

بررسی صحرایی وجود مقاومت نسبت به لوامیزول در نماتودهای دستگاه گوارش گوسفندان استان خوزستان

دکتر عباس غلامیان^{۱*} دکتر علی اسلامی^۲ دکتر لیلی نبوی^۳ دکتر عبدالرحمن راسخ^۴

دریافت مقاله: ۱۰ آبان ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۳۱ فروردین ماه ۱۳۸۴

A Field Survey on Resistance of Gastrointestinal Nematodes to Levamisole in Sheep in Khuzestan Province of Iran

Gholamian, A.¹, Eslami, A.², Nabavi, L.³, Rasekh, A. R.⁴

¹Veterinary office of Khuzestan Province, Ahvaz-Iran. ²Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran. ³Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shaheid Chamran, Ahvaz, Ahvaz-Iran. ⁴Department of Statistic, Faculty of Mathematical Science, Shaheid Chamran University, Ahvaz, Ahvaz-Iran.

Objective: To determine resistance of sheep nematodes to levamisole.

Design: Experimental field survey.

Animals: In this survey, 15 sheep flocks were selected from three geographical regions of Khuzestan province including mountainous, hilly and plain area. On each flock, 30 sheep were randomly distributed into two groups (control and test) of 15 animals each.

Procedure: Faecal egg count reduction test was performed according to guidelines of W.A.A.V.P.1 and percentage of faecal egg count reduction was calculated for each flock. In the resistant flocks, faecal culture and necropsy of untreated and treated groups, were used to determine resistant species of the nematodes.

Statistical analysis: Drug resistance was detected if: i) the percentage of reduction in egg counts was less than 95% and ii) the 95% confidence level was less than 90%. ANOVA and t-test were used for analysis of the results.

Result: Results of faecal egg count reduction test showed that 66.6% of the flocks were resistant ones, 13.4% suspected to be resistance and the rest susceptible to levamisole.

Conclusion: This survey showed that levamisole efficacy in the sheep flocks of highland regions in Khuzestan province reduced significantly. This reduction is due to development of resistant isolates of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus vitrinus* in the resistant flock. *J.Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 61, 1:7-13, 2006.*

Keywords: levamisole, resistance, Khuzestan, sheep.

Corresponding author's email: golamin_abbas@yahoo.com

هدف: تشخیص مقاومت احتمالی نماتودهای لوله گوارش گوسفند نسبت به لوامیزول.
طرح: مطالعه میدانی.

حیوانات: در این مطالعه تعداد ۱۵ گله گوسفند در ۳ منطقه جغرافیایی استان خوزستان شامل کوهستانی (۱)، نیم کوهستانی (۲) و جلگه ای (۳) انتخاب و در هر گله ۳۰ گوسفند (کنترل و مورد آزمایش) ۱۵ تایی دام جهت آزمایش مشخص گردید.

روش کار: در مطالعه حاضر مقاومت نسبت به لوامیزول بر اساس آزمون کاهش تعداد تخم در مدفوع (Faecal egg count reduction test)، کشت مدفوع (culture) و شناسایی نوزادهای عفونی (Efficacy test) و آزمایش تاثیر (World Association for Advancement of Veterinary Parasitology) مورد بررسی قرار گرفت. در آزمون کاهش تخم در مدفوع، بر اساس دستورالعمل انجمن جهانی توسعه انگل شناسی دامپزشکی، درصد کاهش تخم در مدفوع پس از درمان در هر یک از گله های مورد آزمایش محاسبه و با درصد کاهش مورد انتظار مقایسه گردید. همچنین در گله های مقاوم، ۱۲ روز پس از درمان، تعداد راس از دامهای گروه کنترل و ۴ راس از دامهای گروه مورد آزمایش کالبد گشایی و بوسیله شناسایی نماتودهای موجود در لوله گوارش آنها، میزان اثر لوامیزول بر روی گونه های مختلف تعیین گردید.

آنالیز آماری: وجود مقاومت در گله های مورد مطالعه بر اساس دستورالعمل انجمن جهانی توسعه انگل شناسی دامپزشکی معین گردید: در گله هایی که ۱) درصد کاهش تخم در مدفوع پس از درمان کمتر از ۹۵ درصد بوده و ۲) فاصله اطمینان ۹۵ درصد آن کمتر از ۹۰ درصد باشد، مقاومت وجود دارد و در صورتی که یکی از این دو شرط وجود داشته باشد از نظر مقاومت مشکوک می باشد. جهت آنالیز اطلاعات از آزمون t- و آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد.

نتایج: نتیجه آزمون کاهش تعداد تخم در مدفوع نشان داد که مقاومت نسبت به لوامیزول در ۶۶/۶ درصد گله های مورد آزمایش وجود دارد، ۱۳/۴ درصد گله ها مشکوک به مقاومت و بقیه نسبت به لوامیزول حساس می باشند و در مقایسه اثر ضد کرمی لوامیزول داخلی با نوع خارجی کنترل شده تفاوت معنی داری بین اثر آنها مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: این بررسی نشان داد که اثر ضد کرمی لوامیزول در گله های گوسفند مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی استان خوزستان کاهش قابل ملاحظه ای یافته و کاهش اثر این دارو و علت ایجاد جدایه های مقاوم استر تاژ یاسیر کو مسینکتا و تریکوسترونژیلوس ویترونیوس می باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۱، ۷-۱۳.
واژه های کلیدی: لوامیزول، مقاوم، خوزستان، گوسفند.

با کشف داروهای وسیع الطیف ضد کرم و آشنایی دامداران با آثار قاطع و سریع

۱) اداره کل دامپزشکی استان خوزستان، اهواز - ایران.

۲) بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

۴) گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

* نویسنده مسؤول: golamin_abbas@yahoo.com



در هر گله تعداد ۳۰ رأس گوسفند به روش تصادفی انتخاب و به ۲ گروه ۱۵ تایی شامل گروه کنترل (درمان نشده) و گروه درمانی (درمان شده با لوامیزول) تقسیم شدند. در طی دوره آزمایش از تجویز هر گونه دارویی به گروه کنترل خودداری بعمل آمد و در گروه درمانی، دامها بر اساس وزن سنگینترین دام در گروه با دوز 8 mg/kg لوامیزول خوراکی ساخت داخل کشور درمان شدند. ۱۰ روز پس از درمان از کلیه دامهای دو گروه (کنترل و درمانی) مجدداً آزمایش مدفوع بعمل آمد. کلیه نمونه‌های مدفوع به روش کلیتون لین و با شمارش کلی تعداد تخم در گرم مدفوع مورد آزمایش قرار گرفت (۲). درصد کاهش تخم در مدفوع، در گله‌های مورد مطالعه، با استفاده از فرمول: $R=100(1-Xt/Xc)$ محاسبه گردید.

(R) درصد کاهش تخم در گرم مدفوع. (X t) میانگین حسابی تعداد تخم در گرم مدفوع گروه درمانی. (X c) میانگین حسابی تعداد تخم در گرم مدفوع گروه شاهد.

مقاومت در مواردی که $R < 95\%$ و فاصله اطمینان 95% کمتر از 90% درصد باشد تایید می‌گردد. در مواردی که یکی از این دو شرط وجود داشته باشد مقاومت، مشکوک گزارش می‌گردد.

الف-۲- مقایسه اثر ضد کرمی لوامیزول ساخت داخل و با لوامیزول

خارجی: چون ممکن است عدم کاهش تخم در مدفوع پس از درمان، به عواملی غیر از مقاومت از جمله فارماکودینامی دارو مرتبط باشد، در ۶ گله گوسفند، اثر ضد کرمی لوامیزول تولید داخل، که در بخش ۱-الف-مورد استفاده قرار گرفته بود، با لوامیزول خارجی مقایسه گردید. در هر یک از این گله‌ها ۳ گروه ۱۰ تایی دام بشرح زیر انتخاب گردید:

گروه کنترل در طول آزمایش هیچ‌گونه دارویی دریافت نکرد. گروه لوامیزول داخلی با استفاده از لوامیزول خوراکی ساخت داخل با دوز 8 mg/kg درمان گردید. گروه لوامیزول خارجی با استفاده از محلول $2/5$ درصد لوامیزول خوراکی ساخت یانسن بلژیک با دوز 8 mg/kg درمان شد.

در این گله‌ها نیز درصد کاهش تخم پس از درمان با دو دارو با منشأ ساخت مختلف کاملاً مانند روش شرح داده شده در بند ۱-الف محاسبه و با هم مقایسه گردید.

ب- تعیین جنس نماتودهای مقاوم بر اساس کشت مدفوع: برای تعیین جنس نماتودهای مقاوم در گله‌های تحت آزمایش، ۱۰ روز پس از درمان با لوامیزول، مقدار ۲۰ گرم از مدفوع گوسفندان هر گروه (کنترل و درمان شده) را کاملاً خرد کرده و به مدت ۷ روز در آنکوباتور 27°C درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس نوزادهای عفونی‌زای موجود در نمونه‌های کشت را با استفاده از دستگاه برمن از مدفوع جدا نموده و بر اساس کلید تشخیص نوزاد نماتودهای لوله‌گوارش گوسفند (۲۳، ۷) شناسایی گردید. پس از شمارش تعداد ۱۰۰ نوزاد در هر نمونه و مقایسه نسبت درصد هر جنس در گروه کنترل با درمان شده، جنس نماتود مقاوم در گله‌های مورد آزمایش مشخص گردید.

پ- بررسی مقاومت بر اساس کالبد گشایی: بمنظور بررسی اثر لوامیزول بر روی گونه‌های نماتود موجود در لوله‌گوارش و تعیین گونه نماتودهای

گزارشاتی مبنی بر کاهش اثر بخشی این داروها بر روی برخی از گونه‌های نماتود منتشر گردید.

اولین مورد مقاومت همونکوس کونتور توس نسبت به بنزیמידازول از آمریکا (۱۳) و نسبت به لوامیزول از استرالیا (۱۶) گزارش گردید. پس از آن بتدریج موارد متعددی از مقاومت نسبت به بنزیמידازول در همونکوس کونتور توس، گونه‌های استرناژیا و تریکوسترونژیلوس و نسبت به لوامیزول در گونه‌های استرناژیا و تریکوسترونژیلوس در گله‌های گوسفند کشورهای مختلف از جمله استرالیا، آفریقای جنوبی، آمریکای جنوبی گزارش گردید و اکنون مقاومت نماتودهای نشخوارکنندگان کوچک نسبت به داروهای ضد نماتود بصورت مشکل جدی در نیمکره جنوبی در آمده است (۳۳، ۲، ۳).

