

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Výskyt rezistence gastrointestinálních hlístic na
anthelmintika v chovech koz

Bakalářská práce

Autor práce: Markéta Císlerová

Obor studia: Speciální chovy

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci Výskyt rezistence gastrointestinální hlístic na anthelmintika v chovech koz jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 30.4.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Doc. Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, Ph.D. za velmi trpělivé vedení a věcné rady při zpracovávání této bakalářské práce.

Výskyt rezistence gastrointestinálních hlístic na anthelmintika v chovech koz

Souhrn

Tato bakalářská práce mapuje situaci týkající se rezistence gastrointestinálních hlístic u koz na anthelmintika. Tento parazitismus vede ke ztrátám produkce (růst nebo mléko) a v některých případech k vysoké úmrtnosti (při závažných infekcích nebo u mláďat).

Po mnoho let byly tyto infekce kontrolovány konvenčními anthelmintiky. Z důvodu nevhodného použití jako je například poddávkování, dlouhodobé užívání stejné skupiny anthelmintik, častá léčba nebo nedostatečná délka karantény se vyvinula anthelmintická rezistence, která je nyní u koz velmi rozšířená, jak dokládají četné případy anthelmintické rezistence (případně multirezistence), které byly hlášeny po celém světě. Rezistence se v současné době týká všech anthelmintických skupin, včetně poměrně nově zavedeného monepantelu. Způsob kontroly GI infekcí u koz by měl přejít od intenzivního používání anthelmintik ke komplexnějšímu řešení problému. Bude potřeba se zaměřit na alternativní způsoby kontroly GI infekcí.

Klíčová slova: koza, trávicí trakt, hlístice, infekce, tlumení, anthelmintika, léková rezistence

The occurrence of gastrointestinal nematodes to anthelmintic drugs in goat herds

summary

This bachelor thesis maps the situation regarding the resistance of gastrointestinal nematodes in goats to anthelmintics. This parasitism leads to loss of production (growth or milk) and in some cases to high mortality (in case of serious infections or in young).

For many years, these infections have been controlled by conventional anthelmintics. Due to inappropriate use such as underdosing, long-term use of the same group of anthelmintics, frequent treatment or insufficient quarantine, anthelmintic resistance has developed and is now very common in goats, as evidenced by numerous cases of anthelmintic resistance (or multidrug resistance) reported throughout the world. Resistance currently affects all anthelmintic groups, including the relatively newly introduced monepantel. The method of controlling GI infections in goats should move from the intensive use of anthelmintics to a more comprehensive solution to the problem. There will be a need to focus on alternative ways to control GI infections.

Keywords: goat, digestive tract, nematode, infection, suppression, anthelmintics, drug resistance

Obsah:

Seznam zkratk.....	9
1. Úvod.....	10
2. Cíl práce.....	11
3. Literární přehled	12
3.1 Gastrointestinální hlístice u koz.....	12
3.1.1 Hlístice parazitující ve slezu.....	12
3.1.2 Hlístice parazitující v tenkém střevě	13
3.1.3 Hlístice parazitující v tlustém střevě	13
3.2 Léčba infekcí vyvolaných gastrointestinálními hlísticemi	14
3.2.1 Anthelmintika.....	14
3.2.2 Nová anthelmintika	15
3.2.3 Alternativní metody.....	16
3.3 Anthelmintická rezistence	18
3.3.1 Mechanismy vzniku rezistence	19
3.3.2 Rezistence na hlavní skupiny anthelmintik	20
3.3.3 Výskyt rezistence	21
3.3.4 Management pasty.....	27
3.4 Metody zjišťování rezistence	28
3.4.1 In vitro testy	29
3.4.2 In vivo testy	30
3.4.3 PCR Testy	30
4. Závěr	31
5. Použitá literatura.....	32

Seznam zkratk

AR	Anthelmintická rezistence
BZ	Benzimidazoly
DMSO	Dimethylsulfoxid
ED 50	Střední účinná dávka
EHT	Test líhnutí vajec
GI	Gastrointestinální
ML	Makrocyclické laktony
LEV	Levamisol
IVM	Ivermektin
LD 50	Střední smrtelná dávka
LDT	Test vývoje larev
TBZ	Thiabendazol
FEC	Počet vajíček hlístic ve výkalech
EPG	Počet vajíček v 1g výkalů

1. Úvod

Kozy chované na pastvinách jsou nevyhnutelně infikovány gastrointestinálními hlísticemi, ať už jsou na jakémkoli místě a klimatických podmínkách. GI infekce je považována za hlavní hrozbu pro venkovní chov koz, a to hlavně z důvodu, že negativně ovlivňují zdraví a produkci zvířat. Hlavní druhy hlístic nalezené u koz jsou *Haemonchus*, *Teladorsagia* a *Trichostrongylus* jejichž výskyt a frekvence silně závisí na nadmořské výšce, podnebí, intenzitě chovu.

Kozy mají specifické farmakologické parametry týkající se anthelmintik. Rychleji metabolizují anthelmintika ve srovnání s ovci a to vede k rychlejšímu vylučování anthelmintik a následně k tomu, že hlístice jsou vystavovány nižším dávkám anthelmintik. Anthelmintika hrají hlavní a občas výlučnou roli při léčbě gastrointestinálních infekcí. To vedlo k nadužívání, které mohlo mít důsledky z hlediska anthelmintické rezistence. K boji s GI hlísticemi v současné době využíváme hlavně širokospektrální anthelmintika. Můžeme je rozdělit na tři základní skupiny: benzimidazoly, imidazoly a makrocyclické laktony. V nedávné době se na trhu objevily dvě nové skupiny anthelmintik Aminoacetonitrilové deriváty (AADs) a Spiroindoly.

Nedlouho po zavedení moderních širokospektrálních anthelmintik byly evidovány první zprávy o výskytu rezistence. U koz byla poprvé popsána v Austrálii a ve Francii v 80. letech a postupně byla hlášena z celého světa. Jako hlavní důvod pro rozvoj anthelmintické rezistence je uváděno nevhodné používání léčiva. U koz je nejvíce rozvinuta rezistence na benzimidazoly, protože byly používány nejčastěji na všech farmách a to hlavně kvůli krátké ochraně lhotě u mléka.

2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je vypracování literární rešerše týkající se výskytu rezistence gastrointestinálních hlístic v chovech koz.

3. Literární přehled

3.1 Gastrointestinální hlístice u koz

Nemoci způsobené GI parazity jsou celosvětově považovány za hlavní ohrožení zdraví a dobrých životních podmínek u koz (Kantzoura a kol.). Stupeň závažnosti parazitálních onemocnění je podmíněno množstvím larev na pastvině. Množství larev je hlavně ovlivněno podnebím, množstvím srážek, teplotou a povětrnostními podmínkami. Pokud jsou podmínky na pastvě nepříznivé vývoj larev neprobíhá (Waller, 2004).

Všechny kozy pasoucí se na pastvinách jsou infikovány GI hlísticemi. Slabá nákaza má jen malý vliv na celkové zdraví zvířat, ale s rostoucím zatížením se vyskytují i subklinické příznaky např.: snížení tělesné hmotnosti, nechutenství při závažných infekcích to může být ztráta hmotnosti, průjmy a anémie (Zajac, 2006).

Kozy jsou náchylnější k infekcím, které způsobují GI hlístice více než ovce a jsou vystaveny vyššímu riziku rozvoje AR, protože kozy metabolizují léky rychleji a spektrum léčiv povolených pro tento druh přežvýkavců je omezené. Kozy mohou být infikovány podstatně silněji než ovce a imunitní reakce na GI hlístice je u koz méně účinná než u ovcí (Hoste a kol. 2010). I přesto, že mají anthelmintika celou řadu funkcí, žádné z nich (a to ani při obvyklých, případně vyšších dávkách) není účinné na veškeré parazity (Cabaret a kol., 2002).

V GI traktu koz se většinou vyskytuje více druhů hlístic, které parazitují od slezu po tlusté střevo. Téměř většina hlístic parazitujících v GI traktu koz patří do řádu *Strongylida*.

Nejvýznamnější rody jsou *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* a *Cooperia* (Kuchčík a kol., 2007).

3.1.1 Hlístice parazitující ve slezu

Ve slezu přežvýkavců se nejčastěji vyskytují *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei* a *Haemonchus contortus*. Pro kozy je považován za nejvíce patogenní *H. contortus*.

Způsobuje vážné zdravotní potíže jimiž jsou anémie, edém čelisti a smrt zvířat, pokud se neléčí (Smith a Sherman, 2009). Samička *H. contortus* může dorůst do délky až 3 cm a řadí se tak mezi největší strongylidní hlístice přežvýkavců. Samička dokáže vyprodukovat až tisíce vajíček za den a tak se larvy během pastevní sezóny mohou rychle kumulovat na pastvinách (Zajac 2006).

Další významnou GI hlísticí je *Teladorsagia circumcincta* (řád *Strongylida*). Obdobně jako u ostatních hlístic se zvíře nakazí požitím infekční larvy třetího stádia spolu s vegetací. Po

vniknutí do hostitele zůstávají larvy různou dobu ve slezu, kde se v gastrických žlázách vyvíjejí a tím způsobují tvorbu viditelných uzlin na sliznici slezu. Při silných infekcích může u ovcí a koz nastat průjem, anémie, hypoproteinémie, nebo smrt při silných infekcích (Zajac, 2006). Naem a Gorgani (2011) uvádějí jako nejčastějšího parazita koz právě *Teladorsagia circumcincta*.

Trichostrongylus axei je jednou z nejmenších hlístic, kterou lze nalézt ve slezu a duodenu, kde se zanořuje mezi epitelové buňky. Sameček měří 4 - 5,5 mm, samičky dorůstají 5,5 - 7,5 mm (Sutherland a Scott, 2010).

3.1.2 Hlístice parazitující v tenkém střevě

Celosvětově rozšířený druh převážně v teplejších oblastech mírného pásma je *Trichostrongylus colubriformis*. Larvy L3 jsou velmi odolné proti chladu a vyschnutí, zimu přežívají na pastvinách. Po pozření larvy v L3 stádiu, dochází za 24 - 96 hodin k svlékání a larva vstupuje do L4 stádia. Závěrečné svlékání a vývoj do L5 stádia probíhá za 8 až 16 dní po infekci. (Balic a kol., 2000). *Trichostrongylus* s velikostí 3 – 11 mm se řadí mezi poměrně malé hlístice. V tenké střevě, kde parazituje, způsobuje infekce, které se projevují zažívacími obtížemi jakož jsou např. nechutenství, anemie, průjemy a následná dehydratace. Slabší infekce projevují pouze unaveností a skleslostí zvířete (Rahmann a Collins 1990).

