



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Resistens mot ivermektin – vad vet vi idag?

Fredrik Arnesson

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:59

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Resistens mot ivermektin – vad vet vi idag?

Ivermectin resistance - knowledge of today

Fredrik Arnesson

Handledare:

Johan Höglund, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2011

Omslagsbild -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:59
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Anthelmintika resistens, ivermektin, glutamatreglerade kloridjonkanaler, GluCl.

Key words: Anthelmintic resistance, ivermectin, glutamate-gated chloride channel, GluCl.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	3
Ivermektin	3
Läget i världen	4
Får.....	4
Häst.....	4
Mekanism och funktion hos glutamatreglerade kloridjonkanaler (GluCl)	5
Resistensutveckling	5
Transportproteiner.....	6
Glutamatreglerade kloridjonkanaler (GluCl)	6
Diskussion.....	7
Litteraturförteckning.....	9

SAMMANFATTNING

Ivermektin är ett av flera anthelmintika ur substansgruppen makrocycliska laktoner (ML) som har använts flitigt sedan början av 80-talet. ML verkar genom att ge hyperpolarisation av specifika glutamatassosierade kloridjonkanaler (GluCl) i neuron och myosyter hos ryggradslösa djur, men dessa jonkanaler saknas hos däggdjur. Den utbredda användningen har gjort att problem med resistens ökat. Allvarligast är läget för den stora löpmagsmasken, *Haemonchus contortus*, hos får och getter på södra halvklottet. För häst kom den första rapporten om ivermektinresistens hos spolmasken *Parasacaris equorum* 2002. Till en början trodde forskarna att det var GABA-receptorn som utgjorde målet för ivermektin. Efter fortsatta studier där det bland annat visade sig att den dos ivermektin som krävs för att påverka GABA-receptorn var mycket högre än de halter som uppstår vid normal behandling stod det snart klart att det istället är GluCl som utgör målstruktur för preparat inom ML-gruppen. Resistens hos parasiter mot ivermektin har visat sig uppstå antingen genom ändrat uttryck av transportproteiner som aktivt transporterar ut främmande ämnen ur cellen. Eller genom mutationer hos GluCl som leder till en konformationsförändring och sänkt ivermektinkänslighet. Det finns flera exempel på olika punktmutationer som ger denna effekt. Flera av dessa studier bekräftar att om en glysin-enhet finns på en specifik plats i proteinstrukturen är jonkanalen med säkerhet ivermektinkänslig. Mycket har forskarna kommit fram till vad gäller ivermektinets mekanismer men det krävs fortfarande mycket mer forskning inom området.

SUMMARY

Ivermectin is one of several anthelmintics in the group of macrocyclic lactones (ML) and it has been extensively used since the early 80's. MLs acts through hyperpolarization of specific glutamate-gated chloride channels (GluCl) in neurons and myocytes of invertebrates but mammals lack these ion-channels. Extensive use of anthelmintic has led to increasing resistance problems, the situation for *Haemonchus contortus* in sheep and goat on the southern hemisphere is now severe. Resistance to ivermectin in *Parasacaris equorum* in horse was first reported in 2002. The target for ivermectin was first thought to be the GABA-receptor, but studies showed that the GABA-receptor only respond to ivermectin at concentrations markedly higher than at normal treatment, it was instead determined that the GluCl receptor is the target for MLs. Resistance in parasites against ivermectin predominantly emerge by altered transport protein expression or GluCl mutations, there are several examples of point mutations resulting in receptor conformation changes and lowered sensitivity to ivermectin. Many studies also confirm the importance of a glycine at a specific position in the GluCl protein for the ion-channel to be ivermectin sensitive. Much is known about the action of ivermectin, but there is still more to learn before we fully understand the mechanisms of ivermectin.

INLEDNING

Resistens mot avmaskningsmedel (anthelmintika) hos olika parasiter som angriper djur är ett välkänt fenomen som förekommer i hela världen. Rapporter om utebliven effekt har i tur och ordning rapporterats för varje ny substans som släppts på marknaden. Det här kandidatarbetet tar upp frågan om anthelmintikaresistens med fokus på ivermektin, en substans ur gruppen makrocycliska laktoner (ML) som lanserades i början av 80-talet. ML har varit mycket effektiva och användandet har varit stort, inom veterinärmedicin för att kontrollera både endo- och ectoparasiter framförallt hos livsmedelsproducerande djur, men även inom humanmedicin och då främst i stora bekämpningsprogram mot tropiska parasitsjukdomar som flodblindhet (onchocerciasis). Målet med kandidatuppsatsen är att sammanställa och förmedla en bild av vad vi i dagsläget vet om ivermektins verkan på parasiterna och vad forskarna har kommit fram till när det gäller utvecklingen av anthelmintikaresistens mot preparat inom denna substansgrupp. Vilken är målstrukturen för ivermektin hos parasiter? Varför uppstår resistens? Hur ser resistensläget ut i Sverige och övriga världen? Vad kan göras för att bromsa utvecklingen av resistens?

MATERIAL OCH METODER

Sökandet efter artiklar skedde huvudsakligen i databaserna PubMed, ISI Web of Knowledge och Google Scholar. Sökord som främst användes var *ivermectin*, *anthelmintic resistance* och *mechanism*. Vartefter arbetet med litteraturstudien fortskred hittades nya sökord som till exempel *P-glykoprotein* och *GluCl*. Intressanta artiklar har även hittats via referenslistor i lästa artiklar, samt i de tips databaserna ger på liknande artiklar vid sökning. Av utrymmesskäl kom arbetet främst att inriktas på situationen hos hästar och får.

LITTERATURÖVERSIKT

Ivermektin

Ivermektin är en substans ur anthelmintikagruppen makrocycliska laktoner (ML). Det är ett bredspektrumverkande avmaskningsmedel (anthelmintikum) som är aktivt mot en mängd olika parasiter inom grupperna nematoder, spindeldjur och insekter. I Sverige finns ivermektin tillgängligt för behandling av olika parasiter hos häst, nötkreatur, ren, svin och får men även för hund och katt. Preparatet finns i olika beredningsformer så som tuggtabletter, oral pasta, oral lösning, injektionsvätska, pour on och som premix till medicinskt foder. Ivermektin anses utöva sin verkan på parasiten genom aktivering av specifika glutamatassocierade kloridjonkanaler (GluCl) som finns i neuron och myocyter hos främst ryggradslösa djur. Ivermektin binder med stor affinitet till GluCl och aktiveringen leder till depolarisering i neuron och därmed paralyseras parasiten. Däggdjur saknar GluCl och påverkas då normalt inte av ivermektin (Fass vet, 2011). Försiktighet bör dock iaktas för hundar av collieras eftersom de ofta har en genetisk mutation som ger ansamling av ivermektin i centrala nervsystemet (CNS). Vid höga halter kan även jonkanaler hos däggdjur påverkas (Roulet et al., 2003).

Läget i världen

Får

Ivermektin är en flitigt använd substans både inom veterinär- och humanmedicin och utveckling av resistens har blivit ett allt större problem framför allt hos parasiter som angriper livsmedelsproducerade djur och då i synnerhet små idisslare. På sina håll är läget riktigt allvarligt, speciellt när parasiter uppvisar resistens mot flera olika anthelmintika samtidigt (multipel resistens). Mest allvarligt är troligen läget hos får och getter på stora delar av södra halvklotet och där det finns flera rapporter om multiresistenta *Haemoncus contortus* i vissa regioner i bland annat Sydafrika, sydöstra USA, Sydamerika, Malaysia och Oceanien. Även resistensläget för parasiter hos nötkreatur har framför allt under senare år blivit väldigt allvarligt, med flest rapporter från Nya Zeeland, Brasilien och Argentina som pekar på en allt mer utbredd resistens hos framför allt *Cooperia spp.* På norra halvklotet är problemen inte lika stora men resistens finns här också och rapporter tyder på att den ökar i frekvens (Kaplan, 2004).

Häst

Resistens kan snabbt bli ett problem, vilket resistensutvecklingen mot ivermektin hos hästens spolmask (*Parascaris equorum*) är ett exempel på. I en studie från 2002 konstaterades det att trots ivermektin i två decennier varit den mest använda substansen mot parasiter hos hästar har inga fall av resistens rapporterats (Kaplan, 2002). Den första publicerade studien om ivermektinresistens hos *P. equorum* utfördes i Holland 2002 efter att veterinärer och djurägare i landet rapporterade om utebliven effekt mot spolmask vid användande av ivermektin på hästar under år 2000. Studien omfattade 26 hästar varav 19 föl. Reduktion av ägg efter behandling uteblev för fyra av fölen och resultaten tyder på att resistens är orsaken till den nedsatta effekten (Boersema et al., 2002), även om detta ännu inte blivit utrett i detalj.

Enligt en dansk studie från 2007 upptäcktes utebliven ivermektineffekt hos föl på en gård med travhästar i Danmark 2003. Efter kontroll av antalet ägg per gram (epg) i träcken hos fyra föl nio dagar efter behandling med ivermektin registrerades äggutskiljning hos alla fyra, i vissa fall upp till 1150 epg. I en uppföljande studie behandlades fem föl med ivermektin och alla uppvisade förhöjd epg efter 35 dagar. Ytterligare behandling med ivermektin sänkte epg men reduktionen av äggutskiljning var inte tillfredställande. Klart bättre effekt uppvisades med pyrantelbehandling, då fyra av fem föl svarade fullt ut (Schougaard & Nielsen, 2007). Även i en svensk studie från 2008 där 15 föl behandlades med ivermektin hade flera föl högre epg efter jämfört med innan behandling (Lindgren et al., 2008). 2009 publicerades en studie med 165 föl från sex svenska gårdar och dålig behandlingseffekt kunde bekräftas på fem av dem (Osterman Lind & Christensson, 2009). Ytterligare rapporter från olika länder, bland andra USA, Brasilien, Tyskland och Kanada visar på samma bild. Dock har det hittills inte kommit några rapporter om resistens hos någon annan av hästens parasiter (Craig et al., 2007; Molento et al., 2008; von Samson-Himmelstjerna et al., 2007; Slocombe et al., 2007).

Mekanism och funktion hos glutamatreglerade kloridjonkanaler (GluCl)

Glutamatreglerade kloridjonkanaler tillhör gruppen cys-loop receptorer där även flera andra receptorer som har visat sig ha affinitet för ivermektin ingår, till exempel GABA, noradrenalin, 5-HT₃ och glycin-receptorer. Gemensamt för cys-loop receptorer är att de genom konformationsförändring öppnar en kanal genom det membran de sitter i när en specifik ligand binder till deras receptor. Kanalen formas i mitten av proteinet som är uppbyggt av totalt fem subenheter vilka finns i α och β typ, varje enhet består av fyra membran-alfahelixar (M1, M2, M3, M4) och en stor extracellulär N-terminal (Beech et al., 2010).

Sedan ivermektin introducerades har ett flertal forskare arbetat med att undersöka hur det utövar sin effekt. Dock skulle det dröja mer än 10 år innan de med säkerhet funnit ivermektins huvudsakliga verkningsmekanism. Tidigt upptäcktes att flödet av kloridjoner i neuron ökade vid administrering av ivermektin samt att ivermektin till viss del binder till gamma-aminobutyric acid-receptorn (GABA-receptorn). Då Kass et al. (1980) fann att picrotoxin, en välkänd antagonist till GABA-receptorn, hämmade effekten av ivermektin blev GABA-receptorn en stark kandidat för ivermektinets verkningsställe. En rad indicier som pekade på att GABA-receptorn troligen inte kunde utgöra den huvudsakliga målstrukturen hos parasiter började dock snart dyka upp. Det var till exempel upptäckterna av att det inte bara fanns GABA-receptorer i centrala nervsystemet hos däggdjur, utan även i perifera ganglier och att ivermektin gav en reaktion i vissa försök trots okänslighet mot GABA samt att den koncentration av ivermektin som krävs för att stimulera GABA-receptorer är allt för hög för att ha klinisk relevans (Vercruyse & Rew, 2002).

Efter studier med *C. elegans* som modellorganism presenterades istället en glutamatreglerad kloridjon-kanal med stor affinitet för ivermektin (Arena et al., 1991, 1992). Senare visades att denna jonkanal är uppbyggd av två olika subenheter, α och β (Cully et al., 1994), och där att α -enheten (GluCl α) är ivermektin känslig och β -enheten (GluCl β) är glutamat känslig. Det har sedan visat sig att det finns en rad olika genvarianter på de båda subenheterna hos GluCl. Till exempel finns det bara hos *C. elegans* sex gener som kodar för olika subenheter varav några kan splicas alternativt och som då ger upphov till mer än en enhet. Det finns även stora variationer mellan olika grupper av ryggradslösadjur och de varianter som ses hos en art behöver nödvändigtvis inte finnas hos andra. Hos vertebrater finns det inga fynd av GluCl rapporterade (McCavera et al., 2007).

