

ARKLIŲ STRONGILŲ REZISTENTIŠKUMAS IR ELIMINACIJA DEHELMINTIZUOJANT DU KARTUS

Antanas Vyšniauskas, Vida Kaziūnaitė, Asta Pereckienė, Saulius Petkevičius
Parazitologijos laboratorija, Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas
Laboratory of Parasitology, Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy,
Mokslininkų g. 12, LT-08662 Vilnius, Lithuania; tel./faks. 8 52 72 97 27; el. paštas: helmint@ktl.mii.lt

Santrauka. Helmintų atsparumas antihelmin tikams dabar dažniausiai vertinamas helmintų kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimo metodu (HKSS). Šis vertinimo metodas yra netiesioginis, nes įvertinamas ne helmintų, bet sumažėjęs išskiriamų kiaušinėlių skaičius. Mūsų atlikto eksperimento tikslas – ištirti antihelmin tikais fenbendazolu ir ivermektinu paveiktų helmintų eliminaciją bei palyginti du parazitologiniams tyrimams naudotinus metodus. Norėjome išsiaiškinti, ar kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimo dydis koreliuoja su pačių helmintų skaičiaus sumažėjimo dydžiu.

Eksperimentas atliktas SP UAB Vilniaus žirgynas, kuriame HKSS metodu buvo nustatytas strongilų atsparumas fenbendazolui. Eksperimentuota su 4 arkliais (trys bandomieji ir kontrolinis). Bandomieji arkliai dehelmintizuoti antihelmin tikais fenbendazolu, skiriant po 7,5 mg/kg kūno masės. Po 13–14 parų jiems skirta ivermektino – po 0,2 mg/kg kūno masės. Kontrolinis arklys nedehelmintizuotas. Prieš dehelmintizuojant fenbendazolu, bandomųjų arklių 1 g išmatų rasta vidutiniškai 831 strongilų kiaušinėlis, o praėjus 13–14 parų – 78 kiaušinėliai. Dehelmintizavus fenbendazolu, visų eksperimentinių arklių išmatose rasta strongilų kiaušinėlių, tuo tarpu dehelmintizavus ivermektinu, strongilų kiaušinėlių išmatose jau nerasta trečią parą. Dehelmintizavus fenbendazolu, strongilai pradėjo skirtis po 16–22 valandų ir baigė skirtis praėjus 57–116 valandų. Dehelmintizavus ivermektinu, eliminavimas prasidėjo 12–16 valandą ir baigėsi praėjus 48–54 valandoms. Fenbendazolu dehelmintizuotų arklių išmatose išsiskyrė 60 447 strongilai, o dehelmintizavus ivermektinu, jų išsiskyrė 26 975. Fenbendazolo intese efektyvumas (IE) pagal išsiskyrusių kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimą siekė 94,5%, 86,3%, ir 83,1% atitinkamai trijų eksperimentinių arklių (vid. 90,7%), o pagal helmintų skaičiaus sumažėjimą buvo gerokai mažesnis ir siekė atitinkamai 81,4%, 67,1%, ir 48,1% (vid. IE 65,5%).

Taigi manome, kad dehelmintizuojant arklius dviem antihelmin tikais ir įvertinus strongilų skaičiaus sumažėjimą, objektyviau galima įvertinti šių helmintų atsparumą antihelmin tikams. Šis būdas būtų pigesnis ir prieinamesnis palyginti su helmintologinio skrodimo metodu, tačiau šioms prielaidoms patvirtinti reikalingi tolesni tyrimai.

Raktažodžiai: strongilai, eliminacija, antihelmin tikai, rezistentiškumas.

COMBINATION OF DIFFERENT ANTHELMINTICS HAVE POTENTIAL VALUE FOR DETECTING OF ANTHELMINTIC RESISTANCE IN HORSE STRONGYLES

Summary. Although faecal egg count reduction (FECR) is the most frequently test used to detect anthelmintic resistance, it is indirect way to estimate treatment efficiency. However, this test evaluates FECR without estimation the effect of treatment on worm burdens. The purpose of this study was to investigate the influence of repeated treatment with fenbendazol and ivermectin on horse strongyles, and to compare FECR and worm counts in order to determine the anthelmintic resistance.

The experiment was conducted at Lithuanian horse breeding farm “Vilniaus žirgynas”, where horse strongyles resistance to benzimidazoles was earlier detected by FECR test. The experiment included 4 horses, naturally infected with strongyles. The following anthelmintics were administered to three experimental horses: firstly Fenben (fenbendazole 7.5 mg /kg BW) and 13-14 days later – Eqvalan (ivermectin 0.2 mg/kg BW). One (control) horse was not treated. At the beginning of experiment mean number of strongyle eggs per gram (EPG) of faeces was 831, 13-14 days after treatment with Fenben mean EPG dropped to 78. After treatment with Fenben strongyle eggs were found in faeces of all horses, meanwhile on the third day after treatment with Eqvalan strongyle eggs were not detected. Elimination of strongyles started at 16-22 and 12-16 hours post treatment with Fenben and Eqvalan, and continued for 57-166 hours and 48-54 hours, respectively. Further, from faeces of horses treated with Fenben and Eqvalan were isolated 60 447 and 26 975 small strongyles (cyathostomes). Treatment with Fenben in each experimental horse reduced strongyle FECs on 86.3%, 94.5% and 83.1% (mean 90.7%), and strongyle worm burdens on 81.4%, 67.1%, 48.1%, respectively (mean 65.5%).

The results from this study indicate that use of two anthelmintics have potential value in detecting of anthelmintic resistance in horse strongyles and could be used as alternative to the necropsy, particularly taking into account the price of studhorses. However, this suggestion requires further investigations.

Keywords: strongyles, elimination, anthelmintics, resistance

Įvadas. Helmintų rezistentiškumas tiriamas dviem testais *in vivo* – helmintų kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimo (HKSS) nustatymu ir kontroliniu testu, taip

pat aštuoniais testais *in vitro* – išsiritimo iš kiaušinėlių, lervų išsiritimo ir paralyžiaus, lervų vystymosi, lervų paralyžiaus, lervų judėjimo, lervų tubulino surišimo,

biocheminiais ir 14C-tiabendazolo prisirišimo prie lervų (Čorba, Varady, 1998). Šiuo metu helmintų atsparumas antihelmin tikams dažniausiai vertinamas helmintų kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimo (HKSS) metodu (Bjørn et al., 1991; Bjørn, 1994; Boersema et al., 1991; Craven et al., 1999; Chroust, 2000; Dorny et al., 2000; Ihler, 1995). Tačiau šis tyrimo metodas yra netiesioginis, nes juo įvertinamas ne helmintų, bet jų išskiriamų kiaušinėlių mažėjimas. Metodas nėra ir labai tikslus, mat helmintų kiaušinėlių skaičius išmatose gali įvairuoti per parą. Tiriant šiuo būdu ir išmatose neradus helmintų kiaušinėlių, daroma prielaida, kad helmintai iš organizmo visiškai pašalinti. Daug tikslesnius duomenis apie antihelmin tiką būtų galima gauti tiriant metodais, įvertinančiais antihelmin tiką tiesioginį poveikį helmintams. Helmintų skaičiaus sumažėjimas galėtų būti nustatomas paskyrus du skirtingus antihelmin tikus. Taikant tokią tyrimo metodiką, arkliai pirmiausia dehelmintizuojami antihelmin tikais, prie kurių helmintai jau gali būti pripratę, tada dar kartą dehelmintizuojami labai efektyviu kitos klasės antihelmin tikais, kad iš arklių organizmo būtų pašalinti pirmajam antihelmin tikui atsparumą įgiję helmintai.

Darbo tikslas – ištirti antihelmin tikais fenbendazolu ir ivermektinu paveiktų helmintų eliminaciją; išsiaiškinti, ar koreliuoja metodo, įvertinusio sumažėjusį kiaušinėlių skaičių, su duomenimis, gautais metodu, įvertinusio pačių helmintų skaičių; palyginti metodų objektyvumą ir įvertinti jų taikymo parazitologiniams tyrimams galimybes.

Medžiagos ir metodai. Eksperimentas atliktas SP UAB Vilniaus žirgynas. Eksperimentuota su 4 arabų veislės kumelėmis (3 bandomosios ir kontrolinė). Arkliai buvo kliniškai sveiki, natūraliai užsikrėtę strongilais. Arklių svoris – nuo 500 iki 600 kg, amžius – nuo 4 iki 16 metų.

Bandomieji arkliai buvo laikomi garduose po vieną. Jie dehelmintizuoti antihelmin tikais fenbendazolu, skiriant juos po 7,5 mg/kg kūno masės (Fenbenas, 50% granulės, „Sanitas“, Lietuva), o po 14 parų – ivermektinu, po 0,2 mg/kg kūno masės (Eqvalan, 1,87% pasta, „Merial“ Nyderlandai). Fenbendazolo granulės arkliai sušertos ryte su nedideliu kiekiu koncentruotųjų pašarų, ivermektino pasta sušvirksčiama ant liežuvio pašaknio. Kontrolinis arklis nede helmintizuotas.

Išmatų rinkimas. Bandomųjų ir kontrolinio arklio išmatos buvo renkamos visą eksperimento laiką, o gardai kruopščiai valomi. Išmatos rinktos kontrolinėmis paromis ir po vaisto davimo tiek dieną, tiek naktį – tol, kol skyrėsi strongilai, t. y. 3–5 paras. Kiekviena išmatų porcija sudėta į polietileno maišelį, užrašytas laikas, išmatos svoris ir imti mėginiai koproskopiniams tyrimams ir strongilams rinkti.

Strongilų rinkimas. Išmatų mėginiui imta nuo 5% iki 20% kiekvienos išmatų porcijos, mėginys kruopščiai susmulkintas mikrobiologine adatėle ir pincetu, apžiūretas juodame fone ir surinkti visi jame esantys strongilai. Jie suskaičiuoti, nuplauti fiziologiniu tirpalu ir fiksuoti 70% etilo spirito tirpalu.

Strongilų kiaušinėlių skaičiaus nustatymas 1 g išmatų.

Strongilų kiaušinėlių skaičius nustatytas pagal S. A. Henriksen ir A. Aagaard (Henriksen, Aagaard, 1976) modifikuotą McMaster metodiką, kurios jautrumas – 20 kiaušinėlių grame išmatų. Kiekvienas mėginys tirtas tris kartus ir apskaičiuotas duomenų aritmetinis vidurkis.

Išsiskyrusių strongilų skaičiaus nustatymas. Šis skaičius nustatytas pagal formulę $A = B \cdot 100 / C$; čia A – strongilų skaičius visoje išmatų porcijoje; B – strongilų skaičius tiriamajame išmatų mėginyje; C – tiriamojo išmatų mėginio kiekis procentais.

Fenbendazolo antihelmin tikinio efektyvumo įvertinimas. Antihelmin tikinio efektyvumas vertintas dviem būdais.

Fenbendazolo intensefektyvumas pagal kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimą po dehelmintizavimo apskaičiuotas pagal formulę $IE = (A - B) \cdot 100 / A$; čia A – kiaušinėlių skaičius grame išmatų prieš dehelmintizavimą; B – kiaušinėlių skaičius grame išmatų po dehelmintizavimo.

Fenbendazolo intensefektyvumas pagal išsiskyrusių strongilų skaičių apskaičiuotas pagal formulę $IE = A \cdot 100 / (A + B)$; A – išsiskyrusių strongilų skaičius dehelmintizavus fenbendazolu; B – išsiskyrusių strongilų skaičius po dehelmintizavus ivermektinu.

Tyrimai atlikti laikantis Lietuvos Respublikos įstatymų, reglamentuojančių gyvūnų globą, laikymą ir naudojimą moksliniams bandymams.

1 lentelė. **Dehelmintizavimo fenbendazolu intensefektyvumas (IE), vertinant pagal kiaušinėlių skaičių 1 g išmatų**

Arklio Nr.	Kiaušinėlių skaičiaus vid. 1 g išmatų		IE, %
	Prieš dehelmintizavimą	Po dehelmintizavimo fenbendazolu	
1	1587	87	94,5
2	240	33	86,3
3	667	113	83,1
Kontrolinė	247	347	-

Tyrimo rezultatai. Prieš dehelmintizuojant pirmojo (8 metų) arklio 1 g išmatų vidutiniškai rasta 1 587 strongilų kiaušinėliai (1 lentelė). Po gydymo fenbendazolu, praėjus 14 parų, rasta 87 kiaušinėliai (IE = 94,5%). Strongilų eliminavimo iš arklio virškinimo trakto dinamika pateikta 1 pav. Pirmieji nematodai išmatose rasti praėjus 16 valandų po antihelmin tikų davimo. Daugiausia strongilų su išmatomis išsiskyrė praėjus 26, 27, 31 ir 33 valandoms (atitinkamai 2 080, 2 540, 2 940 ir 2 700 strongilų). Intervalas tarp strongilų skyrimosi pradžios ir piko siekė 15 valandų. Dauguma strongilų (78,9%) buvo pašalinti per antrąją parą. Eliminacija truko 79 valandas ir baigėsi praėjus 95 valandoms po dehelmintizavimo. Per keturias paras po gydymo fenbendazolu su pirmojo arklio išmatomis iš virškinimo trakto išsiskyrė 25 327 strongilai (2 lentelė). Strongilatozės gydymas fenbendazolu buvo nepakankamai efektyvus, nes išmatose rasta strongilų

kiaušinėlių, todėl jis dehelmintizuotas antihelminčių ivermektinu. Koprokopiniais tyrimais, praėjus 14 parų po gydymo ivermektinu, helmintų kiaušinėlių išmatose nerasta. 2 pav. pateikta strongilų eliminacijos dinamika. Pirmieji strongilai išmatose rasti praėjus 16 valandų po gydymo. Intensyviausiai helmintai iš arklio virškinimo trakto skyrėsi praėjus 23, 31, 34 valandoms (atitinkamai

640, 580, 620 strongilų). Intervalas tarp helmintų šalinimosi pradžios ir piko buvo 7 valandos. Daugiausia strongilų (55,5%) išmatose rasta antrąją parą. Eliminacija truko 38 valandas ir baigėsi praėjus 54 valandoms po dehelmintizavimo. Per tris paras po gydymo ivermektinu iš pirmojo arklio virškinimo trakto su išmatomis išsiskyrė 5 802 strongilai (2 lentelė).

2 lentelė. Dehelmintizavimo fenbendazolu intens efektyvumas (IE), vertinant pagal rastą helmintų skaičių

Arklio Nr.	Su išmatomis išsiskyrusių helmintų kiekis			IE, %
	Po fenbendazolo davimo	Po ivermektino davimo	Iš viso	
1	25 327	5 802	31 129	81,4
2	28 415	13 930	42 345	67,1
3	6 705	7 243	13 948	48,1

Antrojo (13 metų) arklio 1 g išmatų prieš dehelmintizavimą vidutiniškai rasta 240 strongilų kiaušinėlių (1 lentelė). Praėjus 14 parų po gydymo fenbendazolu rasta 33 kiaušinėliai (IE = 86,3%). Išsiskyrusių strongilų skaičius davus antihelminčių pateiktas 3 pav. Pirmieji strongilai išmatose rasti praėjus 21 valandai. Intensyviausia strongilų eliminacija nustatyta po 29, 30, 33 valandų (atitinkamai 4 890, 4 550 ir 2 860 strongilų). Intervalas tarp helmintų skyrimosi pradžios ir piko – 8 valandos. Daugiausiai strongilų (80,6%) išsiskyrė antrąją eksperimento parą. Eliminacija truko 95 valandas ir baigėsi praėjus 116 valandų po dehelmintizavimo. Gydant fenbendazolu, su arklio išmatomis išsiskyrė 28 415 strongilų (2 lentelė). Po šio dehelmintizavimo praėjus 14 parų, išmatose rasta strongilų kiaušinėlių, todėl šiam arkliui buvo duota antihelminčių ivermektino. Atlikus tyrimus praėjus 14 parų po gydymo ivermektinu, strongilų kiaušinėlių išmatose nerasta. Strongilų eliminacijos dinamika pateikta 4 pav. Po šio dehelmintizavimo pirmieji strongilai išmatose rasti praėjus 12 valandų. Intensyviausiai strongilai skyrėsi po 16, 19, 20, 23 valandų (atitinkamai 2 030, 1 960, 1 890 ir 2 200 strongilų). Intervalas tarp helmintų skyrimosi pradžios ir piko – 11 valandų. Daugiausia strongilų (90%) išsiskyrė pirmąją parą. Iš antrojo arklio virškinimo trakto po dehelmintizavimo ivermektinu jie skyrėsi 36 valandas. Per dvi paras po ivermektino davimo su išmatomis iš viso išsiskyrė 13 930 strongilų (2 lentelė).

Koprokopiniu išmatų tyrimu trečiajam arkliui (16 metų) nustatytas užsikrėtimas virškinimo trakto strongilais (667 strongilų kiaušinėliai 1 g išmatų) (1 lentelė). Koprokopiniais tyrimais, praėjus 14 parų po gydymo fenbendazolu, išmatose vidutiniškai rasta 113 strongilų kiaušinėlių (IE = 83,06%). Strongilų eliminacijos dinamika po dehelmintizavimo pateikta 5 pav. Helmintai pradėjo skintis po 22 valandų. Intensyviausiai strongilai skyrėsi praėjus 43, 49, 52 valandoms (atitinkamai 660, 520, 560 strongilų). Intervalas tarp helmintų skyrimosi pradžios ir piko – 21 valanda. Didesnioji strongilų dalis (67,1%) išsiskyrė antrąją eksperimento parą. Davus fenbendazolo helmintų, eliminacija truko 35 valandas ir baigėsi 57 valandą. Per tris paras šiame gydymo etape iš arklio virškinimo trakto

su išmatomis išsiskyrė 6 705 strongilai (2 lentelė). Bandomojo arklio išmatose, praėjus 14 parų po fenbendazolo davimo, rasta strongilų kiaušinėlių, todėl jam dar buvo skirta antihelminčių ivermektino. Atlikant tyrimus po 14 parų, helmintų kiaušinėlių nerasta. Strongilų eliminacijos dinamika pirmą ir antrą parą po dehelmintizavimo ivermektinu pateikta 6 pav. Pirmieji strongilai išmatose rasti praėjus 12 valandų. Intensyviausias jų skyrimasis nustatytas po 22, 23, 30 valandų (atitinkamai 980, 820, 1 040 strongilų). Intervalas tarp helmintų skyrimosi pradžios ir piko – 18 valandų. Per antrąją parą pasišalino 64,3% strongilų. Eliminacija truko 36 valandas ir baigėsi praėjus 48 valandoms po antihelminčių davimo. Gydant ivermektinu, iš šio arklio virškinimo trakto su išmatomis išsiskyrė 7 243 strongilai (2 lentelė).

Eksperimento metu, tiriant kontrolinį arklį, savaiminio strongilų skyrimosi nenustatyta. Koprokopinių tyrimų rezultatai eksperimento pradžioje ir pabaigoje praktiškai nesiskyrė (1 lentelė).

Prieš gydant fenbendazolu, bandomųjų arklių 1 g išmatų rasta vidutiniškai 831 strongilų kiaušinėlis, o praėjus 14 parų po dehelmintizavimo – 78 kiaušinėliai. Dehelmintizavus fenbendazolu visų eksperimentinių arklių išmatose rasta strongilų kiaušinėlių, tuo tarpu dehelmintizavus ivermektinu (antrinis dehelmintizavimas) jau 3 parą strongilų kiaušinėlių nerasta. Fenbendazolu dehelmintizuotų arklių išmatose rasta 60 447 strongilai, o dehelmintizavus ivermektinu jų išsiskyrė 26 975.

Įvertinus fenbendazolo efektyvumą pagal sumažėjusį kiaušinėlių skaičių, atitinkamai kiekvieno eksperimentinio arklio IE buvo 94,5%, 86,3%, ir 83,1% (vid. 90,7%), tuo tarpu pagal sumažėjusių strongilų skaičių IE buvo gerokai mažesnis ir siekė atitinkamai 81,4%, 67,1%, ir 48,1% (vid. 65,5%).

Tyrimo rezultatų aptarimas. Šiuo metu manoma, kad mažieji strongilai yra pagrindiniai patogeniniai arklių endoparazitai. Pradėjus naudoti naujus antihelminčius cheminius junginius, didžiųjų strongilų invazija ženkliai sumažėjo. Nustatyta, kad ir mažųjų strongilų invazija gali smarkiai sutrikyti arklių virškinimą. Be to, net ir nuolat gydant arklius antihelminčiais, ciatostomų invazija gana dažna. Arkliai gali būti užsikrėtę dešimtimis tūkstančių ciatostomų, bet ryškesni klinikiniai invazijos požymiai

gali neišryškėti. Priklausomai nuo arklio imuninės sistemos, amžiaus, ciatostomų invazijos intensyvumo, galimi įvairūs klinikiniai helmintų sukelti negalavimo požymiai. Dažniausiai užsikrėtę arkliai pradeda liesėti, gali viduriuoti, karščiuoti, kartais jiems diagnozuojama poodinė edema, anoreksija, diegliai. Ciatostomai sukelia aklosios ir gaubtinės žarnos uždegimą (Love et al., 1985; Reinemeyer, 1986; Collobert et al., 1996; Mair et al., 2000; Szell et al., 2002).

Radus daugiau nei 200 kiaušinėlių grame išmatų, nustatoma intensyvi parazitų invazija (Larsen et al., 2002). Tačiau kiaušinėlių skaičius gali nerodyti žarnyne randamų subrendusių kirminų gausumo (Osterman Lind et al., 2003). Pastaruosius duomenis patvirtina mūsų eksperimentas. Trijų tirtų arklių 1 g išmatų prieš dehelmintizavimą fenbendazolu buvo atitinkamai rasta 1 587, 240, 667 strongilų kiaušinėliai. Tuo tarpu dehelmintizavus dviem antihelmintikais išsiskyrė atitinkamai 31 129, 42 345 ir 13 948 kirminai.

Arklio virškinimo trakte gali parazituoti keliolika tūkstančių ciatostomų, bet jų skaičius, remiantis konkrečiais arklių tyrimais, labai skiriasi. H. Collobert-Laugier su bendraautorais nurodo, kad, ištyrus 42 arklius, vieno arklio organizme vidutiniškai rasta 11 297 mažieji strongilai, o kai kurių arklių – priskaičiuota iki 90 247 (2002). Australijoje (Mfitalodze, Hutchinson, 1990) arklių virškinimo trakte rasta vidutiniškai 15 890 strongilų, o E. Osterman Lind ir bendraautorų duomenimis, po arklių dehelmintizavimo jų priskaičiuota vidutiniškai 140 000 (2003). Atskiruose individuose randamų ciatostomų skaičius svyravo nuo 5 000 iki 500 000. Eksperimentiškai ponius užkrėtus ciatostomų lervomis, žarnų spindyje ir incistavusių gleivinėje ciatostomų skaičius, priklausomai nuo užkrėtimo būdo, siekė 60 898, 33 592, 30 794 (Love, Duncan, 1992).