Dalším celosvětově rozšířeným druhem jsou zástupci rodu *Nematodirus*. V rámci druhu dosahují variabilních rozměrů 10 - 25 mm. Larva se vyvíjí přímo ve vajíčku po dobu 4 - 8 týdnů. Zimu přečkají na pastvinách a na jaře při oteplení se z vajíček líhnou infekční larvy. Larvy se dostanou do hostitele pozřením spolu s potravou. V tenkém střevě se následně dvakrát svlékají a poté dosahují pohlavní dospělosti (Zhao a kol., 2014).

3.1.3 Hlístice parazitující v tlustém střevě

V tlustém střevě koz se nejčastěji setkáme s hlísticemi z rodu *Oesophagostomum*, třemi hlavními jsou *Oe. asperum*, *Oe. columbianum* a *Oe. venulosum* (Love a Hutchinson, 2003). Swales (1940) uvádí, že jedinci *O. columbianum* nepřežijí zimu na pastvině do další sezóny. Toto tvrzení potvrdili i Love a Hutchinson (2003), kteří uvádí, že zástupci *Oesophagostomum spp.* jsou citliví vůči chladu a suchu. Tyto helminté se

vyskytují na sliznici tlustého střeva, kde vytváří zánětlivé uzlíky, které mohou být naplněny hnisem (Sutherland a Scott, 2009)

3.2 Léčba infekcí vyvolaných gastrointestinálními hlísticemi

3.2.1 Anthelmintika

Anthelmintika jsou chemické látky, které různým způsobem usmrcují, nebo paralyzují hlístice v organismu hostitele (Silvestre a kol., 2002). Proti GI hlísticím se nejčastěji používají následující skupiny širokospektrálních anthelmintik: benzimidazoly, imidazoly a makrocyclické laktony (Fortes a kol., 2013).

Benzimidazoly, jsou nejrozsáhlejší skupinou širokospektrálních anthelmintik. V roce 1961 se s uvedením thiabendazolu staly BZ prvním anthelmintikem s širokospektrálním účinkem. Vyrábějí se synteticky a mají mnoho biologických účinků. Mechanismus účinku BZ spočívá v narušení vazby β -tubulinu helminta, což má za následek inhibici polymerace mikrotubulů. Tyto kanálky jsou potřebné pro transport sekrečních granulí a enzymů v cytoplazmě, následně dochází k buněčné smrti (Sutherland a Scott, 2009). U těchto léčiv je doporučeno snížení krmné dávky 12 až 24 hodin před podáním léčiva pro pomalejší průchod léčiva a tím zlepšení vstřebání přípravku. Je důležité nezapomínat na to, že kozy mají rychlejší metabolismus než ovce a vyžadují vyšší dávku léčiv (Zajac, 2006).

Makrocyclické laktony jsou jednou z nejvýznamnější skupinou mezi anthelmintiky. Jsou to léčiva biosyntetického původu s antinematodní a antiectoparazitární účinností (Williams a kol., 1981). Tuto skupinu anthelmintik můžeme rozdělit podle druhu plísni, ze kterých jsou získávána. Avermektiny jsou produkty druhu *Streptomyces avermitilis*, který byl objeven ve vzorcích půdy v Japonsku, zatímco milbemyciny jsou produkty různých druhů *Streptomyces spp* (Rock a kol., 2002). Účinek ML byl definován jako, receptory zprostředkovaná potenciace glutamátové brány chloridových kanálů, což může vést k neschopnosti pohybu, nebo ochrnutí hlitanu a následnou neschopností příjmu potravy (Sutherland a Scott, 2009).

Do další skupiny léčiv můžeme zařadit **imidazothiazoly** (levamizol) a tetrahydropirimidiny (pyrantel, morantel), která mají obdobný mechanismus účinku (Vadlejch a Langrová, 2014). Tyto přípravky působí selektivně na synaptické a extra-synaptické acetylcholinové receptory, což má za následek spastické ochrnutí helmintů a následné vyloučení z těla hostitele (Sutherland a Scott, 2009). Farmakokinetika levamizolu u koz je odlišná než u ovcí. Poločas rozpadu levamizolu u koz je 222 minut, většina (55 %) je vylučována močí a 30 % ve stolici. Méně než 1 % z celkové dávky je vyloučeno do mléka (Smith a Sherman, 2009). Léčiva ze

skupiny imidazothiazolů a tetrahydropirimidinů nemají teratogenní účinky, můžou se tedy podávat i gravidním zvířatům (Vadlejch a Langrová, 2014).

Cílená anthelmintika - organofosfáty či salicylanilidy jsou využívána jen minimálně a to hlavně z důvodu omezeného spektra účinku pouze na některé druhy parazitů (například klosantel proti *Haemonchus spp.*) a v případě organofosfátů je dalším důvodem minimálního využití jejich vysoká toxicita (Vadlejch a Langrová, 2014).

3.2.2 Nová anthelmintika

Novou třídu anthelmintik tvoří **Aminoacetonitrilové deriváty (AADs)**, která jsou účinná v boji s multirezistencí GI hlístic (Kaminsky a kol., 2008a).

Monepantel je nový léčebný přípravek a splňuje kritéria vyžadována na nové anthelmintikum pro kozy: širokospektrální účinek proti hlísticím s rezistencí včetně dospělců a L4 larev, nízká toxicita a vysoká snášenlivost. Působí jako pozitivní alosterický modulátor specifického receptoru acetylcholinu MPTL - 1 u hlístic (Epe a Kaminsky 2013). Léčivo se naváže na receptor a způsobí podnět, receptor se otevře a nejde zpět zavřít. To vede k stálému toku iontů, což má za následek hyperkontrakci stěny svalů vedoucí k paralýze, křečovitým stahům hltanu a k smrti parazita (Kaminsky a kol., 2008a). Podává se per orálně je snadno vstřebán do krve a je rychle metabolizován. V roce 2009 byl registrován pod názvem Zolvix (Kaminsky a kol., 2008b).

Další nová skupina anthelmintik jsou **Spiroindoly**. Do této skupiny patří nové širokospektrální anthelmintikum **Derquantel**. Na trh byl uveden v roce 2010 jako Startec - kombinovaný přípravek s abamectinem. Derquantel působí na hlístice tak, že blokuje účinek acetylcholinu, parazit ochrne a je paralyzován. Při kombinování s abamectinem (makrocyclický lakton) působí proti dospělcům i L4 vývojovým stádiím všech hlavních GI hlístic (Epe a Kaminsky 2013). Při použití tohoto přípravku u koz narážíme na několik překážek. Derquantel je orální anthelmintikum pouze pro ovce, což je první omezení. Jeho druhé úskalí je spojeno s užíváním u hlístic s vícenásobnou rezistencí. Z výzkumu provedeným Kaminsky a kol. (2011) vychází derquantel jako velmi účinný proti *T. colubriformis* rezistentní k ML, ale u vývojových stádií *H. contortus*, rezistentním k ML, byl účinný oproti moneopantelu pouze o 18,3%. Monepantel dosahoval 99,9 % účinnosti v obou případech. K takovému závěru došel i Sager a kol. (2012), který zjistil, že proti larválním a dospělým stádiím *H. contortus* nemusí přípravek Startec být dostatečně účinný. I přes některá negativa by mohl být tento přípravek novou nadějí v řešení rezistence, protože kombinací

derquantelu s abamektinem, který má odlišný mechanismus účinku, by měl minimalizovat rezistenci na přípravek Startec a celkově zpomalit vývoj další rezistence (Little a kol., 2011).

3.2.3 Alternativní metody

S rostoucí rezistencí na anthelmintika, dochází ke snížení jejich účinnosti a je potřeba hledat nové metody v boji proti parazitárním infekcím (Hoste a kol., 2012). Prokázalo se, že extrakty z rostlin jsou účinné proti parazitům a zároveň jsou šetrnější k životnímu prostředí. (Bashtar a kol., 2011). První zmínky o použití rostlinných extraktů s anthelmintickými účinky byly již v 2. století př. n. l., které využíval řecký doktor Galén (Waller, 2001). Rostlinné extrakty s anthelmintickými účinky k potlačení GI infekcí jsou nejvíce využívány v rozvojových zemích, kde je hlavním problémem vysoká mortalita spojená s parazitózami a od zvířat není vyžadována vysoká produkce. V této situaci představují rostlinné extrakty s anthelmintickými účinky vhodné řešení pro odstranění GI infekcí. V rozvinutých zemích při odstraňování parazitů v případě intenzivních chovů přežvýkavců je snaha o maximální efektivitu léčby, aby bylo možné dosáhnout co nejvyšší produkce masa a mléka. V současné době je možné dosáhnout maximální efektivity pouze s konvenční léčbou pomocí synteticky vyrobených anthelmintik (Wolstenholme a kol., 2004; Sutherland a Scott 2010). Nicméně existuje i mnoho případů, kdy je možné rostliny s anthelmintickým účinkem použít jako doplněk nebo podpoření léčby anthelmintiky (Vadlejch a Langrová, 2014). V několika studiích se podařilo prokázat účinnost rostlin s vysokým obsahem tříslovin (taninů), které jsou možná alternativa ke komerčním anthelmintikům. Tanin posiluje imunitu hostitele a tím nepřímo ovlivňuje biologii hlístic. Taniny jsou schopny vázat bílkoviny, což vede ke snížení jejich ruminální degradace a zvýšení absorpce aminokyselin v tenkém střevě (Hoste a kol., 2012). Ze studie, kterou provedl Bahuaud a kol. (2006) se ukázalo, že podávání kondenzovaných tříslovin brání ve svlékání kutikuly infekčních larev, což je nezbytné k přeměně do dalšího stádia. Výzkum provedený Gujja a kol. (2013), ve kterém zjišťovali efektivitu podávání suchých listů lespedézie klínovité (*Lespedeza cuneata*, *Lespedeza sericea*) v redukci GI hlístic u koz. Pro účely tohoto výzkumu bylo použito 30 španělských koz ve věku 9 měsíců s přibližnou hmotností 20,6 kg. Pobývaly na pastvinách v USA od září do listopadu roku 2010. Po celou dobu studie bylo zvířatům týdně prováděno vyšetření výkalů, k určení počtu vajíček ve výkalech a krve pro určení objemu červených krvinek. Po ukončení pastvy byla zvířata poražena, za účelem zjištění přítomnosti, počtu a druhů GI hlístic u koz. Po provedení analýzy nebyl zjevný žádný rozdíl mezi zvířaty která byla krmena peletami s obsahem 75% a 95% listů lespedézie. U obou skupin byl prokázán nižší počet vajíček ve výkalech, než u jedinců krmenými komerčními peletami. Hodnoty červených krvinek nebyly ovlivněny. U koz, které byly krmeny peletami s obsahem listů lespedézie 95% poklesl výskyt *Haemonchus contortus* o 93% a *Teladorsagia circumcincta* dosáhl 43% u obou pohlaví. Kozy krmené peletami se

