

مطالعه مقاومت نماتوهای دستگاه گوارش به آلبندازول و فنبندازول در شرایط آزمایشگاهی

رزگار ابراهیمی^۱، محمد یخچالی^۲، حسن ملکی نژاد^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۵/۳۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۱۰/۰۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: مقاومت دارویی یکی از بزرگ‌ترین مشکلات صنعت گوسفندداری در جهان و ایران است. هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت دارویی نسبت به آلبندازول و فنبندازول در نماتوهای دستگاه گوارش گوسفند بود.

مواد و روش کار: در آزمون برون تنی مدفوع تازه از راست روده ۹۰ گوسفند با شدت آلودگی ۱۵۰ تخم یا بیشتر در گرم مدفوع تهیه شد. ۲ ml میلی‌لیتر محلول حاوی ۱۰۰۰ عدد تخم به چاهک‌های گروه‌های شاهد، آلبندازول (۰/۱ μg/ml) و فنبندازول (۰/۱ μg/ml) اضافه شد و انکوبه گردیدند. بر اساس درصد تخم‌های تفریخ شده و شمارش نوزادهای مرحله اول، دوز کشنده ۵۰ درصد محاسبه و میزان مقاومت دارویی تعیین شد.

یافته‌ها: میانگین تعداد تخم تفریخ شده (۴۳/۷۶±۱/۷۳) در تیمارهای فنبندازول کمتر از تیمارهای آلبندازول (۶۵/۵۱±۱/۴) و گروه شاهد (۹۳/۹۶±۰/۷۶) بود. اختلاف میانگین تعداد تخم تفریخ شده بین تیمارهای آلبندازول، فنبندازول و گروه شاهد معنی‌داری بود. میزان دوز کشنده ۵۰ درصد در گروه تیمار آلبندازول بیانگر وجود مقاومت دارویی بود. در حالی که دوز کشنده ۵۰ درصد در گروه تیمار فنبندازول نشانگر مشکوک بودن مقاومت دارویی بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج آزمون برون تنی بیانگر وجود مقاومت دارویی نسبت به آلبندازول و در آستانه بروز نسبت به فنبندازول در گوسفندان تحت مطالعه بود.

کلیدواژه‌ها: مقاومت دارویی، آلبندازول، فنبندازول، نماتود

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره دوازدهم، ص ۹۲۶-۹۲۱، اسفند ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر ۱۲ جاده سرو، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل‌شناسی، تلفن: ۰۹۰۳۰۷۲۰۸۲۳

Email: m.yakhchali@urmia.ac.ir

مقدمه

مقاومت دارویی توانایی سویه‌ای از انگل است که به‌رغم تجویز دوز درمانی دارو در دوزهای مساوی یا بیشتر از مقادیر توصیه‌شده بتواند به بقاء خود ادامه داده یا حتی تکثیر نیز بنماید (۲). اولین گزارش‌ها از مقاومت‌های داروهای ضدکرمی مربوط به فنوتیازین بود که در سال‌های اواخر دهه ۵۰ و اوایل دهه ۶۰ میلادی و برای اولین بار در مورد همونکوس کونتورتوس در گوسفند و از آمریکا گزارش گردید. این گزارش‌ها موجب شروع مطالعات و تحقیقات وسیعی شد که شیوع مقاومت‌های دارویی را تأیید می‌کرد. الگوهای مشابه در دهه‌های ۷۰ و ۸۰ میلادی منجر به معرفی ایمیدازوتیازول‌ها، تتراهیدروپیریمیدین‌ها و آورمکتین-میلیمایسین در کلاسداروهای ضد کرمی شد که با استفاده چندساله از این داروها، برای اولین بار کرم‌های مقاوم به چند دارو در دهه ۸۰ گزارش شدند (۴، ۳). از سال

بشر با پیدا کردن شناخت از انگل‌ها به سرعت به فکر یافتن راهی برای مبارزه با آن‌ها و عاری کردن حیوانات از انگل‌های داخلی افتاد. در اوایل دهه ۵۰ میلادی فارماکولوژی به سرعت رشد کرد و دانشمندان به بررسی و تحقیق برای معرفی داروهای ضدانگلی حیوانات پرداختند و بنزیمیدازول‌ها را به‌صورت آزمایشی مورد استفاده قرار دادند. از اوایل دهه ۶۰ میلادی و پس از موفقیت آزمایشات اولیه، بنزیمیدازول‌ها به‌صورت تجاری تولید و در اختیار دامداران ایالات‌متحده آمریکا، انگلستان و استرالیا قرار گرفتند. با گسترش استفاده از این داروها مواردی از کاهش تأثیر این داروها گزارش گردید (۱).

