

伊维菌素与丙硫咪唑对内蒙古两地区放牧绵羊胃肠道线虫驱杀效果

王鹏龙¹ 罗晓平^{1,2} 敖登高娃¹ 刘阳¹ 方变变¹ 李超³

王瑞¹ 李军燕^{2*} 杨晓野^{1*}

(1. 内蒙古农业大学 兽医学院, 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古自治区农牧业科学院 兽医研究所, 呼和浩特 010031;

3. 内蒙古自治区兽药监察所, 010010)

摘要 为了解内蒙古地区放牧绵羊胃肠道线虫对常用驱虫药物的耐药情况, 选取呼和浩特和林格尔地区和包头萨拉齐地区自然状态下, 感染胃肠道线虫的放牧绵羊各 60 只, 随机分为 3 组, 每组 20 只, 其中 2 个试验组分别采用伊维菌素或丙硫咪唑进行驱虫, 对照组则不做处理, 采用粪便虫卵减少试验方法, 对其驱虫效果进行评估。结果表明: 和林格尔地区绵羊胃肠道线虫使用伊维菌素或丙硫咪唑处理 72 h 后, 粪便虫卵减少率分别是 28% 和 77%; 萨拉齐地区绵羊粪便虫卵减少率分别是 40% 和 100%。研究发现: 两地区放牧绵羊胃肠道线虫对伊维菌素有较高的耐药性; 和林格尔地区绵羊对丙硫咪唑耐药性程度较轻; 在萨拉齐地区, 丙硫咪唑驱虫效果较好。

关键词 绵羊; 内蒙古; 伊维菌素; 丙硫咪唑; 胃肠道线虫; 耐药性

中图分类号 S855.9+1

文章编号 1007-4333(2019)11-0117-06

文献标志码 A

Effects of ivermectin and albendazole on the gastrointestinal nematodes of grazing sheep in Inner Mongolia

WANG Penglong¹, LUO Xiaoping^{1,2}, Aodenggaowa¹, LIU Yang¹, FANG Bianbian¹,
LI Chao³, WANG Rui¹, LI Junyan^{2*}, YANG Xiaoye^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. Animal Husbandry Institute, Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China;

3. Veterinary Drug Control Institute of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010010, China)

Abstract To understand the situation of the resistance in gastrointestinal nematodes of grazing sheep to current anthelmintics (ivermectin and albendazole), an investigation was carried out by taking 60 grazing sheep infected with gastrointestinal nematodes in Helinger, Hohhot and Salaqi, Baotou as study objects. The grazing sheep were randomly divided into 3 groups with 20 in each group. Two experimental groups were respectively treated with ivermectin or albendazole, while the control group received no treatment. Faecal egg count reduction tests were employed to determine the efficacy of the these two drugs against gastrointestinal nematodes infection. The results showed that the reduction in arithmetic mean faecal egg counts achieved by ivermectin or albendazole in Helinger were 28% and 77% after 72 h of treatment, respectively, and their effects were respectively 40% and 100% in Salaqi. This study indicated that there was high resistance of ivermectin against the gastrointestinal nematodes in grazing sheep in two areas and there were mild resistance of albendazole in Helinger. However, albendazole appeared to be very effective on sheep in Salaqi.

Keywords sheep; Inner Mongolia; ivermectin; albendazole; gastrointestinal nematodes; drug resistance

收稿日期: 2019-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660710); 内蒙古农牧业创新基金项目(CXJJM01)

第一作者: 王鹏龙, 硕士研究生, E-mail: 1254427601@qq.com

通讯作者: 李军燕, 助理研究员, 博士, 主要从事家畜寄生虫病防治研究, E-mail: zgyljy521@163.com

杨晓野, 教授, 博士生导师, 主要从事家畜寄生虫病防治研究, E-mail: xiaoyeyang122@sohu.com

绵羊胃肠道线虫分布广泛,感染率较高,是影响羊只健康生长的主要寄生虫种类^[1]。目前,利用伊维菌素(Ivermectin)、阿苯达唑(Albendazole)、左旋咪唑(Levamisole)等化学药物驱虫仍然是防治该类寄生虫的主要方法^[2-3]。近年来,随着驱虫药物的滥用,导致某些寄生虫产生一定的耐药性,严重影响驱虫效果。我国内蒙古地区畜牧业发达,放牧绵羊数量庞大,胃肠道线虫感染较为严重^[4],给该地区羊养殖业造成巨大经济损失^[5]。据罗晓平等^[6]报道,呼伦贝尔某天然牧场中绵羊胃肠道线虫对伊维菌素和丙硫咪唑产生了较强的耐药性。Han等^[7]报道内蒙东部地区10个放牧羊群胃肠道线虫平均感染率高达79.2%(45%~100%),平均感染强度EPG达1 813(0~32 400),且对阿维菌素、伊维菌素、阿苯达唑均产生不同程度的耐药性,仅左旋咪唑对该地区胃肠道线虫有良好的驱虫效果。额叶勒德格等^[8]对乌审旗地区放牧绵羊胃肠道线虫耐药性调查显示,捻转血矛线虫和细颈线虫对伊维菌素和阿苯达唑产生高度耐药性,用药后平均虫卵减少率不到10%,对左旋咪唑也产生一定的耐药性,平均虫卵减少率为51.2%。由此可见,内蒙古地区放牧绵羊胃肠道线虫耐药性问题非常严重。然而有关呼和浩特及包头地区放牧绵羊胃肠道线虫耐药性的研究尚少,因此,本研究拟以呼和浩特和林格尔地区和包头萨拉齐地区自然状态下,感染胃肠道线虫的绵羊为研究对象,以粪便虫卵计数减少试验为研究方法,旨在进一步调查其耐药性的分布及相关情况,以为驱杀放牧绵羊胃肠道线虫筛选出理想驱虫药,为提出正确的放牧绵羊胃肠道线虫驱虫方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验药物

伊维菌素(内蒙古北奇药械有限责任公司,批号20170401),注射剂,皮下注射,每毫升含有有效成分10 mg,给药剂量0.2 mg/kg体重;丙硫咪唑(长春腾宇兽药有限公司,批号20170303),片剂,内服,每片含有有效成分50 mg,给药剂量13 mg/kg体重。

1.2 试验动物

根据养殖规模和放牧绵羊胃肠道线虫感染状况等特点,本研究选取呼和浩特和林格尔地区和包头萨拉齐地区2个放牧绵羊群,每个羊群选择健康,体况相近且近5个月未驱虫的100只预选羊进行试验。

1.3 试验方法

1.3.1 试验动物分组与给药

试验前1周对每一地区的100只预选试验绵羊进行编号、直肠采集新鲜粪便,置于4℃恒温车载冰箱带回实验室,采用改良的McMaster氏计数板进行粪便虫卵计数,统计每克粪便虫卵数(EPG)。根据EPG检查结果,每一地区选取EPG>300的绵羊60只作为试验动物,并将每一地区的试验动物均随机分为3组,每组20只,其中2个试验组分别是伊维菌素组和丙硫咪唑组,另设对照组。依据药物说明书,以不同的给药途径和剂量对试验组进行处理,对照组不做处理。

1.3.2 粪便虫卵减少试验

试验组和对照组于给药后0、12、24、36、48、60和72 h直肠采集粪便,进行粪便虫卵计数。

1.4 驱虫效果及耐药性判定标准

根据各组驱虫前后EPG的变化,按照Close等^[9]和Calvete等^[10]制定的公式计算各试验组粪便虫卵减少率(FECRR)和95%的置信域。采用式(1)计算各试验组驱虫后72 h粪便虫卵减少率。

$$FECRR = 100[1 - (\bar{X}_t / \bar{X}_c)] \quad (1)$$

式中:FECRR为试验组驱虫后72 h粪便虫卵减少率,%; \bar{X}_t 为试验组驱虫后72 h时克粪便平均虫卵数; \bar{X}_c 为对照组试验后克粪便平均虫卵数。

在2地区各组试验72 h时克粪便虫卵数的方差(算术级别)采用式(2)计算。

$$S_i^2 = [\sum_j X_{ij}^2 - (\sum_j X_{ij})^2 / n_i] / (n_i - 1) \quad (2)$$

式中: S_i^2 为对照组或试验组驱虫后72 h克粪便虫卵数方差(算术级别); j 为组内每一只羊; X_{ij} 为对照组或试验组驱虫后72 h时,组内每只羊的克粪便虫卵数(EPG); n_i 为试验组或对照组组内动物数。

在2地区各试验组驱虫后72 h时克粪便平均虫卵数减少的方差(对数级别)采用式(2)、(3)计算。

$$Y^2 = S_i^2 / (n_i \bar{X}_t^2) + S_c^2 / (n_c \bar{X}_c^2) \quad (3)$$

式中: Y^2 为试验组驱虫后72 h时克粪便平均虫卵数减少的方差(对数级别); n_i 为各试验组组内试验动物数; n_c 为对照组组内动物数。

在2地区各试验组粪便虫卵减少率95%置信域上限、下限采用式(3)、(4)、(5)计算。

$$\text{上限: } 100\{[1 - (\bar{X}_t / \bar{X}_c) \exp(-2.048 \sqrt{Y^2})]\} \quad (4)$$

$$\text{下限: } 100\{[1 - (\bar{X}_t / \bar{X}_c) \exp(+2.048 \sqrt{Y^2})]\} \quad (5)$$

式中： \bar{X}_t 、 \bar{X}_c 、 Y^2 意义同式(1)和(3)。

1.5 数据分析

数据由 Excel 整理后,采用 SPSS 20.0 软件进行多因素方差分析并进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 和林格尔地区不同时间点各组试验动物 EPG 统计

和林格尔地区不同药物给药后不同时间直肠采集粪便虫卵检测结果见图 1,发现:伊维菌素组绵羊注射给药后,线虫虫卵感染强度呈缓慢下降,给药后 72 h 时,克粪便平均虫卵数(EPG)由给药前 1 983 下降至 1 513;丙硫咪唑组绵羊在口服给药后,感染强度在给药后 36 h 时接近于 0,一直保持至 60 h,之后,粪便平均虫卵数稍有所反弹。

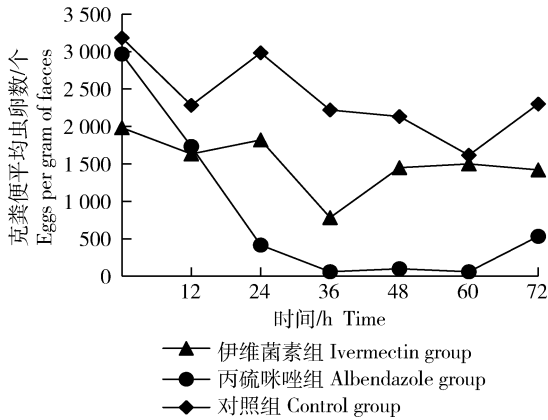


图 1 和林格尔地区不同时间点各组试验绵羊 EPG 变化 Fig.1 EPG changes of the experimental sheep groups in Helinger at different time points

2.2 萨拉齐地区不同时间点各组试验动物 EPG 统计

萨拉齐地区不同药物给药后不同时间直肠采集粪便检测结果见图 2,发现:伊维菌素组绵羊注射给药后,线虫感染强度呈缓慢下降,与和林格尔地区相似。给药后 72 h 时,克粪便平均虫卵数(EPG)分别由给药前 838 下降至 700;但丙硫咪唑组绵羊在口服给药后,感染强度迅速下降,至 48 h 时,EPG 为 0。

2.3 两地区两种药物驱虫效果分析

2 个地区不同药物驱虫效果见表 1,发现:和林

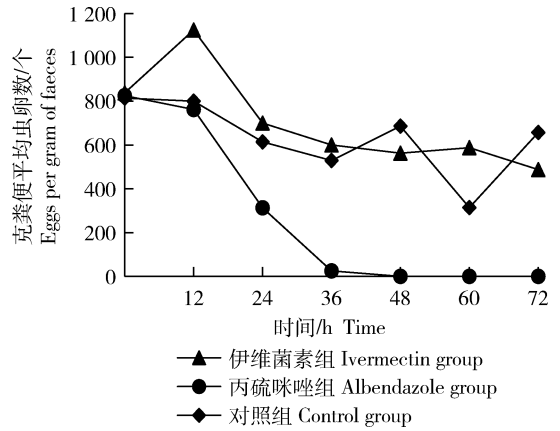


图 2 萨拉齐地区不同时间点各组试验动物 EPG 变化 Fig.2 EPG changes of the experimental sheep groups in Salaqi at different time points

地区绵羊胃肠道线虫使用伊维菌素和丙硫咪唑处理后 72 h,粪便虫卵减少率分别是 28%和 77%。其中丙硫咪唑组与对照组驱虫效果比较差异极显著 ($P < 0.01$)。萨拉齐地区绵羊胃肠道线虫使用伊维菌素和丙硫咪唑处理后 72 h,粪便虫卵减少率分别是 40%和 100%。丙硫咪唑与对照组比较,驱虫效果差异极显著 ($P < 0.01$),且两试验组相比较,驱虫效果差异也极显著 ($P < 0.01$),说明丙硫咪唑相比较伊维菌素而言,对该地区胃肠道线虫有良好的驱杀效果。

2.4 两地区绵羊胃肠道线虫耐药性分析

根据 WAAVP 推荐的绵羊蠕虫耐药性判定标准,粪便虫卵减少百分率 $< 95\%$,且 95%置信域下限 $< 90\%$,则存在耐药性;两者条件符合其一,则耐药性可疑。本试验研究结果见表 1 和表 2,和林地区绵羊胃肠道线虫使用伊维菌素处理后 72 h,粪便虫卵减少率为 28%, $< 95\%$,且 95%置信域下限为 13.6%, $< 90\%$,因此,判定该地区胃肠道线虫对伊维菌素存在耐药性。同样,该地区胃肠道线虫对丙硫咪唑也存在耐药性 ($FECRR < 95\%$,95% CL $< 90\%$),但耐药程度稍轻一些。然而,萨拉齐地区绵羊胃肠道线虫使用丙硫咪唑处理后 72 h,粪便虫卵减少率为 100%, $> 95\%$,且 95%置信域下限为 100%, $> 90\%$,因此,该地区胃肠道线虫对丙硫咪唑不存在耐药性,但对伊维菌素存在耐药性。

3 讨论与结论

长期使用同一种广谱抗寄生虫药物,导致放牧绵羊胃肠道线虫对其产生一定的耐药性已成为制约

表1 两地区试验组绵羊给药后驱虫效果($n=20$)Table 1 Efficacy of two anthelmintic drugs on the experimental sheep groups in two regions ($n=20$)

地区 Region	项目 Item	对照组 Control group		伊维菌素组 Ivermectin group		丙硫咪唑组 Albendazole group	
		0 h	72 h	0 h	72 h	0 h	72 h
		和林格尔 Helinger	克粪便平均虫卵数	3 183±739 a	2 300±631 a	1 983±509 a	1 420±452 a
	粪便虫卵减少率/%	—	—	28.0	—	77.0	—
萨拉齐 Salaqi	克粪便平均虫卵数	814±342 a	657±422 a	838±468 a	488±251 a	825±449 a	0±0 b
	粪便虫卵减少率/%	—	—	40.0	—	100.0	—

注:数值后不同小写字母表示差异极显著($P<0.01$);相同字母标注表示差异不显著($P>0.05$)。

Note: EPG, Eggs per gram of faeces; FECRR, Faecal egg counts reduction rate. Different lowercase letters after the value indicate significant differences ($P<0.01$), while same letters indicate that no significant differences ($P>0.05$).

表2 两地区试验组粪便虫卵减少率95%置信域

Table 2 95% confidence limits (lower and upper) for fecal egg reduction rate of the experimental sheep groups at two regions %

组别 Group	和林格尔地区95%置信域 95% CL at Helinger		萨拉齐地区95%置信域 95% CL at Salaqi	
	下限 Lower CL	上限 Upper CL	下限 Lower CL	上限 Upper CL
	伊维菌素组 Ivermectin group	13.6	55.9	12.4
丙硫咪唑组 Albendazole group	27.4	92.6	100	100
对照组 Control group	—	—	—	—

养羊业发展的重要因素。本研究通过粪便虫卵减少试验,检测了伊维菌素和丙硫咪唑对和林地区及萨拉齐地区放牧绵羊胃肠道线虫的驱杀效果,结果显示,丙硫咪唑对两地区放牧绵羊胃肠道线虫有一定的驱杀效果,相比较而言,丙硫咪唑对萨拉齐地区放牧绵羊胃肠道线虫驱杀效果明显优于和林格尔地区(两地区虫卵减少率分别为100%和77%)。然而,

伊维菌素对2个地区放牧绵羊胃肠道线虫虫卵减少率分别是28%和40%,可见其驱虫效率并不高。从调查中得知,伊维菌素是2个地区最为常用的驱虫剂,胃肠道线虫经过多年的选择,对伊维菌素已不敏感;而丙硫咪唑在2个地区使用频率各不相同,因此驱虫效率有所不同。可见,长时间使用同一种药物且不科学合理的用药,极易造成胃肠道线虫对药物

产生耐药性。另外, 研究中发现和林格尔地区使用丙硫咪唑一段时间后粪便虫卵量出现反弹, 但没有恢复到给药前虫卵量, 这表明丙硫咪唑杀灭的是绵羊体内敏感虫株, 对耐药虫株的排卵在给药初期起到了抑制作用, 一段时间后, 耐药虫株慢慢恢复了排卵。如耐药株得以保留, 会日益扩增, 则耐药性会日趋严重, 该现象与 Demeler 等^[11]报道相一致。因此, 在临床用药时, 应先采用粪便虫卵计数减少试验或幼虫发育试验, 检测当地绵羊胃肠道线虫对常用驱虫药物的敏感性, 选择理想的药物及合适的剂量进行驱虫。同时, 对于有条件的牧场可引入 FAMACHA 系统, 可实时监控放牧羊群胃肠道线虫种群的耐药情况, 以便及时制定合理的驱虫方案, 延缓耐药株的产生和扩增^[12-13]。

另外, 已有研究表明伊维菌素在用药后 48 h 左右, 血药浓度会达到峰值, 丙硫咪唑有效杀虫成份在 12 h 之内, 也达到血药浓度峰值^[14-15]。因此, 本试验选择在 72 h 节点, 对虫卵减少率进行了耐药性分析。然而, Coles 等^[16]报道, 对于敏感虫株, 给药后 48 h 之内即可使胃肠道线虫排出体外, 但药物对耐药虫株的排卵可能只是起到暂时的抑制作用, 因此, 在使用左旋咪唑、阿苯达唑、伊维菌素驱虫后, 分别在 3、8 和 14~17 d 对其耐药性进行评估。在本研究中, 虽然出现排卵抑制现象, 但发生在给药后 36~60 h, 因此, 应在给药后 72 h 进行耐药性分析, 且该试验结果与牧民反应的驱虫药物驱杀效果不理想情况是一致的。因此, 选取该时间点 72 h 可以根据虫卵减少率及 95% 置信域对耐药性进行分析, 这样可以减少试验周期, 便于及时向农牧民提供合理的用药建议。

综上, 本研究发现和和林格尔地区放牧绵羊胃肠道线虫对伊维菌素和丙硫咪唑已产生双重耐药性; 萨拉齐地区放牧绵羊胃肠道线虫对伊维菌素也产生耐药性, 而对丙硫咪唑则敏感。因此, 本研究在了解 2 个地区放牧绵羊胃肠道线虫对伊维菌素和丙硫咪唑耐药性分布的基础上, 为当地驱杀放牧绵羊胃肠道线虫筛选出理想驱虫药, 即: 在和林地区, 建议选用驱虫机理不同的药物如左旋咪唑, 碘硝酚等; 在萨拉齐地区仍可使用丙硫咪唑, 但是不建议继续使用伊维菌素。

参考文献 References

[1] 蔡葵蒸. 羊胃肠道线虫对常用驱虫药抗药性的初步研究[D]. 呼

和浩特: 内蒙古农业大学, 2007

Cai K Z. Preliminary study on anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of small ruminants [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2007 (in Chinese)