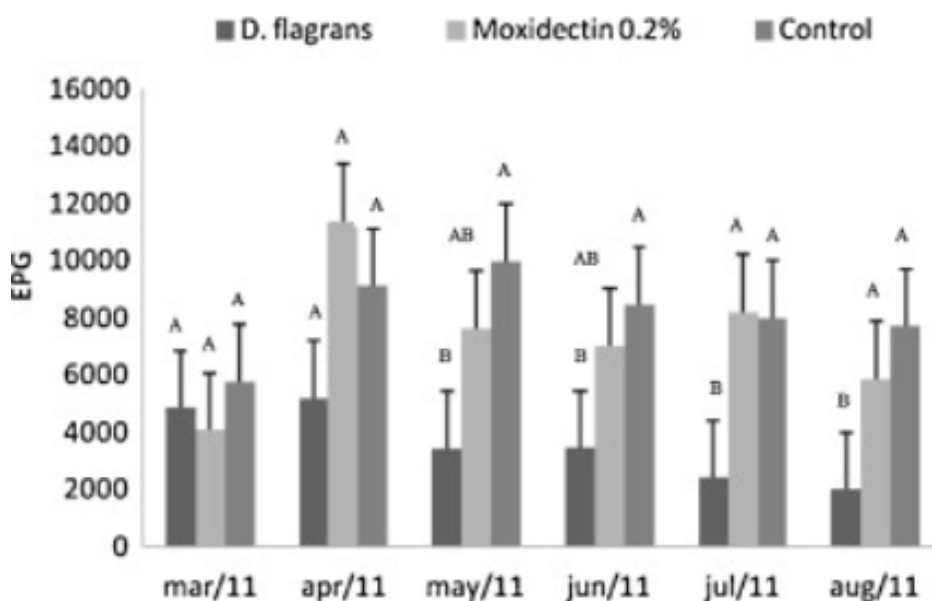
75% obsahem listů lespedézie, došlo ke snížení výskytu jen u *Haemonchus contortus* a to o 47,6% a pouze u samců koz. Výsledky studie tedy ukázaly, že použití listů lespedézie jako alternativu komerčních anthelmintik, zvyšuje hospodářskou výtěžnost a snižuje zatížení GI hlísticemi, zároveň je pravděpodobné, že existuje prahová hodnota, která ovlivňuje léčebný přínos přidávání lespedézie do krmné dávky. Pro přesné stanovení tohoto prahu jsou nutné další studie (Gujja a kol., 2013).

Khan a Kishor (2014) ve studii zabývající se léčbou helmintóz polyherbálními preparáty uvádějí jako nadějně rostliny s anthelmintickými účinky tyto, Zederach indický (*Azadirachta indica*), jehož listy obsahují mimo jiné azadirachtin a další látky blokující vývoj vajíček a svlékání larev, *Momordica charantia*, která obsahuje řadu biologicky aktivních chemických látek (steroidy, alkaloidy, saponiny, triterpeny) a česnek kuchyňský (*Allium sativum*), známý svými účinky při léčbě zvířat trpících GI infekcemi. V této studii byly dvě skupiny koz. První skupina koz byla ošetřena výše zmíněnými rostlinami v různé koncentraci, zatímco druhá byla přeléčena fenbendazolem. Byla sledována hladina hematokritu a množství erytrocytů. Po 30 dnech od podání polyherbálních preparátů se počet erytrocytů výrazně zvýšil a výsledky byly srovnatelné se skupinou koz léčených fenbendazolem. Došlo také k celkovému zlepšení proteinu, albuminu a globulinu. Při navýšení dávky polyherbálního preparátu došlo ke snížení glukózy v krvi. Zlepšení hodnot hematokritu a hemoglobulinu bylo s nejspíše způsobeno anthelmintickým účinkem rostlinných preparátů, nebo daného anthelmintika, které zapříčinili eliminaci zátěže gastrointestinálního traktu hlísticemi, což vedlo k zastavení krevních ztrát. Výsledek studie ukázal, že léčení fenbendazolem bylo úspěšné, ale i podávání rostlinných preparátů bylo efektivní.

Ačkoliv existuje mnoho přírodních sloučenin s anthelmintickými účinky, nebyla prozatím nalezena žádná, která by splňovala požadavky na širokospektrální léčivo (Sutherland a Scott, 2010).

Plíseň *Duddingtonia flagrans* (čeleď Orbiliaceae – kruhovkovité) je jedním z nejlepších antagonistů pro kontrolu GI hlístic u hospodářských zvířat. GI traktem dokáže projít bez ztráty své dravé schopnosti a značně sníží počet vývojových stádií larev, vylučovaných spolu s výkaly na pastvinách (Sagues a kol., 2011). Ze studie Sagues a kol., (2011), která se zabývala účinností plísně *Duddingtonia flagrans* v boji s GI hlísticemi vyplývá, že účinnost byla 92% proti celkové zátěži parazity, 100% proti *Haemonchus contortus* a *Teladorsagia circumcincta*, 89,9 % proti *Trichostrongylus colubrififormis*, 87,5 % proti *Cooperia oncophora* a 90 % proti *Trichostrongylus axei*. Proti *Nematodirus spathiger*, *Trichuris ovis* a *T. skrjabini* byla plíseň neúčinná. Experiment provedený na Federální univerzitě v Campina Grande posuzoval účinnost *D. flagrans* v boji s GI hlísticemi ve srovnání s anthelmitiky. Do výzkumu bylo zapojeno 21 koz, které byly 15 dní před začátkem experimentu ošetřeny

Levamisolem. Kozy byly rozdělené do tří skupin. 1. skupině byla podávána *D. flagrans* ve formě pelet (3g na 10kg váhy zvířete dvakrát týdně, 2. skupina dostávala anthelmintikum moxidektin (0,2 mg / kg jednou za měsíc) a 3. kontrolní skupina (bez ošetření). V průběhu experimentu se prováděl každých 7 dní odběr stolice, aby se vyhodnotilo EPG a koprokultura, vážení proběhlo jednou za dva týdny a jednou měsíčně odběr krve. Ve skupině 1. *D. flagrans* bylo počáteční EPG 4864 a během experimentálního období se hodnota postupně snižovala a na konci experimentu byla hodnota EPG 2000. Ve 2. skupině (Moxidektin) nebylo patrné snížení hodnoty EPG. Dávkování *D. flagrans* 3 g / 10 kg dvakrát týdně se ukázalo jako účinné v boji s GI hlísticemi (Vilela a kol., 2012).



obr. 1. Měsíční průměry EPG koz ze u skupin *D. flagrans*, *Moxidectin* 0,2% a kontrolní, od března do srpna 2011

3.3 Anthelmintická rezistence

Rezistence je definována jako pokles citlivosti populace parazitů k účinku doporučené dávky předkládaného anthelmintika. Tato schopnost je založena geneticky. Jakmile se v populaci parazitů jednou vyskytne rezistence na anthelmintikum, její ztráta ani zvrát nebyl zaznamenán (Wolstenholme a kol. 2004).

Nedlouho po zavedení moderních širokospektrálních anthelmintik byly evidovány první zmínky o výskytu rezistence. V roce 1940 bylo zavedeno první širokospektrální anthelmintikum pod názvem Pheonthiazin. Rezistence na něj byla detekována v roce 1957. Na Thiabendazol, uvedený na trh v roce 1961, byla rezistence hlášena již po třech letech, tedy v roce 1964. Podobná situace nastala i u dalších léčiv. U levamisolu (schválení 1970, výskyt

rezistence 1979), ivermectinu (schválení 1981, výskyt rezistence 1988), moxidectinu (schválení 1991, výskyt rezistence 1995) a monepantel (schválení 2009, výskyt rezistence 2013) (Várady a kol., 2011; James a kol. 2009; Le Jambre a kol., 1995).

Na vývoji rezistence se značnou mírou podílí nesprávné dávkování anthelmintik. Dlouhodobé podávání subterapeutické dávky anthelmintika je nejrizikovější faktor pro vznik rezistence. Stejně nebezpečné je i podávání léčiv s prošlou expirací. Preventivní podávání anthelmintik rovněž přispívá k rozvoji rezistence. Dále není příliš vhodné časté podávání anthelmintik se stejným nebo obdobným mechanismem účinku, ale na škodu je i časté střídání preparátů (Van Wyk 2001).

U koz je snížená účinnost anthelmintik zapříčiněná jejich rychlejším metabolismem oproti ovčím. Conder a Campbell (1995) uvádí, že jedním z faktorů který byl klíčový pro vznik rezistence *trichostrongylů* bylo podávání stejné dávky anthelmintika u koz a ovčí i Coles (1997) tento způsob dávkování také označil za nesprávný. Dle jeho poznatků je potřeba podávat kozám zvýšenou dávku léčebných přípravků, v souvislosti s jejich rychlejším metabolismem.

Jednou možností jak prodloužit dobu účinnosti nových anthelmintik je použití v kombinaci s přípravky z jiné skupiny anthelmintik (Leathwick a kol., 2012). V chovech koz se v dnešní době využívá kombinace dvou a více anthelmintik z různé skupiny především k oddálení vzniku rezistence a pro rozšíření spektra účinku léčiva (Geary a kol., 2012). V Austrálii byl aplikován velmi úspěšný program nízkorizikové léčby v podobě rychlé rotace mezi anthelmintiky benzimidazolem, levamisolem a abamektinem a novým účinným monepantenolem (Dobson a kol., 2012). Avšak kombinování anthelmintik pro oddálení rezistence v některých zemích je stále velmi sporné téma (Leathwick a kol., 2012).

3.3.1 Mechanismy vzniku rezistence

Podle Wolstenholme a kol. (2004) existují čtyři obecné mechanismy vzniku rezistence. Jako první to je změna molekulárního cíle, kdy daná látka není schopna tento cíl rozpoznat a ztrácí tak svůj účinek. Druhý mechanismus spočívá ve změně metabolismu parazita, která inaktivuje, nebo zneškodní léčivo a celkově tak předchází jeho aktivaci. Ve třetím mechanismu dochází ke změně distribuce léčiva, která zabrání jeho přístupu do daného cíle. Poslední čtvrtý mechanismus spočívá v amplifikaci cílových genů, která brání účinku léčiva.

Při vzniku rezistence hraje důležitou roli genetický potenciál helminta a další rozšíření rezistence závisí především na tom, zda alely nesoucí rezistenci jsou dominantní nebo recesivní (Wolstenholme a kol. 2004).