^۱ کارشناس ارشد انگل‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

^۲ استاد گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

^۳ استاد فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

مواد و روش کار

روش نمونه برداری و انتخاب دام آلوده: ۹۰ رأس گوسفند آلوده به نماتوهای دستگاه گوارش در گوسفندداری‌های اطراف شهرستان سقز با اخذ نمونه مدفوع تازه از راست روده به روش شناورسازی مک ماستر شناسایی و انتخاب شدند. در گوش هر یک از گوسفندان تحت مطالعه با شدت آلودگی ۱۵۰ تخم یا بیشتر در گرم مدفوع پلاک نصب گردید (۷).

روش آزمون برون تنی: برای ارزیابی مقاومت به روش برون تنی، ۳ حجم آب شهر به ۲۵۰ گرم مدفوع اضافه شد و به خوبی مخلوط و هموزن گردید. سپس از الک ۱۰۰ عبور داده شد و از مایع صاف شده رسوب حاوی تخم با سانتریفیوژ در ۲۰۰۰ دور به مدت ۲ دقیقه تهیه گردید. برای تهیه رقت مورد نیاز هر گروه، تعداد تخم در ۱ ml با لام هماسیتومتر شمارش شد. ۲ ml از محلول حاوی ۱۰۰۰ عدد تخم در داخل هر یک از چاهک‌های پلیت ۴۸ خانه ریخته شد. با در نظر گرفتن سه تکرار، در گروه‌های تیمار آلبندازول ۲۰ میکروگرم (رویان دارو) (غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر) و در گروه‌های تیمار فبنندازول (رویان دارو) ۲۰ میکروگرم فبنندازول (۰/۱ μg/ml) اضافه شد. در گروه شاهد نیز ۲ ml از مایع حاوی ۱۰۰۰ عدد تخم بدون دارو به چاهک‌های مربوطه اضافه شد. پلیت در ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. سپس با مشاهده ریزبینی (بزرگنمایی ×۱۰۰۰)، مشاهده و شمارش تخم‌های تفریخ شده و تخم‌های تفریخ نشده انجام و ثبت گردید.

بر اساس یافته‌های Coles و همکاران در سال ۱۹۹۲ و ۲۰۰۶، دوز کشنده ۵۰٪ (LC₅₀) که بیانگر تأثیر درمانی آلبندازول و فبنندازول بر تخم نماتوها با ممانعت از تفریخ آن‌ها در غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. به راین اساس درصد مقاومت دارویی (R) نماتوها در آزمون برون تنی ارزیابی شد. به این ترتیب که در غلظت دارویی ۰/۱ μg/ml در گروه‌های حساس بایستی درصد ممانعت از تفریخ تخم ۵۰ درصد شود. ولی درصد ممانعت از تفریخ تخم ۵۰ درصد- ۴۵ درصد و یا کمتر از ۴۵ درصد شود، به ترتیب، مقاومت دارویی مشکوک و مقاومت دارویی قطعی گزارش می‌گردد (۹، ۱۱).

روش ارزیابی آماری: جهت مقایسه میانگین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن با سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از بسته نرم‌افزاری (ورژن ۲۳) SPSS استفاده گردید.

یافته‌ها

میانگین تعداد تخم تفریخ شده (۴۳/۷۶±۱/۷۳) در تیمارهای دریافت‌کننده فبنندازول کمتر از تیمارهای دریافت‌کننده آلبندازول (۶۵/۵۱±۱/۴) و گروه شاهد (۹۳/۹۶±۰/۷۶) بود. اختلاف میانگین

به این سو مقاومت علیه داروهای ضد کرمی دیگر مسئله‌ای بالقوه برای آینده به شمار نیامد و در حال گسترش است (۵). با کشف ترکیبات ضدکرمی طولانی اثر نظیر بنزیمیدازول‌ها و آشنایی دامداران با تأثیرات این داروها در کاهش آلودگی انگلی دام‌ها و افزایش تولیدات دامی، مصرف این داروها از سال ۱۹۶۰ در دام‌پروری‌های دنیا رواج زیادی پیدا کرد (۱). گرچه این داروها در اوایل قادر بودند ۹۵ درصد از نماتوهای لوله گوارش را از بین ببرند ولی طی چند سال مصرف متوالی، گزارشاتی مبنی بر کاهش اثر آن‌ها بر روی برخی از گونه‌های نماتود منتشر گردید (۶).

روش‌های تشخیص مقاومت دارویی در نماتوها در اکثر نقاط دنیا بر اساس کاهش تعداد تخم در مدفوع قبل و بعد از درمان می‌باشد. از روش‌های دیگری نظیر کالبدگشایی دام‌های درمان شده و آزمایش رشد نوزاد نیز جهت تشخیص مقاومت استفاده می‌گردد (۷). اساساً روش‌های تشخیص مقاومت دارویی شامل دو گروه درون تنی و برون تنی می‌شوند. از میان روش‌های تشخیص مقاومت دارویی در نماتوها، روش برون تنی روشی ساده، ارزان و سریع برای غربالگری است که از روش‌های استاندارد برای اندازه‌گیری مقاومت نماتوها به بنزیمیدازول‌ها نیز محسوب می‌گردد (۸، ۹، ۱۰). از این روش برای اولین بار Le Jambre در سال ۱۹۷۶ استفاده نمود و سپس توسط Coles و همکاران در سال ۱۹۹۲ و ۲۰۰۶ تکمیل و تصحیح گردید (۹، ۱۱). در ایران نیز غلامیان و همکاران در سال ۱۳۸۷ از روش آزمایش رشد نوزاد برای بررسی مقاومت دارویی نماتوهای دستگاه گوارش گوسفند استفاده نمودند (۱۲).

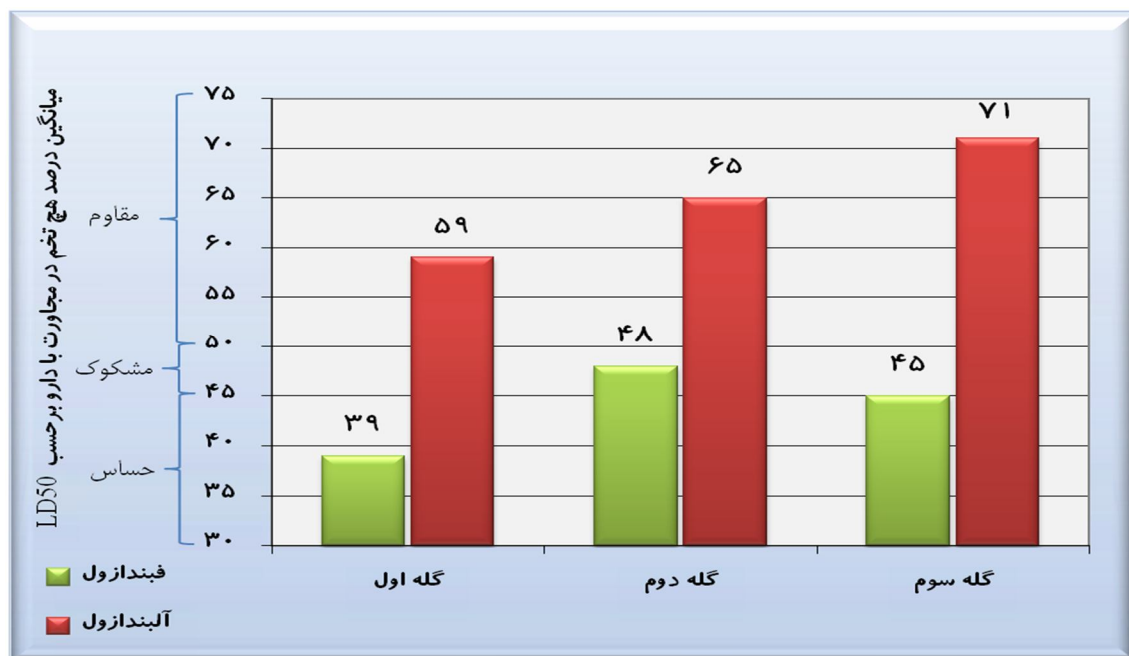
آلبندازول و فبنندازول از بنزیمیدازول‌های کارباماته ضد کرمی مؤثر بر نماتوهای بالغ و نابالغ دستگاه گوارش علفخواران از جمله نشخوارکنندگان با محدودیت مصرف آلبندازول در دوران آبستنی به دلیل بروز اثرات ناقص‌الخلقه زایی در جنین می‌باشند (۱۳). تجویز آلبندازول در ایران از سال ۱۳۵۳ آغاز شده است (۱). بروز مقاومت دارویی در ایران دارای علل متفاوتی است که ریشه در سطح آگاهی دامدار از پرورش دام و بیماری‌های انگلی آن‌ها، سطح بالای پرورش نشخوارکنندگان کوچک، فشار داروهای ضد انگلی، انگیزه‌های مالی روش‌های پرورش دام، روش تغذیه دام و آب‌وهوا دارد (۱۸-۱۵، ۱۳-۱۲، ۱۰). بر این اساس در دامداری‌های اطراف شهرستان سقز که جزو مناطق کوهستانی و از قطب‌های دام‌پروری در استان کردستان می‌باشد، مطالعه مقاومت دارویی در نماتوهای انگل دستگاه گوارش نسبت به داروهای متداول ضد کرمی آلبندازول و فبنندازول در منطقه ضروری بود. بنابراین تحقیق حاضر به منظور ارزیابی و مقایسه میزان مقاومت دارویی در نماتوهای انگل دستگاه گوارش گوسفندان در گوسفندداری‌های منطقه نسبت به آلبندازول و فبنندازول به روش برون تنی انجام شد.

