动物线虫抗药机制研究进展

姜 波[1],杨光友[1*],邓家波[2]　(1.四川农业大学动物科技学院,四川雅安 625014;2.四川省成都市动物园,四川成都 610041)

摘要　[目的]克服由于驱寄生虫药物抗药性的产生而严重制约世界畜牧业发展的问题。[方法]介绍动物线虫对苯并咪唑类、咪唑并噻唑类和大环内酯抗生素类3类驱虫药物的抗药机制的研究进展。[结果]动物寄生线虫对驱虫药的抗药机制主要是在线虫与药物选择压力的共同作用下,首先发生于药物受体基因的点突变,使其编码的药物受体结构改变而引起与药物的作用效应发生不同程度的变化,线虫获得一定的抗药性并将这些抗药基因变异遗传。[结论]动物线虫抗药机制的研究对控制线虫的感染和准确检测线虫抗药性均有重要意义。

关键词　线虫;抗药性;分子机制
中图分类号　S852.73+1　　文献标识码　A　　文章编号　0517-6611(2007)29-09255-03

Research Advances in Anthelmintic Resistance of Animal Nematodes

JIANG Bo et al　(College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

Abstract　[Objective]This paper aimed to conquer the problems restricting the development of world livestock production caused by the anthelmintic resistance of many parasitic nematode species. [Method] Research advances of anthelmintic resistance mechanism of animal nematodes to benzimidazole, imidazothiazole class and macrocyclic lactone class were introduced. [Result] Anthelmintic resistance of animal nematodes first betided in the mutation point of drug receptor gene under the interaction of nematodes and drug selective pressure. Therefore, the structure of drug receptor changed and the interaction effect with drug varied at different degrees. Nematodes obtained certain drug resistance and heritage these drug resistance genes. [Conclusion] The study on the mechanism of animal nematode anthelmintic resistance was of great significance to the control of nematode infection and accurate examination of nematode anthelmintic resistance.

Key words　Nematode; Anthelmintic resistance; Molecular mechanism

早在20世纪50年代,Drudge就叙述了动物寄生线虫对吩噻嗪(Phenothiazine)的抗药性[1]。60年代,一种广谱、高效的驱虫药噻苯咪唑(Thiabendazole)问世,但不久就发现有线虫对该药产生抗药性。此后问世的苯并咪唑类、咪唑并噻唑类、大环内酯类及四氢嘧啶类等驱虫药都无一幸免地出现抗药性。随着驱虫药的广泛应用,其抗药性问题也越来越严重,出现了驱虫药的副抗药性、交叉抗药性及多药抗药性现象。1985年,英国的Albert阐述了抗药性获得的4种类型[2]:位点外排除机制、基因表达增加、受体改变以及受体调节机制改变。随着对几大类驱虫药物作用机理和作用靶位的认识,最近几年在线虫对各类驱虫药物产生抗药性的分子机制方面的研究也取得了一定的进展,虽然线虫对各类药物的抗药性都不同,但是其抗药机制都与各自的药物受体基因和受体结构紧密相关。

1　线虫对苯并咪唑类药物的抗药机制

20世纪60年代初噻苯咪唑问世,但不久就发现某些线虫对该药产生抗药性。随着苯并咪唑类药物的相继问世,80年代起开始研究线虫对该类药物的抗药机制,研究主要集中于线虫细胞骨架蛋白β-微管蛋白。Sangster等研究发现,蛇形毛圆线虫(Trichostrongylus colubriformis)和捻转血矛线虫(Haemonchus contortus)对苯并咪唑类药物的抗药性都与虫体的药物受体β-微管蛋白有关,微管蛋白的结构发生改变导致其与苯并咪唑的亲和力下降[3-4]。Enox等应用蛋白质印迹技术研究秀丽隐杆线虫发现,分布于整个肠道细胞的丙硫咪唑抗药株微管蛋白结构发生改变,而敏感株中则没有检测到这种改变的微管[5]。这些研究充分说明线虫苯并咪唑类药物抗药性与虫体β-微管蛋白的相关性,而随后在基因方面的研究进一步揭示了线虫对抗药物的分子机制。在限制性核酸内切酶片段长度多态性(RFLP)分析中,发现2株丙硫咪唑抗药株与1株敏感虫株的DNA片段多态性存在显著差异,而2抗药株之间相同程度地趋于一致[6],同样的结果也表现在蛇形毛圆线虫上,且其抗药基因tcb-1的变异与捻转血矛线虫的等位基因gru-1的变异趋于一致[7],将线虫的抗药性直接指向了基因的差异。1994年,Kwa等研究捻转血矛线虫的苯并咪唑抗药株,发现抗药株的第1亚型β-微管蛋白200位点上的氨基酸残基发生保守变异,由苯丙氨酸(Phe)变异成酪氨酸(Tyr),Kwa把编码该变异β-微管蛋白基因转入到秀丽隐杆线虫药物敏感株中,发现虫体对苯并咪唑表现出抗药性[8-9],说明苯并咪唑抗药机制是由于虫体编码β-微管蛋白200位点氨基酸相对应的基因碱基由TTC变异成TAC,导致氨基酸由苯丙氨酸(Phe)变异成酪氨酸(Tyr),致使变异的药物受体对药物表现出亲和力下降的抗药性。

2002年,Von等通过比较粪便虫卵减少试验、虫卵孵化试验和β-微管蛋白200位点基因分型3种方法,检测同一虫株对苯并咪唑的抗药性,结果发现基因分型方法的结果与前2种试验结果存在较大偏差[10]。随后的研究表明,β-微管蛋白200位点突变并不是线虫苯并咪唑类药物抗药性的唯一突变位点。Silvestre等研究不同地域分离的3种线虫,发现每一种线虫的不同分离株都存在苯并咪唑抗药性等位基因多态性,在毛圆线虫种群发现8类等位基因;捻转血矛线虫种群有6类等位基因;蛇形毛圆线虫种群只有1类等位基因[11]。2004年,Drogemuller等对杯口属线虫的6个种进行了β-微管蛋白氨基酸序列分析,与苯并咪唑敏感株相比,4个抗药株在β-微管蛋白167位点上氨基酸由苯丙氨酸(Phe)变异成酪氨酸(Tyr),推测与该类药物的抗药机制有关[12]。Robinson等研究不同虫种也发现,β-微管蛋白药物结合部的167位点及其他氨基酸残基也影响到苯并咪唑与受

基金项目　成都大熊猫繁育研究基金会资助项目。
作者简介　姜波(1982-),男,四川名山人,硕士研究生,研究方向:动物寄生虫病学。* 通讯作者:博士,教授,E-mail:guang you1963@yahoo.com.cn。
收稿日期　2007-05-28

体的结合[13-15]。这些研究结果提醒在不同的药物选择压力下，动物寄生线虫对药物的抗药机制存在多种变异位点，但可以肯定的是这些变异位点集中于线虫 β-微管蛋白的第 166、167、200 以及 201 位等氨基酸残基组成的药物结合区，相应基因的碱基发生突变导致所编码的氨基酸残基改变，影响到蛋白受体构象及其药物效应。

此外还有研究报道，分离自不同国家的捻转血矛线虫、奥斯特线虫和蛇形毛圆线虫的苯并咪唑抗药株幼虫乙腺胆碱脂酶(AChE)含量显著高于敏感株[16]。Kerboeuf 等发现，捻转血矛线虫虫卵经小扁豆凝集素处理后对噻苯哒唑的抗药性提高了 50 %，且抗药株体内存在较多的 P-糖蛋白位点[17]。这些多药抗药性相关因素的共存也提示了药物抗药性的复杂性。

2 线虫对咪唑并噻唑类和四氢嘧啶类药物的抗药机制

研究线虫对咪唑并噻唑类药物抗药机制方面较多的是以自由生活的秀丽隐杆线虫(Caenorhabditis elegans)作为虫体模型。1980 年，Lewis 等发现秀丽隐杆线虫的左旋咪唑抗药株体内缺乏该药物作用的乙酰胆碱受体，在进行虫株左旋咪唑抗药性的遗传特性研究时发现，unc-29、unc-38、unc-50、unc-63、unc-74、lev-1 和 lev-7 等 7 个基因存在突变的虫株具有不同程度的抗药性，而 unc-29、unc-38 和 unc-63 的 3 个位点突变与线虫对左旋咪唑的抗药性紧密相关[18-19]。研究表明，这些基因编码了线虫乙酰胆碱受体的不同亚基，lev-8、unc-38 和 unc-63 基因编码该受体的 3 个 α-亚基，unc-29 和 lev-1 基因编码了 2 个非 α-亚基，其中编码 α-亚基的 unc-38 和编码非 α-亚基的 unc-29、lev-1 3 个基因与左旋咪唑抗药性相关，不同基因突变株之间的受体结构也有所不同[20-21]。说明这些基因的突变导致编码受体结构的改变，药物的作用效果也发生改变。1999 年，Richmond 等的研究也证实这样的结论，发现缺乏 unc-38 和 unc-29 基因的秀丽隐杆线虫对左旋咪唑的刺激响应下降，当这 2 个基因完全失活时，受体对药物的刺激响应消失[22]。2005 年，Touroutine 等从线虫体壁肌肉细胞分离到编码左旋咪唑迟钝乙酰胆碱受体的 acr-16 基因，发现该基因缺失型突变虫株对左旋咪唑的响应电流消失，说明 acr-16 编码秀丽隐杆线虫迟钝型乙酰胆碱受体的一个必需亚基[23]。由此可以看出，秀丽隐杆线虫对该类药物的抗药性与编码虫体药物受体的多基因发生突变紧密相关。

在对秀丽隐杆线虫进行研究的基础上，针对分离自动物的寄生性线虫抗药机制做了大量研究，发现多个与秀丽隐杆线虫抗药基因相对应的等位基因，如捻转血矛线虫的 hea-1 基因、有齿结节线虫(Oesophagostomum dentatum)的 Mpi 位点基因、蛇形毛圆线虫的 tar-1 等[24-26]。Martin 等对有齿结节线虫的乙酰胆碱受体进行电生理学分析，发现根据受体在受到电刺激后形成离子通道的反应时间和开放时间可分为 4 种亚型(G25、G35、G40 和 G45)，当左旋咪唑的浓度在 10 μmol/L 时，药物敏感株和抗药株呈现同样数量的离子通道，但当左旋咪唑的浓度在 30~100 μmol/L 时，抗药株的受体出现脱敏现象，离子通道的反应时间增大，而平均开放概率和开放时间下降。不仅如此，其中的一抗药分离株缺失 G35 亚型离子通道[24,27-28]。2006 年，Bartos 等研究发现，线虫 alpha7 型乙酰胆碱受体第 57 位点的谷氨酰胺发生点突变被甘氨酸替代后，该受体对左旋咪唑和乙酰胆碱不再响应，对噻咪啶的半数有效浓度(EC_{50})和最大响应值都较正常值下降[29]。表明编码动物线虫药物受体亚基的基因发生突变或丢失都可导致相应受体结构的改变，影响到药物离子通道对药物的响应，使得虫株获得对药物不同程度的抗药性。由于该类药物受体由多基因编码，除已知的与抗药性相关的亚基基因外，其余药物受体亚基基因与抗药性的关系，不同抗药基因与药物选择压力之间的突变联系以及与药物不同程度抗性方面的关系都还有待研究。

3 线虫对大环内酯抗生素类药物的抗药机制

线虫体内的大环内酯抗生素类药物受体有谷氨酸门控氯离子通道(GluCls)家族和 γ-氨基丁酸(GABA)门控氯离子通道受体，关于该药物的抗药机制研究主要集中于谷氨酸门控氯离子通道。1998 年，Blackhall 等研究捻转血矛线虫编码谷氨酸门控氯离子通道 α-和 β-亚基基因的遗传变异性，发现位于抗药株 α-亚基基因上与药物抗药性相关的一个等位基因频率增加，而另一个与药物敏感性相关的等位基因频率则减少，β-亚基基因在抗药株和敏感株之间没有明显差异，认为线虫对该类药物的抗药性与谷氨酸门控氯离子通道 α-亚基基因有关[30]。2004 年，Njue 等分别克隆表达点状古柏线虫(Cooperia oncophora)伊维菌素抗药株与敏感株的谷氨酸门控氯离子通道 α-和 β-亚基基因，相比发现 2 分离株的 α-和 β-亚基在氨基酸位点上分别存在 3 个和 2 个位点的突变，抗药株 β-亚基对谷氨酸不响应，抗药株 α-亚基对伊维菌素响应只有敏感株的 1/3，联合表达后的药物结合试验发现，抗药株 α-亚基上的 L256F 点突变与响应的差异有关[31-32]。此后又克隆表达了捻转血矛线虫、细颈杯环线虫(Cylicocyclus nassatus)等线虫谷氨酸门控氯离子通道的编码基因，得到的结论都是线虫对该类药物的抗药机制是由于编码药物受体的 α-亚基基因发生突变，使得受体通道的开放数目减少和与药物的亲和力下降而获得抗药性[33-35]。

γ-氨基丁酸(GABA)门控氯离子通道是哌嗪类药物的作用位点，但研究已证实这类通道也是大环内酯类药物的作用受体。直到 2002 年，Feng 等从捻转血矛线虫体内分离到编码 γ-氨基丁酸受体 α-亚基的 HG1 基因，并比较伊维菌素敏感株和抗药株的该基因序列，发现存在 4 个氨基酸的差别，把敏感株和抗药株的该基因分别与秀丽隐杆线虫该受体的 β-亚基基因(gab-1)共表达，发现形成的杂化受体对药物的敏感效应不同，当伊维菌素联合低剂量的 GABA 时，敏感株杂化受体的电流被激活，但抗药株的药物响应电流减弱，研究表明了伊维菌素抗药机制与 GABA 受体改变有关[36]。Blackhall 等的研究进一步指明 γ-氨基丁酸(GABA)门控氯离子通道与大环内酯类药物抗药性的联系，比较捻转血矛线虫的 γ-氨基丁酸受体的 HG1 基因，发现伊维菌素抗药株与敏感株之间，莫西菌素抗药株与敏感株之间在等位基因频率上有显著差异，两抗药株之间仅有 2 个位点的不同[37]。虽然研究提示了两者的相关性，但其机制还不清楚。

此外，研究还发现，多种药物抗性相关蛋白与该类药物的抗药性相关，如 P-糖蛋白(P-glycoprotein，P-gp)、ABC(ATP-binding cassette)运载体和 β-微管蛋白[38-41]。1998 年，Xu 等对捻转血矛线虫伊维菌素抗药株和敏感株的 P-糖蛋白基因进行序列分析，发现抗药株和敏感株的 P-糖蛋白基因在等

位基因多态性上存在明显差异,但 3 个抗药株之间该基因多态性变异趋于相同,而且该基因在抗药株上的表达量高于敏感株[42-43]。随后在杯口属线虫、旋尾盘丝虫(Onchocerca volvulus)等线虫的 P-糖蛋白基因研究中也发现基因多态性现象[44-45]。研究结果表明,P-糖蛋白与线虫对该类药物的抗药性存在相关性,但这些差异与线虫的大环内酯类药物抗药机制的关系还有待进一步研究。而有关 ABC 运载体和 β-微管蛋白对该类药物的抗药性仅是推测,两者之间的具体机制或是否相关尚不清楚。

