



Afyonkarahisar Yöresi Koyun Akciğer Kılkurdu Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu*

Mustafa KÖSE¹, Metin ERDOĞAN², Kürşat KARTAL³

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
2. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
3. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Vet.) Anabilim Dalı Doktora Programı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.03.2017	28.04.2017	20.12.2017

Öz: Bu araştırma, Afyonkarahisar yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisi ve akciğer kılkurdu türlerinin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 5 farklı lokalitede akciğer kılkurtları ile doğal enfekte 10 sürüden akciğer kılkurdu birinci dönem larvalarını izole etmek için dışkı örnekleri toplandı. Baermann-Wetzel yöntemi ile separe edilen akciğer kılkurdu 1. dönem larvalarının spin kolon yöntemiyle ticari kit (Thermo) kullanılarak DNA'ları çıkarıldı. PCR'da akciğer kıl kurtlarının 28S rRNA bölgelerine ait primerler (*Dictyocaulus filaria*: F-gctacaaaatcgcatacgaacg, R-actccttagcggttacgca; *Cystocaulus ocreatus*: F-cggttgttagcatgtcctcaagtc, R-tctctgactctgctctgc; *Muellerius capillaris*: F-aaaggcccaacgctgaa, R-cctctgactctgctctgc) FastPCR programı ile dizayn edilerek kullanıldı. Toplam 7 izolattan elde edilen DNA PCR ürünlerinin 28S rRNA gen bölgelerinin DNA dizileme analizi yapıldı. Bir ve 2. izolatlardan elde edilen 952 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *D. filaria*, 4, 5 ve 6. izolatlardan elde edilen 768 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *C. ocreatus*, 7. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin %100 *M. capillaris* ve 3. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin ise %99 ihtimalle *M. capillaris* olduğu görülmüştür. İzolat 7'nin 702. bazının heterozigot yapıda olması ve izolat 3'te 117 ve 718. bazlarında mutasyon olması bir alt tür olabileceğini düşündürmüştür. Bir sürüde rastlanılan *Neostromylus linearis* larvasından DNA elde edilememiş, Sürülerde *Protostrongylus rufescens* larvasına rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: 28S rRNA, Akciğer kıl kurtları, Koyun, Moleküler karakterizasyon.

Molecular Characterization of Lungworm Species of Sheep in Afyonkarahisar Region

Abstract: The present study was conducted to investigate molecular epidemiology of lungworm infections and molecular characterization of lungworm species of sheep in Afyonkarahisar region. Fecal samples were gathered from 10 flocks in 5 different localization to isolate first stage larvae of lungworm. First stage larvae of lungworms were separated with Baermann-Wetzel method and DNAs were extracted with spin-column method by using commercial kit (Thermo). Primers belonged to 28S rRNA region of lungworms (*Dictyocaulus filaria*: F-gctacaaaatcgcatacgaacg, R-actccttagcggttacgca; *Cystocaulus ocreatus*: F-cggttgttagcatgtcctcaagtc, R-tctctgactctgctctgc; *Muellerius capillaris*: F-aaaggcccaacgctgaa, R-cctctgactctgctctgc) were used with the design of FastPCR software in PCR. DNA sequence analysis was performed on PCR products of 28S rRNA gene regions obtained from seven isolates. 952 bp length sequences of first and second isolates were *D. filaria* with the probability of 100%; 768 bp length sequences of 4th, 5th and 6th isolates were *C. ocreatus* with the probability of 100%; 780 bp length sequence of 7th isolate was *M. capillaris* with the probability of 100% and 780 bp length sequence of 3rd isolate was *M. capillaris* with the probability of 99%. Heterozygote structure of base number 702 of 7th isolate and presence of mutations in base numbers 117 and 718 of 3rd isolate suggest probability of a subspecies. DNA of *Neostromylus linearis* larvae which was detected in one flock could not be obtained. *Protostrongylus rufescens* larvae was not found in flocks.

Keywords: 28S rRNA, Lungworm, Molecular characterization, Sheep.

[✉]Mustafa KÖSE

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
e-posta: mkose@aku.edu.tr

*Bu araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 12.VF.01).

GİRİŞ

Bütün Dünya'da kozmopolit bir yayılış gösteren akciğer kılkurdu enfeksiyonları ruminant yetiştiriciliğinin önemli paraziter enfeksiyonlarından. Koyunların akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının etkenleri Trichostrongyloid nematodlardan *Dictyocaulus* ve Metastrongyloid nematodlardan *Protostrongylus*, *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Neostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Bicaulus* cinsi akciğer kılkurdu türleridir. Trichostrongyloid parazit olan *Dictyocaulus*'lar trachea ve bronşial dallarda yerleşim gösteren ve monoksen gelişim gösteren nematodlardır. Daha ziyade ılıman iklim koşullarında daha sıklıkla görülmekle birlikte kozmopolit bir yayılış gösterirler. Metastrongyloid olan cinsler ise akciğer parankimi, bronşiol ve alveollerde yerleşim gösterirler. Bu familya üstünde bulunan akciğer kılkurdu türleri heteroksen yaşam döngüsüne sahiptirler. Bu parazitlere çeşitli gastropodlar arakonak olarak hizmet ederler. Koyunlarda paraziter bronşitis ve pnömoni etkeni olan akciğer kılkurdu türleri koyunlarda önemli sağlık problemlerine yol açarlar. Yetersiz beslenen ve meraya yeni çıkmış genç hayvanlarda ölümlere de neden olabilmektedir. Bu parazitler koyunlarda gelişme geriliği, verim düşüklükleri ve dolayısı ile çok önemli miktarlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır (1-7).

Türkiye'de koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı ortaya koymak üzere çok sayıda araştırma yapılmıştır. Koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı, Kayseri'de dışkı bakısına göre %33.6 (6), Kırıkkale'de dışkı bakısına göre %14 ve nekropsis sonuçlarına göre %34 (7), yine aynı şehirde yapılan bir başka çalışmada dışkı bakısına göre %10.86 (8), Afyonkarahisar'da dışkı bakısına göre %20.82 (9), İstanbul'da dışkı bakısına göre %47.2 ve nekropsis sonuçlarına göre %47.7 (10), Van'da dışkı bakısına göre %85.21 ve nekropsis sonuçlarına göre %55.33 (11), Kars'da dışkı bakısına göre %50.5 ve nekropsis sonuçlarına göre %29 (12), Elazığ'da nekropsis sonuçlarına göre %42.91 (13), Samsun'da dışkı bakısına göre %45.39 (14), Trakya'da dışkı bakısına göre %19.85 (15), Konya'da dışkı

bakısına göre %29.3 (16) ve Ankara'da dışkı bakısına göre %53.17 (17) olarak bildirilmiştir. Türkiye'de koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı ile ilgili nekropsis ve dışkı bakılarına dayalı çalışmalar yapılmasına rağmen bu enfeksiyonların moleküler epidemiyolojisi ve türlerin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymaya yönelik herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Çeşitli ülkelerde evcil ve yabani ruminantlarda akciğer kılkurdu türlerinde moleküler tiplendirme, moleküler karakterizasyon ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar (18-24) sınırlı sayıdadır.

Bu araştırma, Afyonkarahisar yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisi ve türlerin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma, Afyonkarahisar ilinde mera mevsimi içinde 5 farklı lokalitede toplam 10 koyun sürüsünden toplanan dışkı örneklerinden elde edilen akciğer kılkurdu larvaları üzerinde yapıldı. Baermann-Wetzel yöntemi ile separe edilen birinci dönem akciğer kılkurdu larvaları sürü kayıtlarına göre ayrı ayrı 1.5 ml'lik ependorf tüplerinde toplandı.

Baermann-Wetzel yöntemi ile toplanan akciğer kılkurdu 1. dönem larvalarının spin kolon yöntemiyle ticari firma (Thermo) kiti ile DNA'ları çıkarıldı. PCR'da Tablo 1'de bulunan akciğer kılkurdu türlerinin 28S rRNA bölgelerine ait primerler FastPCR programı dizayn edildi.

Tablo 1. Akciğer kılkurdu türlerinin 28S rRNA bölgelerine ait primerler.

Table 1. 28S rRNA gene primers of lungworms.