تعداد تخم تفریخ شده بین تیمار دریافت‌کننده آلبندازول و گروه شاهد معنی‌داری بود ($P < 0.001$) (جدول ۱).

جدول (۱): میانگین تعداد تخم‌های تفریخ شده مجاور شده با آلبندازول و فبندازول در مقایسه با گروه شاهد

گروه	اول	دوم	سوم	جمع کل
شاهد	($\mu \pm SD$) ۹۴/۰۷ ± ۰/۷۸	($\mu \pm SD$) ۹۶/۰۷ ± ۰/۵۶	($\mu \pm SD$) ۹۱/۷۳ ± ۰/۹۵	($\mu \pm SD$) ۹۳/۹۶ ± ۰/۷۶
آلبندازول	۵۹/۴۷ ± ۱/۵۳ ^a	۶۵/۹۳ ± ۱/۱۲	۷۱/۱۳ ± ۱/۵۵	۶۵/۵۱ ± ۱/۴
فبندازول	۳۸/۶۷ ± ۱/۷۴ ^b	۴۷/۷۳ ± ۱/۹۲	۴۴/۸۷ ± ۱/۵۳	۴۳/۷۶ ± ۱/۷۳
سطح معنی‌داری	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.05$

a,b نشانگر اختلاف معنی‌دار در میانگین‌ها می‌باشند.



نمودار (۱): مقاومت سنجی در تیمارهای آلبندازول و فبندازول بر اساس درصد تفریخ تخم نامتوده‌ها و دوز کشنده ۵۰ درصد (LD₅₀) در آزمون برون تنی

بحث و نتیجه گیری

امروزه با توجه به تحقیقات انجام‌شده در جهان مقاومت دارویی یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در عصر حاضر است که تاکنون راهکار مؤثری برای آن یافت نشده است. در ایران استفاده دامداران از یک داروی ضد انگلی خاص و مدت‌زمان استفاده از آن دارو در یک منطقه، استفاده سرخود و نابجا از داروهای ضد انگلی می‌توانند از عوامل مؤثر در بروز مقاومت دارویی باشند (۱، ۱۳). بر اساس نتایج این تحقیق در آزمون برون تنی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای دریافت‌کننده آلبندازول و دریافت‌کننده فبندازول از گوسفندان