بر اساس اطلاعات موجود مصرف لوامیزول از سال ۱۳۴۲ در دامداریهای کشور شروع شد و بتدریج با آشنایی دامداران با آثار مفید این دارو، مصرف آن در تمام دامداریهای که گوسفند و بز پرورش می‌دادند رواج یافت. به طوری که برخی از دامداران بدون آگاهی از اثرات مفید این ماده شیمیایی در تقویت سیستم ایمنی بدن، عقیده داشتند که لوامیزول علاوه بر درمان بیماریها انگلی جهت درمان سایر بیماریهای گوسفند و بز نیز مفید می‌باشد و لذا بدون توجه به وجود آلودگی انگلی، چندین بار در سال دامهای خود را با لوامیزول درمان می‌کردند. گرچه از سال ۱۳۶۸ طرح راهبردی مبارزه با آلودگی‌های کرمی نشخوارکنندگان کوچک با استفاده از داروهای آلبندازول به مرحله اجرا گذاشته شد ولی اکثر دامداران علاوه بر آن از لوامیزول نیز در درمانهای اضافی استفاده می‌کردند. علی‌رغم مصرف طولانی مدت این دارو در کشور تاکنون فقط یک بررسی مقدماتی درباره ایجاد مقاومت در برابر آن انجام گرفته است (۴).

هدف از مطالعه حاضر بررسی وجود مقاومت نماتودهای لوله‌گوارش گوسفند و در برابر لوامیزول تولید داخل و خارج کشور است.

مواد و روش کار

در این بررسی برای تعیین مقاومت نماتودهای لوله‌گوارش در برابر لوامیزول از دوروش متداول در دنیا شامل کاهش تعداد تخم در مدفوع و کالبد گشایی دامهای درمان شده استفاده گردید. همچنین با تنظیم پرسشنامه، نحوه مدیریت و درمان ضد انگلی گله‌های گوسفند در مناطق مختلف استان، مورد بررسی قرار گرفت.

الف - بررسی مقاومت بر اساس کاهش تعداد تخم در گرم مدفوع.

الف-۱- لوامیزول ساخت داخل: تعداد ۱۵ گله گوسفند در سه منطقه جغرافیایی استان شامل کوهستانی (منطقه ۱) نیم کوهستانی (منطقه ۲) و جلگه‌ای (منطقه ۳) انتخاب گردید و اثر لوامیزول ساخت داخل کشور در بر اساس کاهش تخم در مدفوع در این گله‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس دستورالعمل W.A.A.V.P این گله‌ها، باید دارای میانگین تعداد تخم در گرم مدفوع (EPG) بیش از ۱۵۰ بوده و در مدت ۸ تا ۱۲ هفته قبل از شروع بررسی، داروی ضد نماتود مصرف نکرده باشند (۱۰).



جدول ۱- اثر ضد کرمی لوامیزول ساخت داخل (۸mg/kg) در ۱۵ گله گوسفند در استان خوزستان.

شماره گله	منطقه جغرافیایی	میانگین EPG پس از درمان		درصد کاهش EPG (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)	وضعیت گله
		کنترل	لوامیزول		
۱	نیم کوهستانی	۳۴۵	۱۲۷	۶۳(۴۵-۷۵)	مقاوم
۲	کوهستانی	۴۳۵	۱۸۱	۵۸(۳۸-۷۲)	مقاوم
۳	نیم کوهستانی	۳۶۷	۱۱۸	۶۷(۵۲-۷۹)	مقاوم
۴	جلگه‌های	۳۸۷	۲۷	۹۳(۸۸-۹۶)	مشکوک
۵	جلگه‌های	۴۹۷	۴۲	۹۱(۸۳-۹۶)	مشکوک
۶	کوهستانی	۱۷۴	۳۶	۷۹(۶۹-۸۶)	مقاوم
۷	جلگه‌های	۹۹۸	۲	۹۹(۹۹-۱۰۰)	حساس
۸	جلگه‌های	۸۵۰	۲	۹۹(۹۹-۱۰۰)	حساس
۹	نیم کوهستانی	۲۳۰	۱۰۱	۵۶(۳۴-۷۱)	مقاوم
۱۰	نیم کوهستانی	۲۱۹	۱۰۷	۵۱(۲۶-۶۷)	مقاوم
۱۱	جلگه‌های	۱۹۵	۶	۹۷(۹۵-۹۹)	حساس
۱۲	کوهستانی	۱۶۸	۶۷	۶۰(۴۵-۷۲)	مقاوم
۱۳	کوهستانی	۲۲۲	۶۶	۷۰(۵۰-۸۲)	مقاوم
۱۴	کوهستانی	۳۴۴	۱۱۲	۶۷(۴۵-۸۱)	مقاوم
۱۵	نیم کوهستانی	۳۱۳	۱۲۳	۶۱(۲۷-۷۹)	مقاوم

ب- نتایج کشت مدفوع و تعیین جنس نماتودهای مقاوم: به طوری که در جدول (۲) ملاحظه می‌شود نتایج کشت مدفوع گروه‌های کنترل (درمان نشده) نشان داد که جمعیت غالب نماتودهای موجود در لوله گوارش گوسفندان استان خوزستان شامل گونه‌های استرناژیا و تریکوسترونیلوس و همونکوس کونتوتوس می‌باشند در صورتی که از کشت گروه‌های درمان شده با لوامیزول در گله‌های مقاوم نوزادهای استرناژیا و تریکوسترونیلوس جدا گردید و در گله‌های مشکوک و حساس بدلیل آنکه اکثریت کرم‌های موجود از بین رفته بودند از کشت مدفوع گروه‌های درمان شده نوزادی جدا نگردید.

پ- نتایج بررسی مقاومت بر اساس کالبد گشایی: پس از کالبد گشایی ۴ رأس گوسفند از گروه کنترل و ۶ رأس گوسفند درمان شده با لوامیزول، میانگین کرم‌های جدا شده از گروه کنترل و درمان شده محاسبه گردید و نتایج مربوطه در جدول (۴) نشان داده شده است.

بحث

مقاومت نماتودهای لوله گوارش نشخوار کنندگان بویژه گوسفند و بز در برابر داروهای ضد کرمی از جمله لوامیزول - مورانتل، بنزیמידازول ها، ماکروسولیکلیک لاکتونها و سالیسیل آنالایدها که کلیه آنها بجز مورانتل در ایران بفروش می‌رسند یکی از مشکلات پرورش نشخوار کنندگان کوچک در تمام دنیا است. مقاومت عمدتاً در گله‌های گوسفند و بز مشاهده شده و کمتر در گاو و سایر دامها گزارش شده است (۱۴، ۱۵، ۱۸). این مشکل علاوه بر خسارات اقتصادی به دامداران، شرکتهای دارویی را نیز با مشکلات زیادی مواجه ساخته است زیرا با سرمایه گذاری زیادی که برای تولید داروهای جدید

مقاوم، ۱۲ روز پس از درمان با لوامیزول، تعداد ۴ رأس از دامهای گروه کنترل و ۶ رأس از دامهای گروه درمان شده، کالبد گشایی و مورد آزمایش قرار گرفت. پس از شستشوی محتویات لوله گوارش (شیردان، روده باریک و روده کلفت) با الکل ۱۰۰، محتویات در هر یک از این اندامها با استفاده از پتری دیش که زمینه سیاه زیر آن قرار داده شده بود مورد آزمایش قرار گرفت. کلیه نماتودهای موجود آنها با استفاده از نور چراغ مطالعه، جمع آوری و شمارش شدند. گونه کرمهای، بر اساس کرمهای نر موجود در نمونه‌ها و با استفاده از لاکتوفنل و بر اساس کلید تشخیص نماتودها (۳، ۷) مشخص گردید و میزان تاثیر لوامیزول با استفاده از فرمول: $P.E. = 100(Mc - Mt) / Mc$ محاسبه گردید. (P.E) درصد تاثیر (Mc) میانگین حسابی تعداد کرمها در گروه کنترل (Mt) میانگین حسابی تعداد کرمها در گروه لوامیزول است.

در این آزمایش در صورتی که درصد تاثیر (P.E.) بر روی گونه‌ای از نماتود کمتر از ۹۰ درصد باشد مقاومت در برابر لوامیزول مورد تایید قرار می‌گیرد (۳۵).

نتایج

در این بررسی نتایج حاصله بر اساس درصد کاهش تخم در مدفوع در گله‌های درمان شده با لوامیزول خوراکی ساخت داخل (جدول ۱)، مقایسه اثر لوامیزول ساخت داخل با لوامیزول ۳/۵ درصد ساخت کارخانه یانسن بلژیک و نیز بر اساس نتایج کشت مدفوع (جدول ۲) و کالبد گشایی دامهای گروه درمان شده و کنترل (جدول ۳) شرح داده خواهد شد.

الف- نتایج بررسی مقاومت بر اساس آزمایش کاهش تخم در مدفوع.

۱- الف- اثر ضد کرمی لوامیزول ساخت داخل: نتایج این قسمت از بررسی در جدول (۱) نشان داده شده است. ارقام موجود در ستون میانگین تعداد تخم در گرم مدفوع گروه کنترل، معرف میانگین تعداد تخم در گرم مدفوع ۳۰ رأس گوسفندی است که ۱۵ رأس از آنها به عنوان کنترل و ۱۵ رأس درمان شده با لوامیزول می‌باشند. اطلاعات ارائه شده در جدول (۱) نشان می‌دهد چنانچه وجود مقاومت را بر اساس کاهش کمتر از ۹۵ درصد تعداد تخم در گرم مدفوع و کاهش فاصله اطمینان کمتر از ۹۰ درصد مورد نظر قرار دهیم از میان ۱۵ گله انتخابی ۶/۶ درصد گله‌ها مقاوم، ۲۰ درصد حساس و ۳/۳ درصد مشکوک به مقاومت هستند. همچنین بررسی توزیع جغرافیایی گله‌های مقاوم نشان داد که کلیه گله‌های مقاوم در مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی استان بوده و در ناحیه جلگه‌ای هیچ موردی از مقاومت مشاهده نگردید.

۲- الف- نتایج مقایسه اثر لوامیزول داخلی با خارجی: در این آزمایش نیز میانگین تعداد تخم در گرم مدفوع در گروه کنترل به عنوان میانگین تعداد تخم در گرم مدفوع سه گروه هر گله قبل از درمان در نظر گرفته شد و میزان کاهش تعداد تخم در گرم مدفوع ۱۰ روز پس از درمان در کلیه گروهها در مقایسه با میانگین گروه کنترل، برای وجود یا عدم وجود مقاومت، مورد استفاده قرار گرفت و مشاهده گردید که درصد کاهش تخم در مدفوع پس از درمان با لوامیزول داخلی و نوع خارجی آن اختلاف معنی داری ندارد (۵درصد > p).



جدول ۴- اثر ضد کرمی لوامیزول بر روی نماتودهای لوله گوارش دامهای کلبد گشایی شده.