Resistensutveckling

Resistens hos parasiter kan antingen komma från en genförändring som direkt påverkar receptorn där det antiparasitära medlet verkar eller ge en förändring av koncentrationen av medlet vid verkningsstället i parasiten. En ändring av koncentrationen kan i sin tur bero på antingen ändrat uttryck och/eller funktion hos de transportproteiner som finns i membran eller ändrad funktion i metabolismen av substansen inne i cellen (James et al., 2009). Vad gäller resistans mot ivermektin har det visat sig kunna uppstå på alla dessa sätt (James & Davey, 2009; James et al., 2009; Beech et al., 2010).

Transportproteiner

Multidrug resistance-associated protein (MRP) och P-glykoproteiner (P-gp) är två transportproteiner som har visats viktiga vid utveckling av resistens mot anthelmintika. MRP är proteiner i cellmembran som aktivt transporterar ut främmande ämnen konjugerade av glutathion (GSH). P-gp är en typ av membranproteiner som aktivt transporterar främmande substanser ut ur cellen. Att transporten är aktiv och kräver ATP gör att det går att hämma förloppet med en rad olika substanser, exempelvis verapamil. I en studie undersöktes frekvensen för olika genvarianter (alleler) i den gen som kodar för P-gp hos olika *Haemonchus contortus* isolat varav vissa var resistenta respektive känsliga för ivermektin. Det visade sig att det fanns en stor genetisk variation hos vildtypen, medan det föreföll som om det fanns en signifikant selektion för en specifik allel i alla isolat som hade utvecklat resistens mot ivermektin (Blackhall, 1998).

Att P-gp spelar en viktig roll i utvecklingen av multiresistenta stammar visas även tydligt i en studie där resistenta isolat av *C. elegans* selekterades fram genom att gradvis utsätta känsliga isolat för stigande halter av ivermektin. Det visade sig sedan att dessa isolat inte bara hade utvecklat resistens mot ivermektin och moxidektin, men även mot andra preparat som levamisol och pyrantel som tillhör en helt annan substansgrupp än ML. Resistensen sammanfaller även med en kraftig uppreglering av generna MRP-1 och P-gp-1 och går att häva med inhibitorer mot dessa receptorer. Vid kontroll tre månader senare utan att isolaten utsattes för ivermektin kunde ingen skillnad i resistens ses. (James & Davey, 2009).

Glutamatreglerade kloridjonkanaler (GluCl)

Att ivermektinresistens hos parasiter kan utvecklas genom mutationer i gener som kodar för de subenheter som tillsammans formar GluCl bekräftas av vissa studier. Alla studier är inte gjorda på GluCl utan mycket information om resistensutvecklingen hos GluCl kommer från studier utförda på andra receptorer i samma cys-loop familj. Det är möjligt eftersom de är lika både i struktur och till funktion samt att många av dem är känsliga mot ivermektin, om än i högre koncentrationer.

Studier med hjälp av genmodifierade *C. elegans* visade att det krävs mutationer i samtliga gener som kodar för varsin variant av den ivermektinkänsliga α -subenheten, som var för sig kan bygga upp en fungerande GluCl, avr-14, avr-15 och glc-1, för att framkalla resistens hos *C. elegans*. Mutationer i enstaka gener eller i glc-1 tillsammans med någon av de två andra generna gav inte någon påtaglig skillnad. När både avr-14 och avr-15 slogs ut och bara glc-1 fungerade registrerades däremot en viss resistensökning, vilket ska jämföras med när alla slogs ut samtidigt och då ivermektinkänsligheten sjönk ca 4000 gånger. De kunde även visa på ett samband mellan två gener som kodar för strukturerna i gap-junctions, unc-7 och unc-9, och resistens, men endast när avr-15 genen var muterad samtidigt. I samma studie presenterades också en hypotes om ivermektins verkan hos *C. elegans* baserad på iakttagelser som visar att ivermektin har effekt genom att påverka framför allt pharynx som slutar pumpa hos känsliga maskar när de utsätts för ivermektin, vilket i sin tur leder till att de svälter ihjäl. Den presenterade hypotesen föreslår att bara GluCl α 2 (avr-15) som finns hos myocyter i

