

Managementul rezistenței la antiparazitare

I. COSOROABĂ

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara
Calea Aradului 119, Timișoara - 1900

Cu toate progresele realizate în privința elaborării de vaccinuri antiparazitare până în anul 2002 nu s-a reușit încă înlocuirea parazitocidelor decât într-un grad destul de redus. Aceasta înseamnă că baza combaterii și/sau a controlului parazitozelor constă în folosirea unor produse chimice cu proprietăți antiparazitare. În acest scop s-au elaborat produse externe de eficace împotriva unuia sau a mai multor specii de paraziți. Există o gamă foarte largă de organoclorurate, organofosforice, piretrinoide, avermectine ș.a. care permite medicului veterinar să aleagă medicamentul cel mai util medical și mai receptiv economic pentru o anumită situație. Din păcate, emergența rezistenței unor paraziți la aceste parazitocide a creat una dintre cele mai serioase probleme pe care le întâmpină creșterea animalelor și industriile care se bazează pe produsele lor. Simplitatea tratamentelor cu substanțe chimice foarte bune a condus și mai conduce încă la folosirea pe scară largă a chemoterapiei. Dificultatea producerii și introducerii în practică a metodelor alternative, nechimice, a determinat o hiperdependență față de substanțele antiparazitare și a făcut rezistența și mai dificil de stăpânit. O simplă cercetare a literaturii parazitologice este suficientă pentru a vedea că problema rezistenței este în centrul atenției multor cercetători (2, 5, 7, 8, 13, 15, 20, 21, 29).

În sens larg, rezistența este abilitatea paraziților de a supraviețui la doze care în mod normal omoară paraziții din aceeași specie și din același stadiu biologic. Această trăsătură este moștenită și selectată deoarece supraviețuitorii tratamentelor trec genele rezistenței la descendenții lor. Aceste gene par a fi purtate de ADN cromozomal. Ele sunt rare în populație sau sunt recent apărute prin mutații. Prin continuarea selecției proporția acestor gene crește în cadrul populației și, în consecință, paraziții rezistenți la

substanța chimică în cauză vor fi din ce în ce mai numeroși (9, 10).

Rezistența a fost semnalată la o gamă largă de specii din multe medii de viață și ea poate fi încadrată în fenomene general de adaptare a organismelor vii la solicitările schimbătoare ale mediului. Rezistența este prezentă, în proporții diferite, la multe specii de paraziți și în cadrul multor clase de medicamente.

Formal, rezistența este o schimbare a sensibilității unei specii la anumite substanțe chimice (18, 19). Rezistența este prima dovadă a scăderii sau chiar a pierderii eficacității unui medicament în controlul unei parazitoză. Măsurarea rezistenței se face prin numărarea supraviețuitorilor unui tratament cu un medicament considerat ca eficient și prin determinarea reducerii perioadei de protecție după tratament.

Rezistența poate fi raportată fie la fermele în care s-a semnalat, fie ca proporție a paraziților rezistenți din cadrul unei populații. Ea poate fi apreciată după concentrația de medicament sau doza care afectează 50% dintr-o populație (CL_{50}) în vivo sau vitro. Factorul de rezistență (FR) este raportul valorilor CL_{50} din populația rezistentă și din una sensibilă (20, 21).

Este destul de dificil de a cunoaște prevalența rezistenței în diferite ferme (farm prevalence) deoarece rezistența poate fi foarte rar cu un înalt grad de fidelitate. Există puține metode sensibile pentru măsurarea rezistenței, așa că, în general, estimările se fac cu aproximație și, de regulă, prin subevaluare. Multe raportări se fac pe baza eșecului unor tratamente sau sunt rezultatul unor supravegheri convenționale, deseori cu aspecte folclorice.

Monitorizarea rezistenței are două scopuri de bază (21): a) detectarea rezistenței după apariția

sa și b) detectarea rezistenței când ea este încă scăzută ca frecvență, după apariția sa la alte clase de medicamente. Pentru acest al doilea scop sunt necesare teste foarte sensibile care pot identifica rezistența într-o populație când prevalența nu a depășit încă 1% dintre indivizi. Numai testele genetice au acest potențial, dar ele nu sunt încă la îndemâna tuturor laboratoarelor.

Admițând că în fiecare populație există indivizi rezistenți genetic, pentru ca ei să ajungă predominanți în cadrul populației este necesară selecția lor prin folosirea repetată a unui medicament, iar indivizii rezistenți să găsească gazda potrivită în/pe care să se înmulțească. Factorii implicați în selecția pentru rezistență sunt: genetici, biologi și de management (operaționali).

Factorii genetici includ: dominanța alelelor pentru rezistență, numărul de gene implicate, frecvența inițială a genelor pentru rezistență, diversitatea genetică a populației, relativa potrivire a organismelor rezistente, șansa dezechilibrului linkage, oportunitățile pentru recombinarea genetică (21). Se mai include poliploidia organismului în timpul selecției (2). Pot exista una sau mai multe gene pentru rezistență.

Factorii biotici includ: timpul unei generații, numărul de descendenți per generație și modul de înmulțire. Aceștia li se mai pot adăuga aspectele de relația gazdă-parazit, ceea ce face ca efectele asupra selecției pentru rezistență să fie complexe și adesea indirecte. Paraziții puternic imunigeni, chiar din primele lor stadii de dezvoltare în gazdă sunt sub o mai slabă presiune de selecție pentru rezistență, deoarece imunitatea selectează paraziții independent de statutul rezistenței la medicament. Un efect indirect asupra selecției pentru rezistență îl are patogenitatea pentru gazdă a unei specii de parazit. Cu cât aceasta este mai mare, cu atât proprietarul va solicita tratamente mai frecvente și astfel sporește șansa de a întări presiunea de selecție (14).

Un aspect de care trebuie să se țină seama în dezvoltarea rezistenței este și mărirea populației parazitare (suprapopulația) și diversitatea stadială a acesteia. O parte dintre elementele componente ale suprapopulației nu sunt supuse tratamentului și astfel mențin raportul inițial între rezistenți și sensibili. Așa este cazul cu larvele de pe pășune,

metacercării, căpușele în perioadele de viață liberă, oochisturile din așternut, larvele hipobiotice. Cu cât aceste stadii sunt reprezentate de mai mulți indivizi, care scapă tratamentului, cu atât va fi mai slabă presiunea la selecție a rezistenței. La fel, izolarea populațională, legăturile dintre diferitele populații, șirul gazdelor și posibilitățile de contact dintre acestea și supraviețuirea întâmplătoare sunt factori care influențează fluxul de gene și șansele de selecție (9, 17).

În afara factorilor enumerați trebuie să luăm în considerare și pe cei dependenți de actul medical-veterinar: natura chimică a substanței, posibilitatea apariției rezistenței încrucișate la substanțe înrudite chimic, persistența medicamentului în gazdă și cinetica eliminării.

Deoarece caracteristicile biologice ale populațiilor rezistente nu pot fi evidențiate până ce rezistența nu s-a stabilit, previziunile asupra caracteristicilor individuale ale rezistenței sunt foarte greu sau imposibil de făcut. Pentru a sublinia aceste dificultăți este suficient să se arate că există cazuri în care genetica rezistenței în cadrul unei specii diferă pentru două clase de substanțe și cazuri în care genetica rezistenței pentru aceeași substanță este diferită între două specii înrudite de paraziți aflați în aceeași gazdă.

Cu toate diferențele observate în mecanismele de producere a rezistenței există și unele trăsături comune sau foarte asemănătoare a căror înțelegere poate conduce la adoptarea unor măsuri care întârzie sau chiar împiedică stabilirea rezistenței paraziților la medicamente. S-au descris trei componente ale genezei rezistenței:

a) Stabilirea rezistenței este, în mare, un fenomen întâmplător, influențat de dimensiunea populației, de diversitatea și de rata mutațiilor pentru gena (genele) în chestiune. Asupra stabilirii rezistenței medicul veterinar nu poate avea nici un control.

b) Dezvoltarea. În acest proces, folosirea agentului selectiv (medicamentul) permite rezistenței să se dezvolte pe seama dispersiei genelor de rezistență în întreaga populație. Aceste două procese - de dezvoltare și de dispersie - sunt influențate biologic, managerial și prin alte procese care conduc la dispersia și dezechilibrul genelor.

c) Dacă indivizii rezistenți sunt suficient de bine reprezentați și adecvați condițiilor, rezistența se **evidențiază notabil**. "Nu este adevărat că rezistența nu se poate dezvolta niciodată la anumite substanțe, în anumite gazde și nici că rezistența este inevitabilă" (21).

Managementul se adaptează stadiului în care se găsește rezistența. Oricât ar fi de puternică rezistența instalată managementul instituit trebuie să găsească alternative convenabile biologice, medicale și economice. Managementul în cazul rezistenței la antiparazitare nu trebuie să fie un concept rigid, ci adaptabil, mulat pe factorii care influențează selecția pentru rezistență cu scopul de a micșora influența acestora sau chiar de a-i anihila. (16, 24)

Mecanismele rezistenței sunt diverse, cele mai importante dintre acestea fiind: - modificările comportamentale cum este, de exemplu, evitarea sau îndepărtarea insectelor față de un insecticid; - creșterea capacității de detoxifiere a parazitului; - modificarea cantitativă sau/și calitativă a receptorilor pentru chimicalul folosit. Așa de exemplu, cazul mutației betatubulinei la nematodele rezistente la benzimidazolice (4, 21).

Tipurile de rezistență sunt descrise după capacitățile paraziților de a rezista la o substanță unică (rezistența simplă), la o grupă de substanțe care au același mod de acțiune (rezistența de familie chimică) sau la un ansamblu de compuși care au moduri diferite de acțiune (rezistența multiplă).

Dacă rezistența este de familie, pot exista variații de eficacitate legate de posologia sau de afinitatea unor molecule pentru receptorul lor. De exemplu, căpușele rezistente la deltametrin român sensibile la flumetrin, dar în câteva săptămâni acestea devin rezistente și la flumetrin (15). Pentru antiparazitarele din grupa macrolidelor, rezistența pare să fie comună tuturor produselor din această familie. Helminții rezistenți la ivermectin sunt rezistenți și la moxidectin, fenomen observat chiar de la prima utilizare, pentru doze letale echivalente, dar și pentru dozele terapeutice.

Situația rezistenței în diverse grupe de paraziți

Protozoare

Probleme, din cauza rezistenței, sunt semnalate în mod special și îngrijorător la coccidii. Această situație este datorată ubicvității infecției, potențialul foarte serios de izbucnire clinică, succesiunii rapide a generațiilor și în consecință, nevoii de a recurge aproape continuu la chimicale. Din multitudinea de substanțe anticoccidice o mare parte au devenit ineficiente parțial sau total. Prima semnalare a rezistenței la anticoccidice a fost în 1950 și de atunci a apărut la diferite clase chimice, la unele după puțini ani de utilizare (quinolonele, după trei ani), iar la altele mai lent (halofuginon și diclazuril). Rezistența la ionofore s-a dezvoltat foarte lent, în peste 10 ani de folosire (18).

Mecanismele biochimice sau genetice ale rezistenței la anticoccidice nu sunt prea bine cunoscute. Unele dintre medicamente lasă, după aplicare, supraviețuitori care contribuie la scăderea frecvenței genelor de rezistență în populație. Altele permit dezvoltarea unei imunități și astfel reduc șansa reproducerii paraziților rezistenți (21).

Selecția pentru rezistență se poate produce în diferite stadii evolutive ale eimeriilor, mai ales când se practică medicația continuă. Oportunitățile pentru selecția rezistenței sunt mai frecvente, ele apărând și multiplicându-se chiar în timpul unei singure infecții. Important este faptul că faza asexuată se bazează pe celule haploide, care, în cazul rezistenței, poartă numai alelele de rezistență și vor produce numai organisme homozigote rezistente în urma reproducerii sexuate în aceeași gazdă. Acest fapt conduce la fixarea genelor pentru rezistență (3). Opusul acestui fenomen este apariția rapidă a reversiei la sensibilitate, chiar dacă doar un mic număr de indivizi sensibili supraviețuiesc medicației anticoccidice sau sunt introduși în populație.

Rezistența în cazul eimeriilor este raportată ca un index anticoccidic (2, 3) care este calculat folosind câștigul în greutate, procentul de supraviețuitori, scorul leziunilor și numărul de oocisturi eliminate. Un index mai mare de 160 semnaleză o tulpină sensibilă, iar unul de 120 o tulpină rezistentă.

Trematode

Rezistența fasciolelor la triclabendazol și closantel a fost semnalată de curând (4, 6, 13) Din cauza ciclului biologic care se desfășoară alternativ în melc (g.i.) și mamifere (g.d.) rezistența fasciolelor la fasciolicidele utilizate este mai dificil de sesizat și apreciat. Pentru triclabendazol, selecția pentru rezistență se face în orice stadiu de dezvoltare parazitară, pe când pentru medicamentele adulticide selecția se face numai în stadiul de adult al fasciolelor. Gaasenbeek și col. (13) au constatat că o tulpină de fasciole rezistente la triclabendazol prezintă o sensibilitate de doar 10,8% față de 99,8% cât este sensibilitatea unei tulpini normale de *Fasciola hepatica*.

Nematode

Cele mai multe studii asupra rezistenței au fost realizate la *Trichostrongylidae*. Prezența a fost semnalată atât la ovine, cât și la bovine, în special în cazul genului *Haemonchus*. Nu numai că rezistența este prezentă la numeroase specii de nematode, dar mai multe populații sunt rezistente la toate clasele majore de medicamente. Prevalența este în creștere și în prezent 90% dintre fermele unor regiuni cuprind populații de nematode rezistente. Există medicamente care de la eficacitatea de aproape 99,9% au, în 2001 o eficacitate cuprinsă între 0 și 70%. De aceea, în unele țări (ex. Africa de Sud), pentru anumite zone, s-a renunțat la utilizarea unor nematocide. Trebuie însă remarcat faptul că populațiile de nematode rezistente par să revină la starea de sensibilitate, dar foarte lent ceea ce face ca multe situații epidemiologice să fie aproape incontrolabile (1, 10, 11).

În cazul bovinelor se folosesc mai ales compuși din grupa macrolidelor și rezistența s-a semnalat în special față de aceștia.

La cabaline, problema rezistenței este severă în privința ciatostomelor la care eficacitatea multor nematocide a scăzut sub 70%. Se păstrează încă

o bună eficacitate a pirantelului, în ciuda folosirii sale intense, spre deosebire de macrolide care manifestă încă o înaltă eficacitate antihelmintică (11, 12).

Rezistența moștenită într-o manieră dominantă se dezvoltă mai repede. Medicamentele care se elimină repede din organismul gazdei în mod inevitabil acționează în general asupra formelor adulte, pe când cele cu acțiune prelungită afectează, în timp, și asupra stadiilor imature. Antihelminticele ovicide și/sau larvicide pot selecta helminții rezistenței prin aceste stadii. Condițiile de mediu care predomină în regiunile în care sunt crescute multe animale pot juca un rol în rezistență, dar efectul lor nu este ușor de prevăzut. În timpul verilor secetoase, când zonele au iarbă verde se restrâng, rezistența se poate dezvolta rapid. Dacă se adaugă și o frecvență crescută a tratamentelor, scurtimea ciclurilor biologice și slaba imunitate a gazdei se poate explica mai ușor dezvoltarea rezistenței la n.g.i. (21, 22, 24).

Diptera

În cazul acestui ordin trebuie să amintim prima, semnalare a rezistenței la populațiile de nematocere în acțiunile de combatere a malariei și, în domeniul veterinar, rezistența speciei *Lucilia cuprina* la dieldrin în 1955 (15). O mulțime de substanțe organoclorurate au fost abandonate din cauza rezistenței, a reziduurilor în produsele destinate omului și a neselectivității lor. Prin modul lor de viață dipterele parazite pot fi combătute în special în mediul lor de viață liberă și de aceea substanțele folosite acționează dezechilibrant în biocenoză. Unele substanțe sunt încă folosite în controlul dipterelor, deoarece la acțiunea lor încă nu s-a semnalat rezistența (cyromazin, dicyclonil, ivermectine, fipronil, imidacloprid) Aprecierea rezistenței populațiilor diferitelor diptere cu importanță veterinară se face, deocamdată, numai prin teste in vitro care permit calcularea DL 50 pentru fiecare populație.

Haematobia spp. au dezvoltat rezistența la piretrinoide, la organofosforice și la macrolide (15, 20).

Sifonaptere

Rezistența la organofosforice și la piretrinoide a fost întâlnită la unele populații de *Ctenocephalides felis*.

Ixodidae

Din cauza rolului său în transmiterea babesiozei la bovinele din Australia, căpușa *Boophilus microplus* a fost supusă unui control chimic îndelungat și, în consecință, a apărut rezistența față de diferite clase de substanțe. Dintre acestea, se consideră eficiente macrolicele și flubenzuronul. Îmbăierile regulate practicate la ovine și, în unele zone, la bovine au grăbit apariția rezistenței (16).

Măsuri de contracarare a rezistenței

Primele acțiuni în acest sens au fost adoptate în combaterea dăunătorilor din horticultură. S-au folosit diferite combinații de tehnici și căi de supraveghere prin care să se realizeze controlul populațiilor de dăunători și menținerea sensibilității la chimicale. În parazitologia veterinară trebuie să se țină seamă și de reziduurile din carne, ouă, lapte, lână.

În cadrul măsurilor manageriale trebuie să se urmărească și creșterea rezistenței gazdei prin folosirea de mijloace nechimice, prin folosirea judicioasă a celor chimice când nu pot fi evitate și printr-o monitorizare atentă a dezvoltării populațiilor parazitare, cu înțelegerea cât mai exactă a interacțiunilor gazdă-parazit. În final, argumentul forte îl constituie randamentul economic al exploatației zootehnice, un anumit nivel al parazitării, unele scăderi de producție fiind permise ca inevitabile.

Este evident faptul că managementul corect constă în îmbinarea judicioasă a mai multor metode și de aceea aplicarea numai a unora nu poate fi eficientă pe deplin. În același timp, controlul nechimic va îndepărta presiunea de selecție pentru rezistență și va ajuta la menținerea sensibilității parazitului la chimicalele pe care s-ar putea să fim forțați să le utilizăm cândva.

Din păcate, managementul integrat contra paraziților este, în general, mai costisitor decât controlul chimic și necesită o mai atentă planificare a aplicării fiecărei măsuri. În plus, de cele mai multe ori veterinarul va fi nevoit să apeleze și la alți specialiști și/sau responsabili economici.

Succesul sau insuccesul aplicării unui management integrat în prevenirea, întârzierea sau diminuarea fenomenului de rezistență pot fi apreciate retrospectiv prin observarea rezultatelor în fermă, timp de mai mulți ani. Pe termen scurt rezultatele pot apărea neclare. Pentru a grăbi predicția impactului deciziilor manageriale de control al rezistenței asupra producțiilor se recurge la unele modele matematice. Prin ele se sporește cunoașterea fenomenului, se pot stabili principiile de bază ale controlului și se optimizează balanța componentelor programului. Rezultatul acestor modele trebuie să fie verificat în producția zootehnică. În realitatea fermelor există prea multe variabile pentru a putea alege ușor combinația optimă a factorilor într-o situație dată. De aceea posibilitatea de a lua decizii individuale este limitată. Cu toate acestea, modelele sunt deosebit de prețioase pentru că permit ca unele date științifice să fie integrate în schemele de control al paraziților. Multe dintre programele de control parazitair cuprind scheme de tratamente chimice cu scop strategic sau profilactic cu scopul de a stânjeni sau chiar de a opri desfășurarea ciclului biologic.