P-value	درصد اثر بخشی	میانگین کرمهای شمارش شده		گونه نماتود	
		گروه کنترل			
		تعداد	نسبت درصد		
۰/۰۰۰	۱۰۰	۰	۳	۱۳۹	همونکوس کونورتوس
۰/۰۰۵	۵۲	۱۳۵۰	۵۶	۲۷۹۲	استرتاژیا یا سیرکومسینکتا
	محاسبه نشد	۴۱	۳	۱۷۳	استرتاژیا یا تریفورکاتا
	محاسبه نشد	۷	۱	۴۴	استرتاژیا ااکسیدنتالیس
۰/۱۷۶	۵۹	۱۷۲	۸	۴۱۶	مارشالاجیا مارشالی
۰/۳۰۱	۶۱	۱۹۴	۱۰	۵۰۰	تریکوسترو نژیلوس کلور یفور میس
۰/۰۵۲	۵۳	۴۰۴	۱۸	۸۶۸	تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس
	محاسبه نشد	۰	۰	۹	ازوفاگوستوموم و نولوزوم
	محاسبه نشد	۸۵	۱	۷	ترییشوریس اوویس
	محاسبه نشد	۸۰	۱	۵	اسکریا بینیما اوویس
۰/۰۰۳	۵۶	۲۱۷۰	۱۰۰	۴۹۵۳	جمع

خوزستان در سالهای گذشته (۵،۶) همخوانی دارد. در صورتی که در سایر نقاط ایران استرتاژیا یا سیرکومسینکتا بعد از مارشالاجیا مارشالی، شایعترین انگل شیردان گوسفند و بز می باشد (۲). همچنین با مقایسه تعداد استرتاژیا یا سیرکومسینکتا و تریکوسترو نژیلوس و ویتربینوس جدا شده از گروه کنترل (درمان نشده) با تعداد این گونه هادر گروه درمان شده در جدول (۴) ملاحظه شد که اثر لوامیزول بر روی این دو گونه بعلت گسترش جدایه های مقاوم به لوامیزول در گله های مناطق او ۲ استان خوزستان کاهش قابل توجهی یافته است. و در گونه های مارشالاجیا مارشالی و تریکوسترو نژیلوس کلور یفور میس هر چند اثر بخشی لوامیزول کاهش یافته ولی هنوز ایزوله های مقاوم در گله های گوسفند کاملاً گسترش نیافته است.

اگر چه در بررسی حاضر گونه های استرتاژیا یا ااکسیدنتالیس، استرتاژیا تریفورکاتا، ازوفاگوستوموم و نولوزوم، اسکریا بینیما اوویس و ترییشوریس اوویس مشاهده گردید ولی وجود مقاومت در این گونه ها از نظر آماری با اهمیت تشخیص داده نشد.

مقایسه نتایج این مطالعه با سایر مناطق جهان نشان می دهد مقاومت نسبت به لوامیزول در گونه های استرتاژیا یا تریکوسترو نژیلوس در گله های گوسفند و بز بیشتر مناطق جهان گزارش شده است. از میان گونه های استرتاژیا بیشترین موارد مقاومت نسبت به لوامیزول در گونه استرتاژیا یا سیرکومسینکتا و از گونه های تریکوسترو نژیلوس در گونه تریکوسترو نژیلوس کلور یفور میس و تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس مشاهده شده است (۲۸، ۲۹). در گوسفند اولین مورد مقاومت نسبت به لوامیزول در گونه های استرتاژیا یا سیرکومسینکتا (۱۷)، تریکوسترو نژیلوس کلور یفور میس (۲۶) و تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس (۸) در استرالیا تشخیص داده شد و پس از آن موارد متعددی از مقاومت این گونه ها نسبت به لوامیزول از سایر مناطق جهان گزارش گردید.

جدول ۳- مقایسه نسبت درصد نوزادها در کشت گروههای کنترل و لوامیزول.

منطقه جغرافیایی	تریکوسترو نژیلوس		استرتاژیا		همونکوس	
	کنترل	لوامیزول	کنترل	لوامیزول	کنترل	لوامیزول
کوهستانی (۱)	۰/۱۶±۰/۰۳	۰/۱۸±۰/۰۲	۰/۶۳±۰/۰۶	۰/۸۰±۰/۰۲	۰/۱۸±۰/۰۶	۰/۰۱±۰/۰۰۶
کوهستانی جلگه های (۲)	۰/۲۳±۰/۰۲	۰/۲۵±۰/۰۳	۰/۵۳±۰/۰۷	۰/۷۴±۰/۰۳	۰/۲۱±۰/۰۸	۰/۰۰۵±۰/۰۰۳

مورد نیاز می باشد تهیه داروهای جدید مقرون به صرفه نمی باشد.

خانواده دارویی لوامیزول- مورانتل بر روی گیرنده های کولینرژیک اثر کرده و با دپلاریزاسیون جدار خارجی ماهیچه نماتود و جریان سدیم به خارج باعث فلج انقباضی نماتود و دفع آنها می گردد. مقاومت در برابر این ترکیبات با کاهش تعداد گیرنده های کولینرژیک و کاهش تمایل این گیرنده ها به دارو صورت می گیرد و این مقاومت از راه ژنها به نسل بعد منتقل می شود (۲۱).

روشهای مختلفی جهت تشخیص مقاومت نماتودها در برابر یک دارو وجود دارد ولی در اکثر نقاط دنیا بر اساس مقایسه کاهش تعداد تخم در مدفوع قبل و بعد از درمان صورت می گیرد. گرچه در برخی مناطق از سایر روشها نظیر کالبد گشایی دامهای درمان شده و آزمایش رشد نوزاد نیز استفاده گردیده است (۳۰).