3.3.2 Rezistence na hlavní skupiny anthelmintik

U koz je nejvíce rozvinuta rezistence na **benzimidazoly**, byly používány nejčastěji na všech farmách a to hlavně kvůli krátké ochraně lhůtě u mléka (Charier a kol., 1998). Podle Tiwari a kol. (2006) je rezistence u *H. contortus* na BZ spojena především s mutací genu izotypu podjednotky β -tubulinu, kdy fenylalanin (Phe) nahrazuje tyrosin (Tyr) na kodonu 200 genu. Podle Blackhall a kol. (2008) je přisuzována rezistence změnám v alelách pro β -tubulin a je charakterizována ztrátou afinity BZ k mikrotubulům. Nové výzkumy také přinesly důkazy o roli efluxních mechanismů zahrnující P-glykoprotein a další ABC (ATP binding cassette) přenašeče, které mohou přispívat ke vzniku této rezistence.

Makrocyclické laktony způsobují paralýzu parazita vazbou na chloridové kanály ovládané glutamátem. (James a kol., 2009, Wolstenholme a kol., 2004). Na chloridovém kanálu se neváží na běžné vazebné místo pro agonisty (místo pro vazbu glutamátu), ale na jinou pozici, čímž způsobí ireverzibilní otevření kanálu vedoucí k permanentní změně membránového potenciálu buňky a následné paralýze (Wolstenholme a Rogers 2005). Dojde tak zejména k ochabnutí svalů hltanu, což způsobí neschopnost hlístice přijímat potravu, postupně hladoví a posléze umírá (Dent et al. 2000).

Ačkoliv ML ovlivňují metabolismus hlístice, jak bylo uvedeno výše, je velmi pravděpodobné, že jejich anthelmintická aktivita se liší mezi druhy a tudíž i mechanismy vzniku rezistence na tuto skupiny léčiv se mohou lišit (Gill a Lacey 1998). Genetické studie prokázaly, že rezistence na ivermektin u *Haemonchus contortus* je dominantní, avšak pravá rezistence by mohla být výsledkem polymorfismů několika přidružených genů (Dent a kol., 2000).

Sangster (2002) uvedl, že odolnost vůči levamisolu je založena nejspíše na ztrátě cholinergního receptoru. Acetylcholinové receptory jsou obvykle uspořádány jako heteropentamerický trans membránový receptor. Dva členové pentameru (molekula složená z pěti menších podjednotek) jsou α -podjednotky, kde každá z nich obsahuje vazebné místo pro acetylcholin. Další tři z nich tvoří iontový kanál, který při navázání agonistů jako je LEV nebo acetylcholin otevře kanál a umožní průchod kationtů. Rezistence má pravděpodobně svoji podstatu právě v těchto místech.

Nově objevené deriváty **amino-acetonitrilu (AAD)** vykazují velký anthelmintický účinek proti parazitickým hlísticím, zejména *H. contortus* a *T. colubriformis* (Ducray a kol., 2008).

Využívají rozdílnosti acetylcholinových receptorů, pravděpodobně se váží odlišně na různé druhy nikotinových receptorů u *H. contortus*. U laboratorně vytvořeného rezistentního kmene *H. contortus* byla rezistence spojena se ztrátou nebo expresí dvou nAChR podjednotek (Kaminsky a kol., 2008).

Při výzkumech dědičnosti rezistence na anthelmintika se zjistilo, že kmeny F1 generace *T. colubriformis* je děděná schopnost existence jako recesivní znak vázaný na pohlaví. Rezistence potomků byla ověřena zpětným křížením. Z toho vyplývá, že rezistence je ovládána jediným genem nebo těsně propojenou skupinou genů, a zároveň naznačuje, že jiné autozomální lokusy mají zanedbatelný vliv. V případě *H. contortus* je rezistence autozomálně recesivní a zdá se, že je v ní zapojeno více genů (Martin a McKenzie 1990).

3.3.3 Výskyt rezistence

V oblastech, kde jsou velmi rozvinuté extenzivní chovy se vyskytuje i největší procento prevalence parazitóz hospodářských zvířat, tedy na Novém Zélandě, v Austrálii, Africe a Jižní Americe (Sangster a kol., 2002). Anthelmintická rezistence GI hlístic u koz byla poprvé popsána v Austrálii a ve Francii v 80. letech. Byla zjištěna rezistence na BZ u *Teladorsagia* a *Trichostrongylus* (Barton a kol., 1985; Kerbœuf a Hubert 1985). Od té doby byla rezistence hlášena z farem po celém světě. Jackson a kol., (2009) uvedl, že výskyt tří nejvíce známých multirezistentních hlístic rodů *Teladorsagia*, *Haemonchus* a *Trichostrongylus*, kteří zapříčiňují GI infekce u koz, byl zaregistrován v tropických a subtropických oblastech i v oblastech mírného klimatu, včetně Evropy. Rezistence se v současné době týká všech anthelmintických skupin, včetně poměrně nově zavedeného monepantelu - rezistence na Monepantel byla prokázána u *Teladorsagia circumcincta* a *Trichostrongylus colubriformis* u stád koz na Novém Zélandu (Scott a kol., 2013). Pravidelně je hlášena i multirezistence (dvě nebo i více anthelmintických skupin) (Scott a kol., 2013).

Česká republika

Vadlejch a kol (2021) zjišťovali výskyt rezistence na 24 kozích farmách v ČR. Rezistence proti BZ byla potvrzena na 18 farmách za základě testu líhnutí vajec (EHT). Hlístice rezistentní na IVM byly detekovány na 13 farmách pomocí EHT. Rezistence byla nejvíce rozšířena u *Trichostrongylus* a *Haemonchus*. Jedenáct stád bylo rezistentních na IVM i BZ a u dvou stád byla zjištěna vysoká úroveň rezistence na obě léčiva. Pouze tři stáda nebyla rezistentní na podávané léčiva. Dále zjistil, že když hustota koz přesáhla 8 koz/ha, tak se zvyšuje rezistence vůči oběma hodnoceným anthelmintickým třídám (BZ, IVM), včetně

duální rezistence. Tato souvislost však byla významná pouze pro rezistenci na IVM. Úroveň rezistence na IVM byla pětkrát vyšší ve stádech s vysokou intenzitou chovu. Výsledky naznačují, že rezistence na IVM je u těchto stád koz již běžná a že by se měli chovatelé v budoucnu používání IVM vyhnout.

Anthelmintika byla podávána dvakrát ročně na 12 farmách (50%), všechny tyto farmy měly předem stanovený plán léčby. Drtivá většina farmářů (92%) aplikovala léčiva na jaře před vypuštěním na pastviny a poté na podzim po ustájení. U šesti stád bylo léčivo aplikováno pouze jednou ročně. Pouze na jedné farmě nebyly podány žádná anthelmintika za posledních pět let. Zemědělci používali nejčastěji BZ (83% farem) a ML (70% farem). Téměř všechny farmy ošetřovaly kozy dvakrát ročně a rotovaly mezi BZ a ML; farmáři na jaře aplikovali ústní injekce BZ a injekční IVM podával veterinární lékař na podzim nebo v zimě. Druhá anthelmintická třída (LEV) byla použita pouze ve čtyřech (17%) stádech. Hmotnost zvířete pro výpočet dávky léčiva byla odhadnuta vizuálně u většiny (91%) farem a standardní dávka (tzn. dávka pro ovce) léčiva byla aplikována na osmi farmách. Čtrnáct farmářů o čas poslalo vzorky fekálií do laboratoře k vyšetření a devět z těch to farmářů na základě výsledku vyšetření aplikovalo anthelmintika.

Polsko

Mickiewicz a kol (2020) prokázal výskyt rezistence GI hlístic na tři základní skupiny anthelmintik - fenbendazol, ivermektin levamisol u dvou stád v jižním Polsku. Nejprve byla zjištěna rezistence na BZ a ML. LEV zůstal jediným účinným anthelmintikem v obou stádech. Po roce intenzivního používání LEV se objevila také rezistence na toto antihelmintikum. *Haemonchus contortus* byl nejčastější hlísticí rezistentní na benzimidazoly a ivermektin, zatímco *Trichostrongylus colubriformis* převládal, když byla pozorována rezistence na levamisol. K prokázání AR byla použita kombinace in vivo (FECRT) a in vitro testů (EHT a LDT).

Výskyt AR v Polsku potvrdil Mickiewicz a kol (2020). Mezi lety 2018 až 2019 byla provedena studie na 42 polských kozích farmách. Nejčastěji používanými anthelmintiky byly BZ (92%) a ML (85%) a LEV (13%). Prevalence AR byla detekována pomocí LDT. Testy odhalili výskyt rezistence na ML na 40 farmách. Rezistence na BZ byla prokázána na 37 farmách a nejméně stád bylo rezistentních na LEV a to 5 stád. Pouze na jedné farmě nebyla detekována AR. Mnohočetná léková rezistence (BZ, ML, LEV) byla zjištěna na pěti farmách.

Itálie

Studie z jižní itálie hodnotila výskyt rezistence na benzimidazoly, levamisol a ivermektin na kozi farmě. Rezistence vůči anthelmintikům byla posuzovaná pomocí počtu vajíček ve stolici, EHT a pitev. Kozy byly ošetřovány anthelmintiky (BZ, ML, LEV, IVM) jednou až třikrát ročně a byla u nich použita vyšší dávka než u ovcí (1,5 až 2 krát, v závislosti na léku). Stádo bylo rozděleno na 4 skupiny - 1. kontrolní skupina (neošetřená zvířata), 2. skupina léčená IVM, 3. skupina léčená netobiminem a 4. skupina léčená LEV. Rezistence na anthelmintika byla prokázána pouze u BZ a jediná rezistentní hlístice byla *Trichostrongylus colubriformis* (Cringoli a kol., 2007)

Dále Zanzani a kol(2014) uvádí že výskyt AR na BZ byla zjištěna na 40% testovaných kozích farem a rezistence na eprinomectin byla prokázána u 20% farem. *Te. circumcincta*, *H. contortus*, *Tr. colubriformis*, *Skrjabinema caprae* a *Oesophagostomum venulosum* byly nejpočetnějšími druhy GI traktu. Podání anthelmintik jednou ročně uvedlo 73% zemědělců a 20% zemědělců uvedlo, že anthelmintika nepodávají pravidelně.