Nustatyta, kad ciatostomų invazijos intensyvumas priklauso nuo gyvulio amžiaus (Dunsmore, Jue Sue, 1985). Jauniems arkliams dažniau būdinga ir ligos klinika (Love et al., 1985). Tuo tarpu senoki gyvuliai (>15 metų) kirminų turi mažiau (Ricci, Sabatini, 1992). Mažesnis senesniuose gyvuliuose randamų ciatostomų skaičius aiškinamas palaiptiesiems atsirandančiu imunitetu šiems parazitams (Baudena et al., 2003). Deja, imunitetas atsparumas vystosi gana lėtai ir yra silpnas, todėl ir senesnių gyvulių organizme parazituoja gana daug ciatostomų (Klei, Chapman, 1999), sukeliančių klinikinę ligos eigą bet kurio amžiaus arkliams, bet kuriuo metu laiku (Love et al., 1985).

Eksperimento rezultatai rodo, kad dehelmintizavus bandomuosius arklius iš seniausio – 16 metų – virškinimo trakto su išmatomis kirminų išsiskyrė mažiau, nei iš kitų dviejų (8 ir 13 metų) arklių organizmo. Nors strongilų invazija antrajam (13 metų) arkliui nustatyta kiek intensyvesnė nei pirmajam (8 metų), šis skirtumas neryškus.

Seniausio arklio (16 metų) organizme rasta mažiausiai kirminų, tačiau atsparių fenbendazolui ciatostomų dalis populiacijoje buvo daug didesnė palyginti su kitais tirtais arkliais ir sudarė 51,9%. 13 metų arklio dehelmintizavimo fenbendazolu efektyvumas buvo didesnis nei seniausio

arklio ir siekė 67,1%. Jauniausio (8 metų) arklio dehelmintizavimo efektyvumas šiame eksperimente buvo didžiausias – 81,4%.

Tyrėjai pažymi, kad dažniausiai arkliams diagnozuojama mišri ciatostomų invazija, o randamų ciatostomų rūšinė įvairovė yra tiesiogiai susijusi su invazijos intensyvumu (Collobert-Laugier et al., 2002). Tačiau netgi esant intensyviai invazijai, didesnę dalį ciatostomų populiacijos sudaro tik kelių rūšių helmintai. Dažniausiai radus apie 15–20 ciatostomų rūšių, tik apie 6–10 jų yra gausios ir vyrauja populiacijoje (Reinemeyer et al., 1984; Collobert-Laugier et al., 2002; Osterman-Lind et al., 2003).

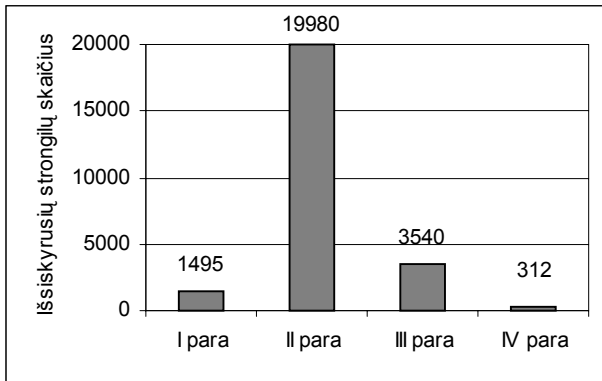
Manoma, kad atsparios antihelmintikams ciatostomų populiacijos rūšinė sudėtis palyginti su pradine populiacija gali nesikeisti. Tokiais atvejais yra kelios ciatostomų rūšys, atsparios antihelmintikui, o atsparių rūšių individų tokioje populiacijoje padaugėja (Reinemeyer et al., 1984). Kelerius metus tiriant ciatostomų populiacijos rūšinę sudėtį organizme ponijų, nuolatos gydytų antihelmintikais, aptikta, kad iš 20 dažniausiai randamų ciatostomų rūšių dviejų rūšių gausa sumažėjo, penkių – nekito, trijų rūšių iš pradžių pagausėjo, o vėliau nekito, penkių rūšių gausa iš pradžių didėjo, o vėliau sumažėjo, penkių rūšių gausa didėjo palaiptiesiems (Lyons, 2003).

Vertinant strongilų eliminacijos pradžią po dehelmintizavimo fenbendazolu, didesnių laiko skirtumų nesusidarė, nors šiek tiek ankstesnę ciatostomų eliminacijos pradžią iš pirmojo arklio organizmo būtų galima paaiškinti mažesniu ciatostomų atsparumu skirtam antihelmintikui ir intensyvesne invazija, dažniau būdinga jaunesniems gyvuliams. Eliminacijos trukmės skirtumus taip pat reikėtų aiškinti individualiomis arklių savybėmis, invazijos intensyvumu, skirtingu ciatostomų atsparumu vaistams. Eliminacijos trukmė daugiau priklausė nuo ciatostomų invazijos intensyvumo ir kiek mažiau buvo susijusi su atsparių fenbendazolui individų skaičiumi populiacijoje. Esant didžiausiai invazijai (antrasis arklys), ciatostomų eliminacija truko ilgiausiai ir ciatostomų skyrimosi pikas prasidėjo anksčiau, nei esant mažesnei invazijai.

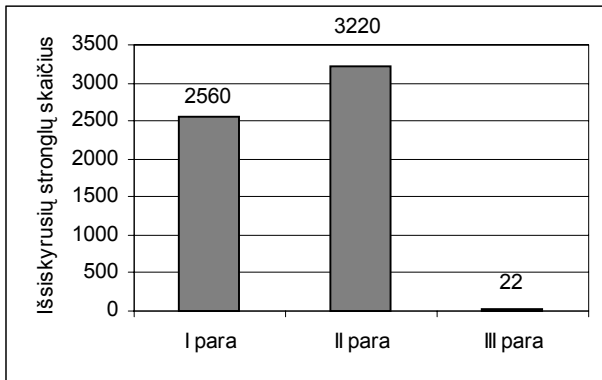
Labiausiai skyrėsi ciatostomų eliminacijos pradžios ir didžiausio jų kiekio išmatose nustatymo momento intervalai. Ilgiausias intervalas nustatytas seniausio (16 metų) arklio – 21 valanda. Kadangi šiuo atveju invazija nebuvo tokia intensyvi, kaip kitais dviem atvejais, intervalas galėjo būti ilgesnis dėl didesnės atsparių ciatostomų dalies populiacijoje.

Analizuojant strongilų eliminacijos pradžią dehelmintizavus ivermektinu, didesnių laiko skirtumų nebuvo, nors iš pirmojo arklio organizmo ciatostomų eliminacija prasidėjo šiek tiek anksčiau, kaip ir dehelmintizavus fenbendazolu. Ciatostomų eliminacija iš kitų dviejų arklių organizmo davus ivermektino prasidėjo anksčiau, nei davus fenbendazolo, ir buvo daug trumpesnė. Tokie šio eksperimento duomenys neprieštarauja nustatytiems strongilų eliminacijos skirtumams po dehelmintizavimo skirtingais antihelmintikais (Osterman Lind et al., 2003). Anot šių

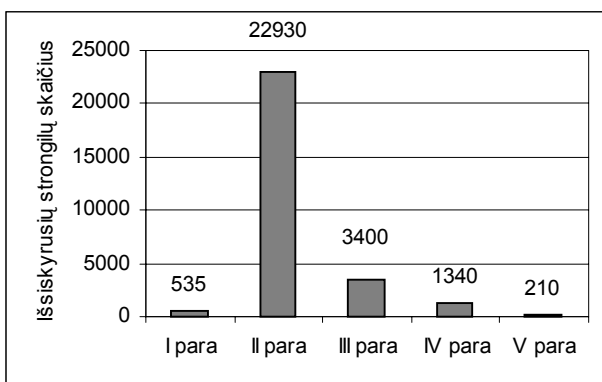
mokslininkų, dehelmintizavus ivermektinu daugiausia helmintų išsiskyre pirmąją parą, tuo tarpu dehelmintizavus fenbendazolu – antrą parą. Skirtingą helmintų eliminacijos dinamiką galima paaiškinti ir nevienodu antihelmintinių vaistų poveikiu. Fenbendazolas trikdo helminto beta tubulino molekulių polimerizaciją, dėl to sutrinka ląstelės funkcijos ir parazitas žūva. Nustatyta, jog šis vaistas veikia lėčiau nei antihelmintikai, kurie pažeidžia parazitų nervų sistemą, pavyzdžiui, ivermektinas ir pirantelis (Martin, 1997).



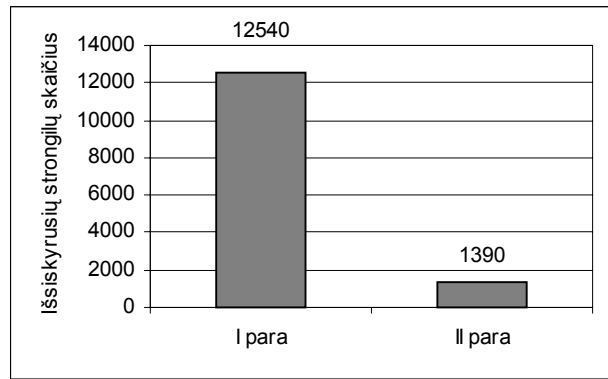
1 pav. Strongilių skyrimasis davus fenbendazolo (arklys Nr.1)



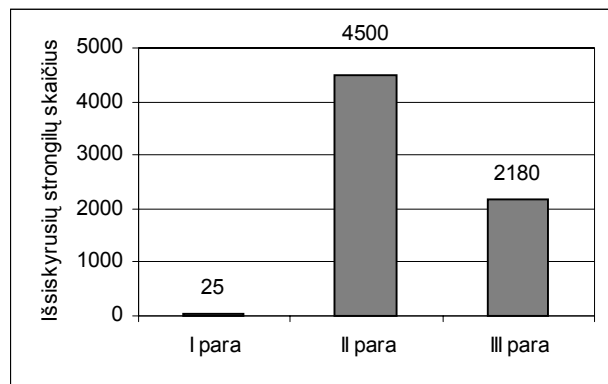
2 pav. Strongilių skyrimasis davus ivermektino (arklys Nr.1)



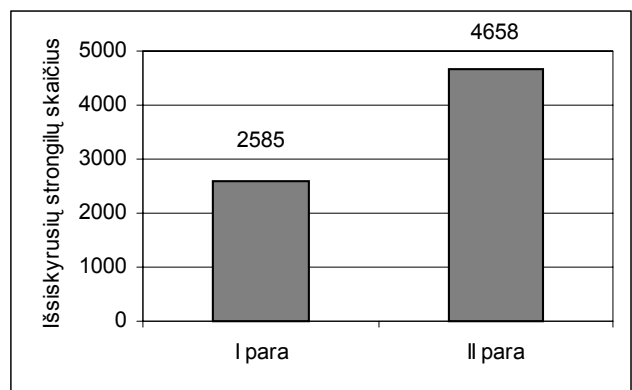
3 pav. Strongilių skyrimasis davus fenbendazolo (arklys Nr.2)



4 pav. Strongilių skyrimasis davus ivermektino (arklys Nr.2)



5 pav. Strongilių skyrimasis davus fenbendazolo (arklys Nr.3)



6 pav. Strongilių skyrimasis davus ivermektino (arklys Nr.3)

Ciatostomų eliminacijos trukmė davus ivermektino, visų tiriamų arklių buvo labai panaši, nors invazijos intensyvumas ir skyrėsi. Labiausiai skyrėsi ciatostomų skyrimosi pradžios ir didžiausio jų kiekio išmatose radimo laiko intervalas. Ilgiausias intervalas nustatytas seniausio (16 metų) arklio. Ivermektinas yra labai efektyvus arklių virškinimo trakto antihelmintikas ir kol kas nerasta duomenų apie arklių strongilių pripratimą prie šio vaisto. Strongilių eliminacijos piko susidarymo

skirtumai galėtų labiau priklausyti nuo individualių arklio savybių. Be to, yra duomenų, kad tam tikros strongilų rūšys skirtingu dažnumu randamos įvairiose žarnyno vietose. Nors didesnė dalis ciatostomų rūšių buvo dažniau randama storojoje žarnoje, kelios rūšys aptinkamos aklojoje žarnoje (Bucknel et al., 1995; Collobert-Laugier et al., 2002). Tokia biologinė ciatostomų savybė taip pat gali daryti įtaką parazitų eliminacijai ir lemti skirtingą eliminacijos piko susidarymo laiką.