در مطالعه حاضر دستور العمل انجمن جهانی برای پیشرفت انگل شناسی مورد استفاده قرار گرفت (۱۰). در ۱۵ گله گوسفند وجود مقاومت در برابر لوامیزول بر اساس کاهش تعداد تخم در مدفوع و کشت مدفوع بررسی شد و مشاهده گردید که در ۶۶ درصد گله های مورد آزمایش مقاومت نسبت به لوامیزول در استرتاژیا و تریکوسترو نژیلوس وجود دارد. در بررسی مقاومت بر اساس کالبد گشایی نیز چنین مقاومتی در استرتاژیا یا سیرکومسینکتا و تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس نشان داده شد. بنا بر این می توان نتیجه گرفت که این گونه ها در مرحله اول آزمایش نیز حضور داشته اند. در مقایسه اثر لوامیزول ساخت داخل با لوامیزول مورد مصرف در بازار مشترک اروپا (لوامیزول ۳/۵ درصد کارخانه داروسازی یانسن بلژیک) با دوز واحد مشاهده گردید که دو دارو بر روی نماتودهای موجود در دامهای مورد آزمایش اثر بخشی مشابهی دارند. بنا بر این بنظر می رسد که اثر لوامیزولهای تولید شده در داخل کشور در حد مورد انتظار بوده و کاهش اثر این دارو در برخی از گله ها بعلت گسترش جدایه های مقاوم استرتاژیا یا سیرکومسینکتا و تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس در این گله ها می باشد.

نتایج کالبد گشایی دامها در جدول (۴) نشان داد که بیشترین تعداد نماتود جدا شده از گوسفندان گروه کنترل از گونه استرتاژیا یا سیرکومسینکتا بوده و گونه های تریکوسترو نژیلوس ویتربینوس، تریکوسترو نژیلوس کلور یفور میس، مارشالاجیا مارشالی و همونکوس کونورتوس به ترتیب از فراوانی کمتری برخوردارند که با نتایج بررسی آلودگی کرمی گوسفندان استان



در گله‌های ۱، ۳ و ۱۵ که از عشایر ساکن استان خوزستان هستند مقاومت نسبت به لوامیزول مشاهده گردید. تجارب در سایر مناطق جهان نیز نشان می‌دهد روش درمان دامها و انتقال آنها به مراتب عاری از آلودگی انگلی که در گذشته جهت کنترل نماتودها استفاده می‌گردید باعث افزایش سرعت انتخاب نماتود برای مقاومت می‌گردد (۴، ۱۷).

۳- وجود تعداد قابل توجهی بز در گله‌های گوسفند: مقایسه درصد بز در گله‌های مناطق ۱ و ۲ (۵۰ درصد گله) با منطقه ۳ استان (۵ درصد گله) نشان داد که نگهداری تعداد قابل توجهی بز در گله‌های گوسفند و درمان گوسفند و بز با دوز مشابه لوامیزول در مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی یکی از عوامل گسترش مقاومت دارویی در گله‌های این مناطق باشد. مطالعات انجام شده در سایر مناطق جهان نیز نشان می‌دهد که برای کنترل انگلهای داخلی در بز مقدار داروی بیشتری از گوسفند مورد نیاز می‌باشد (۲۲) و این بدلیل تفاوت در متابولیسم دارو در این دو گونه حیوانی می‌باشد. در صورتی که در ایران بر اساس برچسب روی اشکال مختلف تجاری داروی لوامیزول میزان مصرف آن برای گوسفند و بز یکسان ذکر شده است و دامداران این استان سالهاست که بزها را با مقادیر مشابهی از این دارو درمان می‌نمایند و همین امر می‌تواند به ایجاد ایزوله‌های مقاوم انگل در بز بیانجامد و با توجه به اشتراک آلودگی انگلی گوسفند و بز نوزاد نماتودهای مقاوم در بز می‌تواند در گوسفند نیز ایجاد مقاومت نماید. مطالعات انجام شده در سایر کشورها نیز نشان می‌دهد که مقاومت در بزها بیش از گوسفند می‌باشد (۳۶، ۳۴، ۱۲).

۴- شرایط محیطی: شرایط آب و هوایی با اثری که بر روی تعداد و گونه‌های انگلی موجود در محیط دارند، تعیین کننده فشار انتخاب و نحوه گسترش مقاومت دارویی در هر منطقه می‌باشند. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که دامداران استان دامهای خود را در فصول مختلف سال بر ضد نماتودها درمان می‌نمایند ولی درمان دامها در فصول خشک سال در منطقه کوهستانی استان که تعداد نوزاد نماتود موجود در مرتع در مقایسه با نواحی جلگه‌ای حاشیه رودخانه‌ها کمتر می‌باشد، باعث می‌شود که کرمهای حساس موجود در بدن دام از بین رفته و کرمهای مقاوم باقی بمانند و پس از بارش باران نوزادهای مقاوم در مرتع افزایش یافته و به گسترش مقاومت کمک نمایند (۲۴). مطالعات Sangster در سال ۲۰۰۱ نیز نشان داد در صورتی که هنگام درمان تعداد زیادی نماتود در مرتع وجود داشته باشد و فراوانی ژنهای مقاوم در جمعیت کم باشد، گسترش مقاومت به کندی صورت می‌گیرد ولی در آب و هوای گرم و خشک که جمعیت نماتودها در مرتع کم است مقاومت با سرعت گسترش می‌یابد (۲۷، ۱۲).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که برخی نماتودهای لوله‌گوارش گوسفندان در نواحی کوهستانی و نیم کوهستانی استان خوزستان در برابر لوامیزول و آلبندازول مقاوم شده‌اند و با توجه به سابقه مصرف این داروها در سایر مناطق کشور و نیز نتایج بررسی انجام شده در استان خراسان (۴)، بنظر می‌رسد که مقاومت نسبت به لوامیزول در گله‌های گوسفند سایر استانهای کشور نیز ایجاد شده باشد و لذا با توجه به حجم خسارات ناشی از کاهش اثر

یکی دیگر از نماتودهای موجود در گله‌های مورد آزمایش همونکوس کونتور توس بود که در مراحل مختلف این بررسی اعم از شمارش تعداد تخم در مدفوع، کشت مدفوع و در کالبد گشایی حساسیت این انگل نسبت به لوامیزول نشان داده شد. یافته‌های این بررسی در مورد عدم وجود مقاومت در همونکوس کونتور توس در برابر لوامیزول با یافته‌های Rolf در سال ۱۹۹۰ همخوانی دارد (۲۵).

وجود مقاومت در برابر لوامیزول در سایر نقاط دنیا مانند آفریقا (۳۳)، استرالیا (۲۵)، جنوب شرقی آسیا، و آمریکای جنوبی گزارش شده است (۲۶). در برخی از این نواحی بویژه آفریقا میزان مقاومت بحدیست که در برخی از گله‌ها مقاومت در برابر چند دارو بوجود آمده است و دامداران گوسفند داری راه‌ها کرده به سایر شغلها روی آورده‌اند. مقاومت نماتودهای لوله‌گوارش در برابر لوامیزول در اروپا بر خلاف سایر نقاط دنیا چندان شایع نیست اگر چه چنین مقاومتی در خوک مشاهده شده است (۹).

بر حسب نواحی جغرافیایی مورد مطالعه مقاومت دارویی در نواحی کوهستانی و نیم کوهستانی استان دیده شده در حالی که در نواحی جلگه‌ای مشاهده نگردیده است. بررسی عوامل موثر در ایجاد مقاومت در گله‌های مورد آزمایش با استفاده از آنالیز رگرسیون اثر بخشی در برابر سابقه مصرف لوامیزول، ارتباط با کوچ، درصد بز در گله و شرایط منطقه نشان داد که عوامل زیر زمینه گسترش مقاومت دارویی را در مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی استان خوزستان فراهم نموده‌اند:

۱- استفاده مکرر و طولانی لوامیزول: بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده از دامداران استان حدود سی سال است که داروی لوامیزول (۲ تا ۳ نوبت درمان در سال) در گله‌های گوسفند و بز مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی استفاده می‌شود در صورتیکه در گله‌های مناطق جلگه‌ای مدت ۱۵ سال از مصرف این دارو در گله‌های گوسفند (۱ تا ۲ نوبت درمان در سال) می‌گذرد. بدیهی است که درمانهای مکرر شانس بیشتری را برای کرمهای مقاوم بوجود می‌آورد (۲۰). علاوه بر این تعدادی از دامداران این مناطق بعلت نداشتن تخمین درست از وزن دامها و یا بمنظور کاهش هزینه درمان از مقادیر نا کافی دارو استفاده نموده‌اند (۱۹).

۲- کوچ سالیانه دامداران عشایر: در پاییز هر سال قریب به یک میلیون راس گوسفند و بز دامداران عشایر از استانهای همجوار به مناطق کوهستانی و نیم کوهستانی استان خوزستان کوچ می‌نمایند و بدلیل درمان ضد انگلی این گله‌ها قبل از کوچ تنها کرمهای مقاوم در بدن این دامها باقی می‌مانند و تولید تخم می‌نمایند و لذا نوزادهای مقاوم در چراگاههای مسیر کوچ عشایر پراکنده شده و با گذشت زمان و تکرار درمان و کوچ جمعیت نماتودهای مقاوم در دامداریهای مسیر کوچ عشایر (نواحی کوهستانی و نیم کوهستانی) افزایش قابل توجهی یافته است، در صورتی که مناطق جلگه‌ای در مسیر کوچ این دامداران نبوده و امکان پراکنده شدن آلودگی انگلی این گله‌ها در مراتع این منطقه وجود ندارد. البته وضعیت مقاومت دارویی در گله‌هایی که از استانهایی همجوار به استان خوزستان کوچ می‌کنند مشخص نیست ولی



References

۱. اسکرمین، ک. د.، هیلارد، ج. (۱۳۴۵): بررسی کرمهای انگلی نشخوارکنندگان، سازمان ملل متحد.
۲. اسلامی، ع. (۱۳۷۶): کرم شناسی دامپزشکی، جلد سوم، نماتودها و آکانتو صفالها، انتشارات دانشگاه تهران.
۳. اسلامی، ع.، بهادری، ش. (۱۳۸۳): روشهای آزمایشگاهی تشخیص بیماریهای کرمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.
۴. برجی، ح. (۱۳۷۸): بررسی وضعیت مقاومت دارویی در نماتودهای دستگاه گوارش گوسفند، پایان نامه دکتری عمومی دامپزشک از دانشگاه فردوسی مشهد.
۵. غلامیان، ع. (۱۳۷۲): بررسی میزان آلودگی گوسفند و بز به نماتودهای دستگاه گوارش در استان خوزستان پژوهش و سازندگی ش ۱۸، صفحه: ۱۹۷-۱۹۶
۶. نجف زاده، ح. (۱۳۷۵): تعیین انواع نماتودهای بالغ و نابالغ دستگاه گوارش گوسفندان استان خوزستان در کشتارگاه اهواز پایان نامه دکتری عمومی از دانشگاه شهید چمران اهواز شماره ۲۴۵.
۷. هانسن، ی.، پری، ب. (۱۹۹۴): اپیدمیولوژی، تشخیص و کنترل انگلهای کرمی نشخوارکنندگان، سازمان خواربار و کشاورزی (FAO) ترجمه: غلامیان، عباس. قریب ممبینی، منوچهر. صفری، میر خسرو (۱۳۷۹).
8. Beveridge, I., Ellis, N.J.S., Riley, M.J. and Brown, T.H. (1990): Prevalence of resistance in sheep nematode populations to benzimidazole and levamisole anthelmintics in the high rainfall areas of South Australia. *Aust Vet J.* 67: 413-415.
9. Bjorn, H., Roepstorff, A., Nansen, P. and Waller, P.J. (1989): Adose-response investigation on the level of resistance to pyrantel citrate in nodular worms of pigs. *Vet Parasitol.* 31: 259-267.
10. Coles, G.C., Bauer, C., Borgstede, S., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. and Waller, P.J. (1992): World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematode of veterinary importance. *Vet Parasitol.* 44: 35-44.
11. Coles, G.C. (2002): Sustainable use of anthelmintic in grazing animals, *Vet Rec.* 151: 165-169
12. Conder, G.A., Campbell, W. (1995): Chemotropy of Nematode Infections of Veterinary Importance with Special Reference to Drug Resistance. *Adv. Parasitol.* 35: 1-84.
13. Drudge, J.H., Szanto, J., Wyant, Z.N. and Elam, G. (1964): Field studies on parasite control in sheep comparison of thiabendazole ruelene and phenothiazine. *Am J Vet Res.* 25: 1512-1518.
14. Geerts, S., Brandt, J., Kumar, V. and Biesemans, L. (1987): Suspected resistance of *Ostertagia ostertagi* in cattle to levamisole. *Vet Parasitolo.* 23: 77-82.
15. Isaza, R., Courtney C.H. and Neal, F.C. (1987): Benzimidazole-resistant *Haemonchus contortus* in roan antelope (*Hippotragus equinus*). *J Z An Med.* 18: 69-97.
16. Le Jambr, L.F. (1976): Egg hatch as an invitro assay of thiabendazole resistance in nematodes. *Vet Parasitol.* 2: 385-391.
17. Le Jambr, L.F. (1978): Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode of sheep. In *The Epidemiology and Control of Gastrointestinal Parasite of Sheep in Australia*, CSIRO, Melbourne, PP: 109-120.
18. Lyons, E.T., Drudge, J.H., Tolliver, S.C. and Granstrom, D.E. (1990): Anthelmintic resistance in equids. In *Resistance of Parasites to Antiparasitic Drugs*, MSD Agvet, Raway. PP: 67-80.
19. Maingi, N., Bgorn, H., Thamsborg, S.M., Bogh, H.O.



- and Nansen, P.(1996): Anthelmintic resistance in nematode Parasites of sheep in Denmark. *Small Rum Res.* 23: 171-181
20. Martin, P.J., Anderson, N., Lwin, T., Nelson, G. and Morgan, t.e. (1984): The association between frequency of thiabendazole treatment and the development of resistance in field isolates of *Ostertagia* spp of sheep. *Int J Parasitol.* 14: 177-181.
21. Martin, R.J.(1997): Modes of action Anthelmintic Drug. *Vet J.* 154: 11-34.
22. McKenna, P.B., Watson, T.G. (1987): The comparative efficacy of four broad spectrum anthelmintics against some experimentally induced trichostrongylid infections in sheep and goats. *New Zealand Vet J.* 35: 192-195.
23. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, MAFF, 1986, Manual of Veterinary Parasitology laboratory techniques. Technical Bulletin, HMSO, London, PP:1-40.
24. Papadopoulos, E., Himonas, C. and Coles, G.C.(2001): Drought and flock isolation may enhance the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Vet Parasitol.* 97: 253-259
25. Rolf, P.F., Boray, J.C., Fitzgibbon, C., Parson, G., Kemsley, P. and Sangster, N.(1990): Closantel resistance in *Haemonchus contortus* from sheep. *Aust Vet J.* 67: 29-31.
26. Sangster, N.C., Whitlock, H.V., Russ, I.G., Gunawan, M., Griffin, D.L. and Kelly, J.D. (1979): *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* resistant to levamisole, morantel tartrate and thiabendazole : occurrence of field strains. *Res Vet Sci.* 27: 106-110.
27. Sangster, N. C.(1999): Anthelmintic resistance, Past, present and future. *Int J Parasitol.* 29: 115-124.
28. Sangster, N.C. (2001): Managing Parasiticide resistance. *Vet Parasitol.* 98: 89-109.
29. Singh, D., Swarnka, C.P., Khan, F.A. (2002): Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock in India. *J Vet Parasitol.* 16(2): 115-130.
30. Taylor, M.A., Hunt, K.R. and Goodyear, K.L.(2002): Anthelmintic resistance detection methods. *Vet Parasitol.* 103: 183-194
31. Torres-Acosta, J.F.J., Dzul- Canehe, U., Aguilar-Caballero, A.J. and Rodriguez-Vivas, R.I.(2003): Prevalence of benzimidazole resistance nematodes in sheep flocks in Yucatan, Mexico. *Vet Parasitol.* 114: 33-42.
32. Waller, P.J., Echevarria, F., Eddie, C., Maciel, S., Nari, A. and Hansen, J.W. (1996): The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasite of sheep in Southern Latin America: General overview. *Vet Parasitol.* 62: 181-187
33. Waller, P.J. (1997): Anthelmintic resistance. *Vet Parasitol.* 72: 391-412
34. Wanyangu, S.W., Bain, R.K., Rugutt, M.K., Nginyi, J.M. and Mugambi, J.M.(1995): Anthelmintic resistance amongst sheep and goats in Kenya. *Prev Vet Med.* 25: 285-290
35. Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, Duncan, J.L., Kassai, T., Malone, J.B., Pankarich, J.A., Reinecke, R.K., Slcombe, *Taylor, S.M. and Verruyse, J.(1995): World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet Parasitol.* 58: 181-213.
36. ZaJac, A.M., Gipson, T.A.(2000): Multiple anthelmintic resistance in a goat herd. *Vet Parasitol.* 87: 163-172.