pharynx leder till en direkt hyperpolarisation i pharynx vilket gör att födointag hindras. GluCl α 3 (avr-14) och GluCl α 1 (glc-1) finns däremot enligt hypotesen bara i angränsande neuron och bidrar endast till att avdöda *C. elegans* när hyperpolarisation förmedlas vidare till pharynx via gap-junctions, vilket kräver fungerande unc-7 och unc-9 gener (Dent et al., 2000).

Kane et al. (2000) visade i en studie av GluCl α hos *Drosophila melanogaster* att substitution av en väl konserverad prolin i loopen direkt efter M2 (P299S) ger en 10 gånger högre resistens mot ivermektin än normalt. (Kane et.al, 2000).

I en studie där 1600 olika muterade varianter av den humana glycin receptorn screenades efter mutationer som kunde påverka känsligheten för ivermektin upptäcktes att det fanns en punktmutation i M2-helixen på position 258 där T byts till S vilken gav en 20 ggr ökning i känsligheten mot ivermektin. På position 288 i M3-helixen registrerades tre olika mutationer, (A288T, A288G och A288F) och där utbytet från A-T och A-F gav en total eller nästintill total förlust av känsligheten mot ivermektin. Ett byte från A till G gav däremot en ökning av ivermektinkänsligheten med nästan 100 ggr (Lynagh & Lynch, 2010a). I en uppföljande studie bekräftade att närvaro av en glysinenhet i M3-helixen på position 288 med säkerhet innebär att glycin receptorn är ivermektinkänslig samt att okänsliga receptorer blir känsliga om en glysin (G) införs på position 288. I denna studie konstaterades det också att detsamma gäller för motsvarande position på GluCl (Lynagh & Lynch, 2010b). Att det är viktigt med en glycin på just den positionen bekräftas även av en studie gjord på GluCl hos *Tetrananychus urticae*, bladlöss. En enda mutation G323D i M3 på motsvarande position som 288 hos den humana glysin-receptorn gav stor förlust av ivermektinkänslighet (18-gångar lägre) (Kwon et al., 2010).

DISKUSSION

Efter att ha arbetat med det här kandidatarbetet framgår det tydligt att parasiter är ett utbrett problem ffa hos betesdjur och som i praktiken är svårt att hålla i schack enbart med sanitär hygien som till exempel vård av beten. Vi behöver hjälp av tillförlitliga anthelmintika för att hålla parasittrycket på en rimlig nivå. Att resistens tillslut uppstår kan vi dock inte hindra för varje gång anthelmintika används utsätter vi parasitpopulationen för selektion där de parasiter som bättre står emot behandlingen överlever och för sina mer motståndskraftiga gener vidare, här gäller *survival of the fittest*. Men om vi ska kunna optimera tiden innan resistens uppstår när ett nytt preparat lanseras måste vi ändra vårt sätt att använda anthelmintika. Att det historiskt sett inte har funnits bra strategier är uppenbart då problem med resistens mycket snabbt har dykt upp för alla stora anthelmintikagrupper (Kaplan, 2004).

Ökad kunskap om mekanismerna bakom resistensutveckling är nödvändigt för att vi ska förstå och därmed kunna göra något åt problemen med anthelmintikaresistens (AR). Det är viktigt att till exempel tillförlitliga markörer utvecklas så att insatser mot AR kan sättas in innan resistensen bredd ut sig och för att förstå och förutspå hur snabbt AR kommer att utvecklas. Kunskap om resistensutveckling är även betydelsefullt för att kunna bedöma hur stor andel av parasitpopulationen som bör lämnas i refugia för att i största möjliga mån

motverka resistensutveckling så att varje anthelmintikasubstans kan användas så länge som möjligt innan det är nödvändigt att börja använda en ny.