Francie

Charier a kol (1998) vybrali 15 kozích farem v západní francii a zkoumali rezistenci GI hlístic k anthelmintikům. Na každé farmě byla skupina 30 koz rozdělena na dvě skupiny - 1. neošetřená kontrolní skupina a 2. fenbendazolová (BZ) skupina (10 mg / kg živé hmotnosti). Výsledky testů FECR a LTD na benzimidazol ukázaly, že všech 15 zkoumaných farem vykazovalo hlístice rezistentní na BZ. Nejvíce rezistentní druhy byly *Teladorsagia*, *Trichostrongylus* a *Haemonchus*. Hlavní důvody vysoké prevalence rezistence hlístic na BZ v této studii jsou: 1. časté použití BZ (až 6,5 ošetření za rok), 2. anthelmintika ze skupiny BZ byly používány nejčastěji na všech farmách a to hlavně kvůli krátké ochraně lhůtě u mléka (ochranná lhůta je definována jako období mezi posledním podáním léčivého přípravku zvířatům a okamžikem, kdy lze od těchto zvířat získávat živočišné produkty určené k výživě člověka tak, aby bylo zajištěno, že potraviny neobsahují rezidua léčivých látek v množstvích přesahujících maximální limity stanovené zvláštními právními předpisy a předpisy Evropských společenství), 3. dlouho trvající poddávkování anthelmintiky, většina farmářů používala dávku pro ovce, tedy dávku nižší a nevyhovující pro kozy. Opakované a výlučné používání BZ samozřejmě vedlo k vývoji rezistentních kmenů hlístic. Snížení frekvence anthelmintické léčby spolu s každoročním střídáním typu použitého anthelmintika by mělo být hlavním cílem pro zemědělce, aby byla zachována účinnost dostupných anthelmintik.

Výskyt rezistence na benzimidazol a levamisol byl dále zkoumán u 18 stád koz, které se nacházejí v jihozápadní Francii. Na každé z 18 farem bylo náhodně rozděleno 45 dospělých koz do tří skupin po 15 zvířatech: neošetřená kontrolní skupina, skupina ošetřena fenbendazolem (10 mg kg⁻¹ tělesné hmotnosti) a skupina, které byl podáván levamisol (12 mg kg⁻¹ tělesné hmotnosti). Test líhnutí vajec (EHT) s thiabendazolem naznačil výskyt rezistence na BZ v 15 z 18 farem. Rezistence na LEV byla detekována na dvou farmách pomocí testu FECR. Na základě výsledků pitvy byla prevalence rezistence na BZ vyšší u *Trichostrongylus colubriformis*, střední u *Haemonchus contortus* a nejnižší u *Teladorsagia circumcincta*. Na devíti farmách byla rezistence na BZ jedno druhová, zatímco více druhová rezistence byla nalezena na šesti zbývajících farmách. Ze studie dále vyplývá, že opakované a někdy výlučné užívání BZ, i při nízké frekvenci, je pravděpodobně hlavní příčinou vzniku rezistence (Charier a kol., 2007).

Dánsko

Výskyt AR u 15 kozích stád v Dánsku byl zkoumán pomocí testu redukce počtu vajíček (FECRT), testu líhnutí vajec (EHT) pro thiabendazol a testu vývoje larev (LDT) pro thiabendazo, levamisol a ivermektin. Rezistence vůči anthelmintikům BZ a LEV byla detekována na šesti farmách a na jedné farmě byla zaznamenána rezistence na BZ i LEV. Na jedné farmě byla přítomna rezistence na Ivermectin. *Trichostrongylus* a *Ostertagia* spp. byly dominantní druhy hlístic před ošetřením i po ošetření (Maingi a kol., 1996).

Studie od Holm a kol. (2014) odhalila rezistenci u 90% (9z10) stád na jedno nebo více anthelmintik. Podle FECRT byla rezistence proti BZ přítomna ve všech třech testovaných stádech a proti IVM v osmi stádech (80%). Na základě EHT byla rezistence proti BZ zjištěna u 8 z 10 stád (80%), a u 7 stád (70%) byla přítomna rezistence proti BZ i IVM

Slovensko

Cílem studie od Babják a kol. (2018) bylo zjistit výskyt AR na 30 kozích farmách na Slovensku v letech 2014 až 2016. Kozy byly rozděleny do skupin a ošetřeny doporučenou dávkou (5 mg / kg tělesné hmotnosti) a dvojitou dávkou (10 mg / kg tělesné hmotnosti) albendazolu. Pro srovnání snížení počtu vajíček ve stolici byly použity testy EHT, FECRT a LDT. FECRT ukázal snížení o 69,2–86,2% pro doporučenou dávku a o 36,3–45,4% pro dvojnásobnou dávku. EHT ukázal, že všechny farmy měly hlístice rezistentní na BZ. LDT nedokázalo detekovat rezistentní larvy na sedmi farmách, ale detekovalo nízkou a vysokou úroveň rezistence 14 farmách. Výsledky studie potvrdily, že rezistence na BZ byla na farmách

rozšířená, což může být způsobeno dvěma faktory. Zaprvé, většina kozích farem měla smíšenou pastvu s ovci, což by mohlo urychlit vývoj AR. Zadruhé, zemědělci nevěděli o požadavku na vyšší dávku ošetření BZ u koz a všichni aplikovali dávku doporučenou pro ovce. Výsledky průzkumu naznačily nedostatek znalostí o strategiích kontroly hlístic a problému AR u slovenských chovatelů koz. Vysoký výskyt rezistentního *H. contortus* je v současné době vážným problémem a nedostatek znalostí o mechanismu vývoje AR, epidemiologii gastrointestinálních parazitů bude v budoucnu představovat vážnější hrozbu. BZ jsou nejčastěji používanými anthelmintiky na slovenských farmách, takže anthelmintika z jiných tříd by mohla být účinnější proti GI parazitům u koz.

Švýcarsko

Schnyder a kol (2005) jako první popsal rezistenci GI hlístic na anthelmintika ze skupiny makrocyclických laktonů ve Švýcarsku. Testované kozy byly rozděleny do čtyř skupin - tři ošetřené skupiny (mebendazol, ivermektin a moxidektin) a jedné kontrolní. Pro stanovení účinnosti anthelmintik byl použit test FECRT. Kozy byly poraženy týden po aplikaci anthelmintik. Rezistence na benzimidazol a ivermektin byla zjištěna u *Haemonchus contortus* s účinností 61%. Moxidectin měl účinnost 96%.

Cílem studie prováděnou Murri a kol., (2014) bylo zjistit skutečnou účinnost Eprinomektinu (EPN) ve Švýcarsku. EPN je jediným anthelmintikem registrovaným u koz ve Švýcarsku s nulovou ochrannou lhůtou u mléka. Do výzkumu bylo zapojen 43 kozích farem. Zvířata byla ošetřena doporučenou dávkou EPN (1 mg / kg tělesné hmotnosti) Účinnost EPN byla testována metodou FECR. Hlístice ani z jednoho vzorku nebyly citlivé nEPN na požadované úrovni. Průměrné snížení počtu vajec bylo 40%. Žádný z typických rizikových faktorů, jako je typ produkce, intenzita chovu, doprava zvířat a karanténní opatření, nevykazoval souvislost s úrovní rezistence na EPN. Prevalence rezistence EPN na kozích farmách je v kantonu Bern nejméně 95%.

Tabulka č.1 Případy anthelmintické rezistence popsané u koz (Paraud a Chartier, 2017)

Žemě	Hlavní anthelmintika	Hlavní rezistentní rod	Popsal
Indie	BZ> LEV> AVM	<i>Haem> Tricho</i>	Ghalsasi a kol. (2012), Chandra a kol. (2015), Gelot a kol. (2016), Singh a kol. (2017)
Malajsie	Případy multirezistence BZ-LEV-ML	<i>Haem> Tricho</i>	Chandrawathani a kol. (1999), (2004) a (2013), Abubakar a kol. (2015)

Žemě	Hlavní anthelmintika	Hlavní rezistentní rod	Popsal
Pákistán	BZ> LEV	<i>Haem - Tricho</i>	Saeed a kol. (2007) a (2010), Muhammad et al. (2015)
Filipíny	BZ	<i>Haem</i>	Venturina a kol. (2003), Ancheta a kol. (2004)
Austrálie	BZ, LEV	<i>Tela, Tricho, Haem</i>	Barton a kol. (1985)
Nový Zéland	ML - monepantel	<i>Tela / Tricho</i>	Leathwick (1995), Scott a kol. (2013)
Brazílie	Případy multirezistence BZ-LEV-ML- closantel	<i>Haem> Tricho, Oeso</i>	Vieira a Cavalcante (1999), Lima a kol. (2010), Borges a kol. (2015)
Mexiko	BZ	<i>Haem</i>	Torres-Acosta a kol. (2005)
USA	Případy multirezistence BZ-LEV-ML od 90. let	<i>Haem > Tricho</i>	Craig a Miller (1990), Zajac a Gipson (2000), Kaplan a kol. (2007), Goolsby a kol. (2017)
Etiopie	Multirezistence (2006 a 2009), Tetramisol (2010)	<i>Haem</i>	Sissay a kol. (2006), Kumsa a kol. (2010)
Keňa	LEV	<i>Haem</i>	Mungube et al. (2015)
Nigérie	ML a LEV	<i>Haem, Tricho, Oeso</i>	Adediran a Uwalaka (2015)
Jižní Afrika	BZD, closantel, ML, LEV	<i>Haem> Tricho</i>	Bakunzi (2003), Bakunzi a kol. (2013)
Uganda	ML, LEV, BZ	<i>Haem</i>	Byaruhanga a Okwee-Acai (2013), Byaruhanga a Okwee-Acai (2013)
Dánsko	BZ, LEV, ML	<i>Haem, Tricho</i>	Maingi a kol. (1996), Holm a kol. (2014), Peña-Espinoza a kol. (2014)
Francie	BZ > LEV	<i>Tela / Tricho> Haem</i>	Kerbœuf a Hubert (1985), Beugnet (1992), Chartier et al. (1998) a (2001), Paraud a kol. (2009)
Německo	BZ	<i>Haem, Tela / Tricho</i>	Bauer (2001)
Řecko	BZ	<i>Tela</i>	Papadopoulos a kol. (2001)
Itálie	BZ, ML	<i>Tricho, Tela</i>	Cringoli a kol. (2007), Zanzani a kol. (2014)
Holandsko	BZ, ML	<i>Haem, Tricho, Tela, Cooperia spp</i>	Borgsteede et al. (1996), Eysker a kol. (2006)
Norsko	BZ	<i>Tela / Tricho, Haem</i>	Domke a kol. (2012)

Žemě	Hlavní anthelmintika	Hlavní rezistentní rod	Popsal
Švýcarsko	ML, BZ	<i>Haem, Tela / Tricho</i>	Schnyder a kol. (2005), Artho a kol. (2007), Murri a kol. (2014)
Slovensko	BZ	<i>Haem</i>	Čorba a kol. (2002), Babják a kol. (2018)
Španělsko	BZ	<i>Tela, Haem</i>	Calvete a kol. (2014), Requejo-Fernández a kol. (1997)
Spojené království	BZ, LEV	<i>Haem, Tela / Tricho</i>	Hong a kol. (1996)

pozn.: *Haem Haemonchus contortus*; *Tricho Trichostrongylus spp.*; *Tela Teladorsagia spp.*; *Oeso Oesophagostomum spp*

3.3.4 Management pasty

Chovatelským managementem se rozumí péče o výběhy a pastviny, dodržování zoohygienických zásad a antiparazitální programy, které mají za úkol narušit vývojový cyklus parazitů.

