



Ruminantların Gastro-intestinal Nematodlarında Anthelmentik Dirençliliği

Mustafa KÖSE

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar-TÜRKİYE

Özet: Ruminantların gastrointestinal nematod enfeksiyonlarının kontrolünde anthelmentiklerin yoğun kullanılması sonucunda bu ilaçlara karşı direnç gelişmiş ve bu durum dünya genelinde birçok ülkede büyük bir sorun haline gelmiştir. Sürekli kullanılan, benzimidazol, imidazothiazol ve makrosiklik laktonlara karşı *Haemonchus*, *Teladorsagia* ve *Trichostrongylus* gibi önemli nematod cinslerinde direnç olguları bildirilmektedir. Buna ilaveten gastrointestinal nematod popülasyonlarında çoklu ilaç direnci de tespit edilmiştir. Gastrointestinal nematodların bu anthelmentiklere karşı direnç kazanması ruminantlarda büyük ekonomik kayıplara, sağlık ve hayvan refahı problemlerine yol açmaktadır. Bu derlemede direnç gelişiminin mekanizmaları, direnç tespit yöntemleri, direnç kontrol stratejileri ve anthelmentik dirençliliğinin Türkiye'deki durumu ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anthelmentik dirençliliği, gastro-intestinal nematodlar, ruminantlar

Anthelmintic Resistance in Gastro-Intestinal Nematodes of Ruminants

Summary: The intensive use of anthelmintics for the control of gastro-intestinal nematode infections of ruminants has resulted in the development of resistance that has become a major practical problem in many countries worldwide. Anthelmintic resistance to benzimidazoles, imidazothiazoles and macrocyclic lactones has continuously been reported, particularly for the important genera, *Haemonchus*, *Teladorsagia* and *Trichostrongylus*. Furthermore, multiple drug-resistant populations of these gastro-intestinal nematodes have also been detected. Anthelmintic resistance developed in these nematode parasites of ruminants causes a large amount of economic losses, health and welfare problems worldwide. In this review, it is aimed to explain the mechanism, various detection methods, control strategies and the status of anthelmintic resistance in Turkey.

Key Words: Anthelmintic resistance, gastro-intestinal nematodes, ruminants

Giriş

Anthelmentik dirençliliği, önceden duyarlı olduğu bir anthelmentik ilaca karşı parazit popülasyonlarında meydana gelen duyarlılık kaybıdır (7, 44, 53). Oluşan bu direnç yeni nesillere aktarılabilir (31, 53). Gastrointestinal nematodlar bütün dünyada hayvan sağlığını ve refahını olumsuz etkileyerek büyük ekonomik kayıplara neden olan ve yaygın görülen parazitlerdir. Geçen yüzyılın ortalarından bu yana anthelmentik ilaçlar kontrol programlarının temel ve vazgeçilmez unsurları olmuştur. Mera hayvancılığında kemoterapiye yüksek oranda bel bağlanması zaman içinde gastrointestinal nematodlarda anthelmentik ilaçlara karşı direnç gelişimine neden olmuştur (39). Günümüzde ruminant ve tek tırnaklıların gastrointestinal nematodlarına karşı yaygın anthelmentik dirençliliği olguları rapor edilmektedir (7, 26, 45, 50). Dünya genelinde koyun yetiştiriciliğinde çoğunlukla

Haemonchus, *Teladorsagia*, *Ostertagia* ve *Trichostrongylus* ve daha az oranda da *Cooperia* ve *Nematodirus* cinslerine ait türler anthelmentik dirençliliği tespit edilen baskın türler olmuştur (39).

Bir parazit popülasyonunda tek bir anthelmentik türüne karşı direnç gelişmekle beraber, makrosiklik laktonlarda olduğu gibi o gruptaki bir anthelmentik türüne karşı gelişen duyarlılık kaybı grubun diğer üyelerine karşı da oluşabilmektedir (53). Yapılan araştırmalar gastrointestinal nematodlarda birçok anthelmentik grubuna karşı gelişen dirençteki hızlı artışın mera hayvancılığı yapan bütün ülkeleri tehdit eder duruma geldiğini göstermektedir (27, 29, 39). Gastrointestinal nematod enfeksiyonlarının kontrolünde kullanılan anthelmentik ilaçların sık ve sürekli kullanımları ile direnç teşhisinde yaşayan güçlükler yetiştiricilikte önemli bir maliyet oluşturmaktadır. Bu ilaçlara karşı gelişen direnç bir yandan yetiştiricilik maliyetlerini yükseltirken, diğer taraftan hayvan sağlığı ve refahını olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, son yıllarda araştırmacıların bu konuya ilgisinin giderek arttığı görülmektedir (12, 27).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan anthelmentiklerin gelecek yıllarda da kontrol programlarının temel seçeneği olacağı düşüncesi, bu kimyasallara karşı nematodların geliştirdiği dirençliliği geciktirmeye yönelik araştırmaları arttırmıştır (1, 26, 29). Bu konudaki araştırmaların temel amacı, özellikle gastrointestinal nematodlarda anthelmentiklere karşı gelişen dirençliliğin teşhis ve izlenebilmesi için güvenilir ve standardize edilmiş yöntemler geliştirmektir.

Anthelmentik Dirençliliğinin Tarihi

Anthelmentik dirençliliği ilk olarak 1950'lerin sonuna doğru koyunlarda *Haemonchus contortus*'un ve tek tırnaklılarda cyathostominlerin meydana getirdikleri enfeksiyonların tedavisinde kullanılan phenothiazine karşı bildirilmiştir (12, 29). Helminthlere karşı geliştirilen ilk geniş spektrumlu antibiyotik grubu olan benzimidazolün 1961 yılında kullanımının üzerinden daha birkaç yıl geçmeden koyunlarda *H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta* ve *Trichostrongylus colubriformis*'e ve tektırnaklı cyathostominlerine karşı direnç geliştiği bildirilmiştir (29). Yapılan çalışmalar, 1970'lerin ortalarında koyun ve tek tırnaklılardaki çok sayıda nematod türüne karşı benzimidazol ve imidazothiazole-tetrahydropyrimidine grubuna, 1980'lerde ise avermectin-milbemycin grubu anthelmentiklere karşı direnç gelişimini ortaya koymuştur (12, 29). Gastrointestinal nematodların çok sayıda anthelmentik grubuna karşı geliştirdiği ilaç dirençliliği tüm dünyada öyle bir noktaya gelmiştir ki, 1990'lı yıllarda anthelmentik dirençliliği mera hayvanı yetiştiriciliğinin en büyük problemi haline gelmiştir (12, 13, 63).

