

Undersøkelse for forekomst av og resistens for benzimidazoler hos gastrointestinale nematoder hos lam i Kvam og Jondal i Hardanger i 2012

Veterinærene i Kvam Veterinærdistrikt har hatt strategier for parasittbehandling i en årrekke, basert på begrenset bruk av medisin og kontrollert vekslning mellom medisin brukt. Sist oppdatert og ”innstrammet” i 2006. Behandlingsstrategien har vært basert på empirisk erfaring og teoretiske vurderinger, og vi har lenge ønsket å undersøke den faktiske nematodebelastningen og om det forekommer resistens.

Veterinær Birgitte Tvester
5600 Norheimsund

Veterinær Magnus Nyborg
5620 Tørvikbygd

Innledning

”Kvam Veterinærkontor AS” planla i samarbeid med ”Kvam Sau og Geit” og ”Jondal Sauealslag”, å gjennomføre et prosjekt sommeren 2012 for å undersøke forekomsten av anthelmintika resistens hos gastrointestinale nematoder hos sau i Kvam og Jondal kommuner i Hardanger.

Det er for tiden ca 6000 vinterfora sauer i distriktet fordelt på ca 120 besetninger. Dyretallet pr besetning varierer fra mindre enn 10 til ca 150 vinterfora dyr, hvor snittet ligger omtrent midt mellom dette. Det har blitt foretatt rutinemessig medikamentell behandling mot mage/tarm parasitter i sauebesetningene gjennom mange år, Resistens mot parasittmidler er et kjent og økende problem mange steder i verden, og er nå også påvist i Norge, så vi ønsket å kartlegge forekomsten av resistens i vårt distrikt.

Vi benytter et behandlingsregime med moderat behandlingsfrekvens siden de aller fleste dyra er på et utmarks-/fjellbeite, der parasittbelastningen er antatt betydelig mindre enn på et kontinuerlig innmarksbeite. (Se www.kvamvet.no for våre anbefalinger)

Vår anbefaling til brukerne er behandling av alle lam ved fjellslipp og livdyr ved innsett eller før utslipp neste vår. Vi har hatt et roteringsregime mellom Benzimidazoler og tetrahydropyrimidiner (Morantel) med 3 års intervaller. Da Morantel ble avregistrert, ble kun Benzimidazoler brukt fram til 2011. Da tok vi i bruk Levamizol på registreringsfritak, og vi vil nå fortette rotasjon mellom Levamizol og Benzimidazoler. Makrosykliske laktoner har vi holdt av til reservepreparat og har knapt vært brukt hos oss. Siden det er benzimidazoler som har blitt brukt desidert mest, og det er resistens mot denne stoffgruppen som er mest sannsynlig, var det for denne stoffgruppen vi ønsket å undersøke mht forekomst av resistens.

Prosjektet er støttet med bygdeutviklingsmidler fra Fylkesmannen i Hordaland, og er ellers finansiert ved egeninnsats hos deltakere og veterinærer. Analyser er utført av Kvam Veterinærkontor AS – Laboratoriet.

Forsøksopplegg

Vi ønsket å kartlegge parasittbelastning av lam om høsten etter nedkomst fra fjellet, og effekt av behandling på dette tidspunktet. Dette ble ansett å være et praktisk tidspunkt hvor lammene forventes å ha et høyt nok eggfall pga fortsatt begrenset immunitet, og de er også såpass store at det er praktisk mulig å hente avføring fra endetarmen.

Vi brukte metoden FECRT, fecal egg count reduction test, og plukket ut 10 besetninger av tilstrekkelig størrelse der vi ikke hadde noen formening om forekomst av resistens på forhånd. Besetningene var fordelt over hele distriktet, og utvelgelsen baserte seg til dels på bønder som selv meldte sin interesse for å delta, og resten var bønder som fikk forespørsel om å delta.

I protokollen skulle 20 tilfeldige lam velges ut og deles i to grupper med 10 i hver. Det skulle tas ut fæcesprøver fra alle dyra rett fra endetarmen med hanskebytte mellom hvert lam, prøvene skulle pakkes i tett plastboks med lammets nummer på, kjøles ned og leveres laboratoriet. Analyse skulle skje senest neste dag. Den ene gruppa skulle behandles med Curaverm umiddelbart etter prøveuttak, mens kontrollgruppa skulle gå ubehandlet for å se hvordan eggallet utviklet seg. Etter 10 til 14 dager skulle nye fæcesprøver tas ut av begge gruppene og ny telling av parasittegg foretas. Hvis det var mindre enn 20 lam tilgjengelig til forsøket, skulle det kuttes ned på kontrollgruppen.