4　结语

综上所述,动物寄生线虫对驱虫药的抗药机制主要是在线虫与药物选择压力的共同作用下,首先发生于药物受体基因的点突变,使其编码的药物受体结构改变而引起与药物的作用效应发生不同程度的变化,线虫获得一定的抗药性并将这些抗药基因变异遗传。虽然一些与药物抗药性相关的基因已得到证实,还建立了多种分子检测方法应用于临床寄生线虫抗药性的检测,但是现有的研究结果更指出了线虫药物抗药机制的多重性和复杂性,各类药物的抗药机制还未完全阐明,深入开展动物寄生线虫抗药机制的研究仍将是今后进行动物寄生线虫预防和控制的工作重点之一。

参考文献

[1] 谢明权,李国清.现代寄生虫学[M].广州:广东科技出版社,2003:384-402.

[2] ALBERT,ADRIEN.Selective toxicity:the physico-chemical basis of therapy[M].7th ed.London:Chapman and Hall,1985:206-265.

[3] SANGSTER N C,PRICHARD R K,LACEY E.Tubulin and benzimidazole-resistance in Trichostrongylus colubriformis(Nematoda)[J].The Journal of Parasitoligy,1985,71(5):645-651.

[4] LACEY E,PRICHARD R K. Interactions of benzimidazoles(BZ)with tubulin from BZ-sensitive and BZ-resistant isolates of Haemonchus contortus[J]. Molecular and Biochemical Parasitoligy,1986,19(2):171-181.

[5] ENOX A,COLES G C.Effect of benzimidazole drugs on tubulin in benzimidazole resistant and susceptible strains of Caenorhabditis elegans[J].The Journal of Parasitoligy,1990,20(2):161-167.

[6] BEECH R N,PRICHARD R K,SCOTT M E.Genetic variability of the beta-tubulin genes in benzimidazole-susceptible and -resistant strains of Haemonchus contortus[J].Genetics,1994,138(1):103-110.

[7] GRANT W N,MASCORD L J.Beta-tubulin gene polymorphism and benzimidazole resistance in Trichostrongylus colubriformis [J]. International Journal for Parasitology,1996,26(1):71-77.

[8] KWA M S,VEENSTRA J G,ROOS M H.Benzimidazole resistance in Haemonchus contortus is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype 1 [J].Biochem Parasitoligy,1994,63(2):299-303.

[9] KWA M S,VEESTRA J G,VAN DIJK M,et al.Beta-tubulin genes from the parasitic nematode Haemonchus contortus modulate drug resistance in Caenorhabditis elegans[J].Journal of Molecular Biology,1995,246(6):500-510.

[10] VON SAMSON-HIMMELSTJERAN G,VON WITAENDORFF C,SIEVERS G,et al.Comparative use of faecal egg count reduction test,egg hatch assay and beta-tubulin codon 200 genotyping in small strongyles (cyathostominae) before and after benzimidazole treatment[J].Veterinary Parasitology,2002,108(3):227-235.

[11] SILVESTRE A,HUMBERT J F.Diversity of benzimidazole-resistance alleles in populations of small ruminant parasites[J].International Journal for Parasitology,2002,32(7):921-928.

[12] DROGEMULLER M,SCHNIEDERT,VONSAMSON-HIMMELSTJERNA G.Beta-tubulin complementary DNA sequence variations observed between cyathostomins from benzimidazole-susceptible and resistant populations[J].The Journal of Parasitoligy,2004,90(4):868-870.

[13] ROBINSON M W,MCFERRAN N,Trudgett A,et al.A possible model of benzimidazole binding to beta-tubulin disclosed by invoking an inter-domain movement[J].Journal of Molecular Graphics and Modeling,2004,23(3):275-284.

