



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**  
Департман за ветеринарску медицину



**Небојша Живковић**

**ЕФИКАСНОСТ ЛЕВАМИЗОЛА ПРОТИВ  
ЖЕЛУДАЧНО-ЦРЕВНИХ СТРОНГИЛИДА  
ОВАЦА РЕЗИСТЕНТНИХ НА ИВЕРМЕКТИН**

**Дипломски рад**

**Нови Сад, 2022.**



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ  
Департман за ветеринарску медицину**



**Кандидат:**

**Небојша Живковић**

**Ментор:**

**доц. др Станислав Симин**

**ЕФИКАСНОСТ ЛЕВАМИЗОЛА ПРОТИВ  
ЖЕЛУДАЧНО-ЦРЕВНИХ СТРОНГИЛИДА  
ОВАЦА РЕЗИСТЕНТНИХ НА ИВЕРМЕКТИН**

**Дипломски рад**

**Нови Сад, 2022.**

**КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ**  
**ДИПЛОМСКОГ РАДА**

---

***Др Станислав Симин, доцент – ментор***

*за ужу научну област Ветеринарска микробиологија и заразне болести*  
*животиња*

*Пољопривредни факултет, Нови Сад*  
*Департман за ветеринарску медицину*

---

***Др Весна Лалошевић, редовни професор - Председник комисије***

*за ужу научну област Ветеринарска микробиологија и заразне болести*  
*животиња*

*Пољопривредни факултет, Нови Сад*  
*Департман за ветеринарску медицину*

---

***Др Зорана Ковачевић, доцент - III члан***

*за ужу научну област Фармакологија и токсикологија*  
*Пољопривредни факултет, Нови Сад*  
*Департман за ветеринарску медицину*

## САЖЕТАК

Паразитски гастроентеритис (ПГЕ), који изазивају желудачно-цревне стронгилиде, је болест која негативно утиче на здравље, добробит и економичност производње свих категорија оваца. Контрола ПГЕ оваца у нашој земљи се углавном врши применом антихелминтика, а ивермектин, из класе макроцикличних лактона, је антихелминтик који се најчешће користи. Услед нерационалне примене овог лека дошло је до развоја резистенције код желудачно-цревних стронгилида оваца и коза у Србији, због чега треба испитати ефикасност и других антихелминтика. Левамизол, из групе имидотиазола и тетрахидропиримидина, је један од антихелминтика који је доступан на нашем тржишту и који би могао да се користи за контролу ПГЕ на фармама оваца где постоји резистенција на ивермектин. Циљ истраживања је да се провери ефикасност левамизола против желудачно-цревних стронгилида на изабраним фармама где је претходно доказана резистенција на ивермектин.

Ефикасност левамизол хидрохлорида (супкутана примена препарата Neositol нултог дана у дози препорученој од стране произвођача, FM Pharm, Суботица) против стронгилида резистентних на ивермектин је испитана на три фарме оваца у Војводини (у Србобрану, Новом Саду и Банатској Дубици), помоћу теста редукције јаја (енг. FECRT). Узорци измета су узети нултог и седмог дана, а за бројање паразитских елемената коришћена је метода MINI-FLOTAC. Анализом ларвица трећег стадијума након копрокултуре су доказане врсте или родови стронгилида на испитиваним фармама.

На све три фарме оваца, доказано је неколико врста желудачно-цревних стронгилида при чему доминирају патогени *Haemonchus contortus* и *Trichostrongylus spp.*, праћени родовима *Oesophagostomum/Chabertia*, *Cooperia spp.* и врстом *Teladorsagia circumcincta*. Пронађене су још и нематодe из родова *Nematodirus*, *Trichuris* и врста *Strongyloides papillosus*, као и цестоде *Moniezia expansa* и *Thysaniezia spp.* Ефикасност левамизола против желудачно-цревних стронгилида резистентних на ивермектин је изузетно висока и износи 99% на фарми у Новом Саду, а на фармама у Србобрану и Банатској Дубици 100%.

На основу резултата овог истраживања, препорука је да се левамизол користи као антихелминтик избора у терапији желудачно-цревне стронгилидозе

оваца на фармама где постоји резистенција на ивермектин. Поред тога, препоручује се и употреба других метода контроле паразита, попут мере селективног третмана (Target selected treatment/TST), које би успориле појаву резистенције и обезбедиле дугогодишњу примену левамизола у пракси.

Кључне речи: желудачно-цревне стронгилиде, ивермектин, левамизол, резистенција на антихелминтике.

## SUMMARY

Parasitic gastroenteritis (PGE), which caused by gastrointestinal strongylides, is a disease that negatively affects health, well-being and economy of production of all categories of sheep. Control of PGE sheep in our country is mainly done by using anthelmintics, and ivermectin, from the class of macrocyclic lactones, is the most commonly used anthelmintic. Due to the irrational use of this drug, resistance has developed in gastrointestinal strongylids of sheep and goats in Serbia, which is why the effectiveness of other anthelmintics should be examined. Levamisole, from the group of imidothiazoles and tetrahydropyrimidines, is one of the anthelmintics available on our market and which could be used to control PGE on sheep farms where there is resistance to ivermectin. The aim of the study was to test the efficacy of levamisole against gastrointestinal strongylides in selected farms where ivermectin resistance had been previously demonstrated.

The efficacy of levamisole hydrochloride (subcutaneous administration of Neositol, zero day at the dose recommended by the manufacturer, FM Pharm, Subotica) against ivermectin resistant strongylids was tested on three sheep farms in Vojvodina (Srbobran, Novi Sad and Banatska Dubica) using an egg reduction test. (FECRT). Fecal samples were taken on day zero and day seven, and the MINI-FLOTAC method was used to count parasitic elements. The analysis of larvae of the third stage after coproculture proved the species or genera of strongylids on the examined farms.

On all three sheep farms, several species of gastrointestinal strongylides have been proven, dominated by the pathogens *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus* spp., Followed by the genera *Oesophagostomum/Chabertia*, *Cooperia* spp. and the species *Teladorsagia circumcincta*. Nematodes from the genera *Nematodirus*, *Trichuris* and *Strongyloides papillosus* were also found, as well as cestodes *Moniezia expansa* and *Thysaniezia* spp. The efficiency of levamisole against gastrointestinal strongylides resistant to ivermectin is extremely high and amounts up to 99% on the farm in Novi Sad, and on the farms in Srbobran and Banatska Dubica 100%.

Based on the results of this study, it is recommended that levamisole be used as the anthelmintic of choice in the treatment of gastrointestinal strongylidosis in sheep on farms where there is resistance to ivermectin. In addition, the use of other methods of parasite control is recommended, such as Target selected treatment (TST), which would

slow down the emergence of resistance and ensure long-term use of levamisole in practice.

Key words: gastrointestinal strongylides, ivermectin, levamisole, anthelmintic resistance.

# САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	3
2.1. Желудачно-цревне стронгилиде оваца.....	3
2.1.1. Циклус развоја и епизоотиологија.....	3
2.1.2. Врсте желудачно-цревних стронгилида.....	5
2.1.3. Значај и контрола желудачно-цревних стронгилида.....	6
2.2. Ендоантипаразитици - антихелминтици.....	9
2.2.1. Деловања антихелминтика.....	9
2.2.2. Подела ендоантипаразита.....	10
2.3. Ивермектин.....	11
2.3.1. Антипаразитски спектар и механизам деловања ивермектина.....	12
2.3.2. Фармакокинетика ивермектина.....	13
2.4. Левамизол.....	14
2.4.1. Механизам деловања левамизола.....	15
2.4.2. Фармакокинетика левамизола.....	15
2.4.3. Нежељени ефекти и токсичност левамизола.....	16
2.5. Резистенција на антихелминтике.....	18
2.5.2. Резистенција на левамизол.....	19
3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА.....	21
3.1. Циљ истраживања.....	21
3.2. Задаци истраживања.....	21
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	22
5. РЕЗУЛТАТИ.....	25
6. ДИСКУСИЈА.....	30
7. ЗАКЉУЧАК.....	35
8. ЛИТЕРАТУРА.....	36



# 1. УВОД

Овчарство је значајна грана сточарске производње, посебно у брдско-планинском подручју које располаже значајним природним потенцијалима. Од 815.379 ха пашњака Србије око 86% припада брдско-планинском подручју где живи око 50% пољопривредног становништва (Петровић и сар, 2004). У нашој земљи, по економском значају, овчарство је четврта грана сточарске производње одмах иза говедарства, свињарста и живинарства и представља важан чинилац за развој руралних подручја. Овце су изразити биљоједи и хране се искључиво кабастом храном која и када је осредњег квалитета не представља проблем овим животињама да дају веома вредне производе за исхрану људи. Погодне су за коришћење пашњака на тешко приступачним брдским и планинским теренима и користе их боље од говеда. (Поповић и сар, 2015).

Приликом узгоја, овце се могу држати у екстензивном, полуинтензивном и интензивном систему, у зависности од тога да ли се држе и хране затворене у стајама, напасају на пашњацима или се комбинују ова два начина. Како су овце примарно пашне животиње и како је напасање економски најисплативије, у регионима са развијеним овчарством примаран начин држања је интензиван. Међутим, код оваквог начина држања, овце су непрекидно изложене различитим врстама хелмината које су на пашњацима присутне увек, у мањем или већем броју, при чему су најважније желудачно-цревне стронгилиде (Симин, 2016).

Контрола и терапија желудачно-цревне стронгилидозе заснована је на низу мера као што су биолошке мере, посебни режими исхране и узгоја, контролисано напасање и примена антипаразитета. Од свих наведених мера, апликација антипаразитета је због своје јефтине, ефикасне и најлакше примене најзаступљенија у контроли ових паразита. Међутим због интензивније примене антихелминтика све чешће се уочава слаба ефикасност ових лекова у овчарству, а главни разлог је појава резистенције желудачно-цревних стронгилида на њихово дејство, односно повећана отпорност паразита на доступне антипаразитске лекове (Симин, 2016, Arsenopoulos et al., 2021). Резистенција је озбиљан савремени проблем у овчарству, веома је раширена на глобалном нивоу и присутна је у свим класама антихелминтика које се употребљавају у терапији и превентиви паразитског гастроентеритиса, уз чест налаз мултирезистентних изолата (Kaplan, 2004; Papadopoulos et al., 2012; Scott, 2013; Rose et

al., 2015). Представља и велики економски проблем, јер је процењено да су годишњи трошкови које резистенција изазива у сточарству око 38 милиона евра (Charlier et al., 2020).

У последњих 30 година, једна од најпопуларнијих класа антихелминтика који се употребљавају широм света су макроциклични лактони, чији је најважнији представник ивермектин (McKellar i Gokbulut, 2012). Слично као у свету, ивермектин је један од најчешће коришћених антипаразита у нашој земљи. Овај лек је на просторима бивше СФРЈ регистрован и уведен у праксу половином осамдесетих година (Хаџовић, 1986), што значи да је доступан ветеринарима и произвођачима у Србији преко 30 година (Симин, 2016). Према подацима Агенције за лекове и медицинска средства Србије (АЛИМС) за период од 2011. до 2013. године, најпродаванији антихелминтик у нашој земљи је управо ивермектин (преко 10000 литара ињекционог препарата и преко 10 тона прашка), затим следи левамизол (преко 4700 литара ињекционог препарата и преко 17,5 тона прашка) и албендазол (продато је преко 2 милиона таблета (болуса)) (Симин, 2016). Поред статистичких података, постоје подаци са терена да 84% одгајивача коња користи пасту са ивермектином за дехелминтизацију (Симин и сар, 2013).

Последица интензивне употребе ивермектина у контроли ендопаразита животиња у Србији је развој резистенције код желудачно-цревних стронгилида оваца и коза (Симин и сар, 2014; Симин и сар 2019), што ће значајно отежати успешну контролу паразита овим антихелминтицима у будућности. Зато је веома важно утврдити колико су ефикасни други антихелминтици који се често користе на нашем тржишту, попут левамизола, како би произвођачи могли успешно контролисати желудачно-цревне стронгилиде оваца.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. Желудачно-цревне стронгилиде оваца

Паразити дигестивног тракта су присутни код великог броја домаћих и дивљих животиња широм света, а могу довести до појаве озбиљних болести и великих економских штета у сточарству. Међу њима најбројне су нематодe из различитих родова, а једним именом називају се желудачно-цревне стронгилиде (Лалошевић и сар, 2008).

Желудачно-цревне стронгилиде оваца изазивају паразитско запаљење желуца и црева (паразитски гастроентеритис), као и све функционалне и органске поремећаје настале деловањем одраслих или ларвених облика ових нематода (Шибалић и Цветковић, 1996). Ови паразити су у домаћину локализовани у сиришту, танком или дебелом цреву, а по патогености могу да буду високо, умерено и ниско патогени. Неки од најважнијих родова који паразитирају код оваца су: *Haemonchus*, *Trychostrongylus*, *Ostertagia*, *Teledorsagia*, *Nematodirus*, *Bunostomum*, *Chabertia*, *Trichuris* и *Strongyloides*. Имају типичну грађу тела са простим системима органа као и све друге нематодe, и одвојених су полова. Ради се о жућкастосмеђим или црвенкастим црвима, чија величина зависи од врсте и пола, при чему је женка увек дужа од мужјака (Симин, 2016).

#### 2.1.1. Циклус развоја и епизоотиологија

Желудачно-цревне стронгилиде имају директан циклус развоја, тј. без прелазног домаћина и он је исти за већину врста. Инфекција код оваца започиње ингестијом Л3 инфективних (филариформних) ларви које се налазе на пашњаку. Када филариформна ларва доспе у дигестивни тракт, инвадира слузницу, мирује одређено време, а затим се пресвлачи и преобраћа у Л4 ларву. Током развоја и пресвлачења ларва оштећује слузницу, изазива запаљење, крварење и испушта токсичне продукте метаболизма у организам домаћина. Последњи ларвени стадијум ових паразита је Л5 и из њих се развијају одрасли облици који када достигну полну зрелост копулирају у дигестивном тракту домаћина, а женка полаже јаја која изметом доспевају у спољашњу средину (Лалошевић и сар., 2005). Препатентни период, тј. време потребно за сазревање паразита и почетак продукције јаја износи за већину врста од 2 до 4 недеље (Симин,

2016). Желудачно-цревне стронгилиде су овипарне тј. полажу несегментирана јаја, која у спољашњој средини приликом повољних климатских услова ембрионирају и из њих се за дан или два излеже Л1 ларва. Ова ларва се у спољашњој средини храни микроорганизмима из фецеса и пресвлачи у наредни стадијум Л2. Ова два стадијума су веома осетљива на неповољне услове спољашње средине, као што су исушивање и УВ зрачење што је и главна разлика од следеће Л3 ларве (филариформна ларва) која је инфективна за домаћина и има способност дугог преживљавања у неповољним условима, а све захваљујући кутикули којом је обложена. Инфективне ларве, када има довољно влаге, мигрирају на влаги траве где постају доступне за ингестију чиме се циклус затвара (Bowman, 2020).

Циклус развоја се код неких врста као што је *Nematodirus* разликује због тога што се развој инфективних ларвица одвија у јајима, па су оне још отпорније и додатно заштићене од неповољних услова спољашње средине. Поред тога, неким врстама (*N. battus*, *N. filicollis*) су потребне ниже температуре спољашње средине како би се јаја охладила и како би дошло до изласка ларвица (Симин, 2016).

Развој слободноживећих стадијума желудачно-цревних стронгилида, тј. ларвица, као и њихова активност у спољашњој средини много зависи од климатских фактора, а то су температура, влага, сунчева светлост и кисеоник (Шибалић и Цветковић, 1996). Несумњиво два најзначајнија климатска фактора која утичу на развој ларвица су температура и влага који одређују успех и брзину развоја. Тако су екстремне топлоте и хладноће штетне за развој и опстанак, док благо повећање температуре генерално убрзава развој, али повећава и смртност. Влага је потребна за развој и миграцију ларви из фецеса на влаги траве, па су падавине веома важан фактор за пренос, док се током сувог времена успорава миграција ларвица које се задржавају у фецесу (Morgan и van Dijk, 2012; Zajac, 2006).

Ови подаци о утицају средине на развојне облике су веома важан чинилац успешног и целовитог програма контроле паразита што је нарочито важно код програма напасања (O'Connor et al., 2006). Познавањем локалних услова на пашњацима могу се предвидети и објаснити разлози избијања обољења, те се могу предузети адекватне мере (Симин, 2016). Подаци такође указују да се утицајима на животну средину може манипулисати паразитима као део интегрисаног управљања паразитозама (O'Connor et al., 2006).

### 2.1.2. Врсте желудачно-цревних стронгилида

Од свих врста желудачно-цревних стронгилида које се обично налазе код оваца, према већини аутора (Morgan и van Dijk, 2012; Зајас, 2006; Симин, 2016; O'Connor et al., 2006) најзначајнији у погледу патогености и губитака у производњи су *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* и *Teladorsagia circumcincta*. Друге врсте из родова *Nematodirus*, *Cooperia*, *Chabertia* и *Oesophagostomum* могу такође имати велики значај у појединим околностима, али су углавном део мешаних инфекција са три најпатогеније врсте (Morgan и van Dijk, 2012). *Cooperia curticei*, *Nematodirus spathiger*, *N. filicollis* и *N. battus* су паразити танког црева оваца и коза, *Oesophagostomum venulosum* паразитира у дебелом цреву, док је *Chabertia ovina* паразит и танког и дебелог црева (Зајас, 2006).

*Haemonchus contortus* је паразит малих преживара који паразитира у сиришту ових животиња (Шибалић и Цветковић, 1996). Женка *H. contortus* достиже око 3 цм дужине, што ову врсту чини једном од највећих нематода стронгилида преживара. Имају карактеристично црвено-бели изглед, тј. изглед берберског штапа (енг. barber pole appearance) (Слика 1) због чега се веома лако уочавају у сиришту оваца током обдукције (Зајас, 2006; Bowman, 2020). *Haemonchus* је једна од најплоднијих нематода. Женка може произвести хиљаде јаја сваког дана, а препатентни период је око 17 до 21 дан. Одрасли црви су кратког века, преживљавају у домаћину само неколико месеци. Овај паразит има велики патогени потенцијал јер се Л4 и одрасле јединке хране крвљу домаћина и велики број паразита може изазвати фаталну анемију. За разлику од многих других паразита гастроинтестиналног тракта, *H. contortus* није примарни узрок дијареје (Зајас, 2006).



Слика 1: *Haemonchus contortus*-изглед берберског штапа

(<https://www.actwessex.co.uk/post/haemonchus-contortus>)

*Trichostrongylus colubriformis* је веома мали паразит, који подсећа на влас косе, дужине мање од 1 цм због чега је веома тешко уочљив током обдукције. Паразитира у танком цреву оваца, али и других преживара. Овај паразит обично не доводи до клиничког испољавања болести осим у случају јаких инфекција. Код таквих инфекција у танком цреву домаћина може да буде и до 10 000 паразита, а нарочито је изражено код имунокомпромитованих и недовољно ухрањених јединки код којих доводи до воденасте црне дијареје (енг. black scours), губитка тежине и смрти животиње (Bowman, 2020). Инфекција људи овим паразитом је могућа и пријављена су два случаја у Аустралији. Заражене особе користиле су козје ђубриво као ђубриво за поврће које се конзумирало сирово (Zajac, 2006).

*Teladorsagia circumcincta* је паразит око 1 цм дужине, браонкасте боје који паразитира у сиришту оваца и коза (Bowman, 2020). У односу на *H. contortus* који је такође паразит сиришта, *Teladorsagia circumcincta* се не храни крвљу и женке нису тако плодне. Након инфекције, ларве овог паразита један временски период проводе у сиришту домаћина, тачније у жлезданим ћелијама изазивајући промене које доводе до формирања чворова на слузници. Приликом јаких инфестација, код оваца или коза може доћи до дијареје, анемије или хипопротеинемije, а ретко и до смрти животиње. Препатентни период овог паразита је око 3 недеље, док је животни век одраслих паразита у дигестивном тракту домаћина неколико месеци (Zajac, 2006). *T. circumcincta* је доминантни паразит у хладним и кишним регионима, а главна предност преживљавања је већа отпорност на исушивање и способност развоја на нижим температурама (O'Connor et al., 2006).

### **2.1.3. Значај и контрола желудачно-цревних стронгилида**

Значај ових нематода оваца у свету али и у Србији је велик, како са аспекта здравља и добробити животиња тако и са економског аспекта. Ови паразити имају директан утицај на овце када доводе до угинућа животиње, али и индиректан који се огледа у губитку телесне масе животиње, губитку прираста, смањењу продукције млека, количини и квалитету вуне, поремећају репродукције, као и због трошкова терапије и профилаксе (Вујић и сар, 1980; Симин, 2016). Такви губици постају све важнији у тренутној економској ситуацији и због тога одгајивачи морају да побољшају ефикасност производње да би опстали као газдинство (Charlier et al., 2018).

У Србији су у прошлости паразитске болести проузроковале огромне штете у овчарству са значајним процентом морбидитета и морталитета (Вујић и сар, 1980). Увођењем и регистарцијом ефикаснијих антипаразитета, паразитске епизоотије су постале све ређе и попримиле су локални карактер. Како већ више деценија нема већих епизоотија паразитских болести, нити значајнијег процента морталитета, тешке паразитске инфекције углавном хроничног тока, ипак наносе велике штете у овчарској производњи. Желудачно-цревне стронгилиде су такође најважнији узрок економских губитака у земљама са развијеним овчарством (Charlier et al., 2020). Економски губици изазвани овим паразитима код преживара у САД су процењени на више од 3 милијарде долара годишње, док код оваца чине 60% свих губитака који прате узгој ове животињске врсте (Charon, 2004).

Како је желудачно-цревна стронгилидоза једна од економски најзначајнијих болести пашних животиња, тако је и велики број истраживања усмерен на контролу ове болести. Контрола гастроинтестиналних нематода има важну улогу у повећању сточарске производње, побољшању здравља и добробити животиња, а састоји се из низа мера као што су контролисано напасање, биолошке мере, посебни режими исхране и узгоја, као и мере која је највише заступљена, а то је примена антипаразитета (Charlier et al., 2018; Симин, 2016). Осмишљавање нових контролних мера и стратегија је сложено и мора узети у обзир ефекте вишеструких интеракција на популације паразита које могу бити различите за сваку врсту нематода. Стога, за сваку нову меру у контроли, треба размотрити последице на цео систем пре интервенције (Charlier et al., 2018).

Контролисано напасање је мера која је у прошлости била главна у контроли желудачно-цревних стронгилида и представља премештање дехелминтисаних животиња на мање контаминиран пашњак (енг. drench and shift), а резултат је мањи степен инвазије и смањене последице изазване паразитима (Sutherland и Scott, 2010). Број оваца, квалитет пашњака и површине за напасање одређују који ће се систем напасања применити, па тако, ако има мало оваца примењује се континуирано напасање док код великог броја оваца треба спроводити прегонско напасање. Такође, веома је битно да се током напасања прво пуштају млађе категорије, па тек онда старије, а при прегону се не препоручује повратак на исту површину најмање 8-10 недеља, како би дошло до значајног морталитета ларвица (Шибалић и Цветковић, 1996). Алтернативна мера система напасања је употреба говеда у смањењу инфективности пашњака која се темељи на специфичности већине врста желудачно-

цревних стронгилида за домаћина које су слабо или потпуно неадаптиране за супротну врсту (Симин, 2016).

Узгој раса које су се показале као природно отпорније према инвазији стронгилида, као и појачана исхрана која доводи до јачања одбрамбене способности организма и заузима важно место у пракси као допунска метода, само су још неке од мера у контроли желудачно-цревне стронгилидозе и представљају једноставну, јефтину и ефикасну алтернативу употреби лекова (Симин, 2016; Sutherland и Scott, 2010; Charon, 2004).

Поред наведених не треба заборавити једну алтернативну биолошку меру која све више обећава у контроли ових паразита, а то је употреба нематофагних гљива како би се контаминација пашњака свела на минимум (Gómez-Rincón et al., 2006). Неколико врста микрогљивица је у стању да ухвати и убије развојне облике ларвица ових нематода, али је доказано да једна врста, *Duddingtonia flagrans*, има висок степен преживљавања након проласка кроз гастроинтестинални тракт домаћина (Ere et al., 2009). *Duddingtonia flagrans* у контроли желудачно-цревних стронгилида може бити веома успешна, али треба напоменути да поједини изолати нису погодни за то и да не доводе до значајне редукције ларвица што је доказано и у нашој земљи (Симин, 2016).

Коначно, мера контроле желудачно-цревне стронгилидозе која је највише заступљена у многим деловима света је употреба антихелминтика (Keуу et al., 2002). Употребом ових лекова се спречава акумулација хелмината у животињама у степену који би штетно деловао на здравствено стање, а поготово на продуктивност животиња. Ова мера је најлакше применљива, најефикаснија и најјефтинија, зато ће се желудачно-цревне стронгилиде углавном и даље контролисати на овај начин (Симин и сар., 2018). Међутим, рутинска и честа примена антихелминтика у контроли ових паразита има и своје негативне стране (Симин, 2016). Једна од њих је притисак потрошача који не желе да конзумирају производе од животиња које садрже резидуе антихелминтика (Charon, 2004), затим је доказано и да антихелминтици имају негативне последице по фауну која колонизује измет на пашњаку и учествује у његовој деградацији (Симин, 2016), али највећа опасност честе примене је све мања ефикасност антихелминтика због развоја резистенције желудачно-цревних стронгилида на њихово дејство (Keуу et al., 2002; Симин и сар., 2018). Тако је због интензивне употребе у неким земљама ситуација веома озбиљна и достигла је критични ниво, што додатно отежава напоре да се применом антихелминтика осигура задовољавајућа продуктивност уз очување



здравља и добробити животиња (Scott, 2013; Rose et al., 2015; Симин, 2016; Arsenopoulos et al., 2021; ).

## **2.2. Ендоантипаразитици - антихелминтици**

Ендоантипаразитици су лекови који се користе за превенирање и лечење инфекција проузрокованим ендопаразитима, а како се најчешће ради о инфекцијама које изазивају хелминти ови лекови се често називају антихелминтици. Циљ примене антихелминтика је смањивање броја ових паразита на толерантни ниво, како у домаћину тако и на пашњаку (Јездимировић, 2010). У нашој земљи антихелминтици се примењују сезонски (пролеће и јесен) када је влажно и топло време или по потреби у зависности од епизоотиолошке ситуације (нарочито у подручју хемонхозе) првенствено код јагњади, ради лечења клиничког односно субклиничког паразитизма. Међутим, да би примена антихелминтика била рационална, потребно је утврдити постојање, интензитет инфекције и врсту паразита да би се адекватно проценило да ли, када и колико пута животиње треба третирати (Симин и сар., 2018).

### **2.2.1. Деловања антихелминтика**

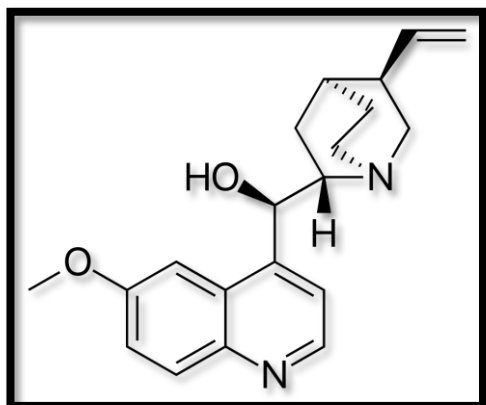
Ефикасни антихелминтици који се користе за лечење и контролу ових паразита, морају имати селективну токсичност, тј. да делују токсично на паразите, а да на ћелије домаћина не делују (Martin, 1997; Јездимировић, 2010). Ови лекови деловањем могу да оштете или убију паразите, у зависности од тога да ли имају паразитостатски или паразитоцидни ефекат. Да ли ће испољити један или други ефекат, зависи од механизма деловања лека, употребљене дозе лека, дужине третмана, као и од врсте и стања паразита (адултни или ларвени облик паразита). Паразитостатско деловања антихелминтика је реверзибилно, док је паразитоцидно ирреверзибилно (Јездимировић, 2010).

Механизми деловања већине антихелминтика су следећи (Јездимировић, 2010).:

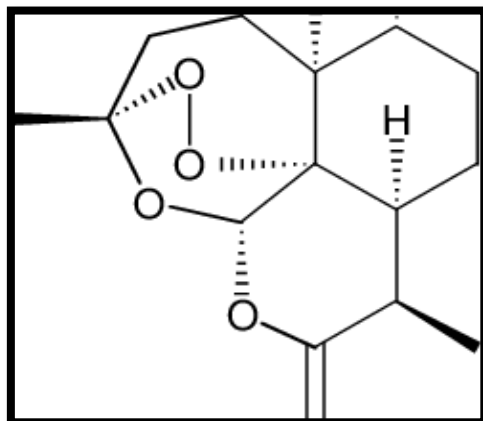
1. Делују на биохемијске и ензимске процесе у паразитима
  - инхибиција транспорта и преузимање глукозе у паразитима, инхибиција фумарат-редуктазе и везивање за тубулин у микротубулима
  - инхибиција фосфорилације у митохондријама
  - инхибиција гликолизе
2. Делују на неуромишићни систем паразита
  - инхибиција ацетилхолинестеразе (АChE) паразита. Овако делује *левализол!*
  - деловање као GABA агонисти. Овако делује *ивермектин!*
3. Деловање на јаја паразита и раст паразита
  - антихелминтици доводе до смањене продукције јаја у дигестивном тракту домаћина. Овако делују бензимидазоли и фенотиазини
4. Остала дејства
  - мењање пермеабилности ћелије и вакуолизација тегументума

### 2.2.2. Подела ендоантипаразитика

Ендоантипаразитици се по пореклу могу поделити на природне и синтетске (Јездимировић, 2010). Природни су најчешће биљног порекла, а главни представници ове групе су артемисинин, кинин и ликохалкон А (Kaiser et al., 2003) (Слика 2 и 3), док се синтетски према хемијској структури деле на оргонофосфорна једињења, оргонохлорна једињења, карбамате, пиперазине, бензимидазоле, имидазотиазоле (левализол и тетрализол), тетрахидропиримидине и макроцикличне лактоне (ивермектини - ивермектин) (Јездимировић, 2010).



Слика 2: Хемијска структура кинаина  
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Quinine>)



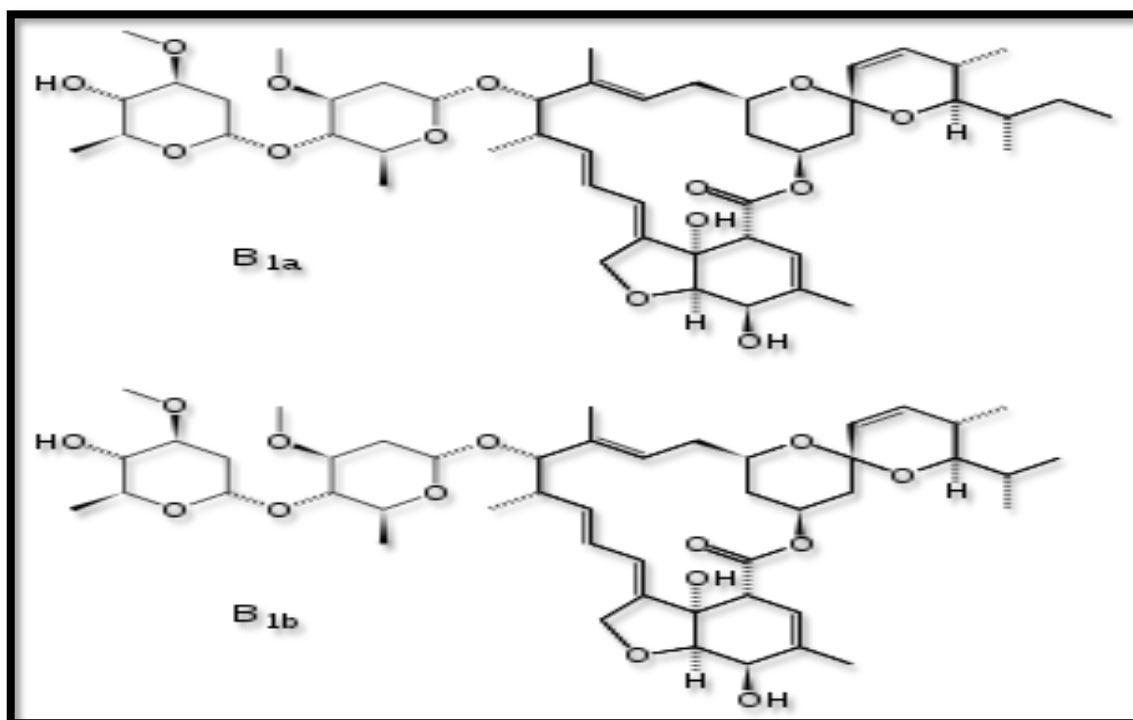
Слика 3: Хемијска структура артемисинина  
([https://www.researchgate.net/figure/Fig-2-Structure-of-artemisinin\\_fig1\\_257133585](https://www.researchgate.net/figure/Fig-2-Structure-of-artemisinin_fig1_257133585))

Следећа подела ентоантипаразита је према дејству на узрочника инфекције, при чему разликујемо антинемотодне лекове (делују против нематода), антицестодне лекове (делују против цестода) и антитрематодне лекове (делују против трематода) (Јездимировић, 2010). Међутим, није ретко да ови антипаразитици имају и широк спектар деловања, тј. да делују на више врста ентопаразита као и на ектопаразите при чему онда могу да се поделе и на антипаразитике широког и уског спектра деловања. Широк спектар деловања имају макроциклични лактони, пре свега ивермектин, као и групе бензимидазола и имидазотиазола, док узак спектар имају оргонофосфати, пиперазини, оргонохлорна једињења и др. (Taylor et al., 2007; Јездимировић, 2010).

### 2.3. Ивермектин

Ивермектин је антипаразитик, дериват авермектина В1 који спада у макроцикличне лактоне, а продукт је ферментације актиномицете *Streptomyces avermitilis* (Campbell et al., 1983). Тачније ивермектин настаје комбинацијом В1а и В1б авермектинске компоненте (Слика 4), при чему садржи 80% прве и 20% или мање друге компоненте (Јездимировић, 2010; Riviere и Parich, 2018). Тако је ивермектин полусинтетички дериват породице авермектина заједно са абамектином,

дорамектином, еприномектином и селамектином (Taylor et al., 2007), а води се и као први ендоектоцид које је пласиран на тржиште (Riviere и Papich, 2018).



Слика 4: Хемијска структура B1a и B1b авермектинске компоненте

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Avermectin>)

### 2.3.1. Антипаразитски спектар и механизам деловања ивермектина

Ивермектин, као и макроциклични лактони генерално, показује веома добру активност и при веома малим дозама не само против различитих врста нематода, већ и против великог броја врста артропода (Taylor et al., 2007). Ефикасно делује против ларвених и одраслих облика гастроинтестиналних и плућних нематода, као и против ектопаразита (инсекти, крпељи, буве, ваши, шугарци) код оваца, говеда, свиња, коња, паса и мачака, док на цестоде и трематоде не делује (Јездимировић, 2010).

Ивермектин, као и сви авермектини, делује тако што проузрокује парализу паразита (Јездимировић, 2010). Паралитички ефекти су посредовани преко GABA (гама-аминобутерна киселина) и/или глутамат-хлоридних канала (GluCl), заједнички

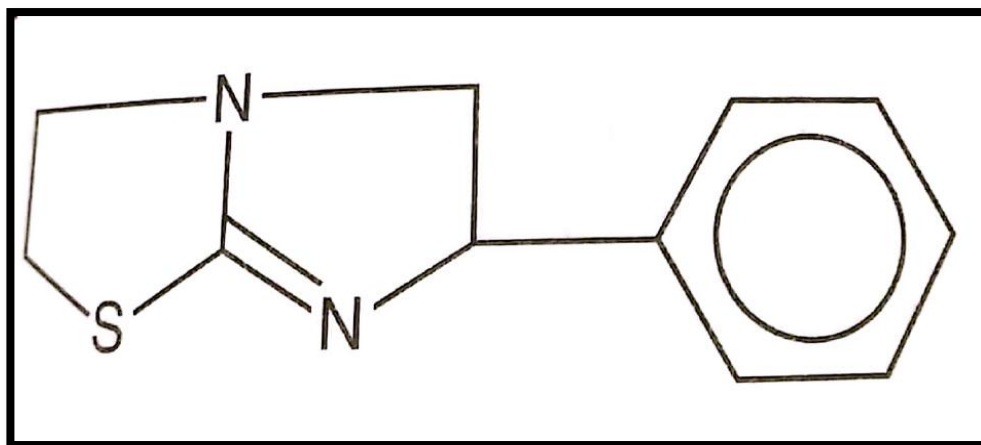
познатих као лигандски хлоридни канали. Овај антихелминтик је агониста за GABA рецепторе и појачава ослобађање ове инхибиторне аминокиселине, као и њено везивање за рецепторе у нервном систему паразита. Појачаним ослобађањем и везивањем за рецепторе долази до спорог и неповратног повећања проводљивости хлоридне мембране, хиперполаризације и млитаве парализе мишића паразита. Користећи *in vitro* тестове, доказано је да концентрација ивермектина од 1 nM (1 nM једнако 0,87 ng/g) паралише ждрело *H. contortus* и инхибира развој ларве трихостронгилоидних нематода. Поред тога, паралитички ефекти ивермектина се испољавају и на женски репродуктивни систем што се може објаснити смањењем производње јаја паразита (Riviere и Parich, 2018). Како GABA није неуротрансмитер код цестода и трематода, а главно деловање ивермектина је преко ове инхибиторне аминокиселине, долазимо до закључка зашто се не користи у терапији ових паразита (Јездимировић, 2010).

### 2.3.2. Фармакокинетика ивермектина

Сви макроциклични лактони су високо липофилни, па се тако ивермектин без обзира на врсту апликације примарно депонује у масном ткиву одакле се постепено ослобађа, метаболише и излучује из организма (Taylor et al., 2007). Ивермектин се апликује парентерално или перорално (Јездимировић, 2010) и веома се добро апсорбује како орално, тако и субкутано, али је апсорпција као и полуживот лека већи када се апликује парентерално (Taylor et al., 2007). Поред депоновања у масном ткиву, ивермектин може бити присутан у јетри и врло мало у мишићима. Излучивање ивермектина из организма је првенствено преко фецеса (приближно 98% од примљене дозе), док се мали део излучује и урином (2% од примљене дозе). Због дужине задржавања овог антипаразитета у јестивим ткивима, каренца за месо оваца износи 42 дана, док млеко оваца није за исхрану људи (Јездимировић, 2010).

## 2.4. Левамизол

Левамизол је антихелминтик из групе имидазотиазола у коју поред њега спада и тетраимизол (Taylor et al., 2007). Тетраимизол је рацемска мешавина два оптичка изомера у једнаким количинама, а то су *l-tetramizol* или левамизол и *d-tetramizol*. При чему се види да је левамизол у ствари леви изомер тетраимизола, а истраживањем је утврђено да само тај облик има антихелминтски потенцијал. Даљим истраживањем је доказано да се коришћењем самог л-изомера (левамизола), доза може смањити за половину од дозе тетраимизола, а ово је такође повећало и безбедносну маргину пошто су обе компоненте тетраимизола слично токсичне (Riviere и Papich, 2018).



Слика 5: Хемијска структура левамизола

(Јездимировић, 2010)

Левамизол је релативно стар антихелминтик који се и дан данас примењује против одраслих и ларвених облика желудачно-цревних и плућних стронгилида домаћих и дивљих животиња, а првенствено се користи код оваца и говеда. Овај лек не делује на цестоде, трематодe и протозое животиња (Јездимировић, 2010). Тренутно, левамизол је најраспрострањенији лек из групе имидазотиазола и доступан је за употребу у ветеринарској медицини широм света. Међутим, треба напоменути да су у неким земљама формулације тетраимизола и даље доступне (Riviere и Papich, 2018).

### 2.4.1 Механизам деловања левамизола

Левамизол је холинергичка супстанца и у терапијским концентрацијама доводи до парализе нематода (Јездимировић, 2010). Парализа настаје деловањем левамизола на синаптичке и екстрасинаптичке ацетилхолинске рецепторе на мишићним ћелијама паразита и доводи до селективног затварања јонских канала ових рецептора, како на мишићима тако и на нервима (Riviere и Parich, 2018). Када се левамизол даје у већој дози од терапијске он делује на паразите тако што инхибише ензим фумарат-редуктазу и доводи до прекида синтезе АТП-а, што има за последицу угињавање паразита. Услед тога, при терапијским дозама овог лека паразити постају непокретни и као такви се избацују путем фецеса, док приликом већих доза они угињавају и делимично разорени буду избачени путем фецеса (Јездимировић, 2010; Sharma et al., 2020).

Поред тога што је левамизол ефикасан антихелминтик, користи се и као имуностимулаторно средство, како у ветеринарској тако и у хуманој медицини. Његово имуностимулаторно деловање је доказано на експерименталним моделима, али и код бројних имунодефицијенција људи и животиња са повезаном патологијом (Riviere и Parich, 2018). Делује првенствено на целуларни имунитет (Taylor et al., 2007) и доводи до повећања хемотаксе, повећава активност макрофага и полиморфонуклеарних леукоцита, а доводи и до појачане функције Т лимфоцита (Јездимировић, 2010). Међутим, треба имати на уму да одговори на левамизол нису увек предвидљиви и да резултати могу варирати између веома повољних до без ефекта (Riviere и Parich, 2018). Такође, веза између имуностимулаторног и антипаразитског деловања левамизола је још увек непозната (Taylor et al., 2007).

### 2.4.2. Фармакокинетика левамизола

Левамизол се у пракси може примењивати интрамускуларно, субкутано, перорално, као и топикално (pour on) (Taylor et al., 2007; Јездимировић, 2010; Riviere и Parich, 2018), а у промету се налази у облику хидрохлорида или фосфата (Јездимировић, 2010). Брзина апсорпције левамизола у многоставно зависи од самог начина примене. Тако се овај лек код парентералне и пероралне примене скоро комплетно и веома брзо апсорбује и достиже максималну концентрацију у циркулацији за 0,5-2 сата, док се код топикалне примене уочава нешто спорија апсорпција. Код оваца, највеће средње концентрације у плазми су постигнуте након субкутане (3,1

мг/мл), у поређењу са оралном (0,7 мг/мл) и интравенином (0,8 мг/мл) применом, при дози од 7,5 мг/кг (Riviere и Papich, 2018).

Након два сата од оралне или субкутане примене левамизол постаје системски доступан и широко се дистрибуира у организму, обнављајући се у ткивима као што су мишићи, масно ткиво, бубрези и посебно јетра (Riviere и Papich, 2018). У организму, нарочито у алкалној средини левамизол се метаболише у нерастворљиве, неактивне и нетоксичне метаболите (Јездимировић, 2010), а главни метаболички путеви су оксидација, хидролиза и хидроксилација (Riviere и Papich, 2018).

Елиминација левамизола као и свих његових метаболита из организма третираних животиња је веома брза (Јездимировић, 2010). Око 60% примењене дозе се излучи урином, док се око 30% излучује путем фецеца у првих 24 сата. Преосталих 5-10% од примљене дозе је непромењени левамизол који се може наћи у ткиву третираних животиња (Riviere и Papich, 2018), због чега је каренца на месо тих животиња 14 дана, а млеко лечених животиња није за исхрану људи (Јездимировић, 2010).

#### **2.4.3. Нежељени ефекти и токсичност левамизола**

Лекови су рутински потребни у ветеринарској медицини за лечење једне или више болести код домаћих животиња, а случајна примена или гутање прекомерне количине лека је чест узрок тровања (Jadhav et al., 2017). Тако и прекомерна употреба левамизола може да доведе до токсичног деловања и тровања животиња, што сведоче многобројни извори (Gokce et al., 2004; Јездимировић, 2010; Müller и Dwyer, 2016; Jadhav et al., 2017; Sharma et al., 2020; Dar et al., 2020).

Левамизол има релативно узак терапијски индекс због чега употреба овог антихелминтика код животиња треба да буде опрезна и разумна. Његово парентерално предозирање може бити смртоносно, док орално предозирање може изазвати нервне симптоме (Sharma et al., 2020). Препоручена перорална и парентерална доза левамизола код оваца, коза говеда и свиња износи 7,5 мг/кг (Јездимировић, 2010; Dar et al., 2020). Животиње које су примиле препоручену терапеутску дозу могу показати хиперактивност која траје неколико минута од тренутка примене овог антихелминтика (Taylor et al., 2007). Прекомерно дозирање левамизола (од 15 до 25 мг/кг) доводи до токсичног деловања (Müller и Dwyer, 2016) које је у великој мери продужетак његовог



антипаразитског ефекта, односно холинергичког деловања (Sharma et al., 2020). Услед овог, код фармских животиња левамизол изазива продужену деполаризацију и неуромускуларну блокаду, а као последица се јавља повећана саливација, тремор мишића, атаксија, учестало мокрење, дефекације и колапс. Код тровања левамизолом са смртним исходом, непосредни узрок смрти је асфиксија услед респираторне инсуфицијенције (Müller и Dwyer, 2016; Sharma et al., 2020).

Слични симптоми, депресије, анорексије, напади, атаксије, хиперсаливације, отежаног дисања, као и промене у крвној слици изазаване прекомерном дозом левамизола пријављене су и код паса (Gokse et al., 2004). Такође, код паса токсични ефекти левамизола се испољавају и алергијским реакцијама на кожи (Jadhav et al., 2017). На обдукцији, како паса тако и других животиња угинулих од прекомерне дозе овог антихелминтика уочена је увећана, хиперемична и хеморагична јетра, тешка конгестија плућа, као и едематозни бубрези прекривени петехијама (Gokse et al., 2004; Dar et al., 2020).

Када се левамизол даје интрамукуларно, на месту апликације може да дође до локалне инфламаторне реакције у виду отока и бола (Taylor et al., 2007; Јездимировић, 2010), па је препорука да се препарати за паренетералну примену апликују субкутано (Јездимировић, 2010). Приликом руковања левамизолом, људи треба да носе рукавице јер овај лек може да изазове анафилактичку реакцију коју прати малаксалост, мучнина, повраћање, дигестивне сметње и грозница. Наведени симптоми настају за време контакта са леком или непосредно након контакта, али на срећу јављају се код веома малог броја људи (Јездимировић, 2010).

Левамизол примењен у терапијској дози није ембриотоксичан нити тератоген лек, што значи да се са сигурношћу може примењивати код гравидних животиња (Taylor et al., 2007; Јездимировић, 2010). Међутим, постоје подаци (Bozkurt et al., 2004) да овај лек изазива значајно смањење запремине сперме, смањује концентрацију и укупан броја сперматозоида, а негативно утиче и на покретљивости сперматозоида код овнова, због чега употреба левамизола код мушких јединки није погодна током сезоне парења.

На крају треба додати да се коришћење левамизола због своје токсичности и уског терапијског индекса користи под строгим надзором ветеринара и да се апликација врши искључиво након евидентирања телесне масе животиња. Ако којим случајем дође до предозирања и испољавања токсичног деловања левамизола, као антидот у терапији користи се атропин-сулфат који тренутно доводи до олакшања и

спашавања живота животиње. Поред атропина, препоручује се примена витамина Б комплекса, као и инфузије физиолошког раствора за рехидратацију животиње (Sharma et al., 2020).

## 2.5. Резистенција на антихелминтике

Резистенција на антихелминтике (АР) постоји када већи број јединки у оквиру популације може да поднесе одређену дозу неког једињења у односу на нормалну популацију исте врсте и наследна је (Sutherland i Scott, 2010). Озбиљан је савремени проблем у сточарској производњи, веома је раширена на глобалном нивоу и присутна је у свим класама антихелминтика који се употребљавају у терапији паразитских гастроентеритиса (Симин и сар., 2018). Осим тога, АР је биолошки неизбежна, може се само одложити или успорити, а када се једном појави у популацији, реверзија није могућа ако се настави контрола паразита само помоћу антихелминтика уз одсуство примене других додатних мера контроле (Riviere и Papich, 2018). Историјски посматрано, код оваца је веома брзо долазило до развоја АР на неки антихелминтик од његовог увођења у праксу. На пример, за тиабендазол је тај период био 3 године, за левамизол 9, за ивермектин 7, а за моксидектин 4 године (Karlan, 2004).

Као најчешћи разлози за настанак и ширење АР се помињу уношење резистентних паразита са новонабављеним овцама које нису адекватно прегледане и третиране у карантину. Затим, напасање више запата на једном пашњаку, величина стада, висока фреквенција дехелминтизације, субдозирање, континуирана примена истих класа лекова и, један од најважнијих фактора, интензивна примена антихелминтика (Симин и сар., 2018).

Механизми настанка АР укључују или разлике у метаболизму лека унутар паразита и/или мутације на месту везивања лека (Taylor et al., 2007), а за сваку хемијску класу антхелминтика важи да ако постоји резистенција на једну активну супстанцу из те класе, обично ће постојати и код осталих активних супстанци из исте класе (Riviere и Papich, 2018). Брзина којом се АР развија и шири унутар популације одређена је количином паразита који преживе антхелминтички третман и доприносе својим генима на отпорност наредних генерација. Паразити имају велики број начина да постану резистентни, а неки од њих су: смањено узимање и појачан метаболизам лека, модификована активност ензимских система паразита, промене броја, структуре

и афинитета ћелијских рецептора лека и претерано излагање циљних гена да би се превазишао ефекат антхелминтика. Све ове генетске модификације и молекуларне промене паразита представљају основу феномена резистенције (Riviere и Papich, 2018).

АР је забележена широм света на бензимидазоле, макроцикличне лактоне (ивермектин) и имидазотиазоле (левамитол), а најчешће се јавља код желудачно-цревних стронгилида оваца и коза, а посебно код три најважнија рода *Haemonchus*, *Teladorsagia* и *Trichostrongylus* (Jabbar et al., 2006; Torres-Acosta et al., 2012; Lyndal-Murphy et al., 2014; Rose et al., 2015;).

Озбиљност и преваленција резистенције се разликује између различитих делова света, између различитих врста хелминта, као и између различите врсте животиње домаћина. АР је посебно значајна код коза, оваца и коња, а највећи нивои АР јављају се у Аустралији, Јужној Америци, САД и Новом Зеланду (Waghorn et al., 2006; Taylor et al., 2007; Almeida et al., 2010; Torres-Acosta et al., 2012; Lyndal-Murphy et al., 2014; Herrera-Manzanilla et al., 2017; Castro-Arnáez et al., 2021). Ситуација у Европи се разликује по томе што је резистенција на бензимидазоле висока, док је за левамитол и макроцикличне лактоне још увек релативно ниска (Taylor et al., 2007; Papadopoulos et al., 2012; Traversa и von Samson-Himmelstjerna, 2016).

У нашој земљи је доказано постојање резистенције желудачно цревних стронгилида оваца и коза на ивермектин (Симин и сар, 2014; 2019), али још увек нема објављених података о преваленцији резистенције на овај лек. Подаци о ефикасности левамитола на нашим просторима нису пронађени у доступној литератури, док су ефикасност тетрамитола, другог представника имидазотиазола, испитивали Чанковић и Меић (1972), као и Вујић и сар. (1972) када је и регистрован на тржишту бивше СФР Југославије.

### **2.5.2. Резистенција на левамитол**

Међу Европским земљама, АР на левамитол је забележена у Шпанији, Француској и Грчкој, са различитим процентима ефикасности (Geurden et al., 2014; Martínez-Valladares et al., 2015). У Италији су Траверса и сарадници (Traversa et al., 2007) такође доказали АР на левамитол где је овај антхелминтик имао ефикасност од само 89% у поређењу са ивермектином, фебантелом и моксидектином који су били далеко ефикаснији.

У Аустралији је преваленца резистенције на левамизол била 42% (Lyndal-Murphy et al., 2014), док је на Новом Зеланду износила 24% (Waghorn et al., 2006). АР је испитивана и дуж америчког континента, а резистенција на левамизол је забележена у различитој мери у Мексику, САД, Уругвају, па чак и на Куби (Nari et al., 1996; Arece et al., 2004; Howell et al., 2008; Torres-Acosta et al., 2014; Herrera-Manzanilla et al., 2017). Да Круз и сарадници (da Cruz et al., 2010) су у Бразилу испитујући резистенцију на 34 фарме оваца доказали да је она веома раширена и да је од разних класа антихелминтика левамизол, и поред присуства резистенције, имао најбољу укупну ефикасност од 70%. На афричком континенту, тачније у Кенији је у борби против изолата *H. contortus* резистентног на ивермектин левамизол имао ефикасност од 41,4%, док је код нерезистентног изолата био скоро потпуно ефикасан (Waruiru, 1997). Такође на афричком континенту, у Танзанији су Кеју и сарадници (Keuyu et al., 2002) потврдили високу ефикасност левамизола од 98%. АР на левамизол се такође може јавити и када се он налази у комбинованим препаратима (Taylor et al., 2007; Oliveira et al., 2017). Међутим у Северној Ирској и Аустралији је доказано да су комбиновани производи који садрже левамизол веома ефикасни и без присуства резистенције (McMahon et al., 2013; Preston et al., 2019).

## **3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА**

### **3.1. Циљ истраживања**

Циљ овог рад и истраживања је:

- да се дефинише појам и значај инфекције оваца желудачно-цревним стронгилидама
- да се утврди ефикасност левамизола против желудачно-цревних стронгилида на изабраним фармама оваца где је претходно доказана резистенција на ивермектин

### **3.2. Задаци истраживања**

Задаци и план овог рада и истраживања:

- Идентификација фарми оваца на којима је доказана резистенција желудачно-цревних стронгилида на ивермектин
- Провера ефикасности левамизола против желудачно-цревних стронгилида резистентних на ивермектин
- Обрада резултата

## 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Ефикасност левамизола је за потребе овог рада испитана на три фарме оваца у Војводини (у Новом Саду, Србобрану и Банатској Дубици) на којима је на основу претходног истраживања, помоћу теста редукције јаја (енг. Faecal egg count reduction test(FECRT)). (Симин и сар, необјављени резултати) доказана резистенција на ивермектин (процент редукције јаја (ПР)= 85; 82 и 55%, тим редом), Резултати ефикасности ивермектина на поменутиим фармама оваца дати су у табели 1.

**Табела 1. Резултати и доказ резистенције на ИВМ на фармама на којима је испитивана ефикасност левамизола (Симин и сар, необјављени резултати).**

Број фарме	Локација	n	Раса	Просечан број јаја (МИН-МАХ)		Број позитивних 14. дана	ПР (%)	95 % ИП	АР статус
				0 дан	14 дан				
1	Србобран	17	Виртемберг	603 (130-2120)	108 (10-980)	17	82	80-84	Резистентан
2	Нови Сад	21	Цигаја	425 (5-3890)	62 (5-1160)	15	85	84-87	Резистентан
3	Банатска Дубица	24	Виртемберг	994 (70-2245)	443 (5-1920)	23	55	53-58	Резистентан

За испитивање ефикасности левамизола, у Новом Саду је тестирано 14 оваца расе цигаја, а у Србобрану и Банатској Дубици 19 и 18 оваца расе виртемберг. Узорци фецеса су узимани директно из ректума животиње, прописно обележени, и у расхлађеном ручном фрижидеру транспортовани у лабораторију Департамана за Ветеринарску медицину Пољопривредног факултета у Новом Саду. Узорци су узети на дан апликације лека (дан 0) и седам дана након тога (дан 7) у складу са препорукама Светског удружења за унапређење ветеринарске паразитологије (Coles et al, 2006).

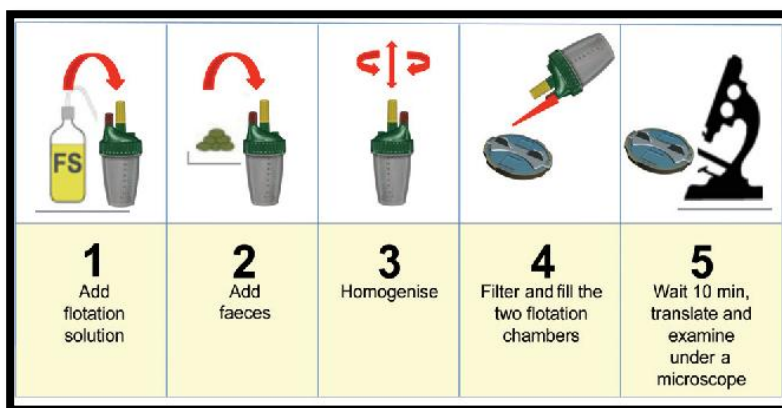
Ради апликације тачне дозе лека, свака животиња је измерена на ваги да се одреди телесна маса и субкутано јој је апликован левамизол хидрохлорид (Neositol, FM pharm, Суботица) у дози препорученој од стране произвођача (7,5 мг/кг ТМ) (Слика 6 и 7)



Слика 6 и 7: Субкутана апликација левамизола у колени набор овце, ориг.

За бројање паразитских елемената у измету оваца коришћена је метода MINI-FLOTAC (Cringoli et al, 2013), а процедура за бројање је следећа:

1. Измерити 5 грама измета помоћу лабораторијске ваге и убацити у контејнер FILL-FLOTAC уређаја
2. Додати 45 мл засићеног раствора NaCl у контејнер FILL-FLOTAC уређаја
3. Добро хомогенизовати помоћу посебно направљене ручице
4. Пунити поља на MINI-FLOTAC апарату
5. Оставити MINI-FLOTAC апарат да одстоји 10 минута, а након тога ротирати диск за читање
6. Прегледати узорак под микроскопом на увеличању од 100 пута и бројати паразитска јаја у обе коморице MINI-FLOTAC апарата
7. Један избројани паразитски елемент је еквивалент са 5 истих по граму измета

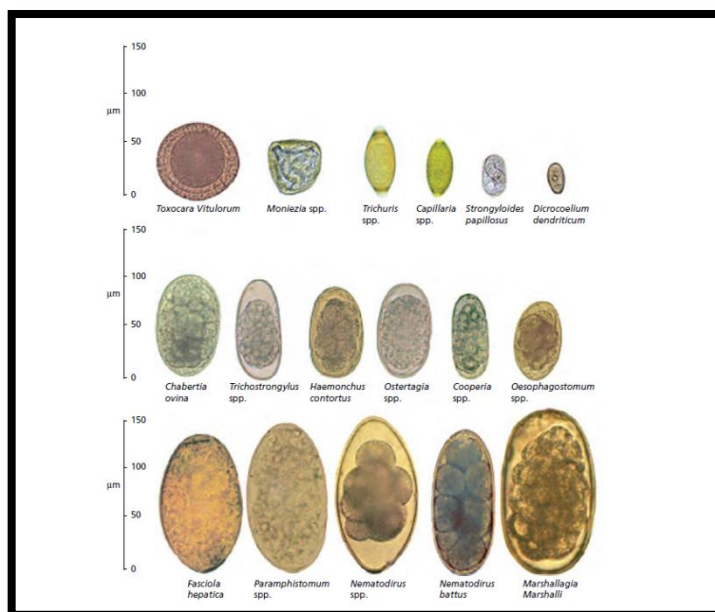


Слика 8: Кораци при употреби MINI-FLOTAC апарата и FILL-FLOTAC уређаја

(Cringoli et al., 2013)

При прегледу коморица MINI-FLOTAC апарата и бројању паразитских јаја, посебно су бројана јаја стронгилидног типа, а посебно јаја која се лако морфолошки разликују (Taylor et al., 2007), попут *Nematodirus spp.*, *Trichuris spp.*, *Strongyloides papillosus*, као и јаја пантљичара која су пронађена у неким узорцима. Бројање свих паразитских елемената је вршено 0. дана (дан апликације лека), и 7. дана (дан контроле).

Слика 9: Морфологија јаја хелмината преживара (Taylor et al., 2007)



Ради идентификације родова желудачно-цревних стронгилида постављена је копрокултура 0 и 7 дана у трајању од 7 дана на 27°C.

Процент редукције јаја уз интервал поверења од 95% израчунат је помоћу веб сајта: <http://shiny.math.uzh.ch/user/furrer/shinyas/shiny-eggCounts/> (datum pristupa 12.11.20.), узимајући у обзир појединачне FEC пре и после третмана (два упарена узорка) за сваку групу, фактор корекције 5 (аналитичка осетљивост MINI-FLOTAC) и без нулте инфлације.



## 5. РЕЗУЛТАТИ

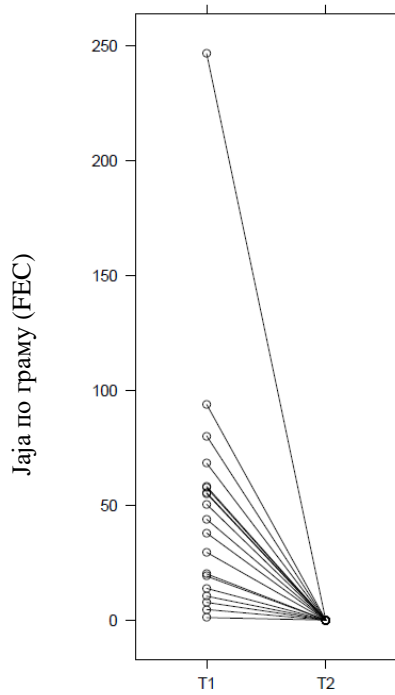
Просечан број јаја желудачно-цревних стронгилида нултог дана на испитиваним фармама био је у распону од 1617 до 2510 јаја по граму измета. Процент редукције јаја седмог дана након апликације левамизола на све три испитиване фарме износио је 99-100%. Ови резултати указују да резистенције на левамизол нема и да је ефикасност овог антихелминтика против желудачно-цревних стронгилида резистентних на ивермектин скоро потпуна (Табела 2). Процент редукције од 99% утврђен је на фарми у Новом Саду где је 7. дана (дан контроле), пронађено 3 позитивне јединке са просечно 2 јаја по граму измета, док је на фармама у Банатској Дубици и Србобрану ефикасност била 100%, без присуства јаја стронгилида у фецесу оваца 7. дана (Графикон 1).

**Табела 2. Резултати ефикасности левамизола против желудачно-цревних стронгилида оваца на три испитиване фарме у Војводини.** Приказани су: број и локација фарме; број и раса оваца; просечан број јаја са минималним и максималним вредностима (0. и 7. дана); број позитивних оваца 7. дана; проценат редукције (ПР); 95% интервал поверења (95% ИП); статус резистенције (АР).