Forsøket ble basert på at bøndene selv skulle ta ut fæcesprøvene og tildele anthelmintika. I en besetning ble imidlertid denne prosedyren utført av veterinærer fra Kvam veterinærkontor. Det ble laget til en "parasittpakke" til hver deltaker i forsøket med grundig info om utførelse av forsøket og av korrekt inngiving av parasittmiddel inkludert viktigheten av rett dose og kontroll av doseringsutstyr. Egg tellingen ble utført på laboratoriet til Kvam veterinærkontor med Mc-master tellekammer etter oppskriften i Bjørn Gjerde sitt kompendium "Diagnostikk av parasittinfeksjoner". Det ble benyttet to tellekamre på 15 ml noe som gir en nøyaktighet på 100 egg pr gram. Både egg av Strongylidetype og Nematodirus ble telt uten å differensiere mellom disse siden alle disse parasittene i utgangspunktet skal være sensitive overfor Benzimidazoler. Det var for øvrig lite av sistnevnte eggtype, og bare hos noen få dyr. Før vi tok imot prøver til analyse, kjørte vi en serie med 10 analyser av samme avføringsprøve for å sjekke om metoden ga en tilfredstillende repeterbarhet, noe den gjorde.

Tolkning

FECRT = faecal egg count reduction test, går ut på å se på reduksjonen av utskilte parasittegg i faeces etter behandling med anthelmintika. Resistens defineres her som en reduksjon i egg tall etter behandling som er mindre enn 95 %, og 95% konfidensintervallet er mindre enn 90%. Omfanget av eventuell resistens ble vurdert opp mot antall dyr per besetning med resistens og eventuell reduksjon i egg tall hos kontroller (dvs andre årsaker enn behandling som forårsaker reduksjon i egg tall.)

Resultater

1 bruker leverte ikke prøver tidsnok til å være med på forsøket. En del dyr gikk ut av forsøket, dels pga at det ikke var mulig å få ut avføringsprøve i runde 2, dels pga at det var avvik i hvilke dyr som hadde blitt tatt prøve av i runde 1 og 2. Noen dyr hadde også egg tall <200 (definert som 0 eller 100 i forsøket) og egnet seg ikke til å bli med i den statistiske vurderingen av behandlingseffekt. Hos en gardbruker førte misforståelser til at en for stor andel dyrene fikk behandling med Curaverm, mens kontrollgruppen ble liten.

Det at behandling og prøveuttak ble utført av gardbrukerne gjør også at det ikke kan utelukkes feil ved dosering/ behandling, eventuelle feilmerkinger mm. Dette gjør forsøket realistisk mht hvordan praksisen er i felt, men utgjør en ekstra usikkerhetsfaktor.

Se tabeller neste side.

Diskusjon

Oppsett av forsøket

Forsøket er satt opp med relativt små grupper fordelt på flere brukere fordi vi mente det var mer interessant å finne likheter og forskjeller mellom ulike brukere, enn å øke nøyaktigheten i dataene. Videre er det mange brukere i distriktet vårt som ikke har nok lam til større prosjekt.

Beregning av behandlingseffekt (Dyr med <200 EPG i førprøver er sortert ut av materialet)

Bruker	Antall inkludert i beregningene		Gjennomsnitt EPG før behandling				Gjennomsnitt EPG etter behandling				Reduksjon i EPG ifht kontrollgruppe etter			Reduksjon i EPG ifht alle dyr før			Kommentar
	Behandlet gruppe	Kontrollgruppe	Behandlet gruppe	- standardavvik	Alle	- standardavvik	Behandlet gruppe	- standardavvik	Kontrollgruppe	- standardavvik	Reduksjon i %	Øvre konfidensgrense	Nedre konfidensgrense	Reduksjon i %	Øvre konfidensgrense	Nedre konfidensgrense	
1	3	7	800	400	629	320	0	0	0	0	####	###	###	100	100	100	Ingen egg i kontrollgruppen ved etterkontrollen
2	6	11	567	294	455	266	0	0	620	130	100	100	100	100	100	100	
3	6	14	350	164	321	158	20	45	575	385	96,5	98	94	93,8	95	92,4	4 sauer med eggfunn etter beh. I rådata
4	15	17	2342	4202	1888	3880	0	0	900	424	100	100	100	100	100	100	
5	9	19	2722	4614	2205	3497	733	707	1160	1839	36,8	77	-76	66,7	84	30	
6	9	15	744	488	800	518	0	0	1017	588	100	100	100	100	100	100	
7	7	12	314	195	493	219	0	0	340	385	100	100	100	100	100	100	
8	7	17	1543	858	1218	930	171	454	270	245	36,5	65	-14	85,9	90	79	Kun 1 sau med egg etter behandling
9	8	12	525	208	700	1462	12,5	58	1375	1752	99,1	100	97	98,2	99	97	Kun 1 sau med egg etter behandling