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده دوز کشنده ۵۰ درصد در سوسپانسیون گروه تیمار تخم نامتوده‌های مجاور شده با آلبندازول بیشتر از ۵۰ درصد بود (۷۱ درصد-۵۹ درصد) که بیانگر کم اثر بودن دوز درمانی آلبندازول بر تخم نامتوده‌ها و عدم توانایی آن در جلوگیری از تفریخ تخم‌ها و در نتیجه بروز مقاومت دارویی بود. در حالی‌که دوز کشنده ۵۰ درصد در سوسپانسیون گروه تیمار تخم نامتوده‌های مجاور شده با فبندازول کمتر از ۵۰ درصد بود (۴۸ درصد-۴۵ درصد). این یافته نشانگر مشکوک بودن مقاومت دارویی بود (نمودار ۱).

در مطالعه حاضر، LC_{50} در سوسپانسیون تخم نامتودهای مجاور شده با فنبندازول کمتر از ۵۰ درصد بود. البته در هر سه گله تحت مطالعه به‌ویژه در گله‌های دوم و سوم LC_{50} بین ۵۰ درصد-۴۵ درصد بود که نشانگر مشکوک بودن مقاومت دارویی بود. در بررسی Chartier و همکاران در سال ۱۹۸۸ در ۲۳ گله (هر گله ۶۰ رأس گوسفند) و نزدیک بودن گله سوم به مرز مقاومت دارویی برای فنبندازول ($0.1 \mu\text{g/ml}$) تا $0.27 \mu\text{g/ml}$ بود (۲۳). Rialch و همکاران در سال ۲۰۱۳ در آزمون برون تنی گزارش نمودند که نه تنها مقاومت دارویی نسبت به فنبندازول در تعدادی از گله‌ها مشکوک بود بلکه در چند گله نیز علائم مقاومت دارویی ثبت شد که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت (۲۰). این اختلاف احتمالاً به دلیل متداول بودن تجویز فنبندازول در هندوستان است (۲۱). زیرا به گزارش دامپزشکان شهرستان سقز، استفاده از داروی ضد کرمی فنبندازول در گوسفندداری‌های شهرستان سقز رایج نیست. به‌علاوه بر اساس نتایج سایر تحقیقات می‌توان استنباط کرد که میزان اثربخشی آلبندازول به نسبت فنبندازول در آزمون‌های برون تنی کمتر است (۲۰، ۱۶).

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده عدم تأثیر مورد انتظار داروی ضد کرمی آلبندازول معمول و موجود در رژیم‌درمانی ضد کرمی در گوسفندان تحت مطالعه بود. بنابراین بررسی میزان تأثیر داروهای ضد کرمی ساخت داخل در مقایسه با اثر داروهای ضد کرمی مشابه خارجی به دلیل نقش کیفیت دارو در ایجاد مقاومت دارویی بر علیه داروهای ضد کرمی و ایجاد نسل‌هایی از کرم‌های مقاوم توصیه می‌گردد. البته مطالعه همه‌گیری‌شناسی انگل‌های کرمی برای مشخص نمودن زمان مناسب اجرای درمان ضد کرمی در هر سال پرورشی دام نیز توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از همکاری صاحبان گله‌های گوسفند، مدیریت محترم درمانگاه دامپزشکی آقای دکتر سرحدی و نیز کارشناس بخش انگل‌شناسی آقای آرمن بدلی قدردانی و سپاسگزاری می‌نمایند.

References:

1-Gholamian A, Eslami A, Nabavi L, Rasekh AR, Galedari H. A field survey on resistance to Albendazole in gastrointestinal nematodes of sheep in Khuzestan province of

تحت مطالعه با گروه شاهد وجود داشت. اختلاف بین تیمار شاهد و تیمار دریافت‌کننده آلبندازول نیز زیاد بود. در اسکاتلند در آزمون برون تنی نمونه‌ها از ۲۳ گله (۶۰ رأس گوسفند در هر گله)، تفاوت درصد تفریح میان آلبندازول (۸۸ درصد)، فنبندازول (۵۹ درصد) و شاهد (۹۶ درصد) معنی‌دار بود (۲). در آزمون برون تنی روی گله‌های گوسفند با بره‌های زیر یک سال در کنیا، تفاوت معنی‌داری میان نسبت تفریح در آلبندازول (۴۲ درصد) و فنبندازول (۵۱ درصد) گزارش شد که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت (۱۶).