Anthelmentik Dirençliliğinin Gelişimi

Gastrointestinal nematodlarda gelişen anthelmentik dirençliliği, tedavi sıklığı gibi bazı önemli faktörlerin varlığına bağlıdır. Aynı grup anthelmentik ile sık tedavi edilen hayvanların parazitlerinde hızlı bir direnç oluşumu geliştiği bildirilmektedir (16).

Anthelmentik dirençliliği gelişiminde rol oynayan bir diğer önemli faktör, yetersiz dozlarda kullanılan anthelmentiklerdir. Zira bu durum bazı heterozigot dirençli parazitlerin canlılığını sürdürmesine ve dirençli suşların seleksiyonuna da katkı sağlamaktadır (17). Anthelmentik ilaçların farklı hayvan türlerinde biyoyararlanım oranlarının, yani aynı tür parazitlere karşı etkin dozlarının farklı olması farklı hayvan türlerinin bir arada yetiştirildiği çiftliklerde direnç gelişiminin önemli bir nedeni olabilmektedir. Örneğin keçilerde anthelmentiklerin etkili dozları koyunlarda uygulanan dozların 1.5-2 katını bulabil-

mektedir (22). Bir arada yetiştirilen keçi ve koyunlara aynı dozda anthelmentik uygulanması, keçilerin yetersiz doz ilaç almasına ve bir kısım gastrointestinal nematodların daha dirençli olarak kurtulabilecekleri anlamına gelmektedir. Bu durum keçilerde gelişen anthelmentik dirençliliği önemli nedenlerinden birisi olarak ifade edilmektedir (22).

Uzun süre aynı grupta yer alan anthelmentiklerin kullanımı da dirençlilik gelişiminde rol oynamaktadır. Bu ilaçların etkili konsantrasyonları zaman içinde azalmaktadır. Çoğu zaman profilaktik amaçla yapılan sürü ilaçlamaları yaygın direnç oluşumuna neden olmuştur. Kontrolsüz hayvan hareketleri de anthelmentiklere direnç sağlamış parazitlerin yayılmasında önemli bir faktör olarak belirtilmektedir (25, 27, 44).

Bir parazit popülasyonunda anthelmentiklere karşı dirençliliğin gelişmesinde etkili başlıca dört faktör bildirilmektedir. Birinci faktör, anthelmentik etkisine maruz kalmamış popülasyondaki (refugia) parazit sayısıdır. Direnç gelişimindeki esas sorun sağaltım sonrası canlı kalan ve geliştirdiği direnci sonraki nesillere aktaran parazitlerin oranıdır. Bu orandaki fazlalık dirençlilik gelişimini artırırken, bunun aksine sağaltıma maruz kalmamış parazitlerin varlığı dirençlilik gelişimini yavaşlatmaktadır (7, 26, 27, 40, 61).

İkinci faktör, seleksiyona uğramamış nematodlarda gen frekansıdır. Tedavi edilmemiş bir popülasyonda direnç genlerinin frekansı, anthelmentik dirençliliğinin ne kadar hızlı gelişeceğini belirleyen en önemli faktördür. Tabiatla bir parazit popülasyonundaki parazitlerde rastgele mutasyonlar oluşabilir ve bunun sıklıkla ortaya çıkması da anthelmentik dirençliliği gelişimini hızlandırabilmektedir (7). Metabolizmaya etki eden çeşitli enzim mekanizmaları, antelmentiğin taşınması ya da anthelmentiklerin bağlandığı reseptör bölgelerindeki mutasyonlar bu genetik çeşitlilik içinde var olabilmektedir. Bir anthelmentik ilaca düzenli olarak maruz kalmış bir nematod popülasyonunda parazitler, değişikliğe uğramış genomu ile evrimsel bir avantaj sağlamaktadır. Seleksiyona uğramamış bir popülasyon içinde özel bir ilaca karşı direnç kazanmış parazitlerde mutasyon ya da mutasyonların ne kadar yaygın olduğu bilinmemektedir. Bir parazit popülasyonunda antelmentiğe hiç maruz kalmamış parazitlerde allellerin kodladığı direnç, mutasyonun sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir (39).

Üçüncü faktör, anthelmentik dirençliliğinin genetiğiyle ilgilidir. Nematodlardaki direnç genleri dominant değil de resesif ise direnç daha hızlı gelişmektedir (7). *H. contortus*'larda benzimidazol grubunun, cambendazol veya levamisol direncinin

(23, 52), *T. colubriformis*'lerde levamizol direncinin resesif özellik gösterdiği bildirilmiştir (37).

Dördüncü faktör ise, seleksiyona uğramamış parazitlerin biyolojik uygunluğudur. Direnç gelişim oranı ayrıca dirençli parazitlerin duyarlı parazitlere (yumurtlama, konakta inhibe olma, merada canlı kalabilme, otlara göç edebilme ve konak tarafından alındığında enfeksiyon oluşturabilme kapasiteleri gibi) biyolojik yönden uygun olup olmamalarına bağlıdır (40).

Anthelmentik Dirençliliğinin Mekanizması

Direncin yönetim ve kontrolünde anthelmentik farmakolojisinin bilinmesi iki önemli katkı sağlamaktadır. Bunlardan birincisi, biyolojik deneyler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yardımıyla bir parazit popülasyonu içinde gelişen direncin ölçümü, karşılaştırılması ve izlenebilmesinde amacıyla in vitro test yöntemlerinin tasarlanmasıdır. İkincisi ise çeşitli parazitler formlara ya da genotiplere karşı matematiksel modeller dizayn ederek kontrol stratejileri geliştirilmesidir.