Број фарме	Локација	n	Раса	Просечан број јаја (МИН-МАКС)		Број позитивних 7. дана	ПР (%)	95 % ИП	АР статус
				0 дан	7 дан				
1	Србобран	19	Виртемберг	2510 (55-12330)	0 (0-0)	0	100	100-100	Није резистентан
2	Нови Сад	14	Цигаја	2218 (75-12400)	2 (5-10)	3	99	99-100	Није резистентан
3	Банатска Дубица	18	Виртемберг	1617 (380-1450)	0 (0-0)	0	100	100-100	Није резистентан

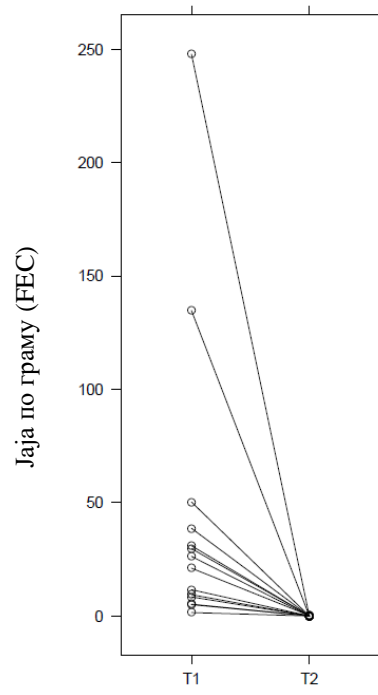
**Графикон 1. Процент редуције јаја након примене левамизола на три испитиване фарме оваца (xyPlot).**

а)



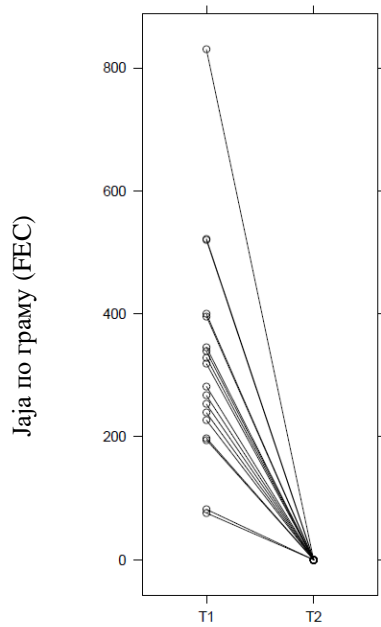
0. дан (T1) и 7. дан (T2)

б)



0. дан (T1) и 7. дан (T2)

в)



0. дан (T1) и 7. дан (T2)

а) Србобран  
б) Нови Сад  
в) Банатска Дубица

На испитиваним фармама су забележена и јаја других врста цревних паразита као што су нематоде *Nematodirus spp.*, *Trichuris spp.*, *Strongyloides papillosus*, и цестоде *Moniezia expansa* и *Thysaniezia spp.* Из приложених паразитолошких налаза (Табела 3, 4, 5) може се видети и ефикасност левамизола против тих врста, као и да овај препарат не делује против пантљичара, што је у складу са прескрипцијом лека.

**Табела 3. Паразитолошки налаз јаја других врста паразита на фарми у Србобрану.**

Приказани су: редни број овце; број јаја одређених врста паразита 0. дана; број јаја одређених врста паразита 7. дана. Пронађена јаја пантљичара (*Moniezia spp.* и *Thysaniezia spp.* ) нису бројана већ само забележена

Ред. број	Налази 0.дан (помножени сиров број са 5)					Налази 7.дан (помножени сиров број са 5)				
	N	S.p.	Tr	Mon	Thy	N	S.p.	Tr	Mon	Thy
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	15	+	0	0	0	5	+	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	20	10	0	0	0	0	0	0	0	0
14	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	15	0	5	0	0	0	0	0	0	0
16	5	5	0	0	+	0	0	0	0	+
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Табела 4. Паразитолошки налаз јаја других врста паразита на фарми у Банатској Дубици.** Приказани су: редни број овце; број јаја одређених врста паразита 0. дана; број јаја одређених врста паразита 7. дана. Пронађена јаја пантљичара (*Moniezia spp.*) нису бројана већ само забележена.

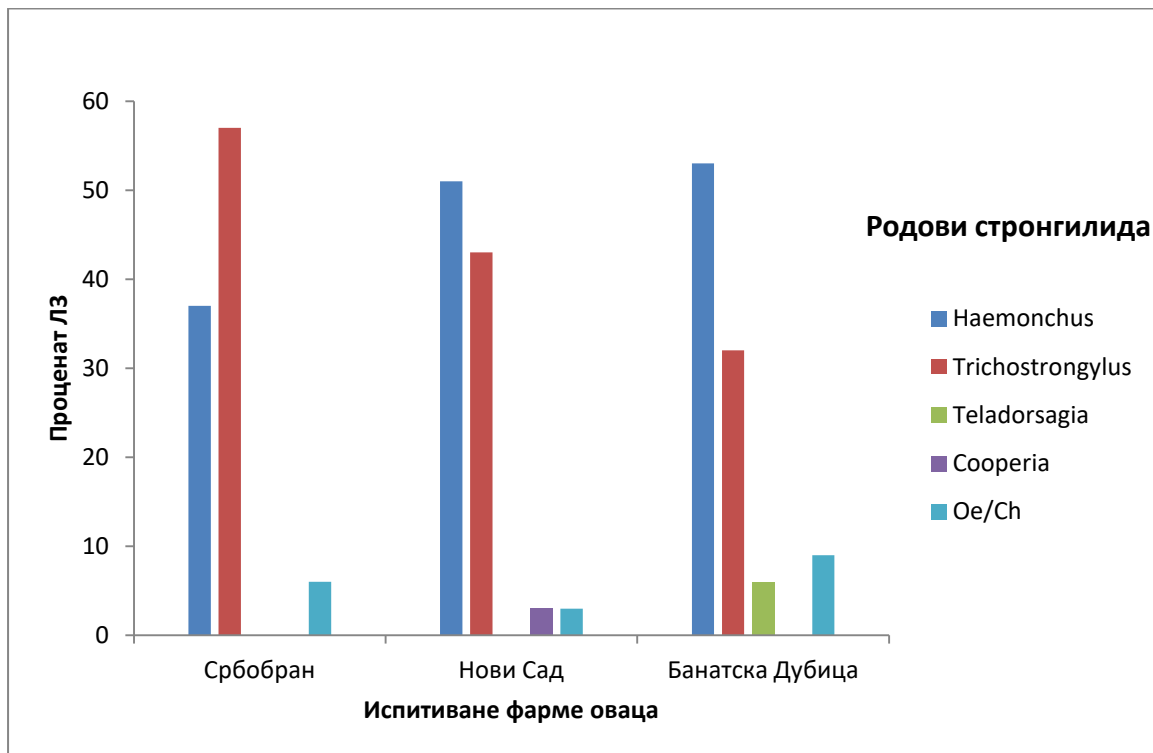
Ред. број	Налази 0.дан (помножени сиров број са 5)				Налази 7.дан (помножени сиров број са 5)			
	Nematodirus	S.papillosus	Moniezia	Trichuris	Nematodirus	S.papillosus	Moniezia	Trichuris
1	25	0	+	0	0	0	+	0
2	20	80	+	0	0	0	+	0
3	0	0	0	0	0	5	0	0
4	10	25	0	0	0	20	0	0
5	70	300	+	0	0	0	+	0
6	85	5	+	0	0	0	+	0
7	0	0	+	0	0	0	+	0
8	0	0	+	0	0	0	+	0
9	95	0	+	25	0	0	+	5
10	50	0	0	0	0	0	0	0
11	260	10	+	0	0	0	+	0
12	25	110	+	0	0	5	+	0
13	85	40	+	0	0	15	+	5
14	20	5	0	0	0	0	0	0
15	0	10	0	0	0	0	0	0
16	15	5	0	5	0	0	0	0
17	0	5	+	0	0	0	+	0
18	5	5	+	0	0	5	+	0

**Табела 5. Паразитолошки налаз јаја других врста паразита на фарми у Новом Саду.** Приказани су: редни број овце; број јаја одређених врста паразита 0. дана; број јаја одређених врста паразита 7. дана.

Ред. број	Налази 0.дан (помножени сиров број са 5)			Налази 7.дан (помножени сиров број са 5)		
	Nematodirus	S.papillosus	Trichuris	Nematodirus	S.papillosus	Trichuris
1	0	205	10	0	0	0
2	15	340	0	0	40	0
3	0	75	0	0	0	0
4	0	925	0	0	15	0
5	25	1280	0	0	20	0
6	0	850	0	0	85	0
7	35	1030	0	0	1470	0
8	40	3010	50	0	5	0
9	0	1815	5	0	0	0
10	10	145	0	0	0	0
11	0	720	0	0	10	0
12	25	2030	0	0	170	0
13	0	110	0	0	10	0
14	0	130	0	0	15	0

Приликом идентификације ифективних ларвица желудачно-цревних стронгилида оваца, установљено је неколико различитих врста/родова. На све три испитиване фарме оваца идентификовани су *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp.* и *Oesophagostomum/Chabertia*, при чему су *Haemonchus contortus* и *Trichostrongylus spp.* најзаступљеније стронгилиде (37-53% и 32-57%, тим редом), а родови *Oesophagostomum* и *Chabertia* су присутни у знатно мањем проценту (од 3 до 6 %). Поред ових врста на фарми у Новом Саду идентификовано је 3% ларвица из рода *Cooperia spp.*, а на фарми у Банатској Дубици 6% ларвица *Teladorsagia circumcincta* што је сумирано и графички приказано (Графикон 2).

**Графикон 2. Идентификовани родови стронгилида са процентом ларвица трећег стадијума (ЛЗ) на три испитиване фарме оваца.**



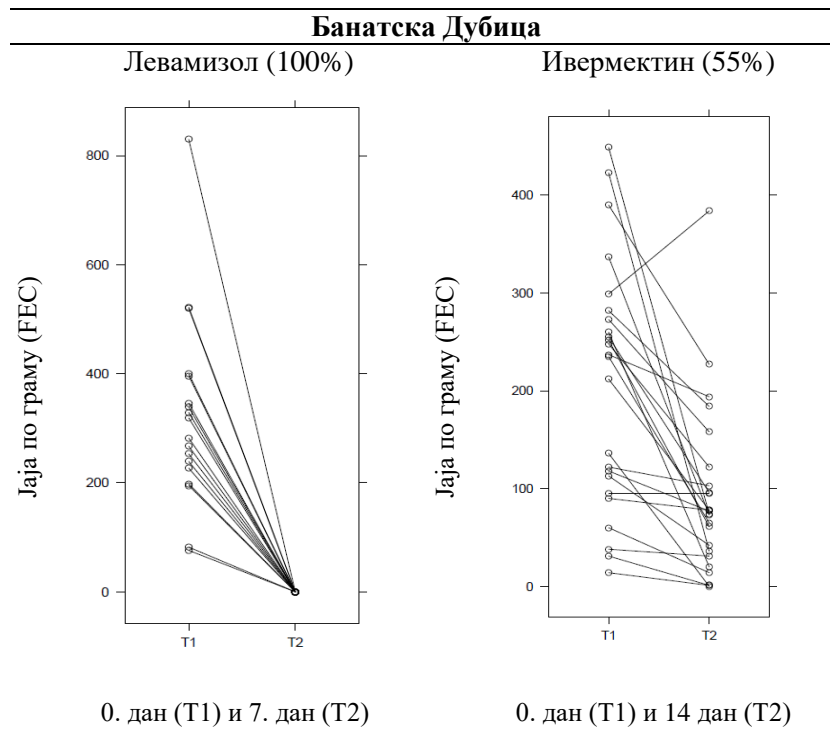
## 6. ДИСКУСИЈА

У овом истраживању, ефикасност левамизола против желудачно-цревних стронгилида оваца резистентних на ивермектин на фармама у Банатској Дубици и Србобрану била је 100%, без присуства јаја стронгилида у фецесу оваца 7. дана, док је ефикасност од 99% утврђена на фарми у Новом Саду. Како је раније утврђено (Симин и сар, необјављени резултати), на посматраним фармама ивермектин није успешан у контроли желудачно-цревних стронгилида, па је у Новом Саду и Србобрану проценат редукције јаја био 85 и 82%, што још увек донекле доприноси контроли укупне популације стронгилида. Међутим, у Банатској Дубици је ефикасност ивермектина износила 55%, што значи да скоро половина паразита преживи терапију овим антихелминтиком.

