UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

UČINEK BUČNIH POGAČ (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) IN NAGELJNOVIH ŽBIC (*Syzygium aromaticum*) NA IZLOČANJE JAJČEC ŽELODČNO-ČREVESNIH ZAJEDAVCEV PRI DROBNICI

THE EFFECT OF PUMPKIN SEED CAKES (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) AND CLOVES (*Syzygium aromaticum*) ON GASTROINTESTINAL NEMATODES EGG SHEDDING IN SMALL RUMINANTS

Karmen Mirtič

Nina Rešetič

Ljubljana, 2020

UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 636.03.09:616.34-008.89:615.322:635.62:633.832(043.2)

UČINEK BUČNIH POGAČ (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) IN NAGELJNOVIH ŽBIC (*Syzygium aromaticum*) NA IZLOČANJE JAJČEC ŽELODČNO-ČREVESNIH ZAJEDAVCEV PRI DROBNICI

THE EFFECT OF PUMPKIN SEED CAKES (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) AND CLOVES (*Syzygium aromaticum*) ON GASTROINTESTINAL NEMATODES EGG SHEDDING IN SMALL RUMINANTS

Karmen Mirtič

Nina Rešetič

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom doc. dr. Jožice Ježek na Kliniki za reprodukcijo in velike živali in somentorstvom doc. dr. Aleksandre Vergles Rataj na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo.

Ljubljana, 2020

KLJUČNE BESEDE: ovce, bolezni – parazitologija; nematoda – učinki zdravil; antihelmintiki – terapevtska raba; rastlinski izvlečki – terapevtska raba; *Cucurbita* – terapevtska raba; *Syzygium* – terapevtska raba; feces – parazitologija; štetje jajc parazitov – veterina

POVZETEK

Invazije z želodčno-črevesnimi nematodi pri drobnici ogrožajo zdravje in dobrobit živali ter zmanjšujejo prirejo. Zaradi napredujočega razvoja rezistence zajedavcev proti antiparazitikom je treba poiskati še druge možnosti za njihovo odpravljanje. Nekatere rastline vsebujejo bioaktivne snovi s potencialnim antiparazitnim delovanjem, mednje spadajo tudi buče (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) in nageljnove žbice (*Syzygium aromaticum*). V naši raziskovalni nalogi smo proučevali vpliv krmljenja bučnih pogač in zmletih nageljnovih žbic na telesno kondicijo, barvo očesnih veznic ter izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev v iztrebkih ovc. Raziskava je potekala od sredine decembra 2019 do začetka januarja 2020. Izvedli smo jo v tropu ovc jezersko-solčavske pasme pri 30 odraslih živalih, razdeljenih v tri skupine po deset ovc. Prva skupina je sedem dni poleg običajnega obroka dobivala dodatek bučnih pogač (200 g dan/žival), druga skupina dodatek zmletih nageljnovih žbic (1,8 g dan/žival), tretja skupina pa je dobivala običajen krmni obrok in je služila kot kontrolna skupina. Pred začetkom poskusa in pet dni po koncu krmljenja dodatkov smo ocenili telesno kondicijo in barvo očesnih veznic živali ter jim odvzeli iztrebke, v katerih smo s koprološkimi metodami iskali razvojne oblike želodčno-črevesnih in pljučnih zajedavcev. V povprečju se je v skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač, po 12 dneh od začetka poskusa število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 52,9 %, pri skupini, krmljeni z dodatkom nageljnovih žbic, pa za 40,6 %. Pri kontrolni skupini se je število jajčec *Strongylida* v povprečju povečalo za 8,7 % glede na vrednost pred začetkom poskusa. Pri primerjavi ocen telesne kondicije in barve očesnih veznic pred začetkom in po koncu krmljenja dodatkov nismo ugotovili statistično značilnih razlik. Statistično značilno se je poslabšala samo ocena za barvo očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala zmlete nageljnove žbice. Z raziskavo smo ugotovili, da sta dodatek bučnih pogač in dodatek nageljnovih žbic zmanjšala izločanje jajčec zajedavcev v tropu ovc jezersko-solčavske pasme in bi lahko predstavljala eno od lahko dostopnih in enostavnih možnosti za pomoč pri nadzoru nad zajedavskimi boleznimi pri drobnici.