Benzimidazol dirençliliği

Benzimidazol dirençliliğinin mekanizmasının açıklanmasında bir dizi farmakolojik ve moleküler teknikten yararlanılmıştır. Yapılan araştırmalar, benzimidazolün mikrotubulleri bozduğunu ve β -tubulin üzerinde bulunduğu sanılan bağlayıcı bir kısım bulunduğunu ortaya koymuştur. İlaç hedefi olarak β -tubulin keşfedildikten sonra moleküler çalışmalar *H. concortus*'un tubulin izotipleri üzerine yoğunlaşmıştır. *Haemonchus concortus* ve diğer trichostarongylid nematodlarla yapılan deneysel çalışmalar açıkça göstermiştir ki, bu parazitlerde benzimidazol dirençliliği β -tubulin izotip 1 geninde nokta mutasyona neden olmakta ve sonraki seleksiyonların sonucunda popülasyonun izotip 2 alleli tamamıyla kaybolmaktadır. Bu genlerdeki nokta mutasyonlar sekans (dizi) analizi ile teşhis edilebilmektedir (7, 26, 40, 53, 62).

İmidothiazol / Tetrahidroprimidin (nikotinik agonistler) dirençliliği

İmidothiazol (levamizol) ve tetrahidropriminin (pyrantel, morantel ve oxantel) antelmentikler nikotinik asetil kolin reseptörlerini (nAChR) hedef alarak nöro muskuler reseptör agonisti olarak etki göstermekte ve nematodlarda spazmlı felce neden olmaktadır. Bu antelmentiklere karşı nematodların geliştirdiği dirençliliğin aynı mekanizmalarla gerçekleştiği düşünülmektedir (45, 52). Levamizol gibi

yaygın kullanılan ve nematodların kas membranlarında kolinerjik agonisti olarak etki gösteren imidothiazol anthelmentiklere karşı gelişen dirençliliğin biyokimyasal mekanizmaları hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak, deneysel çalışmalar bu dirençliliğin molekülün bağlandığı hedef kısımlardaki değişikliğe bağlı olduğunu ortaya koymuştur (37, 47, 53). Radyoligand bağlayıcı testler ile yapılan çalışmalarda, toz halinde amino-levamizolün *H. concortus*'un nikotinik asetil kolin reseptörlerine iki bölgede bağlandığı görülmüştür. Dirençli nematodlarda levamizolün bağlandığı bölgelere affinitesi duyarlı nematodlarda görüldenden çok daha zayıf olmaktadır (52, 53). Güçlü levamizol dirençliliği gösteren *Caenorhabditis elegans* türünde nAChR alt ünitesini kodlayan birkaç gen identifiye edilmiş, daha sonra band-kelepçe tekniği yardımıyla bireysel nAChR'lerin özelliklerine bakarak dirençlilik mekanizmasıyla ilgili bazı bulgular elde edilmiştir (18). Bu çalışmalar sonucu, dirençli ve duyarlı *Oesophagostomum dentatum* izolatlarının levamizol ile aktive edilmiş reseptör kanal akımlarında da birtakım değişiklikler saptanmıştır. Dirençli ve duyarlı izolatlarda reseptör sayıları benzer olsa da, tahmini kemoterapötik ilaç konsantrasyonu analiz edildiğinde dirençli izolatlarda duyarlı olanlara göre daha düşük aktif kanal bulunduğu görülmüştür. Ayrıca dirençli izolatlarda levamizol reseptörlerinin desensitizasyonunda azalma olduğu ileri sürülmüştür. Diğer nikotinik agonistlere karşı gelişen dirençliliğin biyokimyasal temelini de levamizol direncine benzer şekilde olduğu şeklinde kanıtlar mevcuttur (48).

Makrosiklik lakton dirençliliği

Dünya genelinde yapılan çeşitli in vitro ve saha çalışmalarda makrosiklik laktonlar ve milbemycinlere karşı gastrointestinal nematodların dirençlilik geliştirdiği bildirilmiştir (13, 53). Bazı çalışmalarda ise, etki mekanizması ve kimyasal yapılarıyla benzerlik gösteren bu anthelmentiklerin direnç gelişim mekanizmaları arasında farklılıklar olduğu öne sürülmektedir (13, 36, 53). Moxidectin (milbemycin) ile ivermectin kombinasyonuna dirençli *H. concortus*'ların tek başına kullanılan moxidectine duyarlı oldukları görülmüştür (6).

Haemonchus concortus izolatlarında tekil bir majör gen tarafından kontrol edildiği bildirilen ivermectin direncinin (36), *T. colubriformis* izolatlarında daha fazla gen tarafından kontrol edildiği (21) moleküler çalışmalarla ortaya konmuştur. İvermectin uygulaması sonrasında duyarlı ve dirençli *H. concortus* türlerinin farinks kaslarındaki etkilenmiş hedef bölgelerde meydana gelen yutkunma refleksi inhibis-

yonunda da farklılıklar gözlenmiştir (30, 53). Makrosiklik laktonların *H. contortus*'un GluCl kanal alt ünitesini kodlayan genlerde bozukluklara neden olduğu öne sürülmüştür. İvermectin direnci yönünde seleksiyona uğrayan nematodlarda GluCl kanal α alt ünite geninin tekil bir allelinin klonlanmasında azalma olduğu bildirilmiştir. Yeni yapılan araştırmalar makrosiklik laktonlara karşı gelişen direncin bu şekilde olabileceğini göstermektedir (4).

Anthelmantik Dirençliliğinin Tespiti

Gastrointestinal nematodlarda anthelmantik dirençliliğinin öneminin anlaşılması, araştırmacıları dirençliliğin teşhis ve takibinde güvenilir ve standardize edilebilir yöntemler geliştirmeye sevk etmiştir (5, 26, 61). Günümüzde gastrointestinal nematodlarda anthelmantiklere karşı gelişen dirençliliğin tespit ve izlenmesinde in vivo ve in vitro testler ile moleküler tabanlı teknikler kullanılmaktadır.

Anthelmantik Dirençliliğinin Tespitinde Kullanılan In Vivo Testler

In vivo testlerle anthelmantik etkinliğinin tespitinde, araştırmada kullanılan hayvanların kesilmesi ve olgun parazitlerin sayılmasına bağlı olarak maliyetlerin artması ve zaman alıcı olması, hayvanlardaki ilaç farmakodinamiklerine bağlı testlerden elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğinin düşük olması gibi bir takım dezavantajlar vardır (61).