Det står helt klart att det är på α -enheten hos GluCl som ivermektin har sin verkan men hur interaktionen mellan liganden och receptorn går till i detalj är inte säkerställt ännu (Cully et al., 1994). Klart är däremot att det finns en stor variation hos GluCl både inom och mellan olika parasitarter och att olika punktmutationer i GluCl hos parasiterna kan ge upphov till förändring i ivermektinkänsligheten (McCavera et al., 2007). Konsekvensen blir en komplex situation där den stora genetiska variationen får till följd att olika parasitarter reagerar olika mot ivermektin både vad gäller behandlingsresultat och resistensutveckling. Ett exempel är den studie som utfördes av Dent et al. 2000 som visar hur komplex resistensutvecklingen är hos *C. elegans*. Enligt denna studie var Tre olika gener som kodar för α -subenheter till GluCl samt två gener nödvändiga för fortplantning av hyperpolarisation över gap-junctions är inblandade (Dent et al., 2000). Än mer komplicerat blir det när inblandningen av transportproteiner beaktas. En studie genomförd av James & Davey 2009 visar på ett tydligt samband mellan två transportproteingener och ivermektinresistens (James & Davey, 2009). Totalt blir det då sju olika kända gener bara hos *C. elegans* som har betydelse vid resistensutvecklingen.

Det finns flera kända punktmutationer hos jonkanaler i cys-loop familjen som ger upphov till förändringar i ivermektinkänslighet, några har tagits upp i detta arbete. Dessa mutationer ändrar antingen strukturen hos jonkanalen som då ger upphov till ändrad styrka i bindningen till ivermektin, eller leder till konformationsändring i den kanal som ska öppnas. Mycket intressanta är de studier som visar att det är essentiellt med en glycin på en specifik position i M3 och som visar att dess närvaro till och med kan användas som en markör för att avgöra om jonkanalen är ivermektinkänslig (Kwon et al., 2010; Lynagh & Lynch, 2010b). Denna upptäckt känns som det största framsteget hittills vad gäller kunskapen om ivermektinresistens och förefaller vara ett stort steg i utvecklandet av ett test för att kunna bedöma ivermektinresistens i parasitpopulationer.

Mycket intressanta är även de studier gjorda på transportproteiner, men här måste läggas mer kraft på att klarlägga hur stor deras roll är vid resistens. Resultaten som presenteras av James & Davey 2009 pekar på inblandning vid utveckling av multiresistens men hur viktiga är transportproteiner i praktiken? Visar det sig att mycket av resistensen ute i fält beror på transportproteiner kan vi genom att tillsätta inhibitorer mot dessa i avmaskningsmedlen på ett mycket enkelt sätt återfå god effekt.