[14] MELVILLE L A,SYKES A M,MCCARTHY J S.The beta-tubulin genes of two Strongyloides species [J].Experimental Parasitology,2006,112(3):144-151.

[15] BLACKHALL W J,DROGEMULLER M,SCHNIEDER T,et al.Expression of recombinant beta-tubulin alleles from Cylicocyclus nassatus (Cyathostominae) [J].Parasitology Research,2006,99(6):687-693.

[16] SUTHERLAND I A,LEE D L.Acetylcholinesterase in infective-stage larvae of Haemonchus contortus,Ostertagia circumcincta and Trichostrongylus colubriformis resistant and susceptible to benzimidazole anthelmint[J].Parasitoligy,1993,107(5):553-557.

[17] KERBOEUF D,GUEGNARD F,LE VERN Y.Analysis and partial reversal of multidrug resistance to anthelmintics due to P-glycoprotein in Haemonchus contortus eggs using Lens culinaris lectin[J].Parasitology Research,2002,88(9):816-821.

[18] LEWIS J A,WU CH,LEVINE J H,et al.Levamisole-resistant mutants of the nematode Caenorhabditis elegans appear to lack pharmacological acetylcholine receptors[J].Neuroscience,1980,5(6):967-989.

[19] LEWIS J A,WU C H,BERG H,et al.The genetics of levamisole resistance in the nematode Caenorhabditis elegans [J].Genetics,1980,95(4):905-928.

[20] FLEMING J T,SQUIRE M D,BARNES T M,et al.Caenorhabditis elegans levamisole resistance genes lev-1,unc-29,and unc-38 encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits[J].The Journal of Neuroscience,1997,17(15):5843-5857.

[21] TOWERS P R,EDWARDS B,RICHMOND J E,et al.The Caenorhabditis elegans lev-8 gene encodes a novel type of nicotinic acetylcholine receptor alpha subunit [J].Journal of Neurochemistry,2005,93(1):1-9.

[22] RICHMOND J E,JORGENSEN E M.One GABA and two acetylcholine receptors function at the C.elegans neuromuscular junction [J]. Nature Neuroscience,1999,2(9):291-297.

[23] TOUROUTINE D,FOS R M,VON STETINA S E,et al.Acr-16 encodes an essential subunit of the levamisole-resistant nicotinic receptor at the Caenorhabditis elegans neuromuscular junction[J]. The Journal of Biological Chemistry,2005,280(29):27013-27021.

[24] ROBERTSON A P,BJORN H E,MARTIN R J.Resistance to levamisole resolved at the single-channel level [J].The Faseb Journal,1999,13(6):749-760.

[25] SNABEL V,DEMEEWSS T,VARADY M,et al.The sexually linked Mpi locus is presumably involved in imidothiazole resistance in Oesophagostomum dentatum parasites [J].Parasitology Research,2000,86(6):486-490.

[26] WALKER J,HOEKSTRA R,ROOS M H,et al.Cloning and structural analysis of partial acetylcholine receptor subunit genes from the parasitic nematode Teladorsagia circumcincta [J].Molecular Biochemistry Parasitology,2001,97(4):329-335.

[27] ROBERTSON A P,BJORN H E,MARTIN R J.Pyrantel resistance alters nematode nicotinic acetylcholine receptor single-channel propert[J].European of Journal Pharmacology,2000,394(1):1-8.

[28] MARTIN R J,ROBERTSON A P.Electrophysiological investigation of anthelmintic resistance[J].Parasitology,2000,120:87-94.

[29] BARTOS M,RAYES D,BOUZAT C.Molecular determinants of pyrantel selectivity in nicotinic receptors[J].Pharmacol,2006,70(4):1307-1318.

[30] BLACKHALL W J,POULIOT J F,PRICHARD R K,et al.Haemonchus contortus:selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin and moxidectin-selected strains [J].Experimental Parasitology,1998,90(1):42-48.