Dışkıda yumurta sayısı azaltma testi (FECRT)

Anthelmantik dirençliliğinin tespiti amacıyla dünyada en yaygın olarak kullanılan testtir. Dünya Veteriner Parazitoloji Geliştirme Derneği (WAAVP) tarafından da kullanımı tavsiye edilen FECR testi, antelmantiğin kullanılacağı gün ile tedaviden 10-14 gün sonra elde edilen gram dışkıdaki yumurta sayılarının (EPG) karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Yumurta sayısında azalmanın %95'ten düşük olması test edilen nematod popülasyonunda o antelmantiğe karşı dirençlilik geliştiği şeklinde yorumlanmaktadır (5, 6).

Kontrollü etki testi (CET)

Anthelmantik verilmiş hayvanlarda gastrointestinal nematodların kesim sonrası kantitatif miktarlarının tespiti esasına dayanan ve saha çalışmalarına uygun olmayan bu güvenilir yöntem, laboratuvar hayvanlarıyla yapılan deneysel çalışmalarda da çok kullanılmaktadır. Testin uygulanmasında öncelikle laboratuvar hayvanları kullanılacak antelmantiğe duyarlı ve dirençli gastrointestinal nematod izolatlarıyla ayrı ayrı enfekte edilmekte, daha

sonra bu hayvanlar rastgele seçilerek sağaltım yapılan ve yapılmayan gruplara ayrılmaktadır. Tedaviden 10-15 gün sonra nematodlar toplanmakta, identifiye edilmekte ve sayılmaktadır (28, 64).

Sonuçların analizi aşağıdaki formüllere göre yapılmaktadır (5).

Gruptaki hayvan sayısı = n_i

$$N = \sum n_i$$

Aritmetik ortalama: $\bar{X}_i = \sum X_{ij} / n_i$

Varyans: $S_i^2 = (\sum_j X_{ij}^2 - (\sum_j X_{ij})^2 / n_i) / (n_i - 1)$

Redüksiyon Yüzdesi: $R = 100(1 - \bar{X}_i / \bar{X}_c)$

\bar{X}_i : Tedavi sonrası yumurta sayısının aritmetik ortalaması

\bar{X}_c : Kontrol grubu yumurta sayısının aritmetik ortalaması

Yaklaşık %95 güven limitleri:

Redüksiyon varyansı (log scale): $Y^2 = S_i^2 / n_i \bar{X}_i^2 + S_c^2 / n_c \bar{X}_c^2$

Üst güven limiti: $100 \left[1 - \bar{X}_i / \bar{X}_c \exp(-2.048 \sqrt{Y^2}) \right]$

Alt güven limiti: $100 \left[1 - \bar{X}_i / \bar{X}_c \exp(+2.048 \sqrt{Y^2}) \right]$

Kritik Anthelmentik Testi (CAT)

Bu teknik, anthelmentik sağaltımdan dört gün sonrasına kadar dışkıların toplanması, parazitlerin sayımı ve kesimden sonra hayvanda kalan parazitlerin yüzdesinin hesaplanması esasına dayanmaktadır. Bu testin avantajı, her hayvanın teker teker değerlendirilebilmesi ve kontrollü etki testinden daha az hayvan gerektirmesidir (27).

Anthelmentik Dirençliliğinin Tespitinde Kullanılan In Vitro Testler**Yumurtadan çıkış testi (EHA)**

Bu test, benzimidazol grubu anthelmentiklere karşı gelişen direnci tespit edebilen bir dizi yöntemin jenerik ismidir. Bu testler, benzimidazolün ovisional etkileri ve dirençli izolatlardan yumurtalarının duyarlı olanlara göre daha yüksek benzimidazol konsantrasyonlarında embriyone olabilmemesi ve larvaların yumurtadan çıkabilmesi esasına dayanmaktadır. Burada temel amaç, özellikle suda iyi çözünebilen thiabendazol gibi anthelmentiklerin seri konsantrasyonlarında henüz gelişme göstermemiş nematod yumurtalarını inkube etmektir. Antelmentiklerin farklı konsantrasyonlarında gelişen veya ölen yumurtaların oranı tespit edilir, kontrol grubundaki doğal ölümler ölçü alınarak doz-yanıt sınırı belirlenir. Elde edilen verilerin istatistiksel yöntemler ile işlenmesi sonucunda yumurtaların % 50'sini öldürebilen ilaç konsantrasyonu (ED₅₀) hesaplanır (1, 8, 27).

Larval gelişim testi (LDA)

Bu yöntem, yumurtadan çıkış testlerine göre daha zaman alıcı ve zahmetli olmasına rağmen makrosiklik laktonların da içinde bulunduğu geniş spektrumlu anthelmentik gruplarının tamamına karşı gelişen dirençliliğinin tespitinde kullanılabilir. Testin benzimidazol, levamisol ve ivermektin dirençliliğinin tespitinde kullanışlı olduğu bildirilmiştir (24). Bu yöntemde nematod yumurtaları kültüre alınarak elde edilen birinci dönem larvalar çeşitli konsantrasyonlarda anthelmentiklerin ilave edildiği sıvılara ya da jelatinöz besi yerlerine aktarılmakta, ilacın üçüncü larva dönemine kadar etkisi hesaplanmaktadır (8, 27). Bu testin FECR ve EHA testlerine göre daha duyarlı olduğu, %10 oranındaki dirençliliği bile tespit edebildiği bildirilmiştir (14).

Erişkin gelişim testi (ADA)

Trichostrongylid nematodlarda benzimidazol dirençliliğinin tespit etmek amacıyla geliştirilmiş bir yöntemdir. *Haemonchus contortus*'un yumurta

üretebilen erişkin nematod oluncaya kadar kültüre edilmesi esasına dayanmaktadır. Karmaşık kültür metotları gerektirmesi nedeniyle daha ziyade araştırma maksatlı kullanılmaktadır (27).

Larval paraliz testi (LPA)

Bu yöntemde, gastrointestinal nematodların enfektif üçüncü dönem larvaları anthelmentiklerin çeşitli sulandırılmaları ile 24 saat süreyle inkube edilmektedir. Bu sürenin sonunda, larvaların hangi konsantrasyonda paraliz olduklarına bakılarak belirlenen eşik doz, referans izolatlarla mukayese edilmektedir. Dirençli izolatlarda yüksek düzeyde asetilkolin esteraz (AChE) inhibitörü tespit edilmesinden hareketle modifiye edilen yöntemde göre; trichostrongylid larvaları bir asetilkolin esteraz inhibitörü olan eserin ile inkube edilmiş ve thiabendazol dirençliliğini tespit etmede yararlı olabileceği kanaatine varılmıştır (27, 57).

