

**Formulár ZK - Záverečná karta projektu**

Riešiteľ: MVDr. Marián Várady, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: RPEU-0009-06
Názov projektu: Rezistencia parazitov oviec na antihelmintiká: prieskum výskytu a metódy detekcie	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 04001 Košice;
	Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE, Hannover, Bünteweg 17, 30559, Hannover, Germany

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uvedte i publikácie prijaté do tlače):  <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	VÁRADY, M. - ČUDEKOVÁ P. - ČORBA, J. In vitro detection of benzimidazole resistance in Haemonchus contortus: Egg hatch test versus larval development test. In Veterinary Parasitology. Vol. 149, no. 1 (2007), p. 104-110
	VÁRADY, M. - ČORBA, J.- LETKOVÁ, V. - KOVÁČ, G. Comparison of two versions of larval development test to detect anthelmintic resistance in Haemonchus contortus. In Veterinary Parasitology. (2008) doi:10.1016/j.vetpar.2008.11.010
	VÁRADY, M - ČORBA, J.: In vitro detection of anthelmintic resistance in Haemonchus contortus by larval development test. In From EPG to Genes: WAAVP The 21st International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology August 19-23 2007, Gent, Belgium. Gent 2007. s. 212. (prednáška)
	KÖNIGOVÁ, Alžbeta - VÁRADY, Marián - ČORBA, Július. Prevalence of anthelmintic resistance in sheep farms in Slovakia. In Program and Abstract Book Xth European Multicolloquium of Parasitology, August 24-28, 2008, p.169.
	ČUDEKOVÁ, Patrícia - VÁRADY, Marián - ČERNANSKÁ, Dana - ČORBA, Július. Molecular analysis of benzimidazole susceptible and resistant Haemonchus contortus isolates. In Program and Abstract Book. Xth European Multicolloquium of Parasitology, August 24-28, 2008, Paris, France, P-170-171.
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Výsledky sú a budú priamo využívané chovateľmi zvierat (oviec). Zvýšenie citlivosti metód používaných na detekciu rezistentných parazitov bude využité pri včasnej detekcii rezistentných parazitov v stádach oviec na celom území Slovenska. Zavedenie a štandardizácia nových molekulárnych metód na detekciu rezistentných parazitov nám umožní včas navrhnúť správne liečebné postupy, ktoré obmedzia vznik a rozšírenie rezistentných parazitov.

## Charakteristika výsledkov

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Pri plošnom prieskume výskytu antihelmintickej rezistencie gastro-intestinálnych nematódov oviec bolo in vitro testami vyšetrených 42 chovov na celom území Slovenska. Nematódy rezistentné na benzimidazolové antihelmintiká sme zistili v piatich chovoch. Rezistencia na antihelmintiká zo skupiny makrocyclických laktónov nebola zaznamenaná. V snahe zvýšiť citlivosť a spoľahlivosť doteraz používaných metód sme overovali nové a modifikované metódy na citlivých a rezistentných kmeňoch parazita *Haemonchus contortus*. Pri testoch sme porovnávali rôzne referenčné hodnoty pre stanovenie rezistencie na liečivá. Zistili sme, že v prípade ak sú výsledky testov interpretované ako diskriminačná dávka (ED99), testy spoľahlivo detegujú rezistentné a citlivé parazity. Pri použití testu liahnutia lariiev, už pri nízkom 3-4 %-nom zastúpení rezistentných parazitov v populácii, bola pravdepodobnosť ich detekcie veľmi vysoká. Dosiahnuté výsledky umožnia nielen potvrdiť rezistenciu, ale aj určiť počiatočnú fázu jej nástupu u parazitov hospodárskych zvierat, čo je dôležité pre aplikáciu preventívnych opatrení proti ďalšiemu šíreniu rezistencie. V druhej fáze sme porovnávali citlivosť a spoľahlivosť troch rozličných modifikácií testu larválneho vývoja parazita *Haemonchus contortus* u oviec. Bola zavedená a štandardizovaná allele-specific PCR metóda na detekciu rezistencie na antihelmintiká u parazitov *Haemonchus contortus* a *Teladorsagia circumcincta*. Na základe porovnania 15 rezistentných a citlivých izolátov bolo stanovené percentuálne zastúpenie homozygotných a heterozygotných genotypov. Pomocou RT-PCR a pyrosekvenčnej analýzy (Pyrosequencing<sup>TM</sup>) bolo zisťované zastúpenie rezistentných a citlivých alel v populáciách parazita *Haemonchus contortus*. Tieto výsledky boli porovnávané s allele-specific PCR metódou.

### Summary of the project results and the fulfillments of the project goals (max. 20 lines) -english:

The prevalence of anthelmintic resistance on 42 sheep farms in the whole territory of Slovakia was investigated using in vitro tests. Resistance to benzimidazole anthelmintics was detected on five farms. Resistance to the anthelmintics from macrocyclic lactone group was not found. In order to increase the sensitivity and reliability of the current in vitro methods for the detection of anthelmintic resistance, we compared new and modified versions of tests on susceptible and resistant isolates of parasite *Haemonchus contortus*. In all methods we compared different criterions for the definition of anthelmintic resistance. It was found that by using ED99 value as a discriminating dose methods clearly indicate the presence of resistant parasites. The larval development test was also able to clearly indicate the presence of low level (4%) of resistant larvae amongst a susceptible background population. Our results suggest that calculation of ED99 values in the tests can significantly increase test sensitivity and identify resistance when only a small proportion of the worm population is resistant. In the second phase we compared the reliability and sensitivity of three larval development methods for detecting anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus*. An allele specific PCR technique was applied and standardized to determine the anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* and *Teladorsagia circumcincta*. The genotypes (rr, rS, SS) of the 15 resistant and susceptible isolates have been compared. The frequency of resistant and susceptible alleles has been determined by RT-PCR and Pyrosequencing<sup>TM</sup> methods in isolates of *Haemonchus contortus* and the results have been compared with those obtained by allele-specific PCR method.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ výjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa: .....

Podpis štatutárneho zástupcu: .....

Dátum: 18. 2. 2009 .....

Pečiatka:

