

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0169**

Rezistencia parazitov na antihelmintiká - výzvy, perspektívy a riešenia

Zodpovedný riešiteľ **doc. MVDr. Marián Várady, DrSc.**

Príjemca **Parazitologický ústav SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Parazitologický ústav SAV - hlavný riešiteľ
Centrum Biovied - Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV - spoluriešiteľ

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Freie Universität Berlin, Nemecko
Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Švédsko
Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poľsko

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

WENCELOVÁ, Monika - VÁRADYOVÁ, Zora - PRISTAŠ, Peter - ČOBANOVÁ, Klaudia - PLACHÁ, Iveta - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana. Effects of diet supplementation with herbal blend and sunflower seeds on fermentation parameters, microbial population, and fatty acid profile in rumen of sheep. In Czech Journal of Animal Science, 2016, vol. 61, no. 12, p. 551-559. (0.809 - IF2015). ISSN 1212-1819

PISARČÍKOVÁ, Jana - VÁRADYOVÁ, Zora - MIHALIKOVÁ, Katarína - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana. Quantification of organic acids in ruminal in vitro batch culture fermentation supplemented with fumarate using a herb mix as a substrate. In Canadian Journal of Animal Science, 2016, vol. 96, p. 60-68. (0.724 - IF2015). ISSN 0008-3984.

BABJÁK, Michal - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - URDA DOLINSKÁ, Michaela - VÁRADY, Marián. Gastrointestinal helminth infections of dairy goats in Slovakia. In Helminthologia, 2017, vol. 54, no. 3, p. 211 – 217. (0.472 - IF2016). (2017 - Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0440-6605.

VÁRADYOVÁ, Zora - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana - ČOBANOVÁ, Klaudia - GREŠÁKOVÁ, Ľubomíra - BABJÁK, Michal - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - URDA DOLINSKÁ, Michaela - VÁRADY, Marián. The impact of a mixture of medicinal herbs on ruminal fermentation, parasitological status and hematological parameters of the lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. In Small Ruminant Research : the journal of the International Goat Association, 2017, vol. 151, p. 124-132. (0.947 - IF2016). (2017 - Current Contents). ISSN 0921-4488.

CABIDDU, Andrea - WENCELOVÁ, Monika - BOMBOI, Giovanni - DECANDIA, Mauro -

MOLLE, Giovanni - SALIS, Lorenzo. Fatty acid profile in two berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) cultivars: Preliminary study of the effect of part of plant and phenological stage. In *Grassland Science*, 2017, vol. 63, no. 2, p. 101-110. (0.734 - IF2016). ISSN 1744-6961.

BABJÁK, Michal - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - URDA DOLINSKÁ, Michaela - VADLEJCH, Jaroslav - VÁRADY, Marián. Anthelmintic resistance in goat herds - In vivo versus in vitro detection. In *Veterinary parasitology*, 2018, vol. 254, p. 10-14. (2.422 - IF2017). (2018 - Current Contents). ISSN 0304-4017.

DOLINSKÁ, Saskia - DRUTOVIČ, Dávid - MLYNÁRČIK, Patrik - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - MOLNÁR, Ladislav - URDA DOLINSKÁ, Michaela - ŠTRKOLCOVÁ, G. - VÁRADY, Marián. Molecular evidence of infection with air sac nematodes in the great tit (*Parus major*) and the captive-bred gyrfalcon (*Falco rusticolus*). In *Parasitology Research*, 2018, vol. 117, no. 12, p. 3851–3856. (2.558 - IF2017).

VÁRADYOVÁ, Zora - MRAVČÁKOVÁ, Dominika - BABJÁK, Michal - BRYSZAK, Magdalena - GREŠÁKOVÁ, Ľubomíra - ČOBANOVÁ, Klaudia - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana - PLACHÁ, Iveta - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - CIESLAK, A. - SLUSARCZYK, Sylwester - PECIO, Lukasz - KOWALCZYK, Mariusz - VÁRADY, Marián. Effects of herbal nutraceuticals and/or zinc against *Haemonchus contortus* in lambs experimentally infected. In *BMC Veterinary Research*, 2018, vol. 14, no. 1, art. no. 78. (1.958 - IF2017). ISSN 1746-6148.

VÁRADYOVÁ, Zora - MRAVČÁKOVÁ, Dominika - HOLODOVÁ, Monika - GREŠÁKOVÁ, Ľubomíra - PISARČÍKOVÁ, Jana - BARSZCZ, Marcin - TACIAK, Marcin - TUŚNIO, Anna - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana - ČOBANOVÁ, Klaudia. Modulation of ruminal and intestinal fermentation by medicinal plants and zinc from different sources. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, vol. 102, no. 5, p. 1131-1145. (1.607 - IF2017). ISSN 0931-2439.

VÁRADYOVÁ, Zora - PISARČÍKOVÁ, Jana - BABJÁK, Michal - HODGES, Alfréd - MRAVČÁKOVÁ, Dominika - KIŠIDAYOVÁ, Svetlana - KÖNIGOVÁ, Alžbeta - VADLEJCH, Jaroslav - VÁRADY, Marián. Ovicidal and larvicidal activity of extracts from medicinal-plants against *Haemonchus contortus*. In *Experimental Parasitology*, 2018, vol. 195, p. 71-77. (1.821 - IF2017). ISSN 0014-4894.

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky majú okamžité uplatnenie pri terénnej diagnostike rezistencie na antihelmintiká u parazitov hospodárskych zvierat. Naše experimenty dokázali, že in vitro testy na detekciu rezistencie sú vhodné aj na detekciu nízkeho zastúpenia rezistentnej časti populácie. Majiteľom fariem môžu byť navrhnuté také riešenia ktoré budú minimalizovať vznik rezistentných parazitov na pasienkoch, čo v konečnom dôsledku bude mať priamy súvis s úžitkovosťou chovaných zvierat. Oblasť pri ktorej sme overovali účinnosť vybraných zmesí rastlín na endoparazity u nakazených oviec je možné aplikovať a uplatniť v praxi v strednodobom horizonte. Výsledky však jednoznačne poukázali na schopnosť rastlinných zmesí ovplyvniť a zredukovať parazitárnu infekciu u zvierat.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Výsledky analýzy pomocou metódou Pyrosequencing zistili akú genotypovú skladbu majú larvy prvého vývojového štádia (L1) vyliahnuté v jednotlivých koncentráciách v teste liahnutia vajíčok (Egg hatch test). Výsledky poukazujú na to, že v koncentrácii 0,1 µg/ml tiabendazolu sa vo veľkej mierne (nad 90 %) liahnu larvy s rezistentným genotypom. Vo vyšších koncentráciách 0,3 µg/mg a 0,5 µg/ml sa liahli len homozygotné rezistentné formy, čo poukazuje na to, že pri in vitro diagnostike benzimidazolovej rezistencie pomocou testu liahnutia vajíčok musíme používať koncentráciu 0,3 µg/ml alebo 0,5 µg/ml tiabendazolu. Výsledky získané pri korelovaní in vivo, in vitro a molekulárnych metód dokázali, že pri odhade účinnosti antihelmintika, alebo pri odhade zastúpenia rezistentnej alely v testovanej populácii nám stačí uskutočniť in vitro test len s jedinou koncentráciou antihelmintika (napr. 0,3 µg/ml alebo 0,5 µg/ml tiabendazolu, čím výrazne znížime finančnú a časovú náročnosť potrebnú na detekciu rezistentných parazitov v neznámej populácii. V experimente kde sme skúmali genotypizáciu lariev parazitov počas patentnej periódy sme

zistili, že genetická informácia (percento rezistentných/citlivých alel) v 25 nezávislých dňoch počas patentnej periódy 2 mesiacov výrazne varíruje tak u rezistentného ako aj u citlivého kmeňa. Získané informácie nám objasňujú príčiny variability výsledných hodnôt in vitro testov, čo prispieva k presnejšej detekcii rezistentných parazitov.

Výsledky získané počas štvorročného obdobia za účelom overenia účinnosti vybraných zmesí rastlín nepotvrdili priamy okamžitý antihelmintický vplyv rastlinných zmesí na životaschopnosť nematódov, ale použitá liečba v strednodobom horizonte (do 70. dní) prispela k zvýšeniu odolnosti jahniat proti nematódovým infekciám a ľahšiemu prekonaniu infekčnej záťaže.

Pri porovnaní zápalových parametrov infikovaných, neinfikovaných aliečených zvierat sme sledovali dva parametre zápalového procesu, sérový albumín A (SAA) a sérový kalprotektín (CALPRO). Koncentrácia SAA a CALPRO bola vyšetrená na 32. (D32) a 50. deň (D50) pokusu. Parazitárna infekcia ani skrmovanie HERBMIXu nemali významný vplyv na koncentráciu sérového albumínu ASAA. Parazitárna infekcia mala výrazný vplyv na variabilitu sérového kalprotektínu CALPRO po 50. dni infekcie.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The results of the Pyrosequencing analysis revealed the genotypic composition of the first stage larvae (L1) hatched at individual concentrations in the Egg hatch test. The results show that larvae with resistant genotype hatch largely (over 90%) at a concentration of 0.1 µg/ml of thiabendazole. At higher concentrations of 0.3 µg/ml and 0.5 µg/ml, only homozygous resistant forms were hatched, indicating that we have to use a concentration of 0.3 µg/ug or 0.5 µg/ml for the in vitro diagnosis of benzimidazole resistance using the egg hatch test.

The results obtained by correlating in vivo, in vitro and molecular methods have shown that when estimating the efficacy of anthelmintic or estimating the presence of a resistant allele in the test population, we only need to perform an in vitro test with a single concentration of anthelmintic (eg 0.3 µg/ml or 0.5 µg/ml of thiabendazole, thereby significantly reducing the cost and time required to detect resistant parasites in an unknown population.

In an experiment where we examined the genotyping of parasite larvae during the patent period, we found that genetic information (percentage of resistant/susceptible alleles) on 25 independent days during the patent period of 2 months significantly varies in both the resistant and susceptible strain. The obtained information will help us to explain the causes of variability of the resulting values of in vitro tests, which will contribute to more accurate detection of resistant parasites.

The results obtained over a four-year period to verify the efficacy of selected plant mixtures did not confirm a direct immediate anthelmintic effect of the plant mixtures on nematode viability, but the treatment used over the longer period (70 days) contributed to increasing lamb resistance against nematode infections and easier overcoming infectious burden.

When comparing the inflammatory parameters of infected, uninfected and treated animals, we monitored two parameters of the inflammatory process, serum albumin A (SAA) and serum calprotectin (CALPRO). The concentrations of SAA and CALPRO were examined at 32 (D32) and 50 (D50) experiments. Neither parasitic infection nor feeding of HERBMIX had a significant effect on the serum albumin concentration of ASAA. Parasitic infection had a significant effect on the variability of serum calprotectin CALPRO after day 50 of infection.