Akciğer Kılkurdu Türleri	Forward	Reverse
<i>D. filaria</i>	gctacaaaatcgcat acgaacg	actccttagcgg ttaccga
<i>M. capillaris</i>	aaaggcccaacgctg aa	cctctgacttctg cctgc
<i>C. ocreatus</i>	cggttgtttagcatgt ccaaagtc	tctctgacttctg cctgc

Toplam 25 µl olan PCR karışımında; 2 µl DNA, her bir primerden (10pmol), 10x buffer + MgCl₂ (20mM, Thermo) 2.5 µl, dNTP karışımından 0.5 µl (Thermo), Phusion Taq DNA Polymerase (Thermo) 0.3 µl (Thermo), 5.0µl Q-Solution (5x, Qiagen) ve ddH₂O dan 12.5 µl bulunmaktadır. Reaksiyonlar Applied Biosystems Veriti Thermal Cyler cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR'in ön denaturasyon aşaması 95°C'de 10 dakika, denaturasyon aşaması 92°C' de 30 sn, yapışma 64°C' de 30 sn ve uzatma 72°C' da 30 sn 30 döngü, son uzatma aşaması ise 72°C'de 5 dakika olacak şekilde programlanmıştır. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinden sonra GelRed ile boyanarak UV altında kontrol edildi. PCR ürünleri daha sonra dizileme analizi için ExoSAP-IT ile temizlenmiştir. DNA dizileme analizi için BigDye Terminator v3.1'den 1 µl, 5x sequencing buffer'dan 1 µl, ileri veya geri primerden (10 pmol) 1 µl, PCR ürününden 1 µl ve 3µl ddH₂O olmak üzere toplam 7 µl karışım hazırlanmıştır. PCR cihazı 96°C' de 30 sn, 96°C' de 10 sn, yapışma 64°C' de 10 sn ve uzatma 60°C' de 4 dk 27 döngü olacak şekilde programlanmıştır. Sekans PCR ürünleri etanol ile çöktürme yöntemine göre temizlendi ve DNA dizileme cihazına (ABI 3500 Genetic Analyzer) yerleştirildi. DNA dizileri Sequencher 5.4.1 bilgisayar programı ile düzenlendi.

BULGULAR

Toplam 7 izolattan elde edilen DNA PCR ürünlerinin DNA dizileme analizi yapıldı. Örneklerin 28S rRNA gen bölgelerinin dizileri incelendiğinde bir ve 2. izolatlardan elde edilen 952 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *D. filaria*, 4, 5 ve 6. izolatlardan elde edilen 768 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *C. ocreatus*, 7. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin %100 *M. capillaris* ve 3. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin ise %99 ihtimalle *M. capillaris* olduğu görülmüştür.

Dictyocaulus filaria 28S rRNA geni 952bp (izolat 1 ve 2)

GCTACAAAATCGCATACGAACGTATGTGATCTAGTAAC
ATGTATGTCACTAACGACTACGCTGACAATATTGATAG

CACATTCGGTACTGTGATAAATGAACATGTTGCCATTA
TTATTATAATAGTGGTGTGCATATGTTTTAACAGTTCGAG
TTTGTGCAAGATGTGATATTAATATTTCAATAGTGCAA
AATTTGAATTCGTTTCATTTTTGCAATGATGTCAGTGT
AAACGTTAATCACCTCTCCGACCCGTCTTGAACACGG
ACCGAGGAGTGTAACTTGTACGCGAGTCAATAGGTGT
GATAAACCTAATGGCGCAATGAAAATGAAGACACGTG
TAAACGGTTGACATGAGAGATATTTTTCTATATGTGTAT
ATAGCATATAGAAAGTATTGCATCATGGCCCTGTCTAA
TCTGCATGCAGATGGGCAGAGGTAGAGCGTACAGGTT
GCGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGAGCAGGAT
GAAGTCAGAGGAAACTCTGATGGAGGTCCGTATCGGT
TCTGACGTGCAAATCGATCGATAGACTTGGGTATAGG
GGCGAAAGACTAATCGAACCTCTAGTAGCTGGTTCCC
TCCGAAGTTTCCCCAGGATAGCTGGAGTTCAAATATA
ACAATATATACATATACGGTTATATCCGGTAAAGCGAA
TGATTAGAGGAATTGGGATCGAAACGATCTCAACCTAT
TCTCAAACCTTCAATGGGTATGTTGTACAGTTTCTTAT
GGTGTCTAATGAACTGTTGACATGAACGTGAGCTCCA
AGTGGGCCATTTTTGGTAAGCAGAAGTGGCGCTGTGG
GATGAACCAAACGTTAGGCTAAGGTGCCTAACTTTTCG
CTCATTAGATCCATAAAAGGCGTTGGTTGATATAGAC
AGCAGGACGGTGGCCATGGAAGTCGGTAACCGCTAAG
GAGT

Cystocaulus ocreatus 28S rRNA geni 768 bp (izolat, 4, 5 ve 6)

CGGTTTGTTTAGCATGTCCAAAGTCCCTTTGATAGGGG
CCATTATCCAGAGAGGGTGGCAGACCTGTGCGGACAG
CTGAGCATGCCGTATGATTATACCTTGGAGTCGGGTTG
CTTGAAAGTGCAGCCTAAGTGGGTGATAAATTCATC
TAAGGCTAAATACGGACGCGAATTCGATAGCAAACAA
GTACTGTGAAGGAAAGTTGCAAAGAAGTTTGAAGAGA
GAGTTCAAGAGAACGTGAAATCGTTGAAGTGAACCG
GAGAGAGTTGACGTAGTCTGATGGATAAGTATTGCAA
GTATCGTATTACCTATATGATCAAGCGATATGTATGCC
ATCAACGACTGTGCTGACAACATCGACTACACGATCCA
AACTATGTTGACATGTTGCCATTTTATTTATGAAAAT
GGTGTCTTGTGTTACGTTYGGTAAGGTTGTTGTATGTT
GATGTTGACGACATGACGAGTTATCTCTACGATAATTA
TGTCAGCATAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGTCTT
GAAACACGGACCGAGGAGTGTAACTTGTACGCGAGTC
ACAAGGTGAAAACCTTAAGGCGAAATGAAAGTGAAG

GCACGGTTAACCGGCTGACATGGGAAGCGTGTTTCGAT
GAGGAAACAATTCGTGACACGTCACACCATGGCCCTGT
CTTGTCTGCATGCAGATGGGCAGCGGTAGAGCGTACA
GGTTGCGACCCGAAAGATGGTGAACATGCCTGAGCA
GGACGAAGTCAGAGA

***Muellerius capillaris* 28S rRNA geni 780 bp (izolat 3)**

ACGCTGAATCTTTTCGATGATGAATCGTAAAGAAATGTA
GCGTATAGGTATAATTATCGGTTTGTAGCATGTCCA
AAGTTCTTTGATAGGGACCATCATCCAGAGAGGGTGC
GAAACCTGTGCGGACAGCTGAATATGCCGTACGATTAT
ACCTTGAGTCGGGTTGCTTCAAAGTGCAGCCTTAAGT
GGGTGATAAATTCATCTAAGGCTAAATATGGACGCG
AATTCGATAGCAAACAAGTACTGTGAAGGAAAGTTGC
AAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAGAGAACGTGAAA
TCGTTGAAGTGAACCGGAGAGAGTTGACGTAGTCTG
ATGGATAATTATTGCAAGTATCGTATTCGTCGTCATG
ATGATTATGATTAAGCGATATGTATGCCATTAACGACT
GTGCTGACAATATCGACTACACGATCCAAGCTATGTTG
ACATGTTGCCATTTTATTTATATAAAATGGTGTCTTGG
TTACATTTAGTAAGGTTTCGTTGATGTTGATGTTGATAC
ATATGCATTGTAATATTATCTATGGATAATTATGTCAGC
ATAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGCTTGAACAC
GGACCGAGGAGTGTAACTGTACGCGAGTCACAAGGT
GGAAAACCTTAAGGCGAAGTGAAGTGAAGGCACGG
TTAACCGGCTAACATGGGAAATGTGTTATATAACAA
ATTGCACCATGGCCCTGTCTTGTCTGCATGCAGATGGG
CAGCGGTAGAGCGTACAGGTTGCG

***Muellerius capillaris* 28S rRNA geni 780 bp (izolat 7)**

ACGCTGAATCTTTTCGATGATGAATCGTAAAGAAATGTA
GCGTATAGGTATAATTATCGGTTTGTAGCATGTCCA
AAGTTCTTTGATAGGGACCATCATCCAGAGAGGGTGC
GAGACCTGTGCGGACAGCTGAATATGCCGTACGATTAT
ACCTTGAGTCGGGTTGCTTCAAAGTGCAGCCTTAAGT
GGGTGATAAATTCATCTAAGGCTAAATATGGACGCG
AATTCGATAGCAAACAAGTACTGTGAAGGAAAGTTGC
AAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAGAGAACGTGAAA
TCGTTGAAGTGAACCGGAGAGAGTTGACGTAGTCTG
ATGGATAATTATTGCAAGTATCGTATTCGTCGTCATG
ATGATTATGATTAAGCGATATGTATGCCATTAACGACT
GTGCTGACAATATCGACTACACGATCCAAGCTATGTTG
ACATGTTGCCATTTTATTTATATAAAATGGTGTCTTGG

TTACATTTAGTAAGGTTTCGTTGATGTTGATGTTGATAC
ATATGCATTGTAATATTATCTATGGATAATTATGTCAGC
ATAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGCTTGAACAC
GGACCGAGGAGTGTAACTGTACGCGAGTCACAAGGT
GGAAAACCTTAAGGCGAAGTGAAGTGAAGGCACGG
TTAACCGGCTAACATGGGAAAYGTGTTATATAACAC
ATTGCACCATGGCCCTGTCTTGTCTGCATGCAGATGGG
CAGCGGTAGAGCGTACAGGTTGCG

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmada elde edilen *D. filaria*'nın 952 bp uzunluğundaki dizileri (izolat 1 ve 2) NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında elde edilen dizilerin NCBI NO: AM039754.1 (24) olan dizi ile %100 benzer bulunmuştur.

İzolat 4, 5 ve 6'dan elde edilen 768 bp uzunluğundaki *C. ocreatus* dizileri NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında elde edilen dizilerin NCBI NO: EU595593.1 (USDA, Agricultural Research Service) olan dizi ile %100 benzer olduğu görülmüştür.

M. capillaris örneklerinden izole edilen DNA ların (izolat 3 ve 7) dizileme analizi sonucunda izolat 3 ve 7 karşılaştırıldığında 117. bazda A>G, 702. bazda T>Y ve 718. bazda A>C şeklinde mutasyonların olduğu görülmüştür. İzolat 7'de *M. capillaris*'e ait DNA dizisinin 702. bazı heterozigot yapıdadır (Y= C / T). Çalışmada elde edilen *M. capillaris* dizileri NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında izolat 7'den elde edilen dizi NCBI NO: AY292798.1 (19) olan dizi ile %100 benzer; 3. izolattan edilen dizinin ise %99 benzer olduğu belirlenmiştir. İzolat 7'nin 702. bazının heterozigot yapıda olması ve izolat 3'te 117 ve 718. bazlarda mutasyon olması ise bir alt tür olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, bu araştırma ile Afyonkarahisar yöresi koyunlarında sıklıkla rastlanılan 3 akciğer kıl kurdu türünün 28S rRNA gen bölgelerinin DNA dizileme analizi yapılarak moleküler karakterizasyonu ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar yapılacak olan moleküler epidemiyolojik ve filogenetik çalışmalara kaynak teşkil edecektir.