Den komplexa situationen som föreligger med resistens mot ivermektin lär det ta lång tid innan forskarna till fullo förstår. Det kommer krävas mycket mer insatser på området innan målet med optimala strategier är uppnått. Men all ny kunskap vi skaffar oss är ett viktigt steg på vägen och behövs för att successivt bättra på våra rutiner vad gäller skötsel av beten, djurhållning och avmaskningsrutiner, men även för att kunna utveckla nya substanser och identifiera nya målstrukturer. Kanske blir aldrig strategierna optimala men varje steg på vägen är viktigt.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Arena, J.P., Liu, K.K., Paress, P.S. & Cully, D.F. (1991). Avermectin-sensitive chloride currents induced by *Caenorhabditis elegans* RNA in *Xenopus* oocytes. *Molecular Pharmacology*, 40, 3, 368-374.
- Arena, J.P., Liu, K.K., Paress, P.S., Schaeffer, J.M. & Cully, D.F. (1992). Expression of a glutamate-activated chloride current in *Xenopus* oocytes injected with *Caenorhabditis elegans* RNA: evidence for modulation by avermectin. *Molecular Brain Research*, 15, 3-4, 339-348.
- Beech, R., Levitt, N., Cambos, M., Zhou S. & Forrester, S.G. (2010). Association of ion-channel genotype and macrocyclic lactone sensitivity traits in *Haemonchus contortus*. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 171, 74-80.
- Blackhall, W.J., Liu, H.Y., Xu, M., Prichard, R.K. & Beech, R.N. (1998). Selection at a P-glycoprotein gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains of *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 95, 193-201.
- Boersema, J.H., Eysker, M. & Nas, J. W.M. (2002). Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Veterinary Record*, 150, 279-281.
- Craig, T.M., Diamond, P.L., Ferwerda, N.S. & Thompson, J.A. (2007). Evidence of Ivermectin Resistance by *Parascaris equorum* on a Texas Horse Farm. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27, 2, Pages 67-71.
- Cully D.F., Vassilatis D.K., Liu K.K., Paress P.S., Van der Ploeg L.H., Schaeffer J.M., Arena J.P. (1994). Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 20, 371, 707-11.
- Dent, J.A., Smith, M.M., Vassilatis, D.K. & Avery, L. (2000). The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 6, 2674-2679.
- James, C.E. & Davey, M.W. (2009). Increased expression of ABC transport proteins is associated with ivermectin resistance in the model nematode *Caenorhabditis elegans*. *International Journal for Parasitology*, 39, 213-220.
- James, C.E., Hudson, A.L. & Dave, M.W. (2009). Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? *Trends in Parasitology*, 25, 7, 328-35.
- Kane, N.S., Hirschberg, B., Qian, S., Hunt, D., Thomas, B., Brochu, R., Ludmerer, S.W., Zheng, Y., Smith, M., Arena, J.P., Cohen, C.J., Schmatz, D., Warmke, J., Cully, D.F. (2000). Drug-resistant *Drosophila* indicate glutamate-gated chloride channels are targets for the antiparasitics nodulosporic acid and ivermectin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97, 13949-13954.
- Kaplan, R.M. (2002). Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Veterinary Research*, 33, 491-507.
- Kaplan, R.M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *TRENDS in parasitology*, 20, 10, 477-481.
- Kass, S., Wang, C.C., Walrond, J.P., & Stretton, A.O.W. (1980). Avermectin B_{1a}, a paralyzing anthelmintic that affects interneurons and inhibitory motoneurons in *Ascaris*. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 77, 10, 6211-6215.

- Kwon, D.H., Yoon, K.S., Clark, J.M., & Lee, S.H. (2010). A point mutation in a glutamate-gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Molecular Biology*, 19, 4, 583–591.
- Lindgren, K., Ljungvall, Ö., Nilsson, O., Ljungström, B.-L., Lindahl, C. & Höglund, J. (2008). *Parascaris equorum* in foals and in their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure of ivermectin. *Veterinary Parasitology*, 151, 337–343.
- Lynagh, T & Lynch, J.W. (2010a). An Improved Ivermectin-activated Chloride Channel Receptor for Inhibiting Electrical Activity in Defined Neuronal Populations. *The Journal of Biological Chemistry*, 285, 20, 14890–14897.
- Lynagh, T & Lynch, J.W. (2010b). A glycine residue essential for high ivermectin sensitivity in Cys-loop ion channel receptors. *International Journal for Parasitology*, 40, 1477–1481.
- Läkemedelsindustriföreningens service AB. FASS om djurläkemedel. [online]. Tillgänglig: <http://www.fass.se/LIF/home/index.jsp> . [2010-03-10].
- McCavera, S., Walsh, T.K. & Wolstenholme, A.J. (2007). Nematode ligand-gated chloride channels: an appraisal of their involvement in macrocyclic lactone resistance and prospects for developing molecular markers. *Parasitology*, 134, 1111–1121.
- Molento, M.B., Antunes, J., Bentes, R.N. & Coles, G.C. (2008). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Veterinary Record*, 162, 384–385.
- Osterman Lind, E. & Christensson, D. (2009). Anthelmintic efficacy on *Parascaris equorum* in foals on Swedish studs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51:45.
- Roulet, A., Puel, O., Gesta, S., Lepage, J.-F., Drag, M., Soll, M., Alvinerie, M., Pineau, T. (2003). MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology*, 460, 85–91.
- Schougaard, H. & Nielsen, M.K. (2007). Apparent ivermectin resistance of *Parascaris equorum* in foals in Denmark. *Veterinary Record*, 160, 439–440.
- Slocombe, J.O.D., de Gannes, R.V.G & Lake, M.C. (2007). Macrocyclic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. *Veterinary Parasitology*, 145, 371–376.
- Vercruyse, J. & Rew, R.S. (2002). *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy*. Wallingford: CABI Publishing.
- von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schürmann, S., Rohn, K., Schnieder, T. & Epe, C. (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Veterinary Parasitology*, 144, 74–80.