Larval motilite testi (LMT)

Bu testin benzimidazol ve makrosiklik lakton dirençliliğinin tespitinde kullanışlı olduğu bildirilmiştir. Bu testte 3. dönem larvaların ilacın seri konsantrasyonları ile 25 °C'de karanlık ortamda inkube edilerek ışıkla uyarıldıktan sonra elektronik dedektörle veya süzgeçten göç ya da gözlem gibi metotlar kullanılarak motiliteleri ölçülmektedir (19, 20).

Erişkin migrasyon inhibisyon testi (AMIA)

Bu test, domuzlarda *Oesophagostomum dentatum*'un benzimidazol ile pyrantele duyarlı ve dirençli izolatlarını ayırt etmekte kullanılmaktadır. Erişkin parazitler kesim sonrası toplanmakta, 30 dakika süreyle antelmentiklerin çeşitli konsantrasyonları ile inkube edildikten sonra migrasyon odalarına alınmaktadır. Por genişliği 300-500 µm olan Poliamid meçlerde 30 dakika süreyle göç etmelerine izin verilmektedir. İlacın konsantrasyonları ile doza duyarlı bir eğri aracılığı ile migrasyon inhibisyonu tespit edilebilmektedir (42, 43).

Biyokimyasal (kolorimetrik) testler

Nematodlarda benzimidazol direnci tubulin'in antelmentik affinitesinin azalması ile ortaya çıkmaktadır. Bu yöntemde toz haline getirilmiş benzimidazolün üçüncü dönem larvaların tubulin ekstraktlarına bağlanmasına bakılarak dirençlilik teşhis edilmektedir. Bu testin oldukça hızlı ve güçlü olduğu, yüksek tekrar edilebilirliğe izin verdiği, duyarlı olduğu, parazit popülasyonunda en küçük direnç değişikliğini bile tespit edebildiği ve fazla sayıda larva

ya ihtiyaç duyduğu, fakat rutin tetkikler için uygun bulunmadığı bildirilmiştir (34, 51). Biyokimyasal testlerde; benzimidazole dirençli ve duyarlı trichostrongylid nematod izolatlarının spesifik olmayan esterazları ile asetil kolin esterazları mukayese edilmektedir. Kolorimetrik testlerde benzimidazol dirençli nematodların enfektif larvalarında benzimidazole duyarlı larvalara göre spesifik esteraz aktivitesinin önemli miktarda yüksek olduğu ve bu durumun direncin teşhisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (56).

Moleküler tabanlı testler

Anthelmentik dirençliliğinin tespiti için yapılan son çalışmalar moleküler tabanlı testlere odaklanmıştır. Nükleik asit tabanlı tekniklerle anthelmentiklere duyarlı nematod izolatlarında %1 oranındaki dirençli bireyleri ortaya koyabilmektedir (49). Moleküler bazlı teknikler ile daha çok benzimidazol direnci üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Çalışmalar, sıklıkla ruminantların trichostrongylid nematodlarının izotip-1 β tubulin geninin kodon 200'ünde fenilalaninin tirosine değiştiği mutasyon üzerinde durmuştur (33). Burada potansiyel problem tek bir nokta mutasyonunu baz alan testlerin direncin birden fazla mutasyondan ileri geldiği durumlarda yetersiz kalmasıdır (46). Bu durum, direncin tespiti için birden fazla prob kullanılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Birçok parazitik nematodta bulunan, dirençten sorumlu mutasyon allellerinin frekansının incelenmesinde bunun kullanılabileceği bildirilmiştir (27). Benzimidazole dirençli nematodların tespitinde allel-spesifik real-time PCR yönteminin kullanılabileceği de ortaya konmuştur (2, 41, 49, 62). Allel-spesifik β tubulin kodon 200 PCR ile PCR-RFLP yöntemlerinin kombine edilmesi ile *H. contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* ve *Teladorsagia circumcincta* üçüncü dönem larvalarının identifiye edilebildiği bu yöntemin benzimidazol direncinin tespitinde kullanılabileceği bildirilmiştir (55). Levamisol ve makrosiklik laktonlara karşı gelişen direncin moleküler tabanının anlaşılmasındaki güçlükler real-time PCR ile direnç tespitinin optimize edilmesini geciktirmektedir. Bu konuda henüz yeterli bilgi birikimi sağlanamamıştır (7, 27).

Türkiye'de Anthelmentik Dirençliliği

Türkiye'de küçük ruminantların gastrointestinal nematodlarında anthelmentik dirençliliği üzerine ilk araştırma Tınar ve arkadaşları (58) tarafından Güney Marmara Bölgesi'nde yedi koyun ve beş keçi sürüsünde FECR testi ile yapılmıştır. Araştırmada albendazol ve thiabendazol kullanılan tüm çiftliklerde ortalama FECR değerleri %95-100 bulunmuş,

buna karşılık bir koyun ve dört keçi çiftliğinde tetramizolün etkisinin yetersiz olduğu ve ivermectinin sadece bir keçi çiftliğinde yumurta sayısını düşürmediği görülmüştür. Tetramizol tedavi gruplarının fekal kültürlerinde *Teladorsagia* spp. ve *H. contortus* üçüncü dönem larvaları izole edildiği, tetramizole karşı trichostrongillerde direnç tespit edildiği fakat diğer anthelmentik gruplarına karşı henüz direnç gelişmediği bildirilmiştir. Köse ve arkadaşları (32), Afyonkarahisar'da yedi koyun çiftliğinde albendazol, oksfendazol-oksiklozanid kombinasyonu ve ivermectin kullanarak yaptıkları araştırmada beş çiftlikte ivermectin gruplarında direnç belirlenmişler, FECR ortalama değerlerini sırasıyla % 68.57, %46.42, %84.41, %65.21 ve %91.66 olarak hesaplamışlardır. Araştırmacılar, diğer anthelmentiklere karşı direnç gelişmediğini ve dirençli gruplarda yapılan dışkı kültürlerinde *H. contortus* ve *Oesophagostomum* sp. üçüncü dönem larvaları izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çırak ve arkadaşları (11), Avustralya'dan ithal edilen ve Uludağ Üniversitesi'nde karantinaya alınan 49 Saanen ırkı keçiyi dört gruba ayırarak bu hayvanlara albendazol, ivermectin ve levamisol uygulamışlardır. Deney gruplarında FECR ortalama değerlerini tedaviden 15 gün sonra sırası ile %57, %28 ve %86 bulmuşlardır. Fekal kültürlerde *Haemonchus* ve *Teladorsagia* (albendazole), *Teladorsagia* (ivermectin) ve *Haemonchus* (levamisole) üçüncü dönem larvaları izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan in vitro yumurtadan çıkış testinde ise ED₅₀ değeri 0.73 μ g/ml olan thiabendazol benzimidazol direnci tespit edilmiş ve bu sonucun Türkiye'de ruminantların trichostrongylid popülasyonlarında belirlenen ilk çoklu (multipl) anthelmentik dirençliliği olduğu bildirilmiştirlerdir.