در این مطالعه LC_{50} در مورد سوسپانسیون تخم نامتودهای مجاور شده با آلبندازول بیشتر از ۵۰ درصد بود. بنابراین آلبندازول در تفریح شدن تخم نامتودها و بروز مقاومت دارویی کم اثر عمل نمود. این یافته با بررسی‌های انجام‌شده در اغلب کشورها همخوانی داشت. Deepa و Devada در سال ۲۰۱۱ در آزمون برون تنی آلبندازول ($0.1 \mu\text{g/ml}$) در ۱۰ گله ۱۵ رأسی به‌طور میانگین در ۳ گله مانع از تفریح ۵۰ درصد از تخم‌ها شد (به ترتیب در هر گله: ۴۲ درصد، ۴۴ درصد و ۴۶ درصد) (۱۹). در بررسی Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۴، ۲۶۴ رأس گوسفند از چهار گله در مطالعه اثر آلبندازول ($0.1 \mu\text{g/ml}$) به ترتیب ۸۶/۲ درصد، ۸۵/۱ درصد، ۸۱/۵ درصد و ۸۴/۳ درصد از تخم‌های انکوبه شده تفریح شدند که نشان از بی‌اثر بودن داروی آلبندازول در این غلظت بر تفریح تخم نامتودها بود (۱۵). البته در خصوص علل آن در گوسفندداری‌های شهرستان سقز می‌توان به کیفیت داروهای ضدانگلی، روش‌های درمان ضد کرمی، استفاده از آلبندازول و فنبندازول در یک دوره زمانی طولانی برای درمان انواع آلودگی‌های کرمی در گوسفندان، سهولت تهیه داروهای ضد کرمی از داروخانه‌های دامپزشکی و نیز درمان مکرر و خودسرانه‌ی دام‌ها با دوزهای بالا توسط دامداران بدون تجویز دامپزشک اشاره کرد.

در آزمون برون تنی درصد تخم‌های تفریح شده در تیمار دریافت‌کننده فنبندازول کمتر از تیمار دریافت‌کننده آلبندازول و گروه شاهد بود. نتایج یافته‌های Deepa و Devada در سال ۲۰۱۱ در هندوستان تا حدودی با نتایج این تحقیق همخوانی داشت (۱۹). البته مقاومت بالایی نسبت به بنزیمیدازول‌ها در هندوستان ثبت شده است (۲۱-۲۰). درحالی‌که در بررسی که در اسلواکی انجام شد در ۹۷ درصد گله‌های آزمایش‌شده در آزمون برون تنی حساسیت به داروهای آلبندازول و فنبندازول داشتند (۲۲).

Iran. Journal of Veterinary Research 2007; 62(1): 45-51. (Persian)

2-Eslami A. Veterinary helminthology: Nematodes and Acanthocephala. Tehran, Iran: University of Tehran;1997.