[31] NJUE A I,HAYASHI J,KINNE L,et al.Mutations in the extracellular domains of glutamate-gated chloride channel alpha3 and beta subunits from ivermectin-resistant Cooperia oncophora affect agonist sensitivity[J].Journal of Neurochemistry,2004,89(5):1137-1147.

[32] NJUE A I,PRICHARD R K.Genetic variability of glutamate-gated chloride channel genes in ivermectin-susceptible and resistant strains of Cooperia oncophora[J].Parasitology,2004,129(6):741-751.

(下转第 9260 页)

(上接第 9257 页)

[33] FREEMAN A S,NGHIEM C,LI J,et al.Amphidial structure of ivermectin-resistant and susceptible laboratory and field strains of Haemonchus contortus[J].Parasitology,2003,110(3-4) :217-226.

[34] GUERRERO J,FREEMAN A S. Amphids:the neuronal ultrastructure of macrocyclic -lactone -resistant Haemonchus contortus [J]. Parassitologia,2004,46(1-2) :237-240.

[35] TANDON R,LEPAGE K T,KAPLAN R M. Cloning and characterization of genes encoding alpha and beta subunits of glutamate - gated chloride channel protein in Cylicocyclus nassatus [J].Molecular and Biochemical Parasitology,2006,105(1) :46-55.

[36] FENG X P,HAYASHI J,BEECH R N,et al.Study of the nematode putative GABA type -A receptor subunits:evidence for modulation by ivermectin [J].Journal of Neurochemistry,2002,83 (4) :870-878.

[37] BLACKHALL W J,PRICHARD R K,BEECH R N.Selection at a gamma -aminobutyric acid receptor gene in Haemonchus contortus resistant to avermectins/milbemycins [J].Molecular and Biochemical Parasitology,2003,131(2) :137-145.

[38] SMITH J M,PRICHARD R K. Localization of p -glycoprotein mRNA in the tissues of Haemonchus contortus adult worms and its relative abundance in drug -selected and susceptible strains [J]. Parasitology,2002,88(3) :612-620.

[39] ARDELLI B F,GUERRIERO S B,PRICHARD R K. Characterization of a half-size ATP-binding cassette transporter gene which may be a useful marker for ivermectin selection in Onchocerca volvulus [J].Molecular and Biochemical Parasitology,2006,145(1) :94-100.

[40] BOURGUINA C,PION S D,KAMGNO J,et al.Genetic polymorphism of the beta-tubulin gene of Onchocerca volvulus in ivermectin naive patients from Cameroon,and its relationship with fertility of the worms[J].Parasitology,2006,132(2) :255-262.

[41] ENG J K,BLACKHALL W J,OSEI-ATWENEBOANA M Y,et al. Ivermectin selection on beta -tubulin:Evidence in Onchocerca volvulus and Haemonchus contortus [J].Molecular and Biochemical Parasitology,2006,150(2) :229-235.

[42] XU M,MOLENTO M,BLACKHALL W,et al.Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P -glycoprotein homolog [J].Molecular and Biochemical Parasitology,1998,91(2) : 327-335.

[43] BLACKHALL W J,LIU H Y,XU M,et al.Selection at a P - glycoprotein gene in ivermectin and moxidectin-selected strains of Haemonchus contortus [J].Molecular and Biochemical Parasitology, 1998,95(2) :193-201.

[44] DROGEMULLER M,SCHNIEDERT,VONSAMSON-HIMMELSTJERNA G. Evidence of p -glycoprotein sequence diversity in cyathostomins [J].Parasitology,2004,90(5) :998-1003.

[45] ENG J K,PRICHARD R K.A comparison of genetic polymorphism in populations of Onchocerca volvulus from untreated and ivermectin-treated patients [J]. Molecular and Biochemical Parasitology,2005, 142(2) :193-202.