Çırak ve ark. (10) tarafından Marmara Bölgesi'nde tektirnaklılarda yapılan iki çalışmadan birincisinde *Parascaris equorum*'da makrosiklik lakton direnci, ikincisinde ise (9), pyrantel ve makrosiklik lakton direnci tespit edilmiştir.

Türkiye'de gastrointestinal nematodlara karşı direnç gelişimine neden olabilecek yukarıda ifade edilen nedenler fazlasıyla mevcut olmasına rağmen, hayvanlarda bu parazitlere karşı ortaya çıkan dirençliliği ortaya koymak üzere konvansiyonel tekniklerle yapılmış pek az çalışma mevcut olup, moleküler tekniklerin kullanıldığı hiçbir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle Türkiye'de gastrointestinal nematodlarda anthelmentik dirençliliği konusunda daha geniş araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Direncin Kontrolü

Hayvanların gastrointestinal nematod enfeksiyonlarının etkili ve sürdürülebilir şekilde kontrol edilebilmesinde anthelmentik dirençliliği halen yetiştiriciliğin en büyük problemlerinden biri olmaya devam etmektedir (3, 7, 40, 59). Anthelmentik dirençliliğinin kontrol altına alınmasında, anthelmentik etkilerine maruz kalmamış parazit popülasyonlarının korunmasının önemi uzun zaman önce yapılan çalışmalar neticesinde ortaya konmuştur (38, 59). Sağaltımdan canlı kurtulan nematodların direnç nesillerin oluşturulmasına yapacağı katkının bir şekilde sınırlandırılması gerekmektedir. Anthelmentik etkiye maruz kalmamış nematod popülasyonları (refugia) dirençli nematodların sayısının azaltılmasında kritik öneme sahiptir. Bu nematodların kaynağı meradaki larvalar, tedavi edilmemiş hayvanlar ve konak hayvandaki ilaca duyarlı olmayan inhibe gelişme formlarıdır. Rotasyonel otlatma gibi meradaki larva sayısını etkili bir şekilde azaltan bir mera yönetim sisteminin etkili bir anthelmentikle birlikte nematod kontrolünde kullanılması direncin seleksiyonuna neden olmaktadır. Kuraklık meradaki larvaların sayısının azalmasında etkili olan diğer bir faktördür. Güney yarım kürede anthelmentik dirençliliğinin seleksiyon hızının batı Avrupa'dan daha yüksek olmasının nedeninin kuraklık esnasında etkili bir anthelmentik sağaltımı neticesinde meralardaki larva sayılarının dramatik bir şekilde azalması olduğu düşünülmektedir (7, 27, 35, 40).

Anthelmentik etkiye maruz kalmamış nematodların oranını yükseltmek için hedef seçerek yapılan sağaltımda sadece ağır enfekte hayvanlar tedavi edilmektedir. Anthelmentik dirençliliğinin sağaltılmamış bir miktar hayvan kaldığında daha yavaş gelişiyor olması, kontrollü ve hayvanların sağlığını etkilemeyecek düzeyde sürüden bazı hayvanların sağaltımının yapılmadığı bir kontrol yöntemi geliştirilmiştir. FAMACHA adı verilen bu yöntemde *H. contotus* ile enfekte sürülerde belirli aralıklarla aneminin düzeyi izlenerek sadece şiddetli anemi gösteren hayvanların sağaltımı yapıldığı belirtilmektedir (60). Böylece, meralarda anthelmentik etkisine maruz kalmamış larvaların sayıca artırılması suretiyle dirençliliğin geciktirilmesi veya kontrolünün sağlanabileceği öne sürülmektedir (54, 60). İlk defa meraya çıkacak buzağuların etkili bir anthelmentik tedaviden sonra yaşlı hayvanlarla çıkarıldığı mera yönetim sisteminde direncin düşük düzeylerde kalacağı ifade edilmektedir. Hayvanların otladığı meraların değiştirilmesinin direncin seleksiyonunu yavaşlattığı, fakat yeni meralarda uygun tedavi zamanlamasının düzenlenmesinin zaman alacağı belirtilmektedir (12, 54, 60).

Anthelmentik ilaç kombinasyonlarının dirençlilik gelişiminde azalmaya yol açtığı iddia edilmişse de (3), ilaç kombinasyonların pahalı olmasının yanında bunlara karşı da dirençlilik gelişebildiği ifade edilmiştir. Nitekim birçok ülkede sığırlarda benzimidazol-levamisol kombinasyonlarına karşı nematodlarda direnç gelişimi bildirilmiştir (7).

Dirençli nematodlarla enfekte hayvanların karantinaya alınarak geniş spektrumlu ve farklı bir anthelmentikle sağaltım yapılmasından en az 48 saat sonra yeniden meraya salınmasının direnç gelişiminin yavaşlatacağı ifade edilmiştir. Ancak bu metodun başarılı olabilmesi için, hayvanların yeniden meraya bırakılmadan önce dirençli, canlı hiç bir nematodun bu hayvanlarda kalmadığından emin olunmalıdır (15). İngiltere'de makrosiklik lakton direncinin varlığı bildirilen sığırlarda gastrointestinal nematodların benzimidazol ve levamisol ile sağaltıldığı bildirilmekle birlikte karantina tedbirlerinin direnç gelişimine etkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır (7).