KAYNAKLAR

1. Levine ND., 1980. Nematode Parasites of Domestic Animals and Man. 2nd ed., 222-239, Burgess Publishing Company, Minneapolis.
2. Anderson RC., 1978. Keys to the genera of the superfamily Metastrongyloidea. In "CIH keys to the nematode parasites of vertebrates", Ed., RC Anderson, AG Chabaud, S. Willmott, 1st ed., 1-40, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, U.K.
3. Soulsby E.J.L., 1986. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7 th Ed, 262-276, Bailliere Tindall, London.
4. Schnieder T., 2000. Helminthosen der Wiederkäuer. In "Veterinärmedizinische Parasitologie", Ed., M Rommel, J Eckert, E Kutzer, W Körting, T Schnieder, 5th ed., 192-295, Parey Buchverlag, Berlin.
5. Urquhart GM., Armour J., Duncan JL., Dunn AM., Jennings FW., 1996. Veterinary Parasitology. 2nd ed., 59-60, Blackwell Publishing, London.
6. Yıldırım A., İça A., 2005. Kayseri yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının prevalansı. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 2, 73-78.
7. Yıldız K., 2006. Prevalence of lungworm infection in sheep and cattle in the Kirikkale province. Türkiye Parazitoloj Derg, 30, 190-193.
8. Yıldız K., Aydenizöz M., 2001. Kırıkkale koyunlarında helmintlerin yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 48, 179-182.
9. Sevimli FK., Kozan E., Köse M., Eser M., 2006. Dışkı muayenesine göre Afyonkarahisar İli koyunlarında bulunan helmintlerin yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 53, 137-140.
10. Bağcı Ö., Bıyıkoğlu G., 2003. İstanbul'da değişik kombinealarda kesilen koyunlarda akciğer kılkurtlarının yayılışı. Türkiye Parazitoloj Derg, 27, 139-143.
11. Değer S., Biçek K., Akdemir C., Taş Z., 2000. Van Belediye mezbahasında kesilen koyunlarda akciğer kılkurtlarının yayılışı. Van Vet J, 27, 215-236.
12. Umur Ş., Özkan MÖ., 1998. Kars yöresi sığır ve koyunlarında akciğer kılkurtları. Türkiye Parazitoloj Derg, 22, 88-92.
13. Taşan E., Köroğlu E., Altaş MG., 1997. Elazığ bölgesinde akciğer kılkurtlarının yayılışı. F Ü Sağlık Bil Derg, 11, 273-276.
14. Celep A., Açıcı M., Çetindağ M., Gürbüz İ., 1995. Samsun yöresi koyunlarında paraziter epidemiyolojik çalışmalar. Türkiye Parazitoloj Derg, 19, 290-296.
15. Gargılı A., 1995. Trakya'da kıvrıkcık koyunlarında akciğer nematodlarının yayılışı. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
16. Dik B., Sevinç F., Köse M., 1995. Konya yöresi koyunlarında akciğer kılkurtlarının yayılışı. Veterinarium, 6, 79-81.
17. Doğanay A., Burgu A., Toparlak M., 1989. Ankara yöresinde koyunlarda metastrongylose. Etlik Vet Mikrobiyoloj Derg, 6, 99-113.
18. Epe C., Samson-Himmelstjerna GV., Schnieder T., 1997. Differences in a ribosomal DNA sequence of lungworm species (*Nematoda: Dictyocaulidae*) from fallow deer, cattle, sheep and donkeys. Res Vet Sci, 62, 17-21.
19. Carreno RA., Nadler SA., 2003. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. J Parasitol, 89, 965-973.
20. Höglund J., Morrison DA., Divina BP., Wilhelmsson E., Mattsson JG., 2003. Phylogeny of *Dictyocaulus* (lungworms) from eight species of ruminants based on analyses of ribosomal RNA data. Parasitology, 127, 179-187.
21. Johnson M., Abs EL-Osta YG., Hu M., Gasser RB., 2004. An electrophoretic tool for the genetic characterisation and delineation of lungworms. Mol Cell Probes, 18, 197-203.
22. Jenkins EJ., Appleyard GD., Hoberg EP., Rosenthal BM., Kutz SJ., Veitch AM., Schwantje HM., Elkin BT., Polley L., 2005. Geographic distribution of the muscle-dwelling nematode *Parelaphostrongylus odocoilei* in North America, using molecular identification of first-stage larvae. J Parasitol, 91, 574-584.

23. Carreno RA., Diez-Banos N., Hidalgo-Arguello MR., Nadler SA., 2009. Characterization of *Dictyocaulus* species (Nematoda: Trichostrongyloidea) from three species of wild ruminants in Northwestern Spain. J Parasitol, 95, 966-970.
24. Chilton NB., Huby-Chilton F., Gasser RB., Beveridge I., 2006. The evolutionary origins of nematodes within the order Strongylida are related to predilection sites within hosts. Mol Phylogenet Evol, 40, 118-128.