Reducerea frecvenței tratamentelor scade presiunea de selecție pentru rezistență. Aceasta se poate face prin stabilirea gradului de infestare și de a decide numai în cunoștință de cauză, întotdeauna cu puțin înainte de a se atinge pragul de dăunare (21).

Metodologia stabilirii gradului de parazitare trebuie să fie stabilită la nivel individual și, imediat după aceea, la nivel populațional. Această acțiune este deosebit de necesară, dar realizarea ei necesită pricepere și conștiințozitate profesională deosebită.

Folosirea unor chimicale diferite ca structură chimică este calea cea mai des folosită pentru slăbirea presiunii de selectare a tulpinilor rezistente. Alegerea unui parazitocid trebuie să se facă în funcție de spectrul de activitate, indicele de siguranță, modul de aplicare, costul, timpul de eliminare și de reziduurile din produsele animalului. Continuarea întrebuițării unei substanțe față de care încep să se selecționeze tulpini rezistente duce în mod sigur, prin creșterea presiunii selective, la sporirea proporției genelor de rezistență în populațiile succedente și compromite controlul parazitozei.

Asocierea unor chimicale s-a dovedit a fi una dintre căile cele mai efective de întârziere a apariției rezistenței la paraziți foarte diferiți cum sunt cei ce provoacă malaria la om, helminții ce parazitează la animale și căpușele ce transmit babesiiile.

O atenție deosebită trebuie acordată chimicalelor cu acțiune prelungită în organismul gazdei. După depășirea concentrației terapeutice, nivelele joase persistente contribuie la creșterea presiunii de selecție pentru rezistență la larvele nou ingerate. Problema este parțial soluționată în cazul bolurilor intraruminale cu eliberare secvențială, dar și în aceste cazuri folosirea de boluri din substanțe cu acțiune diferită este de dorit.

SUMMARY

Management of resistance to antiparasitary drugs

Resistance to antiparasitic drugs is a phenomenon frequently met at many species of parasites, beginning with protozoa to insects, under the conditions of which antiparasitic chemotherapy is the most used method in order to control parasitosis. In this paper, there are presented data regarding the definition, classification, molecular basis and the worldwide spreading, giving examples within various species of parasites. It is insisted upon the causes of appearance of the phenomenon in the case of veterinary practice. In the last part the method to be used is reviewed in order to slow down or to avoid the appearance of the resistance and its counteracting according to appearance.