EPG per lam kort tid etter sanking og 10-14 dager seinere

Bruker	Snitt EPG tall etter fjellbeite	standardavvik EPG	Antall lam i førgruppen	Snitt EPG etter kontroll	standardavvik EPG	Antall lam i kontrollgruppen	Endring kontroll	Endring prosent
1	400	370	9	40	89	5	-360	-90
2	240	273	20	567	175	6	327	136
3	455	185	20	544	371	9	89	20
4	1888	3612	17	900	424	2	-988	-52
5	2095	3440	20	1160	1839	10	-935	-45
6	537	553	19	1016	588	6	479	89
7	1110	258	19	340	385	5	-770	-69
8	379	947	14	270	245	10	-109	-29
9	689	584	18	967	1500	6	278	40
Snitt	866	1136	17	645	624	7	-221	0
	9.-24. Sept			25.sept- 9. Okt				

Det viste undersøkelsen her også, da mange av brukerne ikke klarte å levere før etter/ prøver fra så mange som 20 lam.

Pga at dette er et feltforsøk med nokså lavt budsjett, har prøveuttak og behandling med Curaverm blitt utført av gardbrukerne. Vi har snakket med alle på telefon og informerte om opplegget. I tillegg ble det sendt ut informasjon og prøvetakingsmateriale med det vi

oppfatter som oversiktlig informasjon. I ettertid viste det seg at ikke alle bøndene hadde lest gjennom informasjonsarkene. Selve uttaket og merkingen ser ut til å ha fungert bra i de fleste tilfeller, selv om det er eksempler på at dyr er utelatt/ lagt til i andre runde i forhold til første runde. Dette er det blitt tatt hensyn til i databehandlingen. Ellers har vi mottatt mesteparten av den informasjonen vi trengte, men ikke alltid på skjemaene som ble sendt ut fra oss.

Siden antallet dyr er lavt, og prøveuttak og behandling ble overlatt til de ulike brukerne, finnes det en økt risiko for feil i resultatene, dette må vi ta hensyn til ved tolkningen av disse.

Reduksjon i eggfall

Ut fra dataene er det 4 av 9 brukere som har eggfall etter behandling med Curaverm. Bruker 3 hadde en beskjedent reduksjon i effekt, men det er fordelt på flere dyr. Pga lave eggfall i førprøvene, er det bare 1 av disse som har kommet med i beregningene. Bruker 5 hadde tydelig nedsatt effekt. Bruker 8 hadde resultat som tilsier resistens, men en skal være forsiktig med å konkludere siden det gjelder eggfunn hos enkelt dyr. Det kan ha andre årsaker enn resistens, som feildosering eller behandling av feil dyr. 6 av deltakerene hadde tilfredsstillende effekt av behandling.

Det vil si at i dette materiale er det 1 av 9 brukere som har nedsatt effekt av behandling som kan tilskrives resistens og 2 brukere der en kan mistenke resistens, noe som gir berettiget mistanke om forekomst av benzimidazoleresistens i distriktet. Da det finnes mange forskjellige sommerbeiter i distriktet, kan vi kun uttale oss om de brukene som er testet.

I forsøket brukte vi kontrollgrupper. Det viste seg å være lurt, da det var store endringer i eggfallet i kontrollgruppene. Hos noe var det en kraftig nedgang, hos andre en tilsvarende økning. Det må tas hensyn til når en skal vurdere om reduksjonen i eggfallet skyldes behandlingen eller andre faktorer. Vi har beregnet nedsatt følsomhet utifra ulike kontrollgrupper for å vise forskjellene i resultat ved ulike oppsett av forsøkene.

Parasittsmitte og endringer i eggfall i kontrollgrupper

Eggfallet kan skyldes smitte fra vårbeite eller stølsbeite. Vi mener sistnevnte er mest sannsynlig, siden lammene behandles før slipp på utmarksbeite. De 2 siste årene har dyra blitt behandlet med Levacide (levamicole), et virkestoff vi ikke har brukt tidligere, men som har kryssresistens med Morantel som ble brukt før. (Et unntak er bruker 5, som har behandlet med Curaverm de siste 2 årene.) Det er liten grunn til å tro at det skal være resistens mot Levacide, uten at vi kan vite noe sikkert. Det er ikke blitt foretatt noen undersøkelser mhp resistens mot dette stoffet i Norge. Det har vært lagt stor vekt på å få gardbrukerne til å dosere riktig etter vekt, både skriftlig og muntlig, så vi tror det stort sett blir fulgt.

Derfor antar vi at mesteparten av smitten ved første uttak kommer fra stølsbeite. Endringene i kontrollgruppene er stort sett systematiske hos den enkelte bruker, og tilfeldige variasjoner er derfor mindre sannsynlig årsak til trend i endringene i eggfall hos kontrollgruppene.