- 3-Coles GC. Anthelmintic resistance in sheep. *Vet Clin N Am* 1986; 2: 423-32.
- 4-Taylor M, Hunt K. Anthelmintic drug resistance in the UK. *Vet Rec* 125: 143-7.
- 5-Waller PJ. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *Int J Parasitol* 1999; 29: 155-64.
- 6-Conder GA, Campbell W. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance with special reference to drug resistance. *Adv Parasit* 1995; 35(3): 1-8.
- 7- Taylor MA, Hunt KR, Goodyear KL. Anthelmintic resistance detection methods. *Vet Parasitol* 2002; 103: 183-94.
- 8-Amarante AFT, Pomroy WE, Pomroy WP, Leathwick D, Tornero MTT. Evaluation of a larval development assay for the detection of anthelmintic resistance in *Ostertagia*. *Int J Parasitol* 1997; 27(3): 305-11.
- 9-Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, Von Samson-Himmelstjerna G, Sylvester A, et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 2006; 136: 167-85.
- 10-Hunt KR, Taylor MA. Use of the egg hatch assay on sheep faecal samples for the detection of benzimidazole resistant worms. *Vet Rec* 1989; 125: 153-4.
- 11-Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 1992; 44(1-2): 35-44.
- 12-Gholamian A, Eslami A, Nabavi L, Rasekh AR, Galedari H. A survey on drug resistance in gastrointestinal nematodes of sheep using larval development assay. *Iranian Veterinary Journal* 2008; 4(3): 48-57. (Persian)
- 13-Bartley DJ, Jackson F, Jackson E, Sargison N. Characterisation of two triple resistant field isolates of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farms. *Vet Parasitol* 2004; 123: 189-99.
- 14-Hosseini SH, Mesghi B, Fattahpur S, Mahdavi A, Nazar Alipour R. Evaluation of trichlabendazole and albendazole drug resistance against *Fasciola* species in Gilan province. *Iranian Veterinary Medicine* 2010; 6(4): 29-37. (Persian)
- 15-Kumar SC, Renukprasad PE, Pradeep BS. Evaluation of Albendazole against sheep strongyles in farms of Karnataka state by different in vitro tests. *Indian J Anim Sci* 2014; 43(5): 330-9.
- 16-Maingi N. Resistance to thiabendazole, fenbendazole and levamisole in *Haemonchus* and *Trichstrongylus* species in sheep on a Kenyan farm. *Vet Parasitol* 1991; 39: 285-91.
- 17-Martin RJ. Modes of action anthelmintic drug. *Vet J* 1997; 154(1): 11-34.
- 18-Papadopoulos E, Himonas C, Coles GC. Drought and flock isolation may enhance the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Vet Parasitol* 2001; 97: 253-9.
- 19-Deepa CK, Devada K. In vitro detection of benzimidazole resistance of gastrointestinal nematodes in goats. *J Anim Sci* 2011; 42: 73-5.
- 20-Rialch A, Vatsya S, Kumar RR. Detection of benzimidazole resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats of sub-Himalyan region of northern India using different tests. *Vet Parasitol* 2013; 198: 312-8.
- 21-Singh S, Yadav CL. A Survey of anthelmintics resistance by nematodes by three sheep and two goat farms in Hisar (India). *Vet Res Commun* 1997; 21: 447-51.
- 22-Varady M, Cernanska D, Corba J. Use of two in vitro methods for the detection of anthelmintic resistant nematode parasites on Slovak sheep farms. *Vet Parasitol* 2006; 135: 325-31.
- 23-Chartier C, Pors I, Hubert J, Rocheteau D, Benoit C, Bernard N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. *Small Ruminant Res* 1998; 29: 33-41.

IN-VITRO ASSESSMENT OF RESISTANCE TO ALBENDAZOLE AND FENBENDAZOLE IN GASTROINTESTINAL NEMATODES

Rezgar Ebrahimi¹, Mohammad Yakhchali^{2}, Hassan Malekinejad³*

Received: 20 August, 2020; Accepted: 28 December, 2020

Abstract

Background & Aims: Drug resistance is a great concern worldwide and in Iran. This study was carried out to assess drug resistance of gastrointestinal nematodes to Albendazole (Alb) and Fenbendazole (Feb) in sheep.

Materials & Methods: A total number of 90 fresh fecal samples were directly collected from the rectum of infected sheep with an average egg per gram of feces (EPG) ≤ 150 . A dilution of 1000 eggs per 2mL was added to each well of control, Alb (0.1 μ g/ml) and Feb (0.1 μ g/ml) groups and incubated. To determine drug resistance, a lethal dose of 50% (LD₅₀) was calculated based on percentage of the hatched eggs and first larvae stage (L₁) counting.

Results: EPG was lower in Feb treated groups (43.76 \pm 1.73) than Alb treated groups (65.51 \pm 1.4) and control group (93.96 \pm 0.76). There was a significant difference between percentage of the hatched eggs and both treated and control groups. LC₅₀ demonstrated resistance to Alb in treated groups; while it uncovered suspicion to drug resistance in Feb treated groups.

Conclusion: It was concluded that there was resistance to Alb and suspected resistance to Feb in sheep examined.

Keywords: Drug resistance, Albendazole, Fenbendazole, Nematodes.

Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Tel: +98 903 072 0823

Email: m.yakhchali@urmia.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(12): 926 ISSN: 2717-008X

¹ MS of Parasitology, Department of Pathobiology, Parasitology Division, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

² Professor, Department of Pathobiology, Parasitology Division, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. (Corresponding Author)

³ Professor of Pharmacology, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran