gelişme yeteneği ve dördüncü dönem larvanın konakta hipobiyotik durumda kışı geçirme yeteneği, *T. circumcincta*'nın bu kadar yaygın olmasının sebepleri arasındadır (Sargison vd., 2007). Birleşik Krallık'ta 118 çiftlikte yapılan çalışmada %100 oranında *T. circumcincta* bulunmuştur (Burgess vd., 2012). Ülkemizde de *T. circumcincta* daha soğuk ve karasal iklime sahip bölgelerde dominant tür olarak bulunmaktadır ancak bununla birlikte çoğu bölgede görülmektedir.

Ostertagia leptospicularis'in ilk kez Assadov tarafından karacada (*Capreolus capreolus*) tanımlandığı ve bu nedenle öncelikle Cervidae (kırmızı geyik (*Cervus elaphus*), sika geyiği (*C. nippon*), alageyik (*Dama dama*) ve geyik (*Alces alces*)) paraziti olarak kabul edilse de sığır (*Bos taurus*), Avrupa bizonu (*Bison bonasus*), evcil koyun (*Ovis aries*), kunduz (*O. musimon*) ve evcil keçi (*Capra hircus*) de parazitlenebildiği, Ostertagiinae alt familyasının hem geyik hem de sığırlarda bulunan tek üyesi olduğu bildirilmektedir (Wyrobisz-Papiewska vd., 2021). Çalışmamızda *Ostertagia leptospicularis* Çanakkale'de %1,06 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa koyunlarda *Ostertagia leptospicularis*'in bildirimi ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Güneydoğu Asya, Orta Doğu, Afrika, Avrupa ve Avustralya kıtası dahil olmak üzere çeşitli coğrafi ortamlardan çiftlik hayvanlarında trichostrongylosis bildirilmiştir (Ghatee vd., 2020). Türkiye’de Güney Marmara yöresi koyunlarında *T. axei* %32,5, *T. colubriformis* %7,5, *T. vitrinus* %25, *T. capricola* %2,5, *T. longispicularis* %2,5 oranında tespit edilmiştir (Tınar vd., 2001). Trakya'daki kıvırcık koyunlarında *T. axei* %42, *T. vitrinus* %44, *T. colubriformis* %35, *T. capricola* %35 oranında bulunmuştur (Vuruşaner ve Tüzer, 1996). Niğde yöresi koyunlarında *T. vitrinus* %18,8 ve *T. capricola* % 8,8 oranında rastlanmıştır (Akkaya vd., 2004), Konya yöresi koyunlarında *T. probolurus* ve *T. vitrinus* %2,08 oranında tespit edilmiştir (Güçlü vd., 1996). Van yöresi koyunlarında *T. axei* %33, *T. probolurus* %19 (Cengiz ve Değer, 2009), Burdur yöresi koyunlarında *T. axei* %4, *T. vitrinus* %42 ve *T. colubriformis* %6 oranında tespit edilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Çalışmamızda PZR ile koyunlarda Afyonkarahisar’da *T. axei* %1,06, Kahramanmaraş’ta *T. axei* %2,12 ve *T. vitrinus* %1,06, Balıkesir’de *T. vitrinus* %2,12 ve *T. colubriformis* %1,06, Kars’ta *T. axei* %57,44 ve *T. colubriformis* %27,65, Ordu’da *T. colubriformis* %15,95, *T. vitrinus* %6,38 ve *T. axei* %2,12, Tekirdağ’da *T. colubriformis* %3,19, Denizli’de *T. axei* %4,25 ve *T. vitrinus* %2,12, Uşak’ta *T. axei* %10,63 ve *T. vitrinus* %7,63, Aydın’da *T. axei* %2,12 ve *T. colubriformis* %2,12, Şanlıurfa’da *T. colubriformis* %2,12, Bitlis’te %55,31 *T. axei* ve %2,12 *T. vitrinus*, Rize’de *T. vitrinus* %1,06, Erzurum’da *T. axei* %2,12 ve *T. colubriformis* %1,06, Kütahya’da *T. vitrinus* %2,12 ve *T. axei* %1,06, Çanakkale’de *T. vitrinus* %2,12 ve *T. axei* %1,06, Konya’da *T. axei* %5,31 oranında bulunmuştur. Keçilerde ise Afyonkarahisar’da *T. vitrinus* %1,06, Kars’ta *T. axei* %63,82 ve *T. colubriformis* %30,85, Antalya’da *T. colubriformis* %1,06, Konya’da ise *T. axei* %13,82 oranında bulunmuştur. Türkiye’de bu illerde ilk defa koyun ve keçilerde moleküler yöntemler kullanılarak *T. axei*, *T. vitrinus* ve *T. colubriformis* teşhis edilmiş ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Trichostrongylus türleri daha soğuk koşulları tercih eder ve bazı larvalar kışı merada geçirebilmektedirler. Bu parazitler, aşırı soğuk ve sıcak iklimlere orta düzeyde direnç gösterirler (Chaneet ve Dunsmore, 1988). Bu sebepten ülkemizde kışın sert geçtiği bölgelerde de bu parazitin daha yaygın olarak görüldüğü kanaati oluşmuştur.

Çalışma alanlarında PZR sonucunda bulunan *T. circumcincta*, *H. contortus* ve *Trichostrongylus* spp. türleri yüzde olarak Ki-kare testi ile karşılaştırılmış ve iller arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Bu anlamlı dağılımın, iller arasında yıllık ortalama sıcaklık farklı, yıllık ortalama yağış miktarı, rakım gibi çevresel etmenlerin sonucunda olduğu düşünülmektedir. Dünya genelinde yapılan çalışmalar da bu tezi desteklemektedir (Chaneet ve Dunsmore, 1988; O'Connor vd., 2006; Sargison vd., 2007; Venturina vd., 2013).

Ankara'nın kazan mezbahasında kesimi yapılan koyunların %14'ünde, keçilerin %48'inde *C. ovina*'ya rastlandığı bildirilmiştir (Kırcalı, 2004). Bu parazitin yayılışı Şanlıurfa ilindeki kıl keçilerinde %25,3 (Altaş vd., 2009), Burdur ili keçilerinde %8 olarak bildirilmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Güney Marmara bölgesinde kıl keçilerinde %16 (Şenlik vd., 2001), koyunlarda da %28 (Öncel, 2000) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda PZR ile koyunlarda *C. ovina*, Afyonkarahisar'da %14,89, Denizli'de %1,06, Rize'de %23,40, Çanakkale'de %1,06 ve Konya'da %12,76 oranında tespit edilmiştir. Türkiye'de bu illerde ilk defa koyunlarda moleküler yöntemler kullanılarak *C. ovina* teşhis edilmiş ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Yapılan değişik çalışmalarda Oesophagostomiosis etkeni olan türlerden ülkemiz koyun ve keçilerinde genellikle *O. venulosum* görüldüğü bildirilmektedir. Ankara'da gerçekleştirilen bir mezbaha çalışmasında, koyun ve keçilerde sırası ile %8 ve %26 oranlarında *O. venulosum* görüldüğü bildirilmiştir (Kırcalı, 2004). Bu türün Burdur'daki keçi ve koyunlardaki yayılışı ise %10 olarak belirlenmiştir (Umur ve Yukarı, 2005). Güney Marmara bölgesinde yapılan çalışmalarda ise bu parazitin yaygınlığı koyunlarda %14 (Öncel, 2000), kıl keçilerinde %32 (Şenlik vd., 2001) olarak saptanmıştır. Çalışmamızda PZR ile koyunlarda *O. venulosum*, Afyonkarahisar'da %2,12, Kahramanmaraş'ta %13,82, Batman'da %13,82, Balıkesir'de %4,25, Kars'ta %12,76, Denizli'de %1,06, Uşak'ta %6,38, Aydın'da %3,19, Bitlis'te %42,55, Çanakkale'de %25,53 ve Konya'da %9,57 oranında bulunmuştur. Keçilerde ise Antalya'da %5,31, Konya'da %29,75 oranında bulunmuştur. Türkiye'de bu illerde ilk defa koyun ve keçilerde moleküler yöntemler

kullanılarak *O. venulosum* teşhis edilmiş ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Türkiye'de koyun ve keçilerde *Bunostomum trigonocephalum*'un yayılışı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcut olup, bu çalışmalarda prevalansın koyunlarda %3,2-55,8, keçilerde %2,6-20 arasında değiştiği görülmüştür (Merdivenci, 1967; Cantoray vd., 1992; Doğanay ve Öge, 1997; Öncel 2000). Merdivenci (1967), Türkiye'de 1953-1958 yıllarında koyun ve keçiler üzerinde yapılan nekropsi sonucunda *Bunostomum spp.*'nin yayılışını koyunlarda %3,2, keçilerde %2,6 olarak saptamıştır. Bandırma'da koyunlarda parazite %16,6 oranında rastlandığını bildirmiştir (Vural vd., 1975). Samsun yöresinde kuzularda yapılan bir çalışmada *B. trigonocephalum*'un yayılışı %40,1-55,8 (Celep, 1987), aynı bölgede yapılan başka bir çalışmada ise koyunlarda %44,8 olarak tespit edilmiştir (Zeybek, 1980). Ankara mezbahasında kesilen koyunların %20'sinde *B. trigonocephalum*'a rastlandığı bildirilmiştir (Güralp, 1981). Trakya'da kıvırcık koyunlarında *B. trigonocephalum*'a %1 oranında rastlanmıştır (Vuruşaner ve Tüzer, 1996). Kars yöresi koyunlarında mide bağırsak nematodları ile ilgili yapılan bir çalışmada bu nematoda rastlandığı bildirilmiş ve parazitin mevsimsel aktivitesinin düzensiz olduğu kaydedilmiştir. Aynı bölgede 40 gebe koyun üzerinde yürütülen bir çalışmada dışkı kültürü sonuçlarına göre *Bunostomum spp.*'nin yayılışı %6 olarak belirlenmiştir (Gıcık vd., 2002). Güney Marmara bölgesindeki koyunlarda helmint türlerinin yayılışı ile ilgili yapılan bir araştırmada *B. trigonocephalum*'un prevalansı %14 olarak tespit edilmiştir (Öncel, 2000). Çalışmamızda *Bunostomum trigonocephalum* Kars'ta %1,06 oranında tespit edilmiştir, araştırma yapılan diğer illerde parazite rastlanmamıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa moleküler yöntemler kullanılarak *B. trigonocephalum* teşhis edilmiş ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Konya yöresi koyunlarında *O. marshalli* %68,77 (Güçlü vd., 1996), Şanlıurfa yöresi koyunlarında %32 (Altaş vd., 2006), Burdur yöresi koyunlarında %64 (Umur ve Yukarı, 2005), Trakya Bölgesi'nde koyunlarda %7 (Vuruşaner ve Tüzer, 1996) oranında bulunmuştur. Çalışmamızda *Marshallagia marshalli* Denizli'de %1,06 oranında tespit edilmiştir, diğer illerde bu türe rastlanmamıştır. Bu çalışma ile

Türkiye’de ilk defa moleküler yöntemler kullanılarak *M. marshalli* teşhis edilmiş ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Keçilerde üzerinde Konya yöresinde yapılmış bir çalışmada %20,5 oranında *C. oncophora* saptandığı bildirilmiştir (Cantoray vd., 1992). Trakya’da yapılan bir çalışmada ise koyunların %3 ’ünün *C. oncophora*, %2 ’sinin de *C. memasteri* ile enfekte oldukları ortaya konmuştur (Vuruşaner ve Tüzer, 1996). Etkenler konak duyarlılığı, iklim faktörleri, enfektif larvaların merada canlı kalma süreleri gibi birçok faktöre bağlı olarak değişik yayılım oranlarıyla dünyanın birçok bölgesinde görülebilmektedir. Çalışmamızda *Cooperia curticei* Konya’da %1,06 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye’de ilk defa keçilerde *C. curticei*’nin bildirimi ve sekanslanarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır.

Gastrointestinal nematodların kontrolü büyük ölçüde üç ana kimyasal grubu temsil eden antelmintiklerin kullanımına dayanır: benzimidazoller (BZ), makrosiklik laktonlar (ML) ve imidazotiazoller/tetrahidropirimidinler (LV) (Besier ve Love, 2003; Hoste ve Torres-Acosta, 2011). Alternatif bir ilaç sınıfından (amino-asetonitril türevleri, AAD’ler) yeni bir bileşik olan monepantel’in geliştirilmesiyle yakın zamanda bir ilerleme kaydedilmiş olsa da (Kaminsky vd., 2008), son on yılda yeni antelmintiklerin keşfindeki başarı son derece sınırlı olmuştur (Kaplan, 2004). Bu ilaçların aşırı ve sık kullanımı, yaygın bir sorun olarak parazitlerde antelmintik direnç gelişimine yol açmıştır (Taylor vd., 2009). Böylece antelmintik direnç; en çok küçük ruminantların nematodlarında belirgin, küresel çapta büyük bir biyonomik ve ekonomik sorun haline gelmiştir (von Samson-Himmelstjerna, 2006). Bu nedenle, çiftlik hayvanlarında trichostrongylid nematod popülasyonlarının antelmintik direnç durumunun izlenmesi öncelikli ve sürdürülebilir parazit kontrolünün ayrılmaz bir parçası olmalıdır.

Direnç mutasyonlarının parazitik nematod popülasyonlarında nasıl ortaya çıktığı ve yayıldığı konusundaki sınırlı bilgi, kanıta dayalı azaltma stratejilerinin geliştirilmesini de sınırlandırmaktadır. Antihelmintik direnç mutasyonlarının parazit popülasyonlarında sıklığı arttıkça genomda meydana gelen değişiklikler hakkında

çok az bilgi vardır, buna seçilimin genetik imzası denir. Yeni antelmintik direnç mutasyonlarını tanımlamak için genom çapında popülasyon genomik yaklaşımları uygulanacaksa, bu tür bilgiler çok önemlidir. Koyunlarda *H. contortus* ve *T. circumcincta*, antelmintik direncin yaygın olduğu iki parazitik nematodudur. Bu parazitlerde, kontrollerinde kullanılan tüm geniş spektrumlu antelmintik sınıflara karşı direnç oluşmuştur (Sangster, 1999).

Ruminant ve tektırnaklıların strongylid nematodlarında antelmentik direnç düzeylerini tespit etmek için dışkı yumurta sayısı azaltma testi (FECRT) ve yumurtadan çıkma ve larva gelişimi deneyleri gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır (Coles vd., 1992). Antelmentik direnç tespitindeki gelişmeler, yumurtadan çıkma testi (von Samson-Himmelstjerna vd., 2009) ve bir larva göçü engelleme testi (Demeler vd., 2010) için standart bir protokolün uygulanmasına odaklanmıştır. Bununla birlikte, bu yöntemlerin birçoğunun yürütülmesi oldukça zaman alıcıdır ve test sonuçlarının güvenilirliği, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği oldukça zayıftır (Taylor vd., 2002). Bu nedenle antelmentik direnç tespitinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Parazit popülasyonlarında gereksiz ve uzun süreli aynı etken maddeyle tedavi sonrasında önce homozigot duyarlı halden, heterozigot duyarlı hale ve sonrasında da homozigot dirençli hale geçiş olmaktadır. Hindistan'da, BZ'ye dirençli alel (r) prevalansı %87, BZ duyarlı alel (S)'in %13'üne kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Tiwari vd., 2007). Hindistan'da başka bir çalışmada 673 *H. contortus* larvasından 539'u (%80) homozigot dirençli (rr), ve kalan 134'ü (%20) heterozigot duyarlı (Sr) olarak bulunmuştur (Mohanraj vd., 2017). Yunanistan'da incelenen 40 olgun *H. contortus*'un hepsi homozigot dirençli bulunmuştur (Gallidis vd., 2012). İran'da 45 erkek *T. circumcincta* üzerinde yapılan çalışmada genotiplerin sıklığı %33,33 heterozigot BZ ve %66,67 BZ homozigot duyarlı bulunurken, homozigot dirençli parazit tespit edilmemiştir (Nemati vd., 2019). Tayland'da *H. contortus* üzerinde yapılan çalışmada genel genotip frekansları, homozigot dirençli (RR: %24), heterozigot (SR: %44,6) ve homozigot duyarlı (SS: %31,4) olarak bulunmuştur (Pitaksakulrat vd., 2021). Benzer şekilde bu çalışmada da *T. circumcincta*

popölasyonlarında benzimidazol direncini tespit etmek için allel-spesifik PZR ile Konya, Rize, Uşak, Afyonkarahisar, Çanakkale, Erzurum'dan 30'ar larva seçilmiştir. Konya'da 30'u (%100) homozigot duyarlı (SS), Rize'de 27'si (%90) homozigot duyarlı (SS), 3'ü (%10) ise heterozigot duyarlı (Sr), Uşak'ta 28'i (%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,66) heterozigot duyarlı (Sr) Afyonkarahisar'da 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 3'u (%10) heterozigot duyarlı (Sr), 1'i (%3,33) ise homozigot dirençli (rr), Çanakkale'de 30'u (%100) homozigot duyarlı (SS), Erzurum'da 28'i (%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6.66) ise heterozigot duyarlı (Sr) bulunmuştur. *Haemonchus contortus* popölasyonlarında benzimidazol direncini tespit etmek için allel-spesifik PZR ile albendazolle tedavi sonrası 14.günde Afyonkarahisar, Batman, Sakarya, Batman'da 27'u (%90) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6,6) heterozigot duyarlı (Sr) ve 1'i (%3,33) homozigot dirençli (rr), Sakarya'da 16'i (%53,33) homozigot duyarlı (SS), 12'si (%40) heterozigot duyarlı (Sr) ve 2'si (%6.6) homozigot dirençli (rr), Afyonkarahisar'da 26'sı (%86,66) heterozigot duyarlı (Sr) ve 4'ü (%13,33) homozigot duyarlı (SS), Antalya'da 28'i (%93,33) homozigot duyarlı (SS), 2'si (%6.66) heterozigot duyarlı (Sr), Tekirdağ'da 26'sı (%86,66) heterozigot duyarlı (Sr), 4'ü (%13,33) ise homozigot duyarlı (SS), Şanlıurfa'da 15'i (%50) heterozigot duyarlı (Sr), 15'i (%50) ise homozigot duyarlı (SS), Aydın'da 30'u (%100) heterozigot duyarlı (Sr), Ordu'da 28'i (%93,33) heterozigot duyarlı, 2'si (%6,66) homozigot duyarlı, Balıkesir'de 25'i (%83,33) homozigot duyarlı (SS), 5'i (%16,66) heterozigot duyarlı (Sr), Afyonkarahisar'da keçilerde 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 4'u (%13,33) heterozigot duyarlı (Sr), Antalya'da keçilerde 26'sı (%86,66) homozigot duyarlı (SS), 4'u (%13,33) heterozigot duyarlı (Sr) olan larvalar tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa *H. contortus* ve *T. circumcincta* popölasyonları üzerinde allel-spesifik PZR ile benzimidazol direnci ortaya konmuştur.

Mikrosatellitler, genomda yüksek prevalans ve rastgele dağılan ve genellikle oldukça polimorfik olan ve seçici olarak nötr oldukları bilinen kısa tekrarlayan dizilerdir. Bir mikrosatellit, uzunluğu bir ila altı veya en fazla on nükleotit arasında değişen, art arda tekrarlanan (yani bitişik) DNA motiflerinin bir yoludur ve tipik olarak 5-50 kez tekrarlanır. Mikrosatellit analizleri özellikle Avustralya, bazı Avrupa ülkeleri

(Fransa, Hollanda, İsveç ve Birleşik Krallık) ve daha yakın zamanda Hindistan ve Çin'deki *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonlarına uygulanmış olsa da, Türkiye'de böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; popülasyon genetiği çalışması amacıyla; Afyonkarahisar, Çanakkale, Erzurum, Konya, Rize ve Ordu'dan 32'şer adet üçüncü dönem (L₃) *T. circumcincta* larvası seçilmiş ve Mtg15, Mtg68, Tc13604, Tc7989, Tc2066 microsatellite primerleri kullanılmıştır. Antalya, Tekirdağ, Şanlıurfa, Aydın ve Sakarya şehirlerinden 32'şer adet üçüncü dönem (L₃) *H. contortus* larvası seçilmiş ve Hc22193, Hc2884, Hc3086, Hc53265, Hc22c03 microsatellite primerleri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, Türkiye'de *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonlarında, yüksek popülasyon içi varyasyon, düşük popülasyon genetik farklılaşması ve yüksek gen akışı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Çin'de (Yin vd., 2016) 7 farklı bölgede *H. contortus* popülasyonları üzerinde yapılan çalışmadakine benzerlik göstermiştir. Pakistan'da farklı popülasyonlar üzerinde mikrosatellit analizi sonucu, genetik çeşitlilikte önemli bir fark olmaksızın parazit popülasyonları arasında çok az genetik farklılaşma olduğunu bildirilmiştir (Chaudhry vd., 2016). Birleşik Krallık'ta yapılan çalışmada mikrosatellite primerleri ile popülasyon genetik analizi sonucunda, *T. circumcincta*'nın *H. contortus*'tan daha yüksek genetik çeşitliliğe ancak çiftlikler arasında daha düşük genetik farklılaşmaya sahip olduğu ortaya konmuş, bunun *H. contortus*'un mevsimsel değişikliklerden daha çok etkilenmesi sebebi ile olduğu bildirilmiştir (Redman vd., 2015). Bangladeş'te yapılan çalışmada ise farklı *H. contortus* popülasyonları arasında çok düşük genetik farklılaşma ancak yüksek gen akışı gözlenmiştir (Rani-Dey vd., 2019). Çin'in kuzeyinde 6 çiftlikte bulunan *H. contortus* popülasyonları üzerinde yapılan mikrosatellit analizi sonucunda da benzer bulgular elde edilmiştir (Khan vd., 2019).

Meradaki popülasyon (yumurta ve larva) düzeyi genellikle konaktaki olgun parazit popülasyonundan çok daha yüksektir. Bu durum, yüksek genetik değişkenliğin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Özellikle küçük ruminantlar içerisinde yoğun olarak görülen konak hareketliliği, nematod alt popülasyonlarında gen akışının sağlanması ve hızlanmasında başlıca faktör olarak açıklanmaktadır. Bu açıdan yakın coğrafik alanlarda *Haemonchus* ve *Teladorsagia* popülasyonlarının genetik yapısı

düşük düzeyde genetik farklılık gösterirken, bu farklılığın global olarak oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de küçük ruminantların ortak meralarda otlamaları, ülke içerisinde Kurban Bayramı, hayvan alım satımları gibi sebeplerle sıklıkla yer değiştirmeleri nedeniyle popülasyonlar arasında düşük genetik farklılaşma ancak yüksek gen akışı gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez *H. contortus* ve *T. circumcincta* popülasyonları üzerinde mikrosatellit markerleri kullanılarak popülasyon genetiği analizi yapılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile Türkiye’de bazı parazitlerin varlığı ilk defa ortaya konurken, parazitlerde ivermektin ve albendazole duyarlılığın azaldığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra çalışmaya dahil edilen illerde moleküler yöntemler kullanılarak ilk defa benzimidazol direnci tespit edilmiştir. Bu sebeple veteriner hekim ve yetiştiricilerin antelmantik direnç konusunda farkındalığının artırılması gerektiği kanaatine varılmıştır. Antelmantiklere karşı parazitlerde direnç gelişiminin önlenmesi için yeni tedavi protokollerinin uygulanması, gereksiz, sık ve arka arkaya aynı grup ilaç kullanımından kaçınılması gerekmektedir. Parazitlerin yayılışının engellenmesi maksadıyla da hayvan nakilleri öncesi parazitolojik muayenelerin de yapılarak, gerekli hallerde antiparaziter tedavilerin yapılması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott, K. A., Taylor, M. A., Stubbings, L. A. (2012). SCOPS–Sustainable Worm Control Strategies for Sheep 4th Edition: A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisers. Context Publishing.
- Abosse, J. S., Terefe, G., Teshale, B. M. (2022). Comparative study on pathological changes in sheep and goats experimentally infected with *Haemonchus Contortus*. *Surg. Exp. Pathol.*, 5(1), 1-12.
- Ağaoğlu, Ö. K., Ertuğrul, O. (2010). Mikrosatellitlerin Önemi ve Kullanım Alanları. *Vet Hekim Der Derg*, 81(1), 39-43.
- Akçapınar H., Ünal N., Atasoy F., Özbeyaz C., Aytaç M. (2002). Karayaka ve Bafra (Sakız x Karakaya \$G_1\$) koyunlarının Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü şartlarına uyum kabiliyeti. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 42(1), 11-24.
- Akhtar, M. S., Iqbal, Z., Khan, M. N., Lateef, M. (2000). Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo–Pakistan subcontinent. *Small Rumin. Res.* 38(2), 99-107.
- Akkaya H, Türkmen H, Vuruşaner C. The species of Abomsum and Small Intestine Nematodes in Slaughtered Sheep in Nigde Province in Turkey, XII. Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants, Proceeding book, 2004, Istanbul Turkey.
- Altaş, M. G., Sevgili, M., Gökçen, A., Aksin, N., Bayburs, H. C. (2009). The prevalence of gastrointestinal nematodes in hair goats of the Sanliurfa region. *Türkiye Parazit Derg*, 33(1), 20-24.
- Altaş, M., Sevgili, M., Gökçen, A., & Bayburs, H. C. (2006). Şanlıurfa yöresindeki koyunlarda sindirim sistemi nematodlarının yaygınlığı. *Türkiye Parazit Derg*, 30, 317-321.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215(3), 403-410.
- Anderson, R. C. (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. Cabi.

- Andrews, A.H. Bovine Medicine Disease, husbandry of cattle, Blackwell, London, UK, 2004.
- Ardelli, B. F., Stitt, L. E., Tompkins, J. B., Prichard, R. K. (2009). A comparison of the effects of ivermectin and moxidectin on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Vet. Parasitol.*, 165(1), 96-108.
- Arena, J. P., Liu, K. K., Paress, P. S., Frazier, E. G., Cully, D. F., Mrozik, H., Schaeffer, J. M. (1995). The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *J. Parasitol.*, 286-294.
- Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R. L. (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins to wards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.*, 99(3), 205-219.
- Ballweber, L. R., Beugnet, F., Marchiondo, A. A., Payne, P. A. (2014). American Association of Veterinary Parasitologists' review of veterinary fecal flotation methods and factors influencing their accuracy and use—Is there really one best technique?. *Vet. Parasitol.*, 204(1-2), 73-80.
- Barnes, E. H., Dobson, R. J., Barger, I. A. (1995). Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. *Parasitol. Today*, 11(2), 56-63.
- Barnes, E. H., Dobson, R. J., Stein, P. A., Le Jambre, L. F., & Lenane, I. J. (2001). Selection of different genotype larvae and adult worms for anthelmintic resistance by persistent and short-acting avermectin/milbemycins. *Int. J. Parasitol.*, 31(7), 720-727.
- Barrère V, Keller K, von Samson-Himmelstjerna G, Prichard RK. (2013). Efficiency of a genetic test to detect benzimidazole resistant *Haemonchus contortus* nematodes in sheep farms in Quebec, Canada. *Parasitol Int.* 62: 464-470.
- Beech, R. N., Skuce, P., Bartley, D. J., Martin, R. J., Prichard, R. K., Gilleard, J. S. (2011). Anthelmintic resistance: markers for resistance, or susceptibility? *Parasitology*, 138(2), 160-174.
- Besier, B. (2009). A novel anthelmintic group: welcome relief for sheep farmers. *N Z Vet J.*, 57(1), 1-2.
- Besier, R. B., Love, S. C. J. (2003). Anthelmintic resistance in sheep nematodes in Australia: the need for new approaches. *Aust. J. Exp. Agric.*, 43(12), 1383-1391.
- Bisset, S. A., Brunsdon, R. V., Forbes, S. (1990). Efficacy of a topical formulation of ivermectin against naturally acquired gastro-intestinal nematodes in weaner cattle. *N Z Vet J.*, 38(1), 4-6.
- Bisset, S. A., Knight, J. S., Bouchet, C. L. G. (2014). A multiplex PCR-based method to identify strongylid parasite larvae recovered from ovine faecal cultures and/or pasture samples. *Vet. Parasitol.*, 200(1-2), 117-127.
- Bisset, S. A., Morris, C. A., McEwan, J. C., Vlassof, A. (2001). Breeding sheep in New Zealand that are less reliant on anthelmintics to maintain health and productivity. *N Z Vet J.*, 49(6), 236-246.
- Blackhall, W. J., Pouliot, J. F., Prichard, R. K., Beech, R. N. (1998). *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin-and moxidectin-selected strains. *Exp. Parasitol.*, 90(1), 42-48.

- Blackhall, W. J., Prichard, R. K., Beech, R. N. (2003). Selection at a γ -aminobutyric acid receptor gene in *Haemonchus contortus* resistant to avermectins/milbemycins. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 131(2), 137-145.
- Blake, N., Coles, G. (2007). Flock cull due to anthelmintic-resistant nematodes. *Vet. Rec.*, 161(1), 36-36.
- Blanchard, A., Guégnard, F., Charvet, C. L., Crisford, A., Courtot, E., Sauvé, C., Neveu, C. (2018). Deciphering the molecular determinants of cholinergic anthelmintic sensitivity in nematodes: When novel functional validation approaches highlight major differences between the model *Caenorhabditis elegans* and parasitic species. *PLoS Pathogens*, 14(5), e1006996.
- Boa, M. E., Thamsborg, S. M., Kassuku, A. A., Bøgh, H. O. (2001). Comparison of worm control strategies in grazing sheep in Denmark. *Acta Vet. Scand.*, 42(1), 57.
- Boulin, T., Gielen, M., Richmond, J. E., Williams, D. C., Paoletti, P., Bessereau, J. L. (2008). Eight genes are required for functional reconstitution of the *Caenorhabditis elegans* levamisole-sensitive acetylcholine receptor. *PNAS*, 105(47), 18590-18595.
- Brom, R., Moll, L., Kappert, C., Vellema, P. (2015). *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Vet. Parasitol.*, 209(3), 278-280.
- Burgess, C. G., Bartley, Y., Redman, E., Skuce, P. J., Nath, M., Whitelaw, F., Jackson, F. (2012). A survey of the trichostrongylid nematode species present on UK sheep farms and associated anthelmintic control practices. *Vet. Parasitol.*, 189(2-4), 299-307.
- Burke, J. M., Miller, J. E., Olcott, D. D., Olcott, B. M., Terrill, T. H. (2004). Effect of copper oxide wire particles dosage and feed supplement level on *Haemonchus contortus* infection in lambs. *Vet. Parasitol.*, 123(3), 235-243.
- Campigotto, G., Gebert, R. R., Santos, D. S., Dos Reis, J. H., Alba, D. F., Cazarotto, C. J., Da Silva, A. S. (2019). Effects of oral administration of copper capsules on helminth control in lactating dairy sheep: an effective alternative to replace conventional antiparasitics during lactation. *Exp Parasitol.*, 205, 107735.
- Cantoray, R., Aytekin, H., Güçlü, F.: Recherches helminthologiques chez des chèvres dans la region Konya. *Veterinarium*, 1992; 3: 27-30.
- Caviston, J. P., Holzbaur, E. L. (2006). Microtubule motors at the intersection of traffic king and transport. *Trends Cell Biol.*, 16(10), 530-537.
- Celep, A. (1987). Samsun yöresinde kuzu ve toklularda paraziter fauna tespiti ile kontrol ve tedavi gruplarında aylık ortalama ağırlık artışıların belirlenmesine dair araştırmalar. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 57: 69-79.
- Cengiz, Z.T., Değer M.S. (2009). Van yöresinde koyunlarda Trichostrongyloidosis, *Türkiye Parazit Derg*, 33(3), 222-226.
- Charlier, J., Rinaldi, L., Musella, V., Ploeger, H. W., Chartier, C., Vineer, H. R., Claerebout, E. (2020). Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. *Prev. Vet. Med.*, 182, 105103.
- Chaudhry, U., Redman, E. M., Ashraf, K., Shabbir, M. Z., Rashid, M. I., Ashraf, S., Gilleard, J. S. (2016). Microsatellite marker analysis of *Haemonchus contortus* populations from Pakistan suggests that frequent benzimidazole drug treatment does not result in a reduction of overall genetic diversity. *Parasit Vectors*, 9(1), 1-11.

- Christie, M., Jackson, F. (1982). Specific identification of strongyleeggs in small samples of sheep faeces. *Res. Vet. Sci.*, 32(1), 113-117.
- Cintra, M. C. R., Teixeira, V. N., Nascimento, L. V., Sotomaior, C. S. (2016). Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 216, 4-6.
- Claerebout, E., De Wilde, N., Van Mael, E., Casaert, S., Velde, F. V., Roeber, F., Geldhof, P. (2020). Anthelmintic resistance and common worm control practices in sheep farms in Flanders, Belgium. *Vet. Parasitol.: Reg. Stud. Rep.*, 20, 100393.
- Coles, G. C. (2005). Anthelmintic resistance—looking to the future: a UK perspective. *Res. Vet. Sci.*, 78(2), 99-108.
- Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., Waller, P. J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, 44(1-2), 35-44.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A., Vercruysse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, 136(3), 167-185.
- Coles, G. C., Watson, C. L., Anziani, O. S. (2001). Ivermectin-resistant *Cooperia* in cattle. *Vet. Rec.*, 148(9), 283.
- Cook, A., Aptel, N., Portillo, V., Siney, E., Sihota, R., Holden-Dye, L., Wolstenholme, A. (2006). *Caenorhabditis elegans* ivermectin receptors regulate locomotor behaviour and are functional orthologues of *Haemonchus contortus* receptors. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 147(1), 118-125.
- Coop, R. L., Kyriazakis, I. (2001). Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol.*, 17(7), 325-330.
- Courtney, C. H., Gessner, R., Sholz, S. R., Loggins, P. E. (1986). The periparturient rise in fecal egg counts in three strains of Florida Native ewes and its value in predicting resistance of lambs to *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 16(3), 185-189.
- Craig, T. M. (2009). Helminth parasites of the ruminant gastrointestinal tract. In *Food animal practice* (pp. 78-91). WB Saunders.
- Culetto, E., Baylis, H. A., Richmond, J. E., Jones, A. K., Fleming, J. T., Squire, M. D., Lewis, J., Sattelle, D. B. (2004). The *Caenorhabditis elegans* unc-63 gene encodes a levamisole-sensitive nicotinic acetylcholine receptor α subunit. *J. Biol. Chem.*, 279(41), 42476-42483.
- Çırak, V. Y., Güleğen, E., Bauer, C. (2004). Benzimidazole resistance in cyathostomin populations on horse farms in western Anatolia, Turkey. *Parasitol. Res.*, 93(5), 392-395.
- Çırak, V. Y., Kar, S., Girişgin, O. (2010). İvermektin ve pirantele karşı at Strongylidae'lerinde antelmintik direnç araştırılması ve *Parascaris equorum*'da makrosiklik lakton direnci. *Türkiye Parasitol Derg.*, 34, 35-39.
- De Chaneet, G. C., & Dunsmore, J. D. (1988). Climate and the distribution of intestinal *Trichostrongylus* spp. of sheep. *Vet. Parasitol.*, 26(3-4), 273-283.

- De Graef, J. (2013). Detection and mechanisms of macrocyclic lactone resistance in the bovine nematode *Cooperia oncophora*. Ghent University.
- De Graef, J., Claerebout, E., Geldhof, P. (2013). Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr*, 82(3), 113-123.
- De Lourdes Mottier, M., Prichard, R. K. (2008). Genetic analysis of a relationship between macrocyclic lactone and benzimidazole anthelmintic selection on *Haemonchus contortus*. *Pharmacogenomics*, 18(2), 129-140.
- Delano, M. L., Mischler, S. A., Underwood, W. J. (2002). Biology and diseases of ruminants: sheep, goats, and cattle. *Lab. Anim. Sci.*, 519.
- Demeler, J., Krücken, J., AlGusbi, S., Ramünke, S., De Graef, J., Kerboeuf, D., Pomroy, W.E., Samson-Himmelstjerna, G. (2013). Potential contribution of P-glycoproteins to macrocyclic lactone resistance in the cattle parasitic nematode *Cooperia oncophora*. *Mol. Biochem. Parasitol*, 188(1), 10-19.
- Demeler, J., Küttler, U., von Samson-Himmelstjerna, G. (2010). Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastrointestinal nematodes of cattle. *Vet. Parasitol.*, 170(1), 61-70.
- Dent, J. A., Smith, M. M., Vassilatis, D. K., Avery, L. (2000). The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*. *PNAS*, 97(6), 2674-2679.
- Dey, A. R., Zhang, Z., Begum, N., Alim, M. A., Hu, M., Alam, M. Z. (2019). Genetic diversity patterns of *Haemonchus contortus* isolated from sheep and goats in Bangladesh. *Infect. Genet. Evol.*, 68, 177-184.
- Dicker, A. J., 2010, Comparative gene expression studies of anthelmintic resistance in the parasitic nematode, *Teladorsagia circumcincta*, University of Glasgow PhD thesis, Glasgow.
- Dicker, A. J., Nisbet, A. J., Skuce, P. J. (2011). Gene expression changes in a P-glycoprotein (Tci-pgp-9) putatively associated with ivermectin resistance in *Teladorsagia circumcincta*. *Int. J. Parasitol.*, 41(9), 935-942.
- Dobson, R. J., Donald, A. D., Waller, P. J., Snowdon, K. L. (1986). An egg-hatch assay for resistance to levamisole in trichostrongyloid nematode parasites. *Vet. Parasitol.*, 19(1-2), 77-84.
- Doğanay, A., Öge, S. (1997). Check list of the helminths of sheep and goats in Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 3: 97-114
- Duan, Y.B., Ge, C.Y., Zhang, X.K., Wang, J.X., Zhou, M.G. Development and evaluation of a novel and rapid detection assay for *Botrytis cinerea* based on loop-mediated isothermal amplification. (2014). *PLoS One*. DOI: 10.1371/journal.pone.0111094
- Elard, L., Cabaret, J., Humbert, J. F. (1999). PCR diagnosis of benzimidazole-susceptibility or-resistance in natural populations of the small ruminant parasite, *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.*, 80(3), 231-237.
- Emery, D. L., Hunt, P. W., Le Jambre, L. F. (2016). *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here?. *Int. J. Parasitol.*, 46(12), 755-769.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.*, 1, 117693430500100003.

- Fauvin, A., Charvet, C., Issouf, M., Cortet, J., Cabaret, J., Neveu, C. (2010). cDNA-AFLP analysis in levamisole-resistant *Haemonchus contortus* reveals alternative splicing in a nicotinic acetylcholine receptor subunit. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 170(2), 105-107.
- Fleming, J. T., Squire, M. D., Barnes, T. M., Tornoe, C., Matsuda, K., Ahnn, J., Sattelle D.B., Lewis, J. A. (1997). *Caenorhabditis elegans* Levamisole Resistance Geneslev-1, unc-29, and unc-38 Encode Functional Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunits. *J. Neurosci. Res.*, 17(15), 5843-5857.
- Fleming, S. A., Craig, T., Kaplan, R. M., Miller, J. E., Navarre, C., Rings, M. (2006). Anthelmintic resistance of gastrointestinal parasites in small ruminants. *J. Vet. Intern. Med.*, 20(2), 435-444.
- Folz, S. D., Pax, R. A., Thomas, E. M., Bennett, J. L., Lee, B. L., Conder, G. A. (1987). Detecting in vitro anthelmintic effects with a micromotility meter. *Vet.Parasitol.*, 24(3-4), 241-250.
- Fox, M.T. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: Recent developments. *Vet. Parasitol.* 72:285-308.
- Gallidis, E., Angelopoulou, K., Papadopoulos, E. (2012). First identification of benzimidazole resistant *Haemonchus contortus* in sheep in Greece. *Small Rumin. Res.*, 106(1), 27-29.
- Gasbarre, L. C., Miller, J. E. (1999). Genetics of helminth resistance. In *Breeding for disease resistance in farm animals*. CABI Publishing.
- Gasser, R. B. (2006). Molecular tools—advances, opportunities and prospects. *Vet. Parasitol.*, 136(2), 69-89.
- Geary, T. G. (2005). Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. *Trends Parasitol.*, 21(11), 530-532.
- Ghatee, M. A., Malek Hosseini, S. A. A., Marashifard, M., Karamian, M., Taylor, W. R., Jamshidi, A., Azarmehr, H. (2020). Phylogenetic analysis of *Trichostrongylus vitrinus* isolates from southwest Iran. *Parasit Vectors*, 13(1), 1-10.
- Ghisi, M., Kaminsky, R., Mäser, P. (2007). Phenotyping and genotyping of *Haemonchus contortus* isolates reveals a new putative candidate mutation for benzimidazole resistance in nematodes. *Vet. Parasitol.*, 144(3), 313-320.
- Gıcık, Y., Arslan, M. Ö., Sarı, B., Umur, Ş. (2002). Efficacy Of Doramectin Against Gastrointestinal Nematodes And Lungworms In Naturally Infected Pregnant Sheep. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 26(4), 793-797.
- Gill, J. H., Redwin, J. M., Van Wyk, J. A., Lacey, E. (1995). Avermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus* effects of ivermectin resistance. *Int. J. Parasitol.*, 25(4), 463-470.
- Gilleard, J. S. (2006). Understanding anthelmintic resistance: the need for genomics and genetics. *Int. J. Parasitol.*, 36(12), 1227-1239.
- Gilleard, J. S., Beech, R. N. (2007). Population genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. *Parasitology*, 134(8), 1133-1147.
- Glaubitz, J. C. (2004). Convert: a user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol Ecol Notes*, 4(2), 309-310.

- Gökpınar S, Yıldız K. (2013). Koyun abomasumlarında Teladorsagiosis, *Ankara Univ Vet Fak Derg.*, 60, 75-78.
- Grillo, V., Jackson, F., Gilleard, J. S. (2006). Characterisation of *Teladorsagia circumcincta* microsatellites and their development as population genetic markers. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 148(2), 181-189.
- Güçlü F, Dik B, Kamburgil K, Sevinç F, Aytekin H, Aydenizöz M, 1996. Konya Yöresi Koyunlarında Mide Bağırsak Nematodlarının Yayılışı ve Mevsimsel Dağılımları. *Veterinarium*, 7(1-2): 50-55.
- Güralp N. Helmintoloji 2. Baskı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Yayın No. 368 Ankara Üniv Basımevi Ankara, 426. 1981.
- Hahnel, S. R., Zdravljec, S., Rodriguez, B. C., Zhao, Y., McGrath, P. T., Andersen, E. C. (2018). Extreme allelic heterogeneity at a *Caenorhabditis elegans* beta-tubulin locus explains natural resistance to benzimidazoles. *PLoS pathogens*, 14(10), e1007226.
- Hodgkinson, J. E., Clark, H. J., Kaplan, R. M., Lake, S. L., Matthews, J. B. (2008). The role of polymorphisms at β tubulinisotype 1 codons 167 and 200 in benzimidazole resistance in cyathostomins. *Int. J. Parasitol.*, 38(10), 1149-1160.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J. F. J. (2011). Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. *Vet. Parasitol*, 180(1-2), 144-154.
- Humbert, J. F., Elard, L. (1997). A simple PCR method for rapidly detecting defined point mutations. *Tech. Tips Online*, 2(1), 48-49.
- Hungerford, T. G. (1990). *Diseases of livestock* (No. Ninth Edition). Magraw-Hill Book Company (UK) Ltd.
- Hunt, K. R., Taylor, M. A. (1989). Use of the egg hatch assay on sheep faecal samples for the detection of benzimidazole resistant nematodes. *Vet. Rec*, 125(7), 153-154.
- Internet Kaynak No:1. Tigem Hayvancılık Sektör Raporu. 2019. <https://www.yozgattb.org.tr/dosyalar/MTYwMDk3NmExZDI0NDY.pdf> Erişim Tarihi: 20.09.2022.
- Internet Kaynak No:2, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Animal-Production-Statistics-June-202033874#:~:text=Haziran%20ay%C4%B1%20sonu%20itibariyle%20k%C3%BC%C3%A7%C3%BCKba%C5%9F,351%20bin%20ba%C5%9F%20olarak%20ger%C3%A7ekle%C5%9Fti.,> 20.08.2020
- Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M. N., Afaq, M. (2006). Anthelmintic resistance: the state of play revisited. *Life Sci.*, 79(26), 2413-2431.
- James, C. E., Davey, M. W. (2009). Increased expression of ABC transport proteins is associated with ivermectin resistance in the model nematode *Caenorhabditis elegans*. *Int. J. Parasitol.*, 39(2), 213-220.
- Kabagambe, E. K., Barras, S. R., Li, Y., Pena, M. T., Smith, W. D., Miller, J. E. (2000). Attempts to control haemonchosis in grazing ewes by vaccination with gut membrane proteins of the parasite. *Vet. Parasitol.*, 92(1), 15-23.
- Kaminsky, R., Ducray, P., Jung, M., Clover, R., Rufener, L., Bouvier, J., Weber, S. S., Wenger, A., Wieland-Berghausen, S., Gobel, T., Gauvry, N., Pautrat, F., Skripsky, T., Froelich, O.,

- Komoin-Oko, C., Westlund, B., Sluder, A., Maser, P. (2008) A newclass of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature*, 452(7184), 176-180.
- Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol.*, 20(10), 477-481.
- Kassai T. Veterinary Helminthology. Butterworth-Heinemann, Linacre House, Jordan Hill, Oxford, 1999.
- Kaufmann, J. (1996). Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual. ILRI (aka ILCA and ILRAD).
- Kennedy, M. W., Harnett, W. (2013). (Eds) Parasitic nematodes: molecular biology, biochemistry and immunology. CABI.
- Khajuria, J. K., Katoch, R., Yadav, A., Godara, R., Gupta, S. K., Singh, A. (2013). Seasonal prevalence of gastrointestinal helminths in sheep and goats of middle agro-climatic zone of Jammu province. *J Parasit Dis.*, 37(1), 21-25.
- Khan, S., Zhao, X., Hou, Y., Yuan, C., Li, Y., Luo, X., Feng, X. (2019). Analysis of genome-wide SNPs based on 2b-RAD sequencing of pooled samples reveals signature of selection in different populations of *Haemonchus contortus*. *J. Biosci.*, 44(4), 1-13.
- Kırcalı F. (2004). Kazan mezbahsında kesilen hayvanların kalın bağırsaklarında saptanan helmint türleri, *Ankara Univ Vet Fak Derg.*, 51, 41-45.
- Knox, D. P., Redmond, D. L., Newlands, G. F., Skuce, P. J., Pettit, D., Smith, W. D. (2003). The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids. *Int. J. Parasitol.*, 33(11), 1129-1137.
- Knox, M. R., F aedo, M. (2001). Biological control of field infections of nematode parasites of young sheep with *Duddingtonia flagrans* and effects of spore intake on efficacy. *Vet. Parasitol.*, 101(2), 155-160.
- Kopp, S. R., Coleman, G. T., Traub, R. J., McCarthy, J. S., Kotze, A. C. (2009). Acetylcholine receptor subunit genes from *Ancylostoma caninum*: altered transcription patterns associated with pyrantel resistance. *Int. J. Parasitol.*, 39(4), 435-441.
- Kotze, A. C., Hunt, P. W., Skuce, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Martin, R. J., Sager, H., Prichard, R. K. (2014). Recent advances in candidate-gene and whole-genome approaches to the discovery of anthelmintic resistance markers and the description of drug/receptor interactions. *Int. J. Parasitol.: Drugs Drug Resist.*, 4(3), 164-184.
- Kozan, E., Akkol, E. K., Süntar, I. (2016). Potential anthelmintic activity of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. *J. Ethnopharmacol.*, 187, 183-186.
- Kozan, E., Anul, S. A., Tatli, I. I. (2013). In vitro anthelmintic effect of *Vicia pannonica* var. *purpurascens* on trichostrongylosis in sheep. *Exp Parasitol.*, 134(3), 299-303.
- Köse, M., Kozan, E., Sevimli, F. K., Eser, M. (2007). The resistance of nematode parasites in sheep against anthelmintic drugs widely used in Western Turkey. *Parasitol. Res.*, 101(3), 563-567.
- Kwa, M. S., Veenstra, J. G., Roos, M. H. (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β -tubulinisotype 1. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 63(2), 299-303.

- Le Jambre, L. F. (1976). Egghatch as an in vitro assay of thiabendazole resistance in nematodes. *Vet. Parasitol.*, 2(4), 385-391.
- Le Jambre, L. F., Gill, J. H., Lenane, I. J., Baker, P. (2000). Inheritance of avermectin resistance in *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 30(1), 105-111.
- Lespine, A., Alvinerie, M., Vercruysse, J., Prichard, R. K., Geldhof, P. (2008). ABC transporter modulation: a strategy to enhance the activity of macrocyclic lactone anthelmintics. *Trends Parasitol.*, 24(7), 293-298.
- Lespine, A., Martin, S., Dupuy, J., Roulet, A., Pineau, T., Orlowski, S., Alvinerie, M. (2007). Interaction of macrocyclic lactones with P-glycoprotein: structure–affinity relationship. *Eur J Pharm Sci*, 30(1), 84-94.
- Levecke, B., De Wilde, N., Vandenhouste, E., Vercruysse, J. (2009). Field validity and feasibility of four techniques for the detection of *Trichuris* in simians: a model for monitoring drug efficacy in public health? *PLoS Negl Trop Dis.*, 3(1), e366.
- Levine N.D., 1968. Nematode Parasites of Domestic Animals and Man, Burgess Publishing Company, Minneapolis.
- Lewis, J. A., Wu, C. H., Berg, H., Levine, J. H. (1980). The genetics of levamisole resistance in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 95(4), 905-928.
- Little, P. R., Hodge, A., Maeder, S. J., Wirtherle, N. C., Nicholas, D. R., Cox, G. G., Conder, G. A. (2011). Efficacy of a combined oral formulation of derquantel–abamectin against the adult and larval stages of nematodes in sheep, including anthelmintic-resistant strains. *Vet. Parasitol.*, 181(2), 180-193.
- Little, P. R., Hodge, A., Watson, T. G., Seed, J. A., Maeder, S. J. (2010). Field efficacy and safety of an oral formulation of the novel combination anthelmintic, derquantel-abamectin, in sheep in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, 58(3), 121-129.
- Love, S. (2015). Monepantel (Zolvix®) resistance confirmed in goats in NSW Australia. Worm Mail Newsletter, 27.06 2014.
- Love, S.C.J., Hutchinson, G.W. (2003). Pathology and diagnosis of internal parasites in ruminants, In Gross Pathology of Ruminants, Preceedings 350 Post Graduate Foundation in Veterinary Science, University of Sidney, Sidney, 16, 309-338.
- Lubega, G.W., Prichard, R. K. (1990) "Specific interaction of benzimidazole anthelmintics with tubulin: high-affinity binding and benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*." *Mol. Biochem. Parasitol.*, 38(2): 221-232.
- Marchiondo, A. A. (2019). Nematoda, Metastrongyloidea. *Parasiticide Screening: Volume 2: In Vitro and In Vivo Tests with Relevant Parasite Rearing and Host Infection/Infestation Methods*, 217.
- Martin, P. J., Anderson, N., Jarrett, R. G. (1985). Resistance to benzimidazole anthelmintics in field strains of *Ostertagia* and *Nematodirus* in sheep. *Aust. Vet. J.*, 62(2), 38-43.
- Martin, P. J., Anderson, N., Jarrett, R. G. (1989). Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction tests and in vitro assays. *Aust. Vet. J.*, 66(8), 236-240.
- Martin, P. J., Le Jambre, L. F. (1979). Larval paralysis as an in vitro assay of levamisole and morantel tartrate resistance in *Ostertagia*. *Vet. Res. Commun.*, 3(1), 159-164.

- Martin, R. J., Murray, I., Robertson, A. P., Bjorn, H., Sangster, N. (1998). Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. *Int.J.Parasitol.*, 28(6), 849-862.
- Martin, R. J., Robertson, A. P. (2007). Mode of action of levamisole and pyrantel, anthelmintic resistance, E153 and Q57. *Parasitology*, 134(8), 1093-1104.
- Martin, R. J., Robertson, A. P., Bjorn, H. (1997). Target sites of anthelmintics. *Parasitology*, 114(7), 111-124.
- Massoud, A. M., Shalaby, H. A., El Khateeb, R. M., Mahmoud, M. S., Kutkat, M. A. (2012). Effects of Mirazid® and myrrh volatile oil on adult *Fasciola gigantica* under laboratory conditions. *Asian Pac.J.Trop.Biomed.*, 2(11), 875-884.
- Matschiner, M., Salzburger, W. (2009). TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. *Bioinformatics*, 25(15), 1982-1983.
- Mavrot, F. (2016). *Livestock nematode infection in a changing world: investigating the European situation* (Doctoral dissertation, University of Zurich).
- McCavera, S., Walsh, T. K., Wolstenholme, A. J. (2007). Nematode ligand-gated chloride channels: an appraisal of their involvement in macrocyclic lactone resistance and prospects for developing molecular markers. *Parasitology*, 134(8), 1111-1121.
- McIntyre, J., Hamer, K., Morrison, A. A., Bartley, D. J., Sargison, N., Devaney, E., Laing, R. (2018). Hidden in plain sight-Multiple resistant species within a strongyle community. *Vet. Parasitol.*, 258, 79-87.
- McKellar, Q. A., Jackson, F. (2004) Veterinary anthelmintics: old and new. *Trends Parasitol.*, 20, (10), 456-461.
- Mederos, A. E., Ramos, Z., Banchero, G. E. (2014). First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites Vectors*, 7(1), 598.
- Merdivenci A., 1967. Türkiye’de 1953- 1958 yıllarında yaptığımız koyun ve keçi otopsileri üzerinde helmintolojik araştırmalar. *Bornova Vet Arşt Enst Derg.* 8(15), 143-156.
- Millar, N. S. (2008). RIC-3: a nicotinic acetylcholine receptor chaperone. *Br. J. Pharmacol.*, 153(S1).
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF). 1986. Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques. References Book. London, pp. 418.
- Mohanraj, K., Subhadra, S., Kalyanasundaram, A., Ilangopathy, M., Raman, M. (2017). Genotyping of benzimidazole resistant and susceptible isolates of *Haemonchus contortus* from sheep by allele specific PCR. *J Parasit Dis.*, 41(1), 282-288.
- Molento, M. B., Prichard, R. K. (1999). Effects of the multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*). *Parasitol. Res.*, 85(12), 1007-1011.
- Mortensen, L. L., Williamson, L. H., Terrill, T. H., Kircher, R. A., Larsen, M., Kaplan, R. M. (2003). Evaluation of prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes in goats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 223(4), 495-500.

- Murphy, A. (2001). Re: Ivermectin-resistant *Ostertagia circumcincta* from sheep in the lower North Island and their susceptibility to other macrocyclic lactone anthelmintics.
- Nare, B., Lubega, G., Prichard, R. K., Georges, E. (1996). p-Azidosalicyl-5-amino-6-phenoxybenzimidazole Photolabel the N-terminal 63103 Amino Acids of *Haemonchus contortus*-Tubulin 1. *J. Biol. Chem.*, 271(15), 8575-8581.
- Nemati, R., Bahari, A., Mahmoodi, P., Sazmand, A. (2019). Molecular study of benzimidazole resistance in *Teladorsagia circumcincta* isolated from sheep in North of Iran. *Iran J Parasitol*, 14(4), 646.
- Neveu, C., Charvet, C. L., Fauvin, A., Cortet, J., Beech, R. N., Cabaret, J. (2010). Genetic diversity of levamisole receptor subunits in parasitic nematode species and abbreviated transcripts associated with resistance. *Pharmacogenet. Genomics*, 20(7), 414-425.
- Neveu, C., Charvet, C., Fauvin, A., Cortet, J., Castagnone-Sereno, P., Cabaret, J. (2007). Identification of levamisole resistance markers in the parasitic nematode *Haemonchus contortus* using a cDNA-AFLP approach. *Parasitology*, 134(8), 1105-1110.
- Niezen, J. H., Waghorn, G. C., Graham, T., Carter, J. L., Leathwick, D. M. (2002). The effect of diet fed to lambs on subsequent development of *Trichostrongylus colubriformis* larvae in vitro and on pasture. *Vet. Parasitol.*, 105(4), 269-283.
- Njue, A. I., Hayashi, J., Kinne, L., Feng, X. P., Prichard, R. K. (2004). Mutations in the extracellular domains of glutamate-gated chloride channel $\alpha 3$ and β subunits from ivermectin-resistant *Cooperia oncophora* affect agonist sensitivity. *J. Neurochem.*, 89(5), 1137-1147.
- O'Connor, L. J., Walkden-Brown, S. W., Kahn, L. P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.*, 142(1-2), 1-15.
- Omura, S. (2008). Ivermectin: 25 years and still going strong. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 31(2), 91-98.
- Öncel T. (2000). Güney Marmara bölgesindeki koyunlarda helmint türlerinin yayılışı. *Türkiye Parazit Derg.*, 24, 414-419.
- Önder, Z. (2014). Koyunlarda haemonchus contortus'un moleküler karakterizasyonu ve benzimidazol dirençliliğinin moleküler olarak araştırılması. Doktora Tezi.
- Önder, Z., Yildirim, A., Inci, A., Düzlü, Ö., Çiloğlu, A. (2016). Molecular Prevalence, Phylogenetic Characterization and Benzimidazole Resistance of *Haemonchus contortus* from Sheep. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 22(1), 93-99.
- Paksoy, M., Özçelik, A. (2008). Economic analysis of goat rearing farms for milk production in Kahramanmaraş province. *J Agr Sci-Tarim Bili (Turkey)*, 14(4), 420-427.
- Paolini, V., Bergeaud, J. P., Grisez, C., Prevot, F., Dorchies, P., Hoste, H. (2003). Effects of condensed tannins on goat sex perimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.*, 113(3), 253-261.
- Pitaksakulrat, O., Chaiyasaeng, M., Artchayasawat, A., Eamudomkarn, C., Thongsahuan, S., & Boonmars, T. (2021). The first molecular identification of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* from goats in Thailand. *Vet World.*, 14(3), 764.
- Pomroy, W. E. (2006). Anthelmintic resistance in New Zealand: a perspective on recent findings and options for the future. *N Z Vet J*, 54(6), 265-270.

- Prichard, R. (2001). Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. *Trends Parasitol.*, 17(9), 445-453.
- Prichard, R. K., Geary, T. G. (2008). Drug discovery: fresh hope to can the worms. *Nature*, 452(7184), 157-158.
- Prichard, R. K., Hall, C. A., Kelly, J. D., Martin, I. C. A., Donald, A. D. (1980). The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Aust. Vet. J.*, 56(5), 239-250.
- Prichard, R. K., Roulet, A. (2007). ABC transporters and β -tubulin in macrocyclic lactone resistance: prospects for marker development. *Parasitology*, 134(8), 1123-1132.
- Qamar, M. F., Maqbool, A., Ahmad, N. (2011). Economic losses due to haemonchosis in sheep and goats. *Sci Intern*, 23(4), 321-4.
- Ramünke, S., Melville, L., Rinaldi, L., Hertzberg, H., de Waal, T., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J. (2016). Benzimidazole resistance survey for *Haemonchus*, *Teladorsagia* and *Trichostrongylus* in three European countries using pyrosequencing including the development of new assays for *Trichostrongylus*. *Int. J. Parasitol.: Drugs Drug Resist.*, 6(3), 230-240.
- Rayes, D., De Rosa, M. J., Bartos, M., Bouzat, C. (2004). Molecular basis of the differential sensitivity of nematode and mammalian muscle to the anthelmintic agent levamisole. *J. Biol. Chem.*, 279(35), 36372-36381.
- Redman, E., Packard, E., Grillo, V., Smith, J., Jackson, F., & Gilleard, J. S. (2008). Microsatellite analysis reveals marked genetic differentiation between *Haemonchus contortus* laboratory isolates and provides a rapid system of genetic fingerprinting. *Int. J. Parasitol.*, 38(1), 111-122.
- Redman, E., Whitelaw, F., Tait, A., Burgess, C., Bartley, Y., Skuce, P. J., Gilleard, J. S. (2015). The emergence of resistance to the benzimidazole anthelmintics in parasitic nematodes of livestock is characterised by multiple independent hard and soft selective sweeps. *PLoS Negl Trop Dis.*, 9(2) DOI: 10.1371/journal.pntd.0003494.
- Rezansoff, A. M., Laing, R., Gilleard, J. S. (2016). Evidence from two independent backcross experiments supports genetic linkage of microsatellite Hcms8a20, but not other candidate loci, to a major ivermectin resistance locus in *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 46(10), 653-661.
- Richard, G. F., Pâques, F. (2000). Mini- and microsatellite expansions: the recombination connection. *EMBO reports*, 1(2), 122-126.
- Robinson, M. W., McFerran, N., Trudgett, A., Hoey, L., Fairweather, I. (2004). A possible model of benzimidazole binding to β -tubulin disclosed by invoking an inter-domain movement. *J. Mol. Graph.*, 23(3), 275-284.
- Rolfe, P. F., Fitzgibbon, C. (1996). Resistance to macrocyclic lactones in intestinal parasites of sheep: Implications for the persistent effect of moxidectin. In *Proceedings of Sheep Sessions, Second Pan Pacific Veterinary Conference, Christchurch*.
- Roos, M. H., Kwa, M. S. G., Grant, W. N. (1995). New genetic and practical implications of selection for anthelmintic resistance in parasitic nematodes. *Parasitol. Today*, 11(4), 148-150.

- Rose, H., Caminade, C., Bolajoko, M. B., Phelan, P., van Dijk, J., Baylis, M., Morgan, E. R. (2016). Climate-driven changes to the spatio-temporal distribution of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*, in sheep in Europe. *Glob Chang Biol.*, 22(3), 1271-1285.
- Roy, E., Hoste, H., Beveridge, I. (2004). The effect of concurrent experimental infection of sheep with *Trichostrongylus colubriformis* and *Trichostrongylus vitrinus* on nematode distribution, numbers and pathological changes. *Parasite*, 11, 293-300.
- Rufener, L., Kaminsky, R., Mäser, P. (2009). In vitro selection of *Haemonchus contortus* for benzimidazole resistance reveals a mutation at amino acid 198 of β -tubulin. *Mol Biochem Parasitol*, 168(1), 120-122.
- Rufener, L., Mäser, P., Roditi, I., Kaminsky, R. (2009). *Haemonchus contortus* acetylcholine receptors of the DEG-3 subfamily and their role in sensitivity to monepantel. *PLoS Pathog.*, 5(4), e1000380.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491.
- Sales, N., Love, S. (2016). Resistance of *Haemonchus* sp. To monepantel and reduced efficacy of a derquantel/abamectin combination confirmed in sheep in NSW, Australia. *Vet. Parasitol.*, 228, 193-196.
- Salle, G., Doyle, S. R., Cortet, J., Cabaret, J., Berriman, M., Holroyd, N., Cotton, J. A. (2019). The global diversity of *Haemonchus contortus* is shaped by human intervention and climate. *Nat. Commun*, 10(1), 1-14.
- Sangster, N. C. (1999). Anthelmintic resistance: past, present and future. *Int. J. Parasitol.*, 29(1), 115-124.
- Sangster, N. C., Redwin, J. M., Bjorn, H. (1998). Inheritance of levamisole and benzimidazole resistance in an isolate of *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 28(3), 503-510.
- Sangster, N. C., Whitlock, H. V., Russ, I. G., Gunawan, M., Griffin, D. L., Kelly, J. D. (1979). *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* resistant to levamisole, moranteltartrate and thiabendazole: occurrence of field strains. *Res. Vet. Sci.*, 27(1), 106-110.
- Sangster, N.C. and Dobson, R.J. (2002) Anthelmintic resistance. In: Lee, D.L., (ed.) *The Biology of Nematodes*. Taylor & Francis, London, pp. 531-567.
- Sarai, R. S., Kopp, S. R., Coleman, G. T., Kotze, A. C. (2013). Acetylcholine receptor subunit and P-glycoprotein transcription patterns in levamisole-susceptible and-resistant *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 3, 51-58.
- Sargison, N. D., Wilson, D. J., Bartley, D. J., Penny, C. D., Jackson, F. (2007). Haemonchosis and teladorsagiosis in a Scottish sheep flock putatively associated with the overwintering of hypobiotic fourth stage larvae. *Vet. Parasitol.*, 147(3-4), 326-331.
- Schnieder T. (2006). Helminthosen der Wiederkauer. 166- 234. In, T Schnieder (Ed), *Veterinarmedizinische Parasitologie*. 6., vollstanding überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey, Germany.
- Scott, E. W., Baxter, P., Armour, J. (1991). Fecundity of anthelmintic resistant adult *Haemonchus contortus* after exposure to ivermectin or benzimidazoles in vivo. *Res. Vet. Sci.*, 50(2), 247-249.

- Scott, I., Pomroy, W. E., Kenyon, P. R., Smith, G., Adlington, B., Moss, A. (2013). Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Parasitol.*, 198(1), 166-171.
- Semerci, A., Çelik, A. D. (2016). Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin genel durumu. *MKU.Tar.Bil. Derg.*, 21(2).
- Sevimli, F.K., Kozan, E., Köse, M., Eser, M. (2006). The prevalence of helminthes according to faecal examination in sheep in Afyonkarahisar province. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, 53: 137-140.
- Shalaby, H. A., El Namaky, A. H., Kamel, R. O. (2009). Invitro effect of artemether and triclabendazole on adult *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.*, 160(1), 76-82.
- Shalaby, H. A., El Namaky, A. H., Khalil, F. A., Kandil, O. M. (2012). Efficacy of methanolic extract of *Balanites aegyptiaca* fruits on *Toxocara vitulorum*. *Vet. Parasitol.*, 183(3), 386-392.
- Sharma, R. L., Bhat, T. K., Dhar, D. N. (1988). Control of sheep lungworm in India. *Parasitol. Today*, 4(2), 33-36.
- Silvestre, A., Cabaret, J. (2002). Mutation in position 167 of isotype 1 β -tubulin gene of Trichostrongylid nematodes: role in benzimidazole resistance? *Mol. Biochem. Parasitol.*, 120(2), 297-300.
- Silvestre, A., Humbert, J. F. (2000). A molecular tool for species identification and benzimidazole resistance diagnosis in larval communities of small ruminant parasites. *Exp. Parasitol.*, 95(4), 271-276.
- Silvestre, A., Humbert, J. F. (2002). Diversity of benzimidazole-resistance alleles in populations of small ruminant parasites. *Int. J. Parasitol.*, 32(7), 921-928.
- Simpson, H. V. (2000). Pathophysiology of abomasal parasitism: is the host or parasite responsible? *Vet. J.*, 160(3), 177-191.
- Singh, E., Kaur, P., Singla, L. D., & Bal, M. S. (2017). Prevalence of gastrointestinal parasitism in small ruminants in western zone of Punjab, India. *Vet. World*, 10(1), 61.
- Smith, W. D., Van Wyk, J. A., Van Strijp, M. F. (2001). Preliminary observations on the potential of gut membrane proteins of *Haemonchus contortus* as candidate vaccine antigens in sheep on naturally infected pasture. *Vet. Parasitol.*, 98(4), 285-297.
- Soulsby E.J.L. (1986). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals* (7th Ed), Baillere Tindall, London.
- Soulsby, E. J. L. (1965). *Textbook of veterinary clinical parasitology. Volume I. Helminths.*
- Soulsby, L. (2007). New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: the role of refugia. *Vet. J.* 174(1), 6.
- Stear, M. J., Bishop, S. C., Mallard, B. A., & Raadsma, H. (2001). The sustainability, feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance. *Res. Vet. Sci.*, 71(1), 1-7.
- Stenhouse, Lindsay Joanne (2007) Characterisation of anthelmintic resistance in a multiple drug resistant *Teladorsagia circumcincta* isolate. PhD thesis, University of Glasgow.

- Stubbing L, Lovatt F. *Worm Control in Sheep*. 2017. [Retrieved on 02-03-2021]. Available from: https://www.qmscotland.co.uk/sites/default/files/qm2895_worm_guide_final_040917.pdf.
- Sutherland, I. A., Brown, A. E., Leathwick, D. M., & Bisset, S. A. (2003). Resistance to prophylactic treatment with macrocyclic lactone anthelmintics in *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol*, 115(4), 301-309.
- Sutherland, I. A., Leathwick, D. M. (2011). Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? *Trends Parasitol.*, 27(4), 176-181.
- Sutherland, I. A., Leathwick, D. M., Moen, I. C., & Bisset, S. A. (2002). Resistance to therapeutic treatment with macrocyclic lactone anthelmintics in *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Parasitol*, 109(1-2), 91-99.
- Sykes, A. R., Coop, R. L. (2001). Interaction between nutrition and gastrointestinal parasitism in sheep. *N Z Vet J*, 49(6), 222-226.
- Şenlik, B., Diker, A.İ., Sönmez, G., Akyol, V. (2001). The prevalence of nematode species in hair goats in the southern region of Marmara. *Turkiye Parazitol. Derg.*, 25: 170–173.
- Takahashi, Y., Matsumoto, A., Seino, A., Ueno, J., Iwai, Y., Omura, S. (2002). *Streptomyces avermectinius* sp. nov., an avermectin-producing strain. *Int. J. Syst. Evol.*, 52(6), 2163-2168.
- Tandon, R., Kaplan, R. M. (2004). Evaluation of a larval development assay (DrenchRite®) for the detection of anthelmintic resistance in cyathostomin nematodes of horses. *Vet. Parasitol.*, 121(1), 125-142.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall, R. L. (2007). *Veterinary Parasitology*. Blackwell Publishing.
- Taylor, M. A., Hunt, K. R., Goodyear, K. L. (2002). Anthelmintic resistance detection methods. *Vet. Parasitol.*, 103(3), 183-194.
- Taylor, M. A., Learmount, J., Lunn, E., Morgan, C., & Craig, B. H. (2009). Multiple resistance to anthelmintics in sheep nematodes and comparison of methods used for their detection *Small Rumin. Res.* 86(1-3), 67-70.
- Taylor, S., Pearson, G. R. (1979). *Trichostrongylus vitrinus* in sheep: II. The location of nematodes and associated pathological changes in the small intestine during clinical infection. *J. Comp. Pathol.*, 89(3), 405-412.
- Terrill, T. H., Larsen, M., Samples, O., Husted, S., Miller, J. E., Kaplan, R. M., Gelaye, S. (2004). Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce infective larvae of gastrointestinal nematodes in goat feces in the southeastern United States: dosetitation and dose time interval studies. *Vet. Parasitol.*, 120(4), 285-296.
- Tınar R, Bauer C, Akyol V, Şenlik B, Çırak VY. (2001). Güney Marmara bölgesinde devlet işletmelerinde koyun *Trichostrongylidae* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve antelmintiklere dirençli türlerin belirlenmesi. TÜBİTAK Proje No: VHAG-1376.
- Tınar, R., Akyol, C. V., Çırak, V. Y., Şenlik, B., Bauer, C. (2005). Investigations on the seasonal patterns of strongyle infections in grazing lambs, and the occurrence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in western Anatolia, Turkey. *Parasitol. Res.*, 96(1), 18-23.

- Tiwari, A. K., Mishra, A. K., Bajpai, A., Mishra, P., Singh, S., Sinha, D., Singh, V. K. (2007). Synthesis and evaluation of novel benzimidazole derivative [Bz-Im] and its radio/biological studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17(10), 2749-2755.
- Toparlak, M., Tüzer E. (2000). Veteriner Helmintoloji. İÜ Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 50-56.
- Toparlak, M., Tüzer, E., 2004. Veteriner Helmintoloji. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- Towers, P. R., Edwards, B., Richmond, J. E., Sattelle, D. B. (2005). The *Caenorhabditis elegans* lev-8 gene encodes a novel type of nicotinic acetylcholine receptor α subunit. *J. Neurochem.* 93(1), 1-9.
- Treinin, M., Gillo, B., Liebman, L., & Chalfie, M. (1998). Two functionally dependent acetylcholine subunits are encoded in a single *Caenorhabditis elegans* operon. *PNAS*, 95(26), 15492-15495.
- Umur, S. (1991). Gastrointestinal helminths of Angora goats in the Ankara district. *Ankara Univ Vet Fak Derg.*, 38, 322-338.
- Umur, Ş., Koroğlu, E., Güçlü, F., Tınar, R. Nematoda. Tınar R. ed. In: Veteriner Helmintoloji. Bursa: Dora Yayınları, 2011; pp. 258-70.
- Umur, Ş., Yukari, B. A. (2005). An abattoir survey of gastro-intestinal nematodes in sheep in the Burdur region, Turkey. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 29(5), 1195-1201.
- Urquhart, G. M. (1985). Field experience with the bovine lungworm vaccine. *Dev. biol. stand*, 62, 109-112.
- Urquhart, G. M., Armour, J. J., Duncan, L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (2000). Tricostromyloidae. *Vet. Parasitol.*, 19-22.
- Van Zeveren, A. (2009). Ivermectin resistance in the bovine nematode *Ostertagia ostertagi* (Doctoral dissertation, Ghent University).
- Varady, M., Cudekova, P., Corba, J. (2007). In vitro detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*: egg hatch test versus larval development test. *Vet. Parasitol.*, 1, 104-110.
- Várady, M., Papadopoulos, E., Dolinská, M., Königová, A. (2011). Anthelmintic resistance in parasites of small ruminants: sheep versus goats. *Helminthologia*, 48(3), 137-144.
- Venturina, V. M., Gossner, A. G., Hopkins, J. (2013). The immunology and genetics of resistance of sheep to *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Res. Commun.*, 37(2), 171-181.
- Vercruysse, J., Deprez, P., Everaert, D., Bassissi, F., Alvinerie, M. (2008). Breed differences in the pharmacokinetics of ivermectin administered subcutaneously to Holstein and Belgian Blue calves. *Vet. Parasitol.*, 152(1-2), 136-140.
- Vercruysse, J., Rew, R. (2002). General efficacy of the macrocyclic lactones to control parasites of cattle. *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*, 185-222, DOI: 10.1079/9780851996172.0000.
- Vieira, M. L. C., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. D. F. (2016). Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genet. Mol. Biol.*, 39, 312-328.

- Von Samson-Himmelstjerna, G., Walsh, T. K., Donnan, A. A., Carriere, S., Jackson, F., Skuce, P. J., Wolstenholme, A. J. (2009). Molecular detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using real-time PCR and pyrosequencing. *Parasitology*, 136(3), 349-358.
- VonSamson-Himmelstjerna, G. (2006). Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.*, 136(2), 99-107.
- VonSamson-Himmelstjerna, G., Blackhall, W. J., McCarthy, J. S., Skuce, P. J. (2007). Single nucleotide polymorphism (SNP) markers for benzimidazole resistance in veterinary nematodes. *Parasitology*, 134(8), 1077-1086.
- Vural, A., Doğru, C., Onar, E., Özkoç, Ü., 1975. Bandırma Veteriner Zootekni Araştırma Kurumu koyunlarında parazitler fona tesbiti ve parazitler sağıtmanın verim üzerine etkileri. *Pendik Vet Kont Araş Enst Derg.*, 8(1), 52-65.
- Vuruşaner, C., Tüzer, E. (1996). The species of abomasum and small intestine nematodes in Kıvrıkcık sheep at Thrace. *Türkiye Parazit. Derg.*, 20: 443-455.
- Waghorn, T. S., Leathwick, D. M., Miller, C. M., Atkinson, D. S. (2008). Brave or gullible: testing the concept that leaving susceptible parasites in refugia will slow the development of anthelmintic resistance. *N Z Vet J*, 56(4), 158-163.
- Waller, P. J., Faedo, M., Ellis, K. (2001). The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: towards the development of a fungal controlled release device. *Vet. Parasitol.*, 102(4), 299-308.
- Watson, T. G., Hosking, B. C. (1990). Evidence for multiple anthelmintic resistance in two nematode parasite genera on a Saanen goat dairy. *N Z Vet J.*, 38(2), 50-53.
- Williamson, S. M., Storey, B., Howell, S., Harper, K. M., Kaplan, R. M., Wolstenholme, A. J. (2011). Candidate anthelmintic resistance-associated gene expression and sequence polymorphisms in a triple-resistant field isolate of *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol*, 180(2), 99-105.
- Wimmer, B., Craig, B. H., Pilkington, J. G., Pemberton, J. M. (2004). Non-invasive assessment of parasitic nematode species diversity in wild Soay sheep using molecular markers. *Int. J. Parasitol.*, 34(5), 625-631.
- Wolstenholme, A. J., Fairweather, I., Prichard, R., vonSamson-Himmelstjerna, G., Sangster, N. C. (2004). Drug resistance in veterinary helminths. *Trends Parasitol.*, 20(10), 469-476.
- Wyrobisz-Papiewska, A., Kowal, J., Łopieńska-Biernat, E., Nosal, P., Polak, I., Paukszto, Ł., Rehbein, S. (2021). Morphometric and Molecular Analyses of *Ostertagia leptospicularis* Assadov, 1953 from Ruminants: Species Diversity or Host Influence? *Animals*, 11(1), 182.
- Yin, F., Gasser, R. B., Li, F., Bao, M., Huang, W., Zou, F., Hu, M. (2016). Population structure of *Haemonchus contortus* from seven geographical regions in China, determined on the basis of microsatellite markers. *Parasit Vectors*, 9(1), 1-9.
- Zeybek, H. (1980). Samsun Yöresi Koyun ve Kuzularında Parazitler Fauna Saptama Çalışmaları. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 27(01.02).
- Zhao, Z., Sheps, J. A., Ling, V., Fang, L. L., Baillie, D. L. (2004). Expression analysis of ABC transporters reveals differential functions of tandemly duplicated genes in *Caenorhabditis elegans*. *J. Mol. Biol.*, 344(2), 409-417.