Et interessant spørsmål er hvorfor det er så ulik endring i eggfall i kontrollgruppene. To mulige årsaker kan være om det er mye eller lite smitte av nemtaoder på det heimebeite de føres til, eventuelt på områder der sauene oppholder seg i forbindelse med sanking. Eventuelt kan en tenke seg at eggfallet kan øke om en får et svekket immunforsvar, for eksempel ved sjodogg. Vi vet at en del brukere har problemer når dyrene kommer på heimbeite, sannsynligvis med sjodogg med etterfølgende pastaurella. Det er ikke kjent om deltakerne i prosjektet har slike problem, men sjodoggsmitte via flått er likevel sannsynlig.

Vurdering av forekomst av parasitter

Sauene går stort sett på forskjellige sommerbeiter. Derfor vil resultatene hos enkeltbesetninger ikke kunne overføres til andre. Dette blir derfor å se på som et utvalg som

kan gi et inntrykk av forekomsten ellers. Vi vet også at eggallet kan variere hos samme dyr over tid, og utslag hos enkeltdyr må derfor ikke tillegges for stor vekt.

Prøvene er tatt fra lam, og en kan derfor forvente høyere verdier hos disse gruppene enn hos voksne dyr. Ingen av avføringsprøvene var løse – noen perler var mykere enn hos andre, men ingen som kan beskrives som diare. Avføringen kan forventes noe løs hos dyr som har opplevd beiteskifte kort tid i forkant. Vi så ikke noen åpenbar sammenheng mellom parasitt tall og avføringskonsistens i forbindelsen med eggteilingene, selv om det ikke ble ført noen statistikk på dette. Derfor tyder det ikke på at det foreligger diare som klinisk symptom pga parasittbelastningen.

Mange av brukene hadde lave eller moderate egg tall hos lammene, vi fant de laveste egg tallende hos to av de minste produsentene som var med i forsøket. Noen få hadde en del dyr som hadde mange egg. Noen av dyra med høyest egg tall ble oppgitt å ha gått på heimebeite.

Vurdering av dagens behandlingsregime

Vi har anbefalt behandling av lammene ved overføring til fjellbeite, og behandling av voksne livdyr ved innsett eller før beiteslipp om våren (bare vårbehandling ved bruk av Levacide pga dårlig effekt mot hypobiotiske larver). Er dette tilstrekkelig behandling av lammene, eller underbehandler vi?

Hos noen av besetningene kunne eggallet tyde på at en med fordel kunne ha gitt en behandling til lammene, selv om en skal merke seg at dyrene ikke hadde diare. Det kan derfor være aktuelt å behandle lammene etter fjellbeite på bruk der det har blitt påvist høye egg tall etter fjellbeite. Da ulike parasitter har ulik evne til å skille ut mange egg, skal en også være litt forsiktig med å tolke parasittbelastningen og behovet for behandling bare ut i fra eggallet.

Mange av lammene skal sendes til slakt kort tid etter sanking, og det er ikke alltid bestemt hvilke dyr som skal slaktes ved sanking. Derfor vil behandling på denne tiden kunne være vanskelig å gjennomføre, og det øker risikoen betraktelig for å levere dyr med medisinerester til slakt. Parasittbelastningen med infektive larver i beitegraset går ned om høsten, og mange av nematodelarvene går i hypobiose i tarmen etter opptak istedenfor å utvikle seg til voksne ormer. I tillegg vil mange av lammene få en sterkere immunitet, og en kan forvente at den kliniske betydningen av nematodene minker med tiden.

Derfor vil vi ikke endre den generelle anbefalingen . Ved høye egg tall og kliniske problem kan en følge opp enkelte bruk og vurdere selektiv behandling av livdyr blandt ungdyr ved heimbeite.

Brukere som har mange egg bør vurdere beitemarkene i fjellet. Kan dyr lokkes vekk fra utsatte stølsmarker mm.

Hos bruker nr 5, der det foreligger sterk indikasjon på resistens, har vi planlagt å ta nye prøver til neste år før og etter anthelmintikabehandling for å se om vi får et liknende resultat. Vi planlegger da undersøkelse av søyer ved springrise og evt lam på heimebeite.

I sauebesetninger der det er mistanke om resistens mot benzimidazoler, bør man unngå bruk av dette preparatet.

Ellers vil vi prøve å få flere brukere i distriktet til å få kartlagt parasittforekomsten og evt anthelmintikaresistens hos dyra, slik at vi kan begynne å tilby en mer målrettet og individuell parasittprofylakse.

Referanser:

- Stuen, Snorre, NVH: Muntlig rådgiving i forbindelse med planlegging av forsøket og databehandling.

- Gjerde, Bjørn, NVH: kompendium "Diagnostikk av parasittinfeksjoner" , 2003
- Coles, Bauer m.fl.: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology
methodes for detection of anthelmintic resitance in nematodes of veterinary
importance