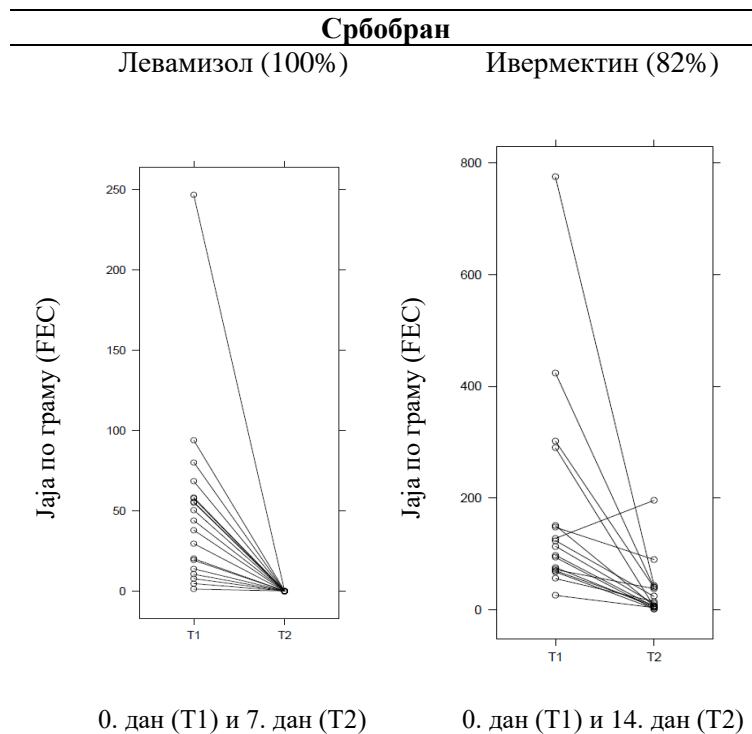
Неуспешна контрола стронгилида ивермектином доводи до пада продуктивности, појаве болести и угинућа животиња. Резултати овог истраживања показују да су на посматраним фармама у високом проценту присутни неки од најважнијих паразита пашних оваца попут веома патогених *H. contortus* и *Trichostrongylus spp.* Када се повећа број јаја ових стронгилида (и касније ларвица) на пашњаку, као последица контаминације услед немогућност ивермектина да елиминише резистентне паразите, може доћи до појаве озбиљних проблема.

Зато је висока ефикасност левамизола против стронгилида оваца резистентних на ивермектин, која је доказана у овом истраживању, веома значајна јер нуди нашим фармерима антихелминтик који ће моћи успешно да излечи животиње, али и да превенира појаву патогених стронгилида смањујући контаминацију пашњака њиховим јајима, што је упоредно приказано за посматране фарме (Графикони 3, 4 и 5).

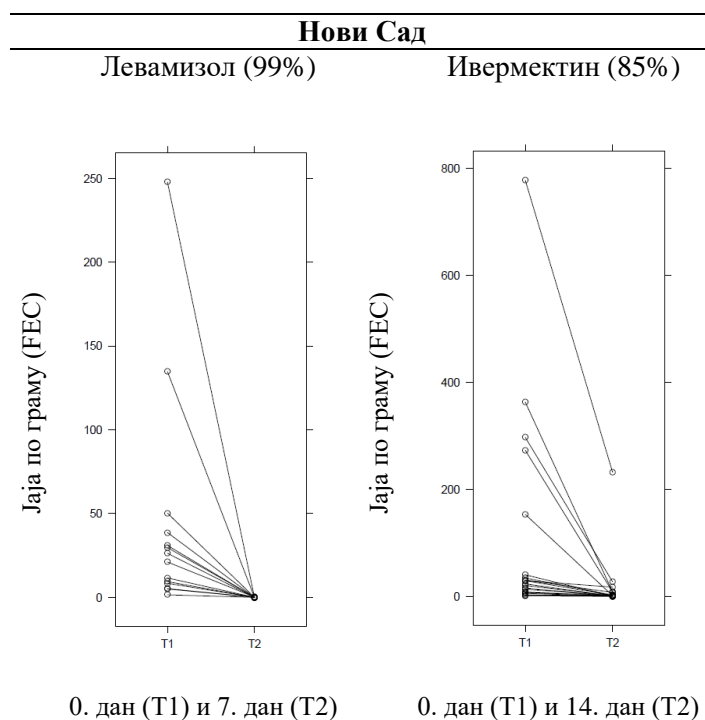
**Графикон 3. Процент редуције јаја након примене левамизола и ивермектина на фарми оваца у Банатској Дубици (хуPlot). 100%-процент редуције јаја након употребе левамизола; 55%- проценат редуције јаја након употребе ивермектина**



**Графикон 4. Процент редуције јаја након примене левамизола и ивермектина на фарми оваца у Србобрану (хуPlot). 100%-процент редуције јаја након употребе левамизола; 82%- проценат редуције јаја након употребе ивермектина**



**Графикон 5. Процент редуције јаја након примене левамизола и ивермектина на фарми оваца у Новом Саду (xyPlot).** 99%- проценат редуције јаја након употребе левамизола; 85%- проценат редуције јаја након употребе ивермектина.



Сличну ефикасност левамизола са подацима добијеним у овом истраживању, доказао је Ендрјус у југоисточној Енглеској (Andrews, 2000), који је забележио проценат редуције јаја од 98 до 100% против *Haemonchus contortus* и *Ostertagia circumcincta* резистентних на бензимидазоле. Осим тога, постоји још извештаја о потпуној ефикасности левамизола против желудачно-цревних стронгилида оваца, на пример у Холандији и Канади (Borgsteede et al., 2007, Falzon et al., 2013). Ефикасност левамизола од 100% доказана је и у Кенији против изолата *H. contortus* осетљивог на ивермектин (Wagiri, 1997). Исти аутор је упототребрио левамизол и против резистентног изолата, али је редуција јаја износила свега 41,4 %, што указује да контрола *H. contortus* резистентног на ивермектин овим леком не би била успешна.

Један од разлога за добру ефикасност левамизола је чињеница да га неки фармери и ветеринари мање употребљавају у контроли стронгилида. На испитиваним фармама оваца у нашем истраживању, левамизол или није употребљаван никад (Нови Сад и Банатска Дубица) или је то рађено ретко (Србобран). У појединим земљама, као што је Шведска, се левамизол ретко користи у поређењу са бензимидазолима и



макроцикличним лактонима и примењује се само на фармама где ове две класе лекова нису показале успех после терапије (Baltrušis et al., 2021).

Петнаестак година раније, слична ситуација је забележена у Швајцарској, где је утврђена висока ефикасност ретко употребљаваног левамизола против стронгилида у стадима оваца и коза где је раширена резистенција на авермектине (дорамектин) (Artho et al., 2007). Како је од раније познато да на 80-90% фарми у Швајцарској бензимидазоли имају слабу ефикасност, а утврђена је и лоша ефикасност макроцикличних лактона, Арто и сарадници наводе да је у њиховој земљи једина опција за успешну контролу желудачно-цревних стронгилида левамизол.

У другим земљама Европе бележи се различита ефикасност левамизола. На пример, у Италији је процентат редукције јаја износио од 82 до 97% што значи да на појединим фармама има и резистенције на овај лек (Geurden et al., 2014). Нешто слабија ефикасност левамизола доказана је и у Грчкој са просечним процентом редукције јаја од 87% (Geurden et al., 2014). Треба напоменити да је на истим фармама ивермектин показао веома високу ефикасност која се кретала од 98 до 100% и да није пронађена АР (Geurden et al., 2014). Сличне резултате, али са високом ефикасношћу ивермектина, а појавом АР на левамизол и редукцијом јаја од 89% доказали су Траверса и сарадници (Traversa et al., 2007) такође у Италији.

Према наводима неких аутора, појава резистенције на левамизол на терену је знатно спорија у поређењу са настанком резистенције других класа антихелминтика (Baltrušis et al., 2021). Како се све више јавља резистенција на бензимидазоле и макроцикличне лактоне, сигурно је да ће се употреба левамизола у будућности повећати (Baltrušis et al., 2021), вероватно у борби против паразита резистентних на друге молекуле.

Повећана употреба левамизола доводи до слабије ефикасности против стронгилида. Испитујући резистенцију разних врста антихелминтика Да Круз и сарадници (da Cruz et al., 2010) су у Бразилу доказали да редукција јаја након терапије левамизолом, у просеку, износи 70%, док је ивермектин показао ефикасност од само 20%. Потпуна резистенција желудачно-цревних стронгилида на ивермектин доказана је у Костарики, док је левамизол упркос доказаној резистенцији и веома лошем терапијском учинку (процент редукције јаја од 17%) најефикаснији лек (Castro-Arnáez et al., 2021), што илуструје веома тешку ситуацију у контроли паразитског гастроентеритиса у овој централноамеричкој држави.

Поред примене антипаразитета, контрола и терапија желудачно-цревне стронгилозе заснована је на низу мера као што су биолошке мере, посебни режими исхране и узгоја, контролисано напасање и на крају циљани селективни третман (енг. Target selected treatment/TST, Симин, 2016). Од наведених мера TST као мера контроле има највећи значај са становишта појаве и развоја резистенције на антихелминтика. Како му само име говори, TST је циљана селективна примена антихелминтика, који се апликује само оним јединкама за које је вероватно да ће имати користи од тога, а не целом стаду (Greer et al., 2010). Такође треба истаћи да TST одлаже појаву резистенције због тога што се не лече све овце него само оне којима је то потребно, па остаје „резерва“ паразита у овцама и на пашњаку (тзв. refugia) која разређује гене за резистенцију, приликом парења и размножавања паразита (Симин, 2016). Резерва паразита, како на пашњаку тако и у овцама, је кључна за ефикасно управљање AP. Истраживања су потврдила потенцијал различитих стратегија имплементације, а један од њих је TST (Besier, 2012). То је у свом истраживању потврдио Де Соза Чагас који је са сарадницима (de Souza Chagas et al., 2016) вршио TST са левамизолом и доказао да је то добра опција за успоравање AP.

На основу резултата о ефикасности левамизола из овог рада и података из доступне литературе, свакако би и за произвођаче из Србије била препорука да усвоје и примене метод селективног третмана како би се ефикасност овог антихелминтика одржала дуги низ година. Такође треба подићи свест о значају паразитолошких прегледа, а тиме и избегавању третирања животиња којима није потребна терапија, што би довело до смањене употребе истих антихелминтика, смањене фреквенције дехелминтизације, али и поштовања принципа TST, што би уз остале мере контроле желудачно-цревних стронгилида обезбедило успешну и дугогодишњу примену левамизола.

## 7. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата који су добијени приликом израде овог дипломског рада, изведени су следећи закључци:

1. Код оваца на испитиваним фармама паразитира неколико различитих врста/родова желудачно-цревних стронгилида: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp.*, *Oesophagostomum/Chabertia*, *Cooperia spp.* и *Teladorsagia circumcincta*. Поред желудачно-цревних стронгилида паразитирају и други цревни паразити, а то су нематоде: *Nematodirus spp.*, *Trichuris spp.*, *Strongyloides papillosus*, као и цестоде: *Moniezia expansa* и *Thysaniezia spp.*
2. Установљена је висока ефикасност левамизола на фармама оваца где постоји резистенција желудачно-цревних стронгилида на ивермектин, која на фарми у Новом Саду износи 99%, а на фармама у Србобрану и Банатској Дубици износи 100%.
3. На основу упоредних резултата ефикасности ивермектина и левамизола на три испитиване фарме, препорука је да лек избора у терапији желудачно-цревне стронгилидозе оваца буде левамизол, уз пажљиву примену и употребу других мера.

## 8. ЛИТЕРАТУРА

1. Вујић, Б., Анић, Н., Бошковић, В. (1980). О антипаразитицима и значају њихове употребе у овчарској производњи. Ветеринарски гласник, 34(8), 735-743.
2. Вујић, Б., Петровић, К., Радовановић, М. (1972). Ефикасност употребе тетрализолола у сузбијању паразитарних болести оваца. Praxis Veterinaria 20(1-2), 81-88.
3. Јездимирвић, М. Б. (2010). Ветеринарска фармакологија (IV допуњено издање). Факултет ветеринарске медицине. Београд.
4. Лалошевић, В., Цирковић, М., Лалошевић, Д., Михајловић-Укропина, М., & Рајковић, Д. (2005). Паразитологија. Нови Сад: Пољопривредни факултет.
5. Лалошевић, В., Бобош, С., & Симин, С. (2008) Налаз гастроинтестиналних и плућних паразита код оваца. CONTEMPORARY AGRICULTURE, 1.
6. Петровић, М. П., Ружић, Д., Жујовић, М., & Скалички, З. (2004). Перспективе Селекције у овчарству Србије. Biotechnology in Animal Husbandry, 20, 5-6.
7. Поповић, Н., Средојевић, З., & Дјорђевић, Т. (2015). Position of sheep production in Serbia. Агроекономика, 44(68), 103-113.
8. Симин, С., Симин, В., Куруца, Ј., Савовић, М., Бугарски, Д., & Лалошевић, В. (2014). Прелиминарни извештај о налазу резистенције на ивермектин код желудачно-цревних стронгилида оваца у Србији. Симпозијум XVI Епизоотиолошки дани Србије, Зрењанин, Србија, 6-7
9. Симин, С. (2016). In vitro ефекат нематофагне гљиве Duddingtonia flagrans на желудачно-цревне стронгилиде оваца. Универзитет у Новом Саду.
10. Симин, С., Савовић, М., & Лалошевић, В. (2018). Резистенција на антихелминтике – ограничавајући фактор успешне контроле желудачно-цревне стронгилидозе оваца. Конференција: Једнодневни семинар: Здравствена заштита и репродукција фармских животиња, "Нови Сад 2018"; Пољопривредни факултет, Нови Сад, Србија.
11. Хаџовић, С., (1986). Новоодобрени лијекови. Veterinaria.
12. Чанковић, М. и Меић, А. (1972). Дјеловање Нилверма на желучано-цријевне стронгилиде и на Dictyocaulus filaria у јањаца. Praxis Veterinaria 20 (3), 141-145.
13. Шибалић, С., Цветковић, Ј. (1996). Паразитске болести домаћих животиња, Универзитет у Београду.

14. Almeida, F. A., Garcia, K. C. O. D., Torgerson, P. R., & Amarante, A. F. T. D. (2010). Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitology International*, 59(4), 622-625.
15. Andrews, S. J. (2000). The efficacy of levamisole, and a mixture of oxfendazole and levamisole, against the arrested stages of benzimidazole-resistant *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* in sheep. *Veterinary parasitology*, 88(1-2), 139-146.
16. Arece, J., Mahieu, M., Archimède, H., Aumont, G., Fernández, M., González, E., ... & Menendez-Buxadera, A. (2004). Comparative efficacy of six anthelmintics for the control of gastrointestinal nematodes in sheep in Matanzas, Cuba. *Small Ruminant Research*, 54(1-2), 61-67.
17. Arsenopoulos, K. V., Fthenakis, G. C., Katsarou, E. I., & Papadopoulos, E. (2021). Haemonchosis: A Challenging Parasitic Infection of Sheep and Goats. *Animals*, 11(2), 363.
18. Artho, R., Schnyder, M., Kohler, L., Torgerson, P. R., & Hertzberg, H. (2007). Avermectin-resistance in gastrointestinal nematodes of Boer goats and Dorper sheep in Switzerland. *Veterinary parasitology*, 144(1-2), 68-73.
19. Baltrušis, P., Charvet, C. L., Halvarsson, P., Mikko, S., & Höglund, J. (2021). Using droplet digital PCR for the detection of hco-acr-8b levamisole resistance marker in *H. contortus*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 15, 168-176.
20. Besier, R. B. (2012). Refugia-based strategies for sustainable worm control: factors affecting the acceptability to sheep and goat owners. *Veterinary parasitology*, 186(1-2), 2-9.
21. Borgsteede, F. H., Dercksen, D. D., & Huijbers, R. (2007). Doramectin and albendazole resistance in sheep in The Netherlands. *Veterinary parasitology*, 144(1-2), 180-183.
22. Bowman, D. D. (2020). *Georgis' Parasitology for Veterinarians E-Book*. Elsevier Health Sciences.
23. Bozkurt, T., Tanyıldızı, S., & Türk, G. (2004). Effects of levamisole on hyaluronidase activity and sperm characteristics in rams. *Theriogenology*, 62(1-2), 323-329.
24. Campbell, W. C., Fisher, M. H., Stapley, E. O., Albers-Schonberg, G., & Jacob, T. A. (1983). Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*, 221(4613), 823-828.

25. Castro-Arnáez, I. C., Montenegro, V. M., Vargas-Leitón, B., Álvarez-Calderón, V., & Soto-Barrientos, N. (2021). Anthelmintic resistance in commercial sheep farms in Costa Rica. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 23, 100506.
26. Charlier, J., Rinaldi, L., Musella, V., Ploeger, H. W., Chartier, C., Vineer, H. R., ... & Claerebout, E. (2020). Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. *Preventive Veterinary Medicine*, 182, 105103.
27. Charlier, J., Thamsborg, S. M., Bartley, D. J., Skuce, P. J., Kenyon, F., Geurden, T., ... & Claerebout, E. (2018). Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 217-234.
28. Charon, K. M. (2004). Genes controlling resistance to gastrointestinal nematodes in ruminants. *Animal Science Papers and Reports*, 22(1), 135-139.
29. Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., ... & Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology*, 136(3-4), 167-185.
30. Cringoli, G., Rinaldi, L., Albonico, M., Bergquist, R., & Utzinger, J. (2013). Geospatial (s) tools: integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. *Geospatial health*, 7(2), 399-404.
31. Čerňanská, D., Várady, M., & Čorba, J. (2006). A survey on anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in the Slovak Republic. *Veterinary parasitology*, 135(1), 39-45.
32. da Cruz, D. G., da Rocha, L. O., Arruda, S. S., Palieraqui, J. G. B., Cordeiro, R. C., Junior, E. S., ... & de Paula Santos, C. (2010). Anthelmintic efficacy and management practices in sheep farms from the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary parasitology*, 170(3-4), 340-343.
33. Dar, P. A., Ahanger, S. A., Mehrajudin, M., Rather, M. A., & Shah, M. M. (2020) LEVAMISOLE TOXICITY IN SHEEP: CASE STUDY.
34. de Souza Chagas, A. C., Domingues, L. F., Gaínza, Y. A., Barioni-Júnior, W., Esteves, S. N., & Niciura, S. C. M. (2016). Target selected treatment with levamisole to control the development of anthelmintic resistance in a sheep flock. *Parasitology research*, 115(3), 1131-1139.

35. Epe, C., Holst, C., Koopmann, R., Schnieder, T., Larsen, M., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2009). Experiences with *Duddingtonia flagrans* administration to parasitized small ruminants. *Veterinary parasitology*, 159(1), 86-90.
36. Falzon, L. C., Menzies, P. I., Shakya, K. P., Jones-Bitton, A., Vanleeuwen, J., Avula, J., ... & Peregrine, A. S. (2013). Anthelmintic resistance in sheep flocks in Ontario, Canada. *Veterinary parasitology*, 193(1-3), 150-162.
37. Geurden, T., Hoste, H., Jacquiet, P., Traversa, D., Sotiraki, S., di Regalbono, A. F., ... & Bartram, D. (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Veterinary parasitology*, 201(1-2), 59-66.
38. Gokce, H. I., Gunes, V. E. H. B. İ., Erdogan, H. M., Cıtil, M. E. H. M. E. T., Akca, A., & Yuksek, N. (2004). The effects of levamisole poisoning on the haematological and biochemical parameters in dogs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 81-84.
39. Gómez-Rincón, C., Uriarte, J., & Valderrábano, J. (2006). Efficiency of *Duddingtonia flagrans* against *Trichostrongyle* infections of sheep on mountain pastures. *Veterinary parasitology*, 141(1), 84-90.
40. Greer, A. W., Kenyon, F., Bartley, D. J., Jackson, E. B., Gordon, Y., Donnan, A. A., ... & Jackson, F. (2009). Development and field evaluation of a decision support model for anthelmintic treatments as part of a targeted selective treatment (TST) regime in lambs. *Veterinary Parasitology*, 164(1), 12-20.
41. Herrera-Manzanilla, F. A., Ojeda-Robertos, N. F., González-Garduño, R., Cámara-Sarmiento, R., & Torres-Acosta, J. F. J. (2017). Gastrointestinal nematode populations with multiple anthelmintic resistance in sheep farms from the hot humid tropics of Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 9, 29-33.
42. Howell, S. B., Burke, J. M., Miller, J. E., Terrill, T. H., Valencia, E., Williams, M. J., ... & Kaplan, R. M. (2008). Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the southeastern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233(12), 1913-1919.
43. Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M. N., & Afaq, M. (2006). Anthelmintic resistance: the state of play revisited. *Life sciences*, 79(26), 2413-2431.
44. Jadhav, R. K., Bhikane, A. U., Bhosale, A. A., Shaikh, H. A., & Jadhav, A. S. (2017). Acute oxyclozanide-levamisole poisoning in red kandhari bullocks. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 7(1), 16-17.

45. Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in parasitology*, 20(10), 477-481.
46. Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in parasitology*, 20(10), 477-481.
47. Kayser, O., Kiderlen, A. F., & Croft, S. L. (2003). Natural products as antiparasitic drugs. *Parasitology research*, 90(2), S55-S62.
48. Keyyu, J. D., Mahingika, H. M., Magwisha, H. B., & Kassuku, A. A. (2002). Efficacy of albendazole and levamisole against gastrointestinal nematodes of sheep and goats in Morogoro, Tanzania. *Tropical Animal Health and Production*, 34(2), 115-120.
49. Lyndal-Murphy, M., Ehrlich, W. K., & Mayer, D. G. (2014). Anthelmintic resistance in ovine gastrointestinal nematodes in inland southern Queensland. *Australian veterinary journal*, 92(11), 415-420.
50. Martin, R. J. (1997). Modes of action of anthelmintic drugs. *The Veterinary Journal*, 154(1), 11-34.
51. Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D. J., Martínez-Pérez, J. M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., ... & Rojo-Vázquez, F. A. (2015). Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. *Veterinary Parasitology*, 211(3-4), 228-233.
52. McKellar, Q., & Gokbulut, C. (2012). Pharmacokinetic features of the antiparasitic macrocyclic lactones. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(6), 888-911.
53. McMahon, C., Bartley, D. J., Edgar, H. W. J., Ellison, S. E., Barley, J. P., Malone, F. E., ... & Fairweather, I. (2013). Anthelmintic resistance in Northern Ireland (I): prevalence of resistance in ovine gastrointestinal nematodes, as determined through faecal egg count reduction testing. *Veterinary parasitology*, 195(1-2), 122-130.
54. Mitchell, E. S. E., Hunt, K. R., Wood, R., & McLean, B. (2010). Anthelmintic resistance on sheep farms in Wales. *The Veterinary record*, 166(21), 650.
55. Morgan, E. R., & Van Dijk, J. (2012). Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. *Veterinary parasitology*, 189(1), 8-14.
56. Müller, K. R., & Dwyer, C. (2016). Suspected levamisole intoxication in calves. *New Zealand veterinary journal*, 64(4), 257-260.
57. N. Sharma, A. Rahal, A. Mishra, V. Chaturvedi, C. Gangwar\* and G. Dass. (2020). Successful Management of Levamisole Toxicity in Sheep: A Case Report. *Veterinary*



58. Nari, A., Salles, J., Gil, A., Waller, P. J., & Hansen, J. W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Veterinary parasitology*, 62(3-4), 213-222.
59. O'Connor, L. J., Walkden-Brown, S. W., & Kahn, L. P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary parasitology*, 142(1-2), 1-15.
60. Oliveira, P. A. D., Riet-Correa, B., Estima-Silva, P., Coelho, A. C. B., Santos, B. L. D., Costa, M. A. P., ... & Schild, A. L. (2017). Multiple anthelmintic resistance in Southern Brazil sheep flocks. *Revista brasileira de parasitología veterinária*, 26, 427-432.
61. Papadopoulos, E., Gallidis, E., & Ptochos, S. (2012). Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. *Veterinary parasitology*, 189(1), 85-88.
62. Preston, S., Piedrafita, D., Sandeman, M., & Cotton, S. (2019). The current status of anthelmintic resistance in a temperate region of Australia; implications for small ruminant farm management. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 17, 100313.
63. Riviere, J. E., & Papich, M. G. (Eds.). (2018). *Veterinary pharmacology and therapeutics*. John Wiley & Sons.
64. Rose, H., Rinaldi, L., Bosco, A., Mavrot, F., de Waal, T., Skuce, P., ... & Vercruysse, J. (2015). Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. *Vet Rec*, 176(21), 546.
65. Scott, P. (2013): *Sheep medicine*, 3rd ed, Manson Publishing, UK
66. Sutherland, I., & Scott, I. (2010). *Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle: biology and control*. Wiley-Blackwell.
67. Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2007). *Veterinary Parasitology*, (3rd Ed.) Blackwell Publishing.
68. Torres-Acosta, J. F. J., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Caballero, A. J., & Cuéllar-Ordaz, J. A. (2012). Anthelmintic resistance in sheep farms: update of the situation in the American continent. *Veterinary parasitology*, 189(1), 89-96.
69. Traversa, D., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2016). Anthelmintic resistance in sheep gastro-intestinal strongyles in Europe. *Small Ruminant Research*, 135, 75-80.

70. Traversa, D., Paoletti, B., Otranto, D., & Miller, J. (2007). First report of multiple drug resistance in trichostrongyles affecting sheep under field conditions in Italy. *Parasitology research*, 101(6), 1713-1716.
71. Untersweg, F., Ferner, V., Wiedermann, S., Göller, M., Hörl-Rannegger, M., Kaiser, W., ... & Hinney, B. (2021). Multispecific resistance of sheep trichostrongylids in Austria. *Parasite*, 28, 50.
72. Waghorn, T. S., Leathwick, D. M., Rhodes, A. P., Lawrence, K. E., Jackson, R., Pomroy, W. E., ... & Moffat, J. R. (2006). Prevalence of anthelmintic resistance on sheep farms in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 54(6), 271-277.
73. Waruiru, R. M. (1997). Efficacy of closantel, albendazole and levamisole on an ivermectin resistant strain of *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Parasitology*, 73(1-2), 65-71.
74. Zajac, A. M. (2006). Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 22(3), 529-541.