Gastrointestinal nematodlarda anthelmentik dirençliliğinin kontrolü için alternatif yöntemler de geliştirilmiştir. Bunlar; gastrointestinal nematod enfeksiyonlarına dirençli hayvan yetiştirmek, akılcı mera yönetim sistemleri, iyi besleme, antiparaziter aşılar geliştirme, bitkisel kökenli moleküller ve meraların tenenden zengin bitkilerle desteklenmesi, biyolojik kontrol gibi yöntemlerdir (7, 26, 27, 40).

Sonuç

Gastrointestinal nematodlara karşı gelişen anthelmentik dirençliliği, özellikle meralarda yapılan hayvan yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara neden olmakta, hayvan sağlığı ve refahını olumsuz etkilemektedir. Dünyanın her yerinde ve özellikle mera hayvancılığının yaygın yapıldığı güney yarıkürede gastrointestinal nematodlara karşı anthelmentik dirençliliği olgularının bildirilmesi, bu sorunun dünya çapında bir yetiştiricilik sorunu olduğunu göstermektedir. Son yıllarda hızlı bir gelişim gösteren moleküler biyolojik teknikler de anthelmentik dirençliliğinin hızlı tespiti ve izlenmesinde, direnç mekanizmalarının anlaşılmasında araştırmacılara umut vermektedir.

Kaynaklar

1. Álvarez-Sánchez MÁ, Mainar-Jaime R, Pérez García J, Rojo-Vázquez FÁ. A review of the methods for the detection of anthelmintic resistance. Rev Ibérica Parasitol 2002; 62 (1-2): 51-9.

2. Álvarez-Sánchez MA, Perez-Garcia J, Cruz-Rojo MA, Rojo-Vazquez FA. Real time PCR for the diagnosis of benzimidazole resistance in trichostrongylids of sheep. *Vet Parasitol* 2005; 129 (3): 291-8.
3. Barnes EH, Dobson RJ, Barger IA. Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. *Parasitol Today* 1995; 11 (2): 56-63.
4. Blackhall WJ, Pouliot JF, Prichard RK, Beech RN. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. *Exp Parasitol* 1998; 190(1): 42-8.
5. Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology(WAACP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 1992; 44 (1): 35-44.
6. Coles GC, Giordano-fenton DJ, Tritschler JP. Efficacy of moxidectin against nematodes in naturally infected sheep. *Vet Rec* 1994; 135 (2): 38-9.
7. Coles GC. Anthelmintic resistance and the control of worms. *J Med Microbiol* 1999; 48 (4): 323-8.
8. Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, Von Samson-Himmelstjerna G, Silvestre A, Taylor MA, Vercruyse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 2006; 136 (3): 167-185.
9. Çırak VY, Güleğen E, Bauer C. Benzimidazole resistance in cyathostomin populations on horse farms in western Anatolia, Turkey. *Parasitol Res* 2004; 93: 392-5.
10. Çırak VY, Kar S, Girişkin O. İvermektin ve pirantele karşı at Strongylidae'lerinde antelmintik direnç araştırılması ve *Parascaris equorum*'da makrosiklik lakton direnci. *T Parazit Derg* 2010; 34 (1): 35-9.
11. Çırak VY, Koşum N, Bauer C. Multiple anthelmintic resistance in a trichostrongylid population in Saanen goats imported into Turkey from Australia. DVG-Jahrestagung der Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, 7.-9. Juli 2010 in München.
12. De Graef J, Claerebout E, Geldhof P. Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. *Vlaams Diergen Tijds* 2013; 82: 113-23.
13. Dent JA, Smith MM, Vassilatis DK, Avery L. The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 (6): 2674-90.
14. Dobson RJ, Le Jambre LF, Gill JH. Management of anthelmintic resistance: inheritance of resistance and selection with persistent drugs. *Int J Parasitol* 1996; 26 (8): 993-1000.
15. Dobson RJ, Besier RB, Barnes EH, Love SC, Vizard A, Bell K, Le Jambre LF. Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. *Aust Vet J* 2001; 79 (11): 756-61.
16. Dorny P, Claerebout E, Vercruyse J, Sani R, Jalila A. Anthelmintic resistance in goats in peninsular Malaysia. *Vet Parasitol* 1994; 55 (4): 327-42.
17. Egerton JR, Suhayda D, Eary CH. Laboratory selection of *H. contortus* for resistance to ivermectin. *J Parasitol* 1988; 74 (4): 614-7.
18. Fleming JT, Squire MD, Barnes TM, Tornoe C, Matsuda K, Ahnn J, Fire Asulston JE, Barnard EA, Sattelle DB, Lewis JA. *Caenorhabditis elegans* levamisole resistance genes lev-1, unc-29, and unc-38 encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits. *J Neurosci* 1997; 17 (15): 5843-57.
19. Folz SD, Pax RA, Thomas EM, Bennet JL, Lee BL, Conder GA. Detecting in vitro anthelmintic effects with a micromotility meter. *Vet Parasitol* 1987; 24 (3): 241-50.
20. Gill JH, Redwin JM, Van Wyk JA, Lacey E. Detection of resistance to ivermectin in *Haemonchus contortus*. *Int J Parasitol* 1991; 21 (7): 771-6.
21. Gill JH, Lacey E. Avermectin/milbemycin resistance in trichostrongyloid nematodes. *Int J Parasitol* 1998; 28 (6): 863-77.
22. Hennessy DR. The disposition of antiparasitic drugs in relation to the development of resistance by parasites of livestock. *Acta Trop* 1994; 56 (2-3): 125-41.

23. Herlich H, Rew RS., Colglazier ML. Inheritance of cambendazole resistance in *Haemonchus contortus*. Am J Vet Res 1981; 42 (8): 1342-4.
24. Hubert J, Kerboeuf D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. Vet Rec 1992; 130(16): 442-6.
25. Hughes P, Dowling A, Callinan A. Resistance to macrocyclic lactone anthelmintics and associated risk factors on sheep farms in the lower North Island of New Zealand New Zealand Vet J 2007; 55 (4): 177-83.
26. Ihler CF. Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries. ACTA Vet Scand 2010; 52 (1): 24-8.
27. Jabbar A, Iqbal Z, Kerboeuf D, Muhammad G, Khan MN, Afaq M. Anthelmintic resistance: The state of play revisited Life Sci 2006; 79 (26): 2413-31.
28. Johansen MY. An evaluation of techniques used for the detection of anthelmintic resistance in nematode parasites of domestic livestock. Vet Res Commun 1989; 13 (6): 455-66.
29. Kaplan RM. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. Trends Parasitol 2004; 20 (10): 477-81.
30. Kotze AC. Effects of macrocyclic lactones on ingestion in susceptible and resistant *Haemonchus contortus* larvae. J Parasitol 1998; 84 (3): 631-5.
31. Köhler P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. Int J Parasitol 2001; 31: 336-45.
32. Köse M, Kozan E, Sevimli Kırçalı F, Eser M. The resistance of nematode parasites in sheep against anthelmintic drugs widely used in Western Turkey. Parasitol Res 2007; 101: 563-7.
33. Kwa MSG, Veenstra JG, Roos MH. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype 1. Mol Biochem Parasitol 1994; 63: 299-303.
34. Lacey E, Snowden KL. A routine diagnostic assay for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes using tritiated benzimidazole carbamates. Vet Parasitol 1988; 27: 309-24.
35. Lalchandama K. Anthelmintic resistance: the song remains the same. Sci Vis 2010; 10 (4): 111-22.
36. Le Jambre LF, Gill JH, Lenane IJ, Baker P. Inheritance of avermectin resistance in *Haemonchus contortus*. Int J Parasitol 2000; 30: 105-11.
37. Martin RJ, Murray I, Robertson AP, Bjorn H, Sangster N. Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. Int J Parasitol 1998; 28 (6): 849-62.
38. Michel JE. Strategies for the use of anthelmintics in livestock and their implications for the development of drug resistance. Parasitology 1985; 90 (4): 621-8.
39. Papadopoulos E, Gallidis E, Ptochos S. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. Vet Parasitol 2012; 189 (1): 85-8.
40. Papadopoulos E. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. Small Ruminant Res 2008; 76 (1): 99-103.
41. Pape M, Posedi J, Failing K, Schnieder T, von Samson-Himmelstjerna G. Analysis of the beta-tubulin codon 200 genotype distribution in a benzimidazole-susceptible and -resistant cyathostome population. Parasitology 2003; 127 (01): 53-9.
42. Petersen MB, Friis C, Bjorn H. A new in vitro assay for the quantification of benzimidazole activity against adult *Oesophagostomum dentatum*. Int J Parasitol 1997; 27: 1333-9.
43. Petersen MB, Craven J, Bjorn H, Nansen P. Use of a migration assay for the separation of adult pyrantel-susceptible and resistant *Oesophagostomum dentatum*. Vet Parasitol 2000; 91: 141-5.
44. Prichard RK, Hall CA, Kelly JD, Martin ICA, Donald AD. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. Aust Vet J 1980; 56: 239-50.
45. Prichard R. Anthelmintic resistance. Vet Parasitol 1994; 54: 259-68.
46. Prichard, R. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. Trends Parasitol 2001; 17 (9): 445-53.
47. Robertson AP, Bjorn HE, Martin RJ. Resistance to levamisole resolved at the

- single-channel level. FASEB J 1999; 13: 749-60.
48. Robertson AP, Bjorn HE, Martin RJ. Pyrantel resistance alters nematode nicotinic acetylcholine receptor single-channel properties. Eur J Pharmacol 2000; 394: 1-8.
49. Roos MH, Kwa MSG, Grant WN. New genetic and practical implications of selection for anthelmintic resistance in parasitic nematodes. Parasitol Today 1995; 11: 148-50.
50. Rothwell J, Sangster N. *Haemonchus contortus*: the uptake and metabolism of closantel. Int J Parasitol 1997; 27: 313-9.
51. Sangster NC, Prichard RK, Lacey E. Tubulin and benzimidazole resistance in *Trichostrongylus colubriformis* (nematoda). J Parasitol 1985; 71: 645-51.
52. Sangster NC, Redwin JM, Bjorn H. Inheritance of levamisole and benzimidazole resistance in an isolate of *Haemonchus contortus*. Int J Parasitol 1998; 28: 503-10.
53. Sangster NC, Gill J. Pharmacology of anthelmintic resistance. Parasitol Today 1999; 15 (4): 141-6.
54. Scheuerle M, Mahling M, Muntwyler J, Pfister K. The accuracy of the FAMACHA-method in detecting anaemia and haemonchosis in goat flocks in Switzerland under field conditions. Vet Res 2010; 170 (1-2): 71-7.
55. Silvestre A, Humbert JF. A molecular tool for species identification and benzimidazole resistance diagnosis in larval communities of small ruminant parasites. Exp Parasitol 2000; 95: 271-6.
56. Sutherland IA, Lee DL. Colorimetric assay for the detection of benzimidazole resistance in trichostrongyles. Res Vet Sci 1989; 46 (3): 363-6.
57. Sutherland IA, Lee DL. A larval paralysis assay for the detection of thiabendazole resistance in trichostrongyles. Parasitology 1990; 100: 131-135.
58. Tınar R, Akyol ÇV, Çırak VY, Şenlik B, Bauer C. 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 2005; 96: 18-23.
59. Van Wyk JA. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. J Vet Res 2001; 68: 55-67.
60. Van Wyk JA, Bath GF. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep by clinically identifying individual animals for treatment. Vet Res 2002; 33: 509-29.
61. Varady M, Papadopoulos E, Dolinska M, Königova A. Anthelmintic resistance in parasites of small ruminants: sheep versus goats. Helminthologia 2011; 48(3): 137-44.
62. von Samson-Himmelstjerna G, Buschbaum S, Wirtherle N, Pape M, Schnieder T. TaqMan minor groove binder real-time PCR analysis of b-tubulin codon 200 polymorphism in small strongyles (cyathostominae) indicates that TAC allele is only moderately selected in benzimidazole-resistant populations. Parasitology 2003; 127: 489-96.
63. Waller PJ. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. Int J Parasitol 1999; 29: 155-64.
64. Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB, Pankawich JA, Reinecke J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). Vet Parasitol 1995; 58: 181-213.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Mustafa KÖSE
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Veteriner Fakültesi, Parazitoloji A.D.
 A.N. SEZER Kampüsü, 03200- AFYONKARAHİSAR
 Tel: 0505 7188686
 E-posta: mkose@aku.edu.tr