Helmintų atsparumas antihelmin tikams dažniausiai nustatomas helmintų kiaušinėlių išmatose skaičiaus mažėjimo įvertinimo metodu. Deja, toks vertinimas nėra tikslus, o atsparumas dažniausiai nustatomas tik tuomet, kai 25% helmintų populiacijos jau pasidaro atsparūs antihelmin tikui. Tai gi svarbu ieškoti ir kitų metodų ar papildomų vertinimo kriterijų, kuriais būtų galima tiksliau ir greičiau nustatyti helmintų atsparumą antihelmin tikams. Jau aptarta ekstensefektyvumo (EE), rodančio procentą gyvūnų, kurių organizme po dehelmintizavimo nerasta helmintų arba išmatose helmintų kiaušinėlių, svarba tokiuose tyrimuose (Vyšniauskas, Kaminskaitė, 1999; Vyšniauskas et al., 2004). Nors šis rodiklis ir suteikia svarbios informacijos helmintų pripratimo prie antihelmin tikų tyrimuose, jo skaičiavimai taip pat paremti helmintų kiaušinėlių išmatose nustatymu. Taikant dehelmintizavimą dviem skirtingų klasių antihelmin tikais, būtų gaunama tikslesnė informacija apie helmintų atsparumą antihelmin tiniais cheminiais junginiais. Tai būtų tiesioginis dehelmintizavimo efektyvumo įvertinimas. Tokio metodinio sprendinio pranašumą prieš kitus būdus rodo nustatyti dehelmintizavimo efektyvumo skirtumai, lyginant fenbendazolo veiksmingumą pagal strongilų kiaušinėlių išmatose skaičiaus sumažėjimą po dehelmintizavimo su nustatytu helmintų skaičiaus sumažėjimu. Vaisto efektyvumas pagal strongilų kiaušinėlių skaičiaus išmatose sumažėjimą, dehelmintizavus tris arklius, atitinkamai sudarė 94,5%; 86,3% ir 83,1%, o vertinant pagal sumažėjusį strongilų skaičių, preparato efektyvumas atitinkamai buvo 81,4%; 67,1% ir 48,1%.

Antihelmin tiko oksibendazolo efektyvumo skirtumus, vertinant pagal strongilų kiaušinėlių skaičiaus sumažėjimą ir pagal kirminų skaičiaus pokyčius, nustatytus po skrodimo, pažymi ir E. Lyons (2003). Ir šiuo atveju, tiriant antihelmin tiko poveikį tiesiogiai helmintams, nustatytas mažesnis antihelmin tiko efektyvumas, nei skaičiuojant pagal sumažėjusį helmintų kiaušinėlių skaičių.

Minima (Osterman-Lind et al., 2003), kad ciatostomų rūšių galima nustatyti gyvulį dehelmintizavus. Tokių tyrimų duomenys sutampa su skrodimo duomenimis. Tai gi dehelmintizavimo dviem skirtingais antihelmin tikais tyrimai galėtų suteikti vertingos informacijos apie ciatostomų rūšių atsparumą antihelmin tikams. Nors toks atsparumo antihelmin tikams nustatymo būdas kartais yra imlus laikui ir darbui, jis suteiktų papildomos svarbios informacijos išvengiant gyvulių, ypač brangesnių ar retesnių, skerdimo. Dažniausiai skrodžiami senoki ar sergantys gyvuliai, todėl metodas būtų efektyvus tiriant įvairių amžiaus grupių

gyvūnų parazitologijos problemas (Osterman-Lind et al., 2003). Toks helmintų atsparumo nustatymas dviejų skirtingų klasių antihelmin tikų atžvilgiu, žinant, kad antrasis skirtas antihelmin tikas yra labai efektyvus, gali būti pritaikytas įvairioms gyvūnų rūšims.

Autorių nuomone, gyvulių dehelmintizavimo dviem antihelmin tikais vertinimas strongilų skaičiaus mažėjimo metodu yra objektyvesnis, pigesnis ir prieinamesnis palyginti su helmintologinio skrodimo metodu, tačiau šioms prielaidoms pagrįsti reikalingi tolesni tyrimai.

Išvados. 1. Arklių strongilų rezistentiškumui antihelmin tikams įvertinti pasiūlytas helmintų skaičiaus mažėjimo (HSS) testas naudojant du antihelmin tikus. Iš pradžių duodamas antihelmin tikas, prie kurio, ko gero, arkliai įprato, tada skiriamas efektyvus preparatas, kuris anksčiau tiriamajame žirgynne nebuvo naudotas.

2. Arklių strongilų rezistentiškumo antihelmin tikams vertinimas HSS testu yra objektyvesnis ir tikslesnis palyginti su HKSS testu.