Silvestre a kol. (2002) Identifikoval několik rizikových faktorů u koz pro vznik rezistence:

- léčba všech zvířat ve stádě
- pravidelně podávání léčiv zvířatům bez předchozích testů, zda je léčba nezbytná
- spoléhání pouze na účinek léčiv, bez úprav chovatelského managementu
- podávání anthelmintik, je-li v životním prostředí nízká přítomnost refugii (Populace v refugii je definována jako populace parazitů (hlístice nebo infekční larvy), kteří nejsou vystaveni působení anthelmintik, přispívají tak k udržování citlivosti alel v populaci.) Využívání *refugia* je klíčovou součástí programů udržitelné léčby omezením selekčního tlaku a tím zpomalením vzniku rezistentních populací (van Wyk, 2001))
- používání anthelmintik k účelům jiným, než byla schválena
- nedostatečná karanténa a léčba u nových zvířat

Pokud by byl postup chovatele či veterináře shodný s prvními třemi body dosáhneme eliminace citlivý jedinců v populaci, ale zároveň dojde k rozšíření rezistence na budoucí populaci. V dnešní době se tedy upouští od léčení všech zvířat ve stádě a léčba se provádí pouze u postižených jedinců. Při výběru správného anthelmintika musíme vzít v potaz je-li anthelmintikum podáváno preventivně nebo terapeuticky, mechanismus účinku a léková forma. Neméně důležité jsou také detekční systémy, které určí přítomnost parazita u

infikovaného zvířete nebo rezistenci k léčivu. Již zmiňovaná refugia mají velký vliv na rozvoji rezistence parazitů. Na pastvě, vlivem velkých výkyvů počasí, může dojít k zneškodnění citlivých jedinců a k nakažení hostitele pouze odolnými jedinci. Z toho je patrné, že čím vyšší podíl parazitů v refugíích, tím dochází k pomalejšímu rozvoji rezistence vlivem nižšího selekčního tlaku na celou populaci (Ihler 2010).

Ihler (2010) popisuje vznik AR na Novém Zélandu a Austrálii. Na Novém Zélandu se vyskytuje 75% z celé populace *H. contortus* v larvální stádiu, za což může vlhké počasí. Opačně tomu je v Austrálii. Suché podnebí larválním stádiím nepřeje a dochází i k likvidaci refugií. To zabraňuje míchání odolných a citlivých parazitů, tedy i k vyššímu selekčnímu tlaku a dřívějšímu rozvoji rezistence. Doporučuje se provádět dehelmintace stád před a po pastevní sezóně, aby se snížila možnost nákazy z pastvy. U nových zvířat, by mělo být samozřejmostí, že budou po nějakou dobu v karanténě, aby v případě, že jsou nová zvířata zdrojem nákazy rezistentních parazitů, nebyla infikována ostatní zvířata. Mezi základní zoohygienické opatření patří pravidelná očista chovatelských prostor a preventivní koprologie trusu. U pastvin je to zejména: rotace různých druhů zvířat, spásání pastvin po menších částech, sběr trusu. (Antiparasitic Resistance in Cattle and Small Ruminants in the United States: How to Detect It and What to Do About It- U. S. Food and Drug Administration)

3.4 Metody zjišťování rezistence

Proces vývoje nových anthelmintik je velmi pomalý vzhledem k rychlosti šíření vzniku rezistence. Je nezbytné včas odhalit vznik rezistence a zvýšit tak účinnost vhodných anthelmintik (Verissimo a kol., 2012). Pro úspěšnou realizaci programů určených k zpomalení vzniku rezistence je jedním z klíčových faktorů dostupnost metod pro rozpoznání včasné rezistence na anthelmintika. Pro zjišťování rezistence na anthelmintika se využívá několik in vivo a in vitro metod (Várady, 2011; Taylor a kol., 2003).

Coles a kol. (1992) popsali doporučený způsob provádění testů podle metod WAAVP. Nejvyžívanější je test FECRT (The faecal egg count reduction test) (Coles, 1995). Jeho vysoká nákladnost vedla k rozvoji in vitro testů (Douch a Morum, 1994). Test líhnutí vajíček (EHT - Eggs hatch test) a test larválního vývoje (LDT - Larval Development Test) jsou nejvíce využívanější in vitro testy (Coles, 1995).

3.4.1 In vitro testy

Nejvyužívanější in vitro testy jsou testy líhnutí vajíček (EHT - Eggs hatch test) a testy larválního vývoje (LDT Larval development test, MALDT Microagar larval development test). Dále se používá test založený na paralýze a mortalitě larev.

Pro zjišťování rezistence na Levamisol byl vyvinut test založený na paralýze a motilitě larev. Test je možné aplikovat pouze u preparátů, které ovlivňují svalovou funkci parazita. Průběh testu je následovný, infekční L3 larvy se inkubují jeden den v sériové řadě anthelminticích. Po uplynutí 24 hodin se stanoví podíl ochrnutých larev pro každou koncentraci. Výsledky se porovnají se známými referenčními hodnotami (Taylor a kol., 2002).

Egg hatch test (EHT) je in vitro metoda k detekci rezistence na BZ. Pomocí TBZ testujeme schopnost zastavení vývoje a líhnutí vajíček hlístic z čerstvě odebraných výkalů (Coles, 1992). Pomocí síta odštěďování a flotací v roztoku NaCl jsou vajíčka separována. Proveďte se omytí vajíček a následně se zkontrolují pod mikroskopem, zda vývoj zárodku ještě nezačal. Každý ze vzorků je dvakrát testován šesti různými koncentracemi TBZ. Do testu by neměla být zařazena vajíčka starší 3 hodin od sběru, kvůli ztrátě citlivosti na TBZ. Určíme procentuální poměr mezi vylíhlými, nevylíhlými vajíčky vylíhlými larvami. Z údajů následně vypočteme hodnotu ED50, což je smrtelná dávka TBZ pro 50 % vajíček. Za rezistenci označujeme stav, kdy hodnota ED50 překročí koncentraci 0,1 µg / ml TBZ (Coles a kol., 1992; Hunt a Taylor, 1989; Taylor a kol., 2003).

Test vývoje larev (Larval development test, LDT, Micro-agar larval development test, MALDT), tyto testy se užívají k zjištění rezistence na BZ, LEV a IVM. Principem testu je kultivace vajíček parazitů do L3 infekčních larev s přítomností anthelmintik v různé koncentraci. Kultivačním médiem bývá nejčastěji kapalina, nebo agar. LDT je méně časově náročný a jednodušší na realizaci oproti MALDT (Várady a kol., 2007).

U tohoto testu není, na rozdíl od testu líhnutí vajíček, důležité stáří vajíček (Coles a kol., 2006). Tyto testy jsou schopné detekovat i velmi nízké (4%) úrovně rezistence, jak potvrzují studie, což by mohlo být přínosným prostředkem pro monitoring u polních studií. Tato metoda patří k nejvyužívanějším in vitro testům k odhalení rezistence hlístic na anthelmintika (Várady a kol., 2007).

3.4.2 In vivo testy

Techniky in vivo testů jsou náročné jak časově, tak i finančně a jsou známy nízkou přesností a reprodukovatelností výsledků, které jsou s největší pravděpodobností způsobeny farmakodynamikou léčiv (Várady, 2011).

Test FECRT (The faecal egg count reduction test) je nejrozšířenější metodou k zjišťování účinku anthelmintika v boji s GI hlísticemi (Levecke a kol., 2012). Využívá se pro všechny skupiny anthelmintik, proto zůstává i přes své slabé stránky stále hlavní metodou k určování rezistence (Demeler a kol., 2012). Test je spolehlivý jen v případě, že z celé populace hlístic je více jak 25% hlístic je rezistentních (Martin a kol., 1989).

Jako testovaná skupina by měla být použita taková zvířata, která nebyla ošetřena anthelmintiky nejméně 8 až 12 týdnů před testem. Testována jsou zvířata ve věku 3 - 6 měsíců, pokud jsou starší ovoskopický nález musí být vyšší jak 150 EPG (eggs per gram nebo-li počet vajíček na gram výkalu). Ideální skupinu tvoří 10 zvířat. Interval mezi prvním a druhým odběrem závisí na použitém přípravku. U LEV se provádí po 3 až 7 dnech po ošetření, u BZ po 8 - 10 dnech, u ML po 14 - 17 dnech. Jsou-li zvířata spolu v jednom stádě, sekundární odběr provedeme po 14 dnech (Coles, 2005). Je-li redukce vajíček v trusu o více jak 95% usuzujeme, že použité anthelmintikum je účinné (Mejia a kol., 2003), ale i výskyt nepatrného množství vajíček v trusu může svědčit o problému rezistence, což by v případě nezměněném managementu a opakovaném použití téhož anthelmintika mohlo vést k navýšení počtu rezistentních jedinců (Coles a kol., 2006).

3.4.3 PCR Testy

Detekce rezistence pomocí molekulárních metod není v současné době možnou alternativou k ostatním testům, protože znalosti o molekulárních mechanismech rezistence jsou zejména u BZ stále omezené. Molekulární testy vyžadují velké množství vzorků helmintů a kvůli tomu nejsou snadno proveditelné při běžných podmínkách (Tandon a Kaplan, 2004). Silné stránky PCR (Polymerase Chain Reaction) testů spočívají především ve specifitě a citlivosti. Na základě gentotypů (rr, rS, SS) určuje stav rezistence, kdežto běžné testy poskytují pouze informaci zda je parazit rezistentní, či nikoli (Tiwari a kol., 2007) V této oblasti je nezbytné provést ještě další výzkumy, aby se testy staly běžnými (Coles a kol. 2006).

4. Závěr

Anthelmintická rezistence je běžná na celém světě. Celosvětově existuje více než 40 zemí s případy anthelmintické rezistence, mnoho zemí se potýká i s multirezistentními druhy hlístic. Nejčastěji využívaná anthelmintika jsou benzimidazoly (albendazol, fenbendazol, mebendazol, triklabendazol) a makrocyclické laktony (ivermektin, doramektin, eprinomektin, moxidectin). Běžně zavedená je rezistence u *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia circumcincta* a *Nematodirus*.