- [2] Omura S, Crump A. Ivermectin: panacea for resource-poor communities? [J]. *Trends in Parasitology*, 2014, 30(9): 445-455
- [3] Omura S. Ivermectin: 25 years and still going strong [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2008, 31(2): 91-98
- [4] 郝成, 杨晓野, 蔡葵蒸, 王瑞, 张晓东, 韩海宾, 孙玉卓. 幼虫发育试验对羊毛圆科线虫抗药性的检测[J]. 中国动物传染病学报, 2007, 15(6): 13-17
- Hao C, Yang X Y, Cai K Z, Wang R, Zhang X D, Han H B, Sun Y Z. Detection of anthelmintic resistance trichostrongylidea nematodes by larval development assay [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2007, 15(6): 13-17 (in Chinese)
- [5] Sackett D, Holmes P. Assessing the economic cost of endemic disease on the profitability of Australian beef cattle and sheep producers [R]. Sydney: Meat and Livestock Australia, 2006
- [6] 罗晓平, 敖登高娃, 詹树柏, 李军燕, 巴金, 乌云塔娜, 耿万恒, 高海英, 张伟. 3 种驱虫药物对内蒙古呼盟地区绵羊胃肠道线虫驱杀效果研究[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(10): 36-38
- Luo X P, Aodenggaowa, Zhan S B, Li J Y, Ba J, Wuyuntana, Gen W H, Gao H Y, Zhang W. The study of anthelmintic effect on gastrointestinal nematodes of sheep by three current anthelmintics in Inner Mongolia [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2017, 53(10): 36-38 (in Chinese)
- [7] Han T L, Wang M, Zhang G, Han D S, Li X W, Liu G W, Li X B, Wang Z. Gastrointestinal nematodes infections and anthelmintic resistance in grazing sheep in the Eastern Inner Mongolia in China [J]. *Acta Parasitologica*, 2017, 62(4): 815-822
- [8] 额叶勒德格, 曹增富, 海鹰, 米其德, 玛丽雅其其格, 哈斯苏荣. 乌审旗地区绵羊消化道线虫感染情况及耐药性的调查[J]. 中国兽医科学, 2018, 48(6): 735-742
- Eyeldeg, Cao Z F, Haiying, Miqid, Maliyaqiqige, Hasisurong. Studies on infections and drug resistance of gastrointestinal nematodes in sheep in Uxin Banner [J]. *Veterinary Science in China*, 2018, 48(6): 735-742 (in Chinese)
- [9] Coles G C, Bauer C, Borgsteede F H M, Geerts S, Klei T R, Taylor M A, Waller P J. World association for the advancement of veterinary parasitology methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance [J]. *Veterinary Parasitology*, 1992, 44(1-2): 35-44

- [10] Calvete C, Uriarte J. Improving the detection of anthelmintic resistance: Evaluation of faecal egg count reduction test procedures suitable for farm routines[J]. *Veterinary Parasitology*, 2013, 196(3-4): 438-452
- [11] Demeler J, Küttler U, El-Abdellati A, Stafford K, Rydzik A, Varady M, Kenyon F, Coles G, Hoglung J, Jackson F, Vercruysse J. Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastrointestinal nematodes of ruminants[J]. *Veterinary Parasitology*, 2010, 174(1): 58-64
- [12] Sangster N C, Cowling A, Woodgate R G. Ten events that defined anthelmintic resistance research[J]. *Trends in Parasitology*, 2018, 34(7): 553-563
- [13] Van W J A, Bath F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment [J]. *Veterinary Research*, 2002, 33(5): 509-529
- [14] Alvinerie M, Sutra J F, Galtier P. Ivermectin in goat plasma and milk after subcutaneous injection[J]. *Veterinary Research*, 1993, 24(5): 417-421
- [15] 杨永盛. 丙硫咪唑脂质体的研制及其在山羊体内药动学和对肝片吸虫药效学的初步研究[D]. 广州: 华南农业大学, 1990
Yang Y S. Preparation of albendazole liposomes and preliminary study on pharmacokinetics and pharmacodynamics of albendazole liposomes in goats and *fasciola hepatica* [D]. GuangZhou: South China Agricultural University, 1990 (in Chinese)
- [16] Coles G C, Jackson F, Pomroy W E, Prichard R K, Samson H G, Silvestre A, Taylor M A, Vercruysse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance [J]. *Veterinary Parasitology*, 2006, 136(3): 167-185

责任编辑: 杨爱东