3. HSS testas parodė, kad SP UAB Vilniaus žirgyno arklių strongilai yra atsparūs fenbendazolui.

Literatūra

1. Baudena M. A., Chapman M.R., Horohov D.W., Klei R.T. 2003. Protective responses against cyathostome infections. The 19th international Conference of the WAAVP. P. 86.
2. Bjørn H. 1994. Workshop summary: Anthelmintic Resistance. *Vet. Parasitol.* Vol. 54. P. 321–325.
3. Bjørn H., Sommer C., Schougard H., Henriksen S. A., Nansen P. 1991. Resistance to Benzimidazole Anthelmintics in Small Strongyles (*Cyathostominae*) of horses in Denmark. *Acta. Vet. Scand.* Vol. 32. P. 253–260.
4. Boersema J. H., Borgsteede F. H. M., Eysker M., Elema T. E., Gaasenbeek C. P. H., Van der Burg W. P. J. 1991. The Prevalence of Anthelmintic Resistance of horse Strongyles in the Netherlands. *Vet. Quart.* Vol. 13. P. 209–217.
5. Bucknell D. G., Gasser R. B., Beveridge I. 1995. The Prevalence and Epidemiology of Gastrointestinal Parasites of horses in Victoria, Australia. *Int. J. Parasitol.* Vol. 25. P. 711–724.
6. Chroust K. 2000. Occurrence of Anthelmintic Resistance in Strongylid Nematodes of sheep and horses in the Czech Republic. *Vet. Met.-Czech.* Vol. 45. P. 233–239.
7. Collobert C., Tariel G., Bernard N., Lamidey C. 1996. Prevalence and Pathogenicity of Cyathostome Larvae in Normandy: Retrospective study from 824 horses examined post-mortem. *Recueil De Medecine Veterinaire.* Vol. 172. P. 193–200.
8. Collobert-Laugier H., Hoste Sevin C., Dorchie P. 2002. Prevalence, Abundance and Site Distribution of Equine Small Strongyles in Normandy, France. *Vet. Parasitol.* Vol. 110. P. 77–83.
9. Craven J., Bjørn H., Barnes E. H., Henriksen S. A., Nansen P. 1999. A comparison of *in vitro* tests and a faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse Strongyles. *Vet. Parasitol.* Vol. 85. P. 49–59.
10. Čorba J., Varady M. 1998. Methods of Detection of Anthelmintic Resistance in Nematodes of domestic animals. *Vet. Med.-Czech.* Vol. 2. P. 347–354.
11. Dorny P., Meijer I., Smets K., Vercurysse J. 2000. A survey of Anthelmintic Resistance on Belgian horse farms. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* Vol. 69. P. 334–337.
12. Dunsmore J. D., Jue Sue L. P. 1985. Prevalence and Epidemiology of the major gastrointestinal parasites of horses in Perth, Western Australia. *Equine Vet. J.* Vol. 17. P. 208–213.
13. Henriksen S. A., Aagaard A. 1976. A simple flotation and McMaster method. *Nord. Vet. Med.* Vol. 28. P. 392–397.
14. Ihler C. F. 1995. A field survey on Anthelmintic Resistance in Equine Small Strongyles in Norway. *Acta. Vet. Scand.* Vol. 36. P. 135–143.
15. Klei T. R., Chapman M. R. 1999. Immunity in Equine Cyathostome infections. *Vet Parasitol.* Vol. 85. P. 123–133.

16. Larsen M. M., Lendal S., Chriel M., Olsen S. N., Bjørn H. 2002. Risk Factors for High Endoparasitic Burden and the Efficiency of a single Anthelmintic Treatment of Danish horses. *Acta Vet. Scand.* Vol. 43. P. 99–106.
17. Lyons E. 2003. Population-S Benzimidazole- and Tetrahydropyrimidine-resistant Small Strongyles in a pony herd in Kentucky (1977–1999): effects of anthelmintic treatment on the parasites as determined in critical tests. *Parasitol. Res.* Vol. 91. P. 407–411.
18. Love S., Duncan J. L. 1992. Development of Cyathostome infection of Helminth-naive Foals. *Equine Vet. J.* (Suppl. 13). P. 93–98.
19. Love S., Murphy D., Mellor D. 1985. Pathogenicity of Cyathostome infection. *Vet. Parasitol.* Vol. 85. P. 113–121.
20. Mair T. S., Sutton D. G. M., Love S. 2000. Caecocaecal and Caecocolic Intussusceptions associated with larval Cyathostomosis in four young horses. *Equine Vet. J.* (Suppl. 32). P. 77–80.
21. Martin R. J. 1997. Modes of Action of Anthelmintic Drugs. *Vet. J.* Vol. 154. P. 11–34.
22. Mfitilodze M. W., Hutchinson G. W. 1990. Prevalence and Abundance of Equine Strongyles (Nematoda: *Strongyloidea*) in tropical Australia. *J. Parasitol.* Vol. 76. P. 487–494.
23. Osterman Lind E., Eysker M., Nilsson O., Uggla A., Höglund J. 2003. Expulsion of Small Strongyle Nematodes (*Cyathostomin* spp) following deworming of horses on a stud farm in Sweden. *Vet. Parasitol.* Vol. 115. P. 289–299.
24. Reinemeyer C. R. 1986. Small Strongyles. Recent advances. *Veterinary Clinics of North America - Equine Pract.* Vol. 2. P. 281–312.
25. Reinemeyer C. R., Smith S. A., Gabel A. A., Herd R. P. 1984. The Prevalence and Intensity of Internal Parasites of horses in the U.S.A. *Vet. Parasitol.* Vol. 15. P. 75–83.
26. Ricci M., Sabatini A. 1992. Parasitic Helminths of the cecum and colon of equidae in Italy. *Parasitologia.* Vol. 34. P. 53–60.
27. Szell Z., Dobos-Kovacs M., Bakos Z., Kis Z., Varga I. 2002. Equine larval cyathostomosis. Short literature review and case report. *Magyar Allatorvosok Lapja.* Vol. 124. P.153–160.
28. Vyšniauskas A., Kaminskaitė I. 1999. Infection of intestinal helminths in sows and horses after treatment with different anthelmintics. *B. Lithuan. Vet. Instit.*, Vol. 3 P. 120–131.
29. Vyšniauskas A., Kaziūnaitė V., Kaminskaitė I., Petkevičius S., Pereckienė A., Craven J. 2004. The role of extense efficacy in the evaluation of anthelmintic resistance in horse strongyles. *Helminthologia.* Vol. 41 . P. 73–79.