

DIE GEVAAR VAN WYE VERSPREIDING VAN WEERSTANDBIEDENDHEID TEEN WURMMIDDELS DEUR VELDRAMPRESTASIE TOETSSENTRA

J A VAN WYK*, P C VAN SCHALKWYK**, G F BATH***, H M GERBER[#] en REGINA M R ALVES*

ABSTRACT

A veld ram performance testing unit consists of an association of stud or commercial ram breeders, who compare the performance of selected rams under field conditions on common pastures. The best performers are subsequently auctioned at public sales. To date, at least 10 Merino veld ram clubs have been established in various centres in South Africa. A strain of *Haemonchus contortus*, which was isolated from the pastures of one of these performance testing units, was found to be resistant to ivermectin, oxfendazole and rafoxanide. Closantel, levamisole and disophenol were more than 99% effective. The wide dispersal of the rams after testing, constitutes a potential danger for dissemination of helminths with resistant genes. Precautionary methods should include careful routine monitoring of drug susceptibility on the communal pastures, on the farms of individual members and thorough deworming of rams before they leave the testing unit. The prevention and control of resistance in such testing units are discussed, but it is emphasised that this is difficult, particularly if the worm strains on the communal grazing have become resistant to some of the anthelmintic groups.

Van Wyk J.A.; Van Schalkwyk P.C.; Bath G.F.; Gerber H.M.; Alves R.M.R. **The threat of wide dissemination of anthelmintic resistance by veld ram performance testing units.** *Journal of the South African Veterinary Association*, (1991) 62, No. 4, 171-175 (Afr.) Section of Helminthology, Veterinary Research Institute, 0110 Onderstepoort, Republic of South Africa.

INLEIDING

Die afgelope tyd het veral telers van Merino skaap in die Republiek van Suid-Afrika sogenaamde veldramklubs, wat daarop gemik is om stoetramme onder veldtoestande vir prestasie te toets, gestig¹. Ramme van 'n groot aantal telers word tesame op veld, wat naastenby met die heersende toestande op die meerderheid van die plase in die streek ooreenstem, met mekaar vergelyk.

Die voordeel van die stelsel is dat die ramme op veldweiding grootgemaak word en dat direkte vergelyking van die diere van verskillende stoetboere moontlik is⁴. By die 10 klubs wat sedert 1984 gestig is, word jaarliks ongeveer 2 000 ramme onder natuurlike voedings-

toestande getoets¹. Weerstandbiedendheid van wurms teen wurmmiddels het sodanig toegeneem dat weerstand teen al 5 groepe wurmmiddels reeds in Suid-Afrika waargeneem is¹³. 'n Wye verskeidenheid van wurmsorte is betrokke, en 'n stam van *Haemonchus contortus* wat weerstandbiedend teen 4 van die 5 beskikbare groepe wurmmiddels is, is reeds beskryf^{7,14,15}.

In Februarie 1988 het die bestuur van 'n veldramtoetseenheid na dosering met ivermektien, vermoed dat daar probleme met die doeltreffendheid van die middel teen haarwurm mag wees. Daaropvolgende dosering met bensimidiasool middels kon blykbaar ook nie die probleem oplos nie.

Die skape op die toetseenheid word blykbaar 3-weekliks in die somer gedoseer, en 5-weekliks in die winter. Die dosis van elke middel wat toegedien is, is beraam deur tydens elke dosering die massas van die diere te bepaal, en die dosis te baseer op die gemiddeld van die gemiddelde massa en die swaarste diere

in die groep.

By die toetseenheid is die ramme by opname ongeveer 3-6 maande oud, en hulle bly vir 11 maande op die weiding. Die gesamentlike weiding van ramme is ook deur 'n kudde van ongeveer 200 teelooie gedeel.

Nadat voorlopige ondersoeke (gebaseer op vermindering van wurmeiertellings na dosering) getoon het dat daar wel 'n moontlikheid van weerstandbiedendheid was, is 'n stam van haarwurm vanuit skape op die weiding geïsoleer. Hierdie artikel is 'n verslag oor die evaluering van die haarwurmstam vir weerstandbiedendheid teen wurmmiddels.

MATERIAAL EN METODES

Merinoskape (n=37) is vir 7 maande voor die aanvang van die proef op betonvloere wat tweemaal per week gevee is, aangehou. Die diere is aanvanklik met levamisool (Ripercol-I, Janssen) teen 'n dosis van 7,5 mg kg⁻¹ ontworm. Twee weke voordat die proefneming begin het, is ontworming met levamisool teen 15 mg kg⁻¹ herhaal. Misondersoeke van die skape 7 dae later deur middel van totale flottasie¹⁶, het negatiewe resultate opgelewer.

Die isolaat (stam van *H. contortus*) waarmee die skape besmet is (Tabel 1), is verkry deur kulture van mis van verskeie skape op die prestasietoetsentrum, wat naby Pietermaritzburg geleë is, te maak.

Op die dag van dosering (Dag 0) is alle skape se massas bepaal voordat hulle volgens die gemiddelde eiertelling gerangskik, en met behulp van tabelle van lotstoevallige getalle aan proefgroepe toegedeel is. Aangesien die groepe ongelyke getalle skape bevat het, is die metode wat deur Van Wyk & Gerber¹² beskryf is, gebruik om die skape aan die verskillende groepe toe te ken. Die skape is besmet en vervolgens op Dag 0 met verskillende wurmmiddels behandel (Tabel 1).

Op Dag 7 is al die skape geslag. Die abomasuminhoud van die skape is gekonsentreer deur dit deur siwwe met openinge van 150 µm op ander siwwe met openinge van 37 µm te was, waarna die residu op beide siwwe geformaliseer en vir wurmherwinning behou is.

*Seksie Helminthologie, Navorsingsinstituut vir Veeartsenykunde, 0110 Onderstepoort, Republiek van Suid-Afrika

**Posbus 6466, 1621 Birchleigh

***Fakulteit Veeartsenykunde, Universiteit van Pretoria

#Oorlede

Tabel 1: Besmetting van skape met *Haemonchus contortus* en daaropvolgende behandeling met verskillende middels

DAG	BEHANDELING
-31	Besmet skape elk met ongeveer 1 020 L3 <i>H. contortus</i>
-30	Besmet skape elk met ongeveer 1 020 L3 <i>H. contortus</i>
-29	Besmet skape elk met ongeveer 680 L3 <i>H. contortus</i>
0	Doseer 6 skape met ivermektien* (0,2 mg kg ⁻¹) Doseer 4 skape met oksfendasool** (5,0 mg kg ⁻¹) Doseer 5 skape met rafoksanie*** (7,5 mg kg ⁻¹) Doseer 6 skape met klosantel# (5,0 mg kg ⁻¹) Doseer 4 skape met levamisool## ((7,5 mg kg ⁻¹) Spuut 4 skape met disofenol### (10,0 mg kg ⁻¹) Doseer 6 skape met water, as kontroles
+ 7	Slag 37 skape vir wurmherwinning

* Ivomec, Logos

** Synanthic, Logos

*** Ranide, Logos

Flukiver/Seponver, Janssen. Die aktiewe bestanddeel van beide Flukiver en Seponver is klosantel (respektiewelik 5% en 2,5% konsentrasie), wat teen dosisse van 10 mg kg⁻¹ en 5 mg kg⁻¹ respektiewelik aanbeveel word.

Flukiver is teen 'n dosis van 5 mg kg⁻¹ gebruik.

Ripercol-1, Janssen

Trimintic LA, Cyanamid (onderhuids toegedien)

Wurmladings van die verskillende skape is vanaf makroskopiese ondersoek van 'n 20% gelykdelende monster (aliquot) van elk se gesifte abomasuminhoud en die totale mikroskopiese ondersoek van die verteerde abomasumslymvlies beraam. Ongeveer 2% van elke skaap se abomasuminhoud is ook mikroskopies ondersoek.

Tensy anders gestel, stem die metodes vir wurmeiertellings, vir die maak van miskulture vir differensiële larwetellings, en vir besmetting van die diere ooreen met dié van Reinecke⁹. Vir berekening van die meetkundige gemiddelde wurmlading per proefgroep, is 'n waarde van een toegeken by die skape waaruit geen wurms herwin is nie.

Die doeltreffendheid van die verskillende middels is aan die hand van die volgende formule beraam:

$$\% \text{ doeltreffendheid} = 100 - \frac{B - K}{K}$$

waar B en K die meetkundige of rekenkundige gemiddelde wurmladings van onderskeidelik behandelde en onbehandelde kontrole diere is. Beide die meetkundige en die rekenkundige gemiddelde doeltreffendheid van die verskillende wurmmiddels wat gebruik is, word in Tabel 3 gelys, ten einde te toon dat beide metodes tot groot mate ooreenstem, wat betref die indeling van die doeltreffendheidsvlak van elke middel.

Die wurmladings van die verskillende behandelingsgroepe is deur middel van

variansieanalyse vir 'n bloklose proefontwerp [na log₁₀ (x + 1) transformasie] en die Bonferroni metode vir meervoudige vergelykings met mekaar vergelyk¹⁰.

RESULTATE

Die gemiddelde wurmladings van kontrole en behandelde skape, en doeltreffendheidsgegewens word in Tabel 2 weergegee.

Die meetkundige gemiddelde wurmladings van die groepe skape wat met ivermektien, oksfendasool en rafoksanie behandel is, het nie betekenisvol van dié groep onbehandelde kontrole skape verskil nie (p>0,05). In teenstelling daarmee, was die verskille tussen die meetkundige gemiddelde wurmladings van die groepe skape wat met klosantel, levamisool en disofenol ontworm is, en die kontrole-groep wel betekenisvol (p<0,05).

BESPREKING

Die 3 middels waarteen die veldramstam van *H. contortus* weerstand ontwikkel het, sorteer volgens die klassifikasie van Arundel³ almal onder verskillende groepe.

Hierdie stam van haarwurm is dus waarskynlik weerstandig teen middels uit 3 van die 5 moderne chemies onverwante groepe verbindings wat vir die beheer van haarwurm beskikbaar is.

By veldramklubs soos hierdie, waar die getoetste stam van *H. contortus* geïsoleer is, is die kans goed dat by minstens sommige van die lede weerstandbiedende stamme sal voorkom.

Stoetboere is oor die algemeen geneig om hulle diere meer dikwels te ontworm as ander, en daar bestaan 'n omgekeerde korrelasie tussen die doseringsinterval en die mate waartoe weerstandbiedendheid ontstaan⁶. Verder, omdat die boere onafhanklik besluit oor hulle doseerprogramme, is daar teoreties gesproke ook 'n goeie kans dat weerstand teen verskeie wurmmiddelgroepe by die verskillende lede van die klub sal bestaan.

Gegewe die strawwe doseerprogram op die gesamentlike weiding van 'n veldramklub, en die verskeidenheid van wurm genetiese materiaal wat daarop byeengebring word, is dit waarskynlik dat weerstandige helmintstamme wat ingevoer word, deur seleksie "uitgesif" sal raak, en mettertyd tot stamme met veelvuldige weerstand aanleiding sal kan gee. Dit is ook te verstaan dat daar by sulke klubs 'n neiging sal wees om ramme wat vergelyk word, baie doeltreffend teen die nadelige effek van wurms te beskerm sodat wurms nie 'n rol in die ramme se produksie kan speel nie. Trouens, indien die ramme nie teen wurms beskerm word nie, sal haarwurm in groot gedeeltes van die somer-reënstreek sinvolle vergelyking van ramme bykans onmoontlik maak, aangesien selfs vrektes in die afwesigheid van gereelde dosering moontlik is. Onder sulke toestande van strawwe dosering (soos elke 3 weke in die haarwurmseisoen by die betrokke toetseenheid wat ons ondersoek ingestel het) kan vatbare wurmstamme hul nie teen weerstandige stamme

Tabel 2: *H. contortus* stam van die veldramtoetseeheid: wurmladings van onbehandelde kontroles en van skape wat met ivermektien, oksfendasool, rafoksanied, klosantel, levamisool of disofenol behandel is

Behandeling	Wurmlading				
	Totale wurmlading per skaap	Gemiddeld*		Vermindering (%)	
(mg kg ⁻¹)		Meetkundig	Rekenkundig	Meetkundig	Rekenkundig
Kontroles*	1 048 1 147 1 393 1 733 1 743 2 152	1 489,4	1 536,0	-	-
Ivermektien (0,2)	171 896 915 928 1 317 1 555	803,5	963,7	46,1%	37,3%
Oksfendasool (5,0)	300 809 1 520 1 564 1 909	1 020,9	1 220,4	31,5%	20,5%
Rafoksanied (7,5)	306 321 429 503 1 051 1 273	553,4	647,2	62,8%	57,9%
Klosantel (5,0)	0 3 5 6 9 20	5,7	7,2	99,6%	99,5%
Levamisool (7,5)	1 1 10 15	5,2	6,8	99,7%	99,6%
Disofenol (10,0)	0 0 5 6	2,6	2,8	99,8%	99,8%

*Elk met 10 ml water gedoseer

handhaaf nie, en slegs die weerstandiges bly oor. Die probleem raak des te groter as in aanmerking geneem word dat die ramme wat die toets slaag, ná die veiling, wyd oor die land versprei word.

Voorkoming van weerstandbiedendheid

Vir die voorkoming van weerstand moet onderskei word tussen die veldramklub en sy lede. By laasgemelde is die beheer soortgelyk aan dié op plase van nie-lede, maar moontlik meer belangrik; die situasie op die individuele plase vanwaar die toetsramme oorspronklik kom, gaan bepaal of weerstandige gene in

wurmstamme by die sentrale toetsperseel ingebring gaan word, of nie. Die gevare van weerstandbiedendheid wat dié stelsel inhou, behoort by elke lid van die veldramklub ingeskerp te word, ten einde elkeen te oorreed om voorkomings- en beheermaatreëls toe te pas. Gereelde miseiertellings is

noodsaaklik om die doeltreffende beheer van wurms (veral van weerstandige wurmstamme) onder veldtoestande soos dié van die veldramstelsels te monitor. Dit dien om die besoedelingstempo van die weiding deur die skape, en hierdeur dus ook die doeltreffendheid van die wurmbeheerprogram wat gevolg word, aan te dui. Terselfdertyd kan dit 'n vroeë aanduiding gee van weerstandbiedendheid indien eiertellings onmiddellik voor, en ongeveer 14 dae ná ontworming uitgevoer word.

Vir roetine gebruik kan die gewysigde McMaster eiertelling metode⁹ aangewend word, maar in gevalle waar diere na 'n gegewe plaas ingevoer word, of wanneer getoetste ramme verkoop gaan word, is dit verkieslik om die flottasiemethode van Whitlock¹⁸ te gebruik. Met hierdie metode word 5g mis met 40% sukrose-oplossing gemeng, en in 'n plat bottel gelaat sodat die eiers na bo dryf, en aan die glas kleef.

Geïntegreerde beheerstelsels

Die gebruik van geïntegreerde stelsels van beheer (soos die afwisseling van diersoorte en/of kontantgewasse op weiding¹⁷) skep ongunstige toestande vir vermeerdering van wurms en die gebruik van wurmmiddels kan verminder word.

Geslote kudde

Deur die invoer van diere van elders na 'n geslote kudde te beperk, word voorkom dat weerstandige gene ingevoer word. Wanneer skape (soos teelramme) egtër noodwendig na 'n plaas met 'n geslote kudde ingebring moet word, is kwarantyn en deeglike ontworming noodsaaklik alvorens die nuweling op die weiding losgelaat word. Dit is raadsaam om die betrokke diere met rondewurmmiddels uit minstens 2 verskillende groepe met 'n breër werking en een met 'n smaller werking te ontworm. Indien die skape met lintwurms of slakwurms besmet is, moet hulle ook dáárteen behandel word.

Indien moontlik, moet die wurmmiddels wat gebruik word, meer as 99% doeltreffend wees om die generiese variasie van dié wurmpopulasie te beperk⁵. Die dosisse moet liefies volgens die swaarste diere in 'n groep (nie die gemiddelde massa nie) bepaal word², sodat geen dier onderdoseer word nie. Sonder om die dosis na potensieël gevaarlike peile te verhoog, sal dit raadsaam wees om dosisse hoër as wat gewoonweg aanbeveel word, te gebruik; ten einde weerstandige wurms uit so 'n kudde te hou.

Veldramklub

Die belangrikste verskil tussen wurmbeheer by die klubdele en die klub toetsperseel is dat die kudde by die klub nie geslote kan wees nie, en gereeld

nuwe innames vanaf die verskillende lede moet ontvang. By die klub moet uiterste metodes toegepas word, veral wat wurmeiertellings en dosering betref. Sonder uitsondering sal gesorg moet word dat die mis van elke ram wat ingebring word, met die flottasiemethode negatief vir wurmeiers is, alvorens hy op die weiding losgelaat word. Indien strawwe dosering met 'n reeks middels nie daarin slaag om enige ram van wurmeiers te bevry nie, moet hy liefies nie vir toetsing aanvaar, en op die weidings geplaas word nie. Die eiertellings kan ook dien as aanduiding van die persele van lede waar weerstand aan die ontwikkel is.

Wat doserings betref, moet oorweeg word om gereeld dubbeld die aanbevole dosisse van die wurmmiddels aan die toetsramme toe te dien, tensy dit (afhangende van die middel) 'n gevaar sou inhou. Dit is ook raadsaam om 10-14 dae na elke dosering deur middel van 'n misondersoek te verseker dat die dosering doeltreffend was. Op hierdie wyse behoort probleme met weerstandbiedendheid onmiddellik opgespoor te word, en behoort dit moontlik te wees om betyds op te tree alvorens veelvoudige weerstand ontstaan.

Beheer van bestaande weerstand

Sodra weerstand vasgestel word, sal die sensitiwiteit van die betrokke wurmstam vir wurmmiddels met behulp van die wurmeierreduksietoets (of ander geskikte metode) bepaal moet word.

Indien die wurmpopulasie groot is wanneer die weerstand ontdek word, sal dit drasties verminder moet word, bv. deur onttrekking van vee, deur beweiding met alternatiewe diersoorte (bv. beeste of perde), of deur doeltreffende, hoëfrekwensiedosering met middels waarteen die betrokke wurmstam nie weerstandbiedend is nie¹¹. Indien dit wel nodig is om so straf te doseer, sal die sukses daarvan baie noukeurig deur middel van wurmeiertellings gemonitor moet word om die frekwensie so gou doenlik, na mate die besmetting verminder, te verlaag.

Alternatiewe beheermetodes soos beweiding met beeste en kontantgewasverbouing moet voortaan op die betrokke perseel tot die maksimum gebruik word om te verseker dat daar nie oor die langer termyn gepoog word om wurms oormatig met wurmmiddels alleen te beheer nie.

Een moontlikheid vir beheer by die veldramklub is om vir minstens 2 jaar alternatiewe weiding wat nie met weerstandige wurmstamme besoedel is nie vir die toetsramme te bekom. Intussen sal die weiding van die klub vir bv. beeste of perde, aangewend kan word, sonder om die uitroeiing van die

weerstandige wurmstam te benadeel. In die geval van wurmsoorste soos *Nematodirus* spp., waarvan die vrylewende stadia lank op die weiding kan oorleef, sal daar moontlik na 'n tydperk van selfs 2 jaar, van merkerlammers gebruik gemaak moet word om te verseker dat die weerstandige stam wel uitgevrek het, alvorens toetsing van ramme hervat kan word.

Indien ander metodes nie blyk doeltreffend te wees nie, kan gepoog word om die weerstandige wurmstam op die weiding deur 'n vatbare stam te vervang¹⁶, hoewel daar moontlik ook praktiese probleme aan verbonde sal wees.

DANKBETUIGINGS

Die outeurs bedank Dr Jenny Randles, Mnr F.A.J.J. Dekker, Dr M. MacFarlane, die Koöperatiewe firma Vee-boere (Natal) vir gedeeltelike finansiering van die laboratoriumondersoek na die omvang van die weerstandbiedendheid op die gesamentlike weiding van die klub en Dr H. van Ark. Die firmas, Cyanamid, Janssen en Logos word bedank vir die herbevestiging van die konsentrasies van die aktiewe bestanddele in die middels wat in die proef gebruik is.

BRONNELYS

1. Anoniem 1989 Kampioenskap vir gemete produksie al hoe gewilder. Landbou-weekblad 7 Julie: 86
2. Anoniem 1989 Anthelmintic resistance. SCA Technical Report Series - No. 28 [CSIRO Canberra] 26pp
3. Arundel J H 1985 The chemotherapeutic arsenal. In: Anderson N & Waller P J (ed.) Resistance in Nematodes to Anthelmintic Drugs. Australian Wool Corporation Technical Publication, CSIRO, Australia: 45-55
4. Basson H 1988 Karoo-veldmerinoklub gaan van krag tot krag. Landbouweekblad 20 Mei: 44-45
5. Donald A D 1985 Research priorities in anthelmintic resistance. In: Anderson, N & Waller, P J (ed.) Resistance in Nematodes to Anthelmintic Drugs. Australian Wool Corporation Technical Publication, CSIRO, Australia: 171-181
6. Kelly J D, Webster J H, Griffin D L, Whitlock H V, Martin I C A, Gunawan M 1981 Resistance to benzimidazole anthelmintics in equine strongyles. Australian Veterinary Journal 57: 163-171
7. Malan F S, Van Wyk J A, Gerber H M, Alves R M R 1990 First report of organophosphate resistance in a strain of *Haemonchus contortus* in the Republic of South Africa. Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Wetenskap 86: 49-50
8. Martin P J 1985 Nematode control schemes and anthelmintic resistance. In: Anderson N & Waller P J (ed.) Resistance in Nematodes to Anthelmintic Drugs. Australian Wool Corporation Technical Publication, CSIRO, Australia: 29-40
9. Reinecke R K 1973 The larval anthelmintic test in ruminants. Technical Communication No. 106, Department of Agricultural Technical Services, Republic of South Africa: iii + 20pp
10. Van Ark H 1981 Eenvoudige biometriese tegnieke en proefontwerpe met spesiale verwysing na entomologiese navorsing.

Wetenskaplike Pamflet Nr 396, Departement van Landbou en Visserye, Republiek van Suid-Afrika [Staatsdrukker, Pretoria]: vi + 117 bl.

11. Van Schalkwyk P C 1987 Die gebruik van wurmmiddels - is weerstand onafwendbaar? In: Schröder J (red.) Wurmweerstandswerkswinkel, Onderstepoort, Augustus 24-25 1987: 71-76
 12. Van Wyk J A, Gerber H M 1980 A field strain of *Haemonchus contortus* showing slight resistance to radoxanide. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 47: 137-142
 13. Van Wyk J A, Gerber H M, Bath G F, Alves R M R, Visser E L 1989 Weerstandbiedend van veldstamme van *Haemonchus contortus* en *Tricho-strongylus colubriformis* van skape teen levamisool en morantel. Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Wetenskap 85: 130-131
 14. Van Wyk J A, Malan F S 1988 Resistance of field strains of *Haemonchus contortus* to ivermectin, closantel, radoxanide and the benzimidazoles in sheep in South Africa. Veterinary Record 123: 226-228.
 15. Van Wyk J A, Malan F S, Gerber H M, Alves R M R 1989 The problem of escalating resistance of *Haemonchus contortus* to the modern anthelmintics in South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 56: 41-49
 16. Van Wyk J A, Van Schalkwyk P C 1990 A novel approach to the control of anthelmintic-resistant *Haemonchus contortus* in sheep. Veterinary Parasitology 35: 61-69
 17. Van Wyk J A 1990 Integrated worm control as a strategy in the control of gastrointestinal nematodes of sheep and cattle. Journal of the South African Veterinary Association 61: 141-145
 18. Whitlock H V 1959 The recovery and identification of the first stage larvae of sheep nematodes. Australian Veterinary Journal 35: 310-316
-