Rezistence je problém jak veterinární, tak i ekonomický. Hlístice parazitující v GI traktu způsobují vážné zdravotní potíže a s tím se pojí i pokles užitkovosti a při velmi těžkých infekcích může dojít i k úhynu zvířete.

Neustálé opakování anthelmintické léčby je na mnohých farmách stále první možností prevence před GI hlísticemi, spíše než hledání alternativních metod pro zlepšení kontroly. Je tedy důležité, aby chovatelé měli dostatek informací a následně tak mohli předcházet dalšímu rozvoji anthelmintické rezistence u svých stád. Jako dobrá prevence AR se zdá dostatečně dávkování anthelmintik a zohlednění rychlejšího metabolismu v případě koz, rozumné střídání, nebo kombinace vhodných anthelmintik, dodržování karantény u nových zvířat.

V boji s AR je důležité pokračovat také v rozvoji detekčních metod. Při vývoji nových metod pro detekci AR by měl být kladen důraz na jednoduchost a ekonomickou dostupnost pro chovatele, protože právě chovatelé mohou ovlivnit další vývoj AR.

5. Použitá literatura

Babják M, Königová A, Urda Dolinská M, Vadlejš J, Várady M. Anthelmintic resistance in goat herds—*In vivo* versus *in vitro* detection methods. *Vet Parasitol.* 2018;254:10–4.

Balic, A., Bowles, V. M., Meeusen, E. N. T. 2000. The immunology of gastro-intestinal nematodes in ruminants. *Advances in Parasitology.* 45. 181-241s.

Bahuaud D., Martínez-Ortiz de Montellano C., Chauveau S., Prevot F., Torres-Acosta F., Fouraste I. and Hoste H., 2006. Effects of four tanniferous plant extracts on the *in vitro* exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. In: *Parasitol.*, 132. p. 545-554.

Barton NJ, Trainor BL, Urie JS et al (1985) Anthelmintic resistance in nematode parasites of goats. *Aust Vet J* 62(7):224–227

Bashtar A-R., Hassanein M., Abdel-Ghaffar F., Al-Rasheid K., Hassan S., Mehlhorn H., Al- Mahdi M., Morsy K., Al-Ghamdi A. 2011. Studies on monieziasis of sheep I. Prevalence and anthelmintic effects of some plant extracts, a light and elektron microscopic study. *PARASITOL RESEARCH* 108: 177–186

Blackhall, W. J., Prichard, R. K., Beech, R. N. 2008. P-glycoprotein selection in strains of *Haemonchus contortus* resistant to benzimidazoles. *Veterinary Parasitology.* 152. 101–107s.

Borgsteede, F., Verkaik, J., Moll, L., Dercksen, D., Vellema, P., Bavinck, G. 2010. How widespread is resistance to ivermectin among gastrointestinal nematodes in sheep in The Netherlands? *Tijdschrift Diergeneeskunde.* 135. 782-785s.

Cabaret, J. 2002. How do we deal with anthelmintic resistance of herbivore helminths? *Proceedings of the 27th World Veterinary Congress, Tunis, September 25–29: 294–295.*

Coles, G. C.; Bauer, C.; Borgsteede, F. H. M.; Geerts, S.; Klei, T. R.; Taylor, M. A.; Waller, J. P. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology.* 44. 35–44.

Coles G. C. 1995. Chemotherapy of human nematodes: learning from the problems

in sheep. *Journal of the Royal society of medicine*. 88. 649-651.

Coles, G. C. 1997. The control of parasites in goats. *Goat Vet. Soc. J.* 17, 28–32

Coles, G. C. 2005. Anthelmintic resistance – looking to the future: a UK perspective. *Research in Veterinary Science*. 78. 99–108.

Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., Vercruyse, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, vol. 136, s. 167-185.

Conder, G. A., Campbell, R. K., 1995. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance with special reference to drug resistance. *Adv. Parasitol.* 35, 2–84

Corwin, R. M. 1997. Economics of gastrointestinal parasitism of cattle. *Veterinary Parasitology*. 97 (72). 451–460.

Craig, T. M. 1993. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. 46. 121–131.

Cringoli, G., Veneziano, V., Rinaldi, L. *a kol.* Rezistence trichostrongylů na benzimidazoly v Itálii: první zpráva na kozí farmě s opakovanými a opakovanými introdukcemi. *Parasitol Res* **101**, 577–581 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0518-7>

Demeler, J.; Kleinschmidt, N.; Küttler, U.; Koopmann, R.; von Samson-Himmelstjerna, G. 2012. Evaluation of the Egg Hatch Assay and the Larval Migration Inhibition Assay to detect anthelmintic resistance in cattle parasitic nematodes on farms. *Parasitology International*. 61 (4). 614-618.

Dent, J.A., Smith, M.M., Vassilatis, D.K., Avery, L., 2000. The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, vol. 97, no. 6, s. 2674–2679.

Dobson, R. J., Hosking, B. C., Jacobson, C. L., Cotter, J. L., Besier, R. B., Stein, P. A., Reid, S. A. 2012. Preserving new anthelmintics: A simple method for estimating faecal egg count reduction test (FECRT) confidence limits when efficacy and/or nematode aggregation is high. *Veterinary Parasitology*. 186. 79-92s.

- Douch P. G. C. a Morum P. E. 1994. The effects of anthelmintics on ovine larval nematode parasite migration in vitro. *International Journal for Parasitology*. 24. 321-326.
- Epe, CH., Kaminsky R. 2013. New advancement in anthelmintic drugs in veterinary medicine. *Trends in Parasitology*, vol. 29, no. 3, s. 129- 134.
- Fortes, F. S., Molento M. B. 2013. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of small ruminants: advances and limitations for diagnosis. *PESQUISA VETERINARIA BRASILEIRA* 33: 1391–1402
- Gaba S, Cabaret J, Ginot V, Silvestre A. The early drug selection of nematodes to anthelmintics: stochastic transmission and population in refuge. *Parasitology*. 2006;133:345–56.
- Geary, T. G., Hosking B. C., Skuce, P. J., von Samson-Himmelstjerna, G., Maeder, S., Holdsworth, P., Pomroy, W., Vercruyse, J. 2012. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Guideline: Anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. *Veterinary Parasitology*. 190. 306-316s.
- Gill, J.H., Lacey, E. 1998. Avermectin/milbemycin resistance in trichostrongyloid nematodes. *International Journal for Parasitology*, vol. 28, no. 6, s. 863–877.
- Gujja, S., Terrill, T.H., Mosjidis, J.A., Miller, J.E., Mechineni, A., Kommuru, D.S., Shaik, S.A., Lambert, B.D., Cherry, N.M., Burke, J.M. 2013. Effect of supplemental sericea lespedeza leaf meal pellets on gastrointestinal nematode infection in grazing goats. *Veterinary Parasitology*. 191. 51-58.
- Hoglund, J., Gustafsson, K., Ljungstrom, B. L., Engstrom, A., Donnan, A., Skuce, P. 2009. Anthelmintic resistance in Swedish sheep flocks based on a comparison of the results from the faecal egg count reduction test and resistant allele frequencies of the β -tubulin gene. *Veterinary Parasitology*. 161. 60-68s.
- Holm SA, Sørensen CRL, Thamsborg SM, Enemark HL. Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. *Parasite*. 2014;21:37.

Hoste H, Chartier C, Etter E, Goudeau C, Soubirac F, Le Frileux Y. A questionnaire survey on the practices adopted to control gastrointestinal nematode parasitism in dairy goat farms in France. *Vet Res Commun.* 2000;24:459–69.

Hoste, H., Martinez- Ortiz- De- Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. 2012. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Veterinary Parasitology.* 186. 18-27. doi: 10.1016/j.vetpar. 2011.042

Hoste H, Sotiraki S, Landau SY, Jackson F, Beveridge I. Goat–nematode interactions: think differently. *Trends Parasitol.* 2010;26:376–81.

Hoste H, Sotiraki S, Torres-Acosta JFJ. Control of Endoparasitic nematode infections in goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2011;27:163–73.

Hunt, K. R., Taylor, M. A. 1989. Use of the egg hatch assay on sheep faecal samples for the detection of benzimidazole resistant worms. *Veterinary Record.* 125.

153-154s. Chandrawathani, P., Adnan, M., Waller, P. J. 1999. Anthelmintic resistance in sheep and goat farms on Peninsular Malaysia. *Veterinary Parasitology.* 82. 305-310s.

C Chartier, I Pors, J Hubert, D Rocheteau, C Benoit, N Bernard, Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France, *Small Ruminant Research*, Volume 29, Issue 1, 1998, Pages 33-41, ISSN 0921-4488,

Chartier C, Soubirac F, Pors I, Silvestre A, Hubert J, Couquet C, Cabaret J. Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of dairy goats under extensive management conditions in southwestern France. *J Helminthol.* 2001;75:325–30.

Chartier, C., Soubirac, F., Pors, I., Silvestre, A., Hubert, J., Couquet, C., & Cabaret, J. (2001). Prevalence antihelminťické rezistence u gastrointestinálních hlístic mléčných koz za rozsáhlých podmínek řízení v jihozápadní Francii. *Journal of Helminthology*, 75 (4), 325-330. doi: 10.1017 / S0022149X01000506

Ihler, C.F. 2010. Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 52, suppl. 1:S 24, 5 s.

Jackson, F., Bartley, D., Bartley, Y., Kenyon, F. 2009. Worm control in sheep in the

future. *Small Ruminant Research*. 86. 40-45s.

Jackson F, Várady M, Bartley DJ. Managing anthelmintic resistance in goats—can we learn lessons from sheep? *Small Ruminant Res.* 2012;103:3–9.

James, C. E., Hudson, A. L., Davey, M. W. 2009. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest?. *Trends in Parasitology*, vol. 25, no. 7, s. 328–335.

Kaminsky, R. a kol. 2008a. A new class of anthelmintic effective against drugresistant nematodes. *NATURE*, vol. 452, s. 176- 180.

Kaminsky, R. a kol. 2008b. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitology Research*, vol. 103, no. 4, s. 931- 939.

Kaminsky, R., Bapts, B., Stein, P.A., Strehlau, G.A., Allan, B.A., Hosking, B.C., Rolfe, P.F., Sager, H., 2011. Differences in efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against multi-resistant nematodes of sheep. *Parasitology Research*, vol. 109, no. 1, s. 19- 23.

Kerbœuf D, Hubert J (1985) Benzimidazole resistance in field strains of nematodes from goats in France. *Vet Rec* 116:133

Khan, A. I., Kishor, P. 2014. Haemato-biochemical changes in caprine helminthosis treated

Köhler, 2001. P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Internatiol Journal for Parasitology*, vol. 31, no. 4, s. 336–345.