Bibliografie

1. CHANDLER, K.J., COLLINS, M.C., LOVE, S. 2000 - Efficacy of a five-day course of fenbendazole in benzimidazole-resistant cyathostomes. *Vet. Rec.* 147,2: 661-662.
2. CHAPMAN, H.D. 1997 - Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. *Avian Path.* 26: 221-244.
3. CHAPMAN, H.D., SHIRLEY, M.W., 1989 - Sensitivity of field isolates of *Eimeria* species to monensin and lasalocid in the chicken. *Res. Vet. Sci.* 48: 114-117.
4. COLES, G.C., RHODES, A.C., STAFFORD, K.A. 2000 - Activity of closantel against adult tricloabendazole-resistant *Fasciola hepatica*. *Vet. Rec.* 146: 504.
5. COLES, G.C., STAFFORD, K.A. 1999 - The in vitro response of sheep scab mites to pyrethroid insecticides. *Vet. Parasitol.* 83: 327-330.
6. COLES, G.C., STAFFORD, K.A. 2001 - Activity of oxyclozanide, nitroxylin, clorsulon and albendazole against adult tricloabendazole-resistant *Fasciola hepatica*. *Vet. Rec.* 148: 723-724.
7. DARGATZ, D.A., TRAUB-DARGATZ, J.L., SANGSTER, N.C. 2000 - Antimicrobial and anthelmintic resistance. *Vet. clinics of North America: Equine Practice*, 16, 3: 515-536.
8. DORCHIES, Ph. 1994 - Etat actuel des résistances anthelminthiques en France. *Revue. Méd. Vét.*, 145, 5: 327-335.
9. ELARD, L., CABARET, J., HUMBERT, J.F. 1999 - PCR diagnosis of benzimidazole-susceptibility or-resistance in natural populations of the small ruminant parasite, *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.* 80: 231-237.
10. ELARD, L., COMES, A.M., HUMBERT, J.F. 1996 - Sequences of β - tubulin cDNA from benzimidazole-susceptible and-resistant strains of *Teladorsagia circumcincta*, a nematode parasite of small ruminants. *Molec. Biochem. Parasitol.* 79: 249-253.
11. ELARD, L., HUMBERT, J.F. 1999 - Importance of the mutation of amino acid 200 of the isotype 1 β -tubulin gene in the benzimidazole resistance of the small-ruminant parasite *Teladorsagia circumcincta*. *Parasitol. Res.* 85: 452-456.

12. ELARD, L., SAUVE, C., HUMBERT, J.F. 1998 - Fitness of benzimidazole-resistant and -susceptible worms of *Teladorsagia circumcincta*, a nematode parasite of small ruminants - *Parasitology* 117: 571-578.
13. GAASENBEEK, C.P.H., MOLL, L., CORNELISSEN, J.B.W.J., VELLEMA, P., BORGSTEEDE, F.H.M., 2001 - An experimental study on triclabendazole resistance of *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet. Parasitol.* 95: 37-43.
14. HUMBERT, J.F., CABARET, J., ELARD, L., LEIGNEL, V., SILVESTRE, A. 2001 - Molecular approaches to studying benzimidazole resistance in trichostrongylid nematode parasites of small ruminants. *Vet. Parasitol.* 101: 405-414.
15. LEVOT, G.W., 1995 - Resistance and the Control of Sheep Ectoparasites, *Int. J. Parasitol.* 25, 11: 1355-1362.
16. LEVOT, G.W., 2000 - Resistance and the control of lice on humans and production animals, *Int. J. Parasitol.* 30: 291-297.
17. LYONS, E.T., TOLLIVER, S.C., DRUDGE, J.H., COLLINS, S.S., SWERCZEK, T.W. 2001 - Continuance of studies on Population S benzimidazole-resistant small strongyles in a Shetland pony herd in Kentucky: effect of pyrantel pamoate (1992-1999). *Vet. Parasitol.* 94: 247-256.
18. SANGSTER, N.C., 1996 - Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitology* 113: 201-216.
19. SANGSTER, N.C. 1999 - Pharmacology of antihelminthic resistance in cyathostomes : will it occur with the avermectin/milbemycins? *Vet. Parasitol.* 85, 189-204.
20. SANGSTER, N.C., 1999 - Anthelmintic resistance : past, present and future , *Int. J. Parasitol.* 29: 115-124.
21. SANGSTER, N.C., 2001 - Managing parasiticide resistance , *Vet. Parasitol.* 98: 89-109.
22. SILVESTRE, A., CABARET, J., HUMBERT, J.F. 2001- Effect of benzimidazole under-dosing on the resistant allele frequency in *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda). *Parasitology* 123: 103-111.
23. STAFFORD, K., COLES, G.C. 1999 - Nematode control practices and anthelmintic resistance in dairy calves in the south west of England. *Vet. Rec.* 144: 659-661.
24. TARIGO-MARTINIE, J. L., WYATT, A.R., KAPLAN, R.M., 2001 - Prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in cyathostomes of horses. *JAWMA*, 218, 12: 1957-1960.