KEY WORDS: Sheep, diseases – parasitology; nematoda – drug effects; anthelmintics – therapeutic use; plant extracts – therapeutic use; *Cucurbita* – therapeutic use; *Syzygium* – therapeutic use; feces – parasitology; parasite egg count – veterinary

SUMMARY

Infestation with gastrointestinal nematodes in small ruminants endanger the health and welfare of animals and reduce production. Due to the spreading resistance development of parasites there is an increasing need to find sustainable alternatives to control nematodes. Some plants contain bioactive substances that have a potential anthelmintic effect. The aim of this study was to evaluate the effect of suplemented pumpkin seed cakes and ground cloves on the body condition score, the colour of eye mucous membranes and gastrointestinal nematodes egg shedding in sheep. The experiment took place from December 2019 to January 2020. Alltogether, 30 adult ewes of the Jezersko-Solčava breed were randomly divided into three groups of 10 animals. Group 1 received suplemented pumpkin seed cakes for 7 days (200 g per day per animal) in the feed ratio. Group 2 received suplemented ground cloves for 7 days (1.8 g per day per animal) in the feed ratio. Group 3 served as the control group received only common feed ratio with no suplementation. In the beginning of the experiment and after 12 days, the body condition score and the colour of eye mucous membranes were evaluated. In the same days, fecal samples were collected to perform a parasitological examination for gastrointestinal and lung parasites. On average, the decreasing of *Strongylida* eggs per gram of feces in the group 1 was 52.9 % and in the group 2 it was 40.6 %. In the control group, the number of *Strongylida* eggs increased on average by 8.7 % based on the values in the beginning of our experiment. When comparing the body condition and eye mucosa colour score before and after feeding the supplements, no significant differences were found. Only the colour of eye mucous membrane in the group receiving ground cloves significantly deteriorated. This results show that both pumpkin seed cakes and ground cloves could be an effective tool in reducing *Strongylida* egg shedding and thus represent a practical and easily available possibility to control parasitic invasions.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD 1

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA 1

1.2 CILJ RAZISKOVANJA 2

1.3 DELOVNE HIPOTEZE 2

2 PREGLED LITERATURE 4

2.1 ZAJEDAVSKE BOLEZNI DROBNICE 4

2.1.1 Razred sesačev (Trematoda) 4

2.1.1.1 Vampov sesač (*Paramphistomum* spp.) 5

2.1.1.2 Veliki metljaj (*Fasciola hepatica)* 5

2.1.1.3 Mali metljaj (*Dicrocoelium dendriticum)* 6

2.1.2 Razred želodčno-črevesnih črvov (Nematoda) 6

2.1.2.1 *Haemonchus contortus* 7

2.1.2.2 *Ostertagia* spp. 8

2.1.2.3 *Trichostrongylus* spp. 8

2.1.2.4 *Cooperia* spp. 8

2.1.2.5 *Nematodirus* spp. 9

2.1.2.6 *Strongyloides* spp. 9

2.1.2.7 *Trichuris* spp. 9

2.1.2.8 *Protostrongylidae* 10

2.1.2.9 *Dictyocaulidae* 10

2.1.3 Razred trakulj (Cestoda) 11

2.1.3.1 *Moniezia* spp. 11

2.1.4 Praživali ali protozoji 11

2.1.4.1 *Eimeria* spp. 12

2.2 DIAGNOSTIKA NOTRANJIH ZAJEDAVCEV 13

2.2.1 Klinična slika 13

2.2.2 Parazitološke preiskave 14

2.2.2.1 Sedimentacija 14

2.2.2.2 Flotacija 15
2.2.2.3 Metoda McMaster 16
2.2.2.4 Metoda po Vajdi 17
2.3. ANTIPARAZITIKI 18
2.3.1 Benzimidazoli 18
2.3.2 Makrociklični laktoni 19
2.3.3 Imidazotiazoli 19
2.4 ODPORNOST ZAJEDAVCEV PROTI ANTIPARAZITIKOM 20
2.5 KONTROLA UČINKOVITOSTI ZDRAVLJENJA 25
2.6 DRUGE METODE ZATIRANJA PARAZITOV 27
2.6.1 Bioaktivne sestavine rastlin 27
2.6.1.1 Bučna semena 29
2.6.1.2 Nageljnove žbice 31
2.6.2 Biološki nadzor 33
2.6.3 Selekcija odpornih živali 34
2.6.4 Izboljšanje odpornosti zaradi vpliva krme 35
2.6.5 Tehnologija paše 36
2.6.6 Cepljenje 38
3 MATERIALI IN METODE 39
3.1 MATERIAL 39
3.2 METODE 40
3.2.1 Ocena telesne kondicije 41
3.2.2 Ocena barve očesnih veznic 41
3.2.3 Parazitološke preiskave 41
3.2.4 Statistična analiza 42
4 REZULTATI 43
4.1 OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC 43
4.2 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE 48

5 RAZPRAVA 55

5.1 OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC 55

5.2 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE 56

6 SKLEPI 59

7 POVZETEK 60

8 ZAHVALE 62

9 LITERATURA 63

10 PRILOGE 70

9.1 PRILOGA 1 – POROČILO O PRESKUŠANJU 70

KAZALO SLIK

Slika 1: Jajčeca nematodov pod mikroskopom – 40-kratna povečava (Rešetič, 2020) 7
Slika 2: Sedimentacijska metoda (Mirtič, 2020) 15
Slika 3: Flotacijska metoda (Mirtič, 2020) 16
Slika 4: Metoda McMaster (Mirtič, 2020) 17
Slika 5: Metoda po Vajdi (Mirtič, 2020) 18
Slika 6: Trop ovc, vključen v raziskavo (Rešetič, 2020) 39
Slika 7: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri kontrolni skupini 43
Slika 8: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri kontrolni skupini 44
Slika 9: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač 45
Slika 10: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač 46
Slika 11: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek nageljnovih žbic 47
Slika 12: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek nageljnovih žbic 48
Slika 13: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v kontrolni skupini pred tretmajem in po njem 49
Slika 14: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač, pred tretmajem in po njem 50
Slika 15: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, ki je dobivala dodatek zmletih nageljnovih žbic, pred tretmajem in po njem 51
Slika 16: Srednja vrednost števila jajčec *Strongylida* pri posamezni skupini ovc pred tretmajem in po njem ter delež zmanjšanja ali povečanja števila jajčec pri posamezni skupini 53

KAZALO TABEL

Tabela 1: Povzetek rezistence proti antiparazitikom pri glavnih želodčno-črevesnih zajedavcih drobnice v Evropi (Rose in sod., 2015) 24
Tabela 2: Sestava bučnih pogač 40

KAZALO ENAČB

Enačba 1: Izračun zmanjšanja števila jajčec ……..…….…… 42

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Zatiranje parazitoz je ključno za uspešnost prireje drobnice, saj zajedavci vplivajo na zdravje in dobrobit živali ter povzročajo velike gospodarske izgube. Različne načine in strategije zatiranja zajedavcev so proučevali v številnih študijah. V zadnjih desetletjih je zdravljenje temeljilo na intenzivni kemoprofilaksi (Hoste in sod., 2006), vendar pa v različnih delih sveta in po Evropi čedalje pogosteje poročajo o pojavu rezistence želodčno-črevesnih zajedavcev proti antiparazitikom (Waller, 1997; Sargison in sod., 2001), kar je predvsem posledica njihove prepogoste in neustrezne uporabe. Zaradi omejitev pri uporabi teh zdravil, pojava rezistence in navsezadnje tudi zaradi vse večjega zavedanja porabnikov glede ostankov zdravil v živilih živalskega izvora se povečujeta zanimanje in potreba po iskanju drugih načinov za zatiranje zajedavcev. Eno od možnosti predstavljajo rastline, ki niso le vir hranljivih snovi, ampak vsebujejo tudi bioaktivne snovi s potencialnim antiparazitnim delovanjem (Hordegen in sod., 2003). Znanstvenih dokazov o antiparazitni učinkovitosti rastlinskih proizvodov pri drobnici je malo, zato se zanimanje za raziskave na tem področju povečuje (Hoste in sod., 2006).

Rastline in njihovi ekstrakti se že vse od začetka obstoja človeštva uporabljajo kot zdravilne učinkovine (terapevtiki) za različne zdravstvene težave. Vsaj 25 odstotkov aktivnih sestavin zdravil, trenutno dovoljenih v ZDA in Veliki Britaniji, so izolirali iz rastlin. Kljub temu je glede njihovih farmakoloških lastnostih raziskanih manj kot 10 odstotkov vseh rastlinskih vrst. To pomeni, da za raziskave obstaja še veliko potencialnih snovi z antiparazitnimi oziroma zdravilnimi učinki (Hoste in sod., 2006).

Semena buč naj bi pospešila izločanje trakulj iz prebavil (Guarrera, 1999). Ekstrakt bučnih semen je *in vitro* zmanjšal možnost preživetja ličink nematodov in vplival na zmanjšano izločanje jajčec nematodov pri drobnici, zato bi bil po mnenju avtorjev uporaben za nadzor nad zajedavci (Grzybek in sod., 2016). Ekstrakt nageljnovih žbic (*Syzygium aromaticum)* – 0,5 mg/ml – je zaviral aktivnost sukcinat dehidrogenaze (SDH) pri odraslih osebkih nematodov *Haemochus contortus in vitro*, kar je zmanjšalo proizvodnjo ATP pri zajedavcu in

povzročilo njegov pogin (Veerakumari in Kumar, 2017). V drugi raziskavi je ekstrakt *Syzygium aromaticum* deloval ovicidno na *Haemonchus contortus* ter povzročil pogin odraslih osebkov (Charitha in sod., 2017). Pri poskusu *in vitro* je ekstrakt *Syzygium aromaticum* povzročil pogin sesačev *Fasciola gigantica*. Po mnenju avtorjev so mlete nageljnove žbice učinkovite kot antiparazitik (Kumar in Singh, 2014).

1.2 CILJ RAZISKOVANJA

V raziskavi smo želeli preučiti vpliv bučnih pogač in nageljnovih žbic na izločanje jajčec notranjih zajedavcev pri drobnici. Zaradi pojava rezistence notranjih zajedavcev proti antiparazitikom smo iskali nove načine za zatiranje zajedavcev. Namen raziskave je bil ugotoviti, ali so bučne pogače in nageljnove žbice učinkovite pri zmanjševanju števila izločenih jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev. Na ta način bi lahko rejcem drobnice svetovali dodatne ukrepe za nadzor zajedavcev pri živalih.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

V raziskavi smo želeli preveriti naslednje hipoteze:

1. Krmljenje ovc z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic vpliva na izboljšanje ocene telesne kondicije in barve očesnih veznic.
2. Krmljenje ovc z dodatkom bučnih pogač vpliva na zmanjšano izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev.
3. Krmljenje ovc z dodatkom zmletih nageljnovih žbic vpliva na zmanjšano izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev.

Obrazložitev hipotez:

V naši raziskavi smo poskušali dokazati ugoden vpliv krmljenja ovc z dodatkom zmletih nageljnovih žbic in bučnih pogač. Želeli smo ugotoviti, ali dodajanje bučnih pogač in nageljnovih žbic vpliva na izboljšanje telesne kondicije in barve očesnih veznic. Poleg tega

smo želeli preveriti, ali se po dodatku nageljnovih žbic oziroma bučnih pogač zmanjša število izločenih