KUCHTÍK J. A KOLEKTIV, 2007: Chov ovčí, MZLU, 110 s, ISBN 978-80-7375-094- 7

Kumsa, B., Wossene, A. 2007. Abomasal nematodes of small ruminants of Ogaden region, eastern Ethiopia: prevalence, worm burden and species composition. *Revue de médecine vétérinaire*, 158 (1)

Laing, S. T., Ivesn, A., Laing, R., Ravikumar, S., Butler, V., Woods, D. J., Gilleard, J. S., 2010. Characterization of the xenobiotic response of *Caenorhabditis elegans* to the anthelmintik drug albendazole and the identification of novel drug glucoside

metabolites. *Biochemical Journal*, vol. 432, s. 505-514.

Le Jambre L. F., Gill J. H., Lenane I. J., Lacey E. 1995. Characterisation of an Avermectin Resistant Strain of Australian *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*. 25. 691-698.

Leatwick, D.M., 2012. Modelling the benefits of a new class of anthelmintic in combination. *Veterinary Parasitology*, 2012, vol. 186, no. 1- 2, s. 93- 100.

Levecke, B., Dobson, R. J., Speybroeck, N., Vercruyse, J., Charlier, J. 2012. Novel insights in the faecal egg count reduction test for monitoring drug efficacy against gastrointestinal nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 188. 391-396s.

Little, P.R., Hodge, A., Maeder, S.J., Wirtherle, N.C., Nicholas, D.R., Cox, G.G., Conder, G.A., 2011. Efficacy of a combined oral formulation of derquantel– abamectin against the adult and larval stages of nematodes in sheep, including anthelmintic-resistant strains. *Veterinary Parasitology*, vol. 181, no. 2- 4, s. 180- 193.

Love, S. C. J., Neilson, F. J. A., Biddle, A. J., McKinnon, R. 2003. Moxidectin-resistant *Haemonchus contortus* in sheep in northern New South Wales. *Australian Veterinary Journal*. 81. 359-360s.

N. Maingi, H. Bjørn, S.M. Thamsborg, H.O. Bøgh, P. Nansen, A survey of anthelmintic resistance in nematode parasites of goats in Denmark, *Veterinary Parasitology*, Volume 66, Issues 1–2, 1996, Pages 53-66, ISSN 0304-4017,

Martin, P. J., Anderson, N., Jarrett, R. G. 1989. Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction tests and in vitro assays. *Australian Veterinary Journal*. 66. 236- 240s.

Martin P. J., McKenzie J. A. 1990. Levamisole resistance in *Trichostrongylus colubriformis*: a sex-linked recessive character. *International Journal Parasitology*. 20. 867- 872.

Mejía, M.E., Igartúa, B.M.F., Schmidt, E.E., Cabaret, J. 2003. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance?. *Veterinary Research*, vol. 34, no. 4, s. 461–467.

Naem, S., Gorgani, T. 2011. Gastrointestinal parasitic infection of slaughtered sheep (Zel breed) in Fereidoonkenar city, Iran. *Vet. Res. Forum* 2: 238-241.

Mickiewicz, M., Czopowicz, M., Kawecka-Grochocka, E. *et al.* The first report of multidrug resistance in gastrointestinal nematodes in goat population in Poland. *BMC Vet Res* **16**, 270 (2020).

Mickiewicz, M., Czopowicz, M., Moroz, A. *a kol.* Prevalence antihelmintické rezistence gastrointestinálních hlístic v polských stádách koz hodnocená testem vývoje larev. *BMC Vet Res* **17**, 19 (2021).

Murri, S., Gabriela Knubben-Schweizer, Paul Torgerson, Hubertus Hertzberg, Frequency of eprinomectin resistance in gastrointestinal nematodes of goats in canton Berne, Switzerland, *Veterinary Parasitology*, Volume 203, Issues 1–2, 2014, Pages 114-119, ISSN 0304-4017,

Paraud C., Chartier C. (2017) Facing Anthelmintic Resistance in Goats. In: Simões J., Gutiérrez C. (eds) *Sustainable Goat Production in Adverse Environments: Volume I*. Springer, Cham.

Rahmann, W. A, Collins, G. H. 1990. The establishment and development of *Trichostrongylus colubriformis* in goats. *Vet. Parasitol.* 35: 195-200.

Rahmann, G., Seip, H. 2007. Alternative management strategies to prevent and control endo-parasite diseases in sheep and goat farming systems - a review of the recent scientific knowledge. *Land. Völk.* 57: 75-88.

Rinaldi, L., Veneziano, V., Cringoli, G. 2007. Dairy goat production and the importance of gastrointestinal strongyle parasitism. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101 (8), 745-746.

Rock, D.W., DeLay, R.L., Gliddon, M.J. 2002. Chemistry, Pharmacology and Safety: Moxidectin. In Vercruysse, J., Rew, R.S. *Macrocyclic lactones in Antiparasitic Therapy*. CABI Publishing, 75 - 93.

Sager H., Bapts, B., Strehlau, G.A., Kaminsky, R. 2012. Efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against adult stages of a multi-resistant *Haemonchus contortus* isolate. *Parasitology Research*, 2012, vol. 111, no. 5, s. 2205- 2207.

Sagues M. F., Fuse L. A., Fernandez A. S., Iglesias L. E., Moreno F. C., Saumell C. A. 2011. Efficacy of an energy block containing *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of sheep. *PARASITOL RESEARCH* 109: 707–713

Sangster N., Batterham P., Chapman H. D., Duraisingh M., Le Jambre L., Shirley M., Upcroft J., Upcroft P. 2002. Resistance to antiparasitic drugs: the role of molecular diagnosis. *International Journal for Parasitology*. 32. 637-653.

Sargison N. 2012. Diagnosis of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica*. *VETERINARY RECORD* 171: 151–152

Scott I, Pomroy WE, Kenyon PR et al (2013) Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol* 198(1–2):166–171

Schnyder M, Torgerson PR, Schönmann M, Kohler L, Hertzberg H. Multiple anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* isolated from South African Boer goats in Switzerland. *Vet Parasitol*. 2005 Mar 31;128(3-4):285-90. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.12.010. Epub 2005 Jan 25. PMID: 15740865.

Silvestre A, Leignel V, Berrag B a kol. (2002) Rezistence hlístic ovčí a koz proti antihelmintikům: klady a zápory mezi faktory managementu chovu. *Vet Res* 33: 465–480

Smith, M. C., Sherman, D. M. 2009. *Goat Medicine, Second Edition*. Published by John Wiley & Sons, Inc. p. 888. ISBN: 9780781796439.

Sutherland, I., Scott, I. 2009. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control*. John Wiley and Sons. West Sussex. 242 pp. ISBN: 978-1-4051-8582-0.

Sutherland, I., Scott, I. 2010. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control*. John Wiley and Sons. West Sussex. p. 242. ISBN: 9781405185820.

Swales, W. E. 1940. The Helminth Parasites And Parasitic Diseases Of Sheep In Canada: I. A Survey And Some Preliminary Studies On Existing Problems. *Canadian Journal of Research*, 18 (1), 29-48.

Taylor, M.A, Hunt, K.R., Goodyear, K.L. 2002. Anthelmintic resistance detection

methods. *Veterinary Parasitology*, vol. 103, s. 183–194

Tiwari J., Kumar S., Kolte A. P., Swarnkar C. P., Singh D., Pathak K., M. L. 2006. Detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using RFLP-PCR technique. *Veterinary Parasitology*. 138. 301-307.

Vadlejch, J., Langrová, I., 2014. *Gastrointerstinální hlístice ovcí*. 1. vyd. Powerprint, Praha, 78 s.

Vadlejch, J., Kyriánová, I.A., Várady, M. *et al.* Resistance of strongylid nematodes to anthelmintic drugs and driving factors at Czech goat farms. *BMC Vet Res* **17**, 106 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02819-8>

Van Wyk, J. A. 2001. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, vol. 68. s. 55-68.

Van Wyk JA, Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide. *Onderstepoort J Vet Res*. 2013;80:1–14.

Várady, M., Papadopoulos, E., Dolinská, M., Königová, A. 2011. Anthelmintic resistance in parasites of small ruminants: sheep versus goats. *Helminthologia*, vol. 48, no. 3, s. 137- 144.

Várady, M., Čudeková, P., Čorba, J. 2007. In vitro detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*: Egg hatch test versus larval development test. *Veterinary Parasitology*. 149. 104-110s.

Veríssimo, C. J., Niciura, S. C. M., Alberti, A. L. L., Rodrigues, C. F. C., Barbosa, C. M. P., Chiebae, D. P., Cardoso, D., da Silva, G. S., Pereira, J. R., Margatho, L. F. F., da Costa, R. L. D., Nardon, R. F., Ueno, T. E. H., Curci, V. C. L. M., Molento, M. B. 2012. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from Sao Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 187. 209-216s.

Vinícius Longo Ribeiro Vilela, Thais Ferreira Feitosa, Fabio Ribeiro Braga, Jackson Victor de Araújo, Diego Vagner de Oliveira Souto, Herbis Eduardo da Silva Santos, Gabriela Lucena Longo da Silva, Ana Célia Rodrigues Athayde, Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil, *Veterinary Parasitology*, Volume 188, Issues 1–2, 2012, Pages 127-133, ISSN 0304-4017

Waller, P. J., Thamsborg, S. M. 2004. Nematode control in 'green' ruminant production systems. *Trends in parasitology*, 20 (10), 493-497.

Williams, J.C., Knox, J.W., Baumann, B.A., Snider, T.G., Kimball, M.G., Hoerner, T.J., 1981. Efficacy of ivermectin against inhibited larvae of *Ostertagia ostertagi*. *American journal of Veterinary Research*, 42(12), 2077-2080.

Wolstenholme, A. J., a kol., 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*, vol. 20, no. 10, s. 469–476.

Wolstenholme, A. J., Rogers, A.T. 2005. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology*, vol. 131, s. S85–S95.

Zajac, A.M. 2006. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics and Diagnosis. *Vet. Clin. Food Anim.* 22. 529-541.
doi: 10.1016/j.cvfa.2006.07.006

Zanzani, S.A., Gazzonis, A.L., Di Cerbo, A. *et al.* Gastrointestinal nematodes of dairy goats, anthelmintic resistance and practices of parasite control in Northern Italy. *BMC Vet Res* **10**, 114 (2014).

Zhao, G. H., Jia, Y. Q., Cheng, W. Y., Zhao, W., Bian, Q. Q., Liu, G. H. 2014. Characterization of the complete mitochondrial genomes of *Nematodirus oiratianus* and *Nematodirus spathiger* of small ruminants. *Parazites & Vectors*. 7 (319). doi: 10.1186/1756- 3305-7-319 Published online 2014 (<http://www.parasitesandvectors.com/content/pdf/1756- 3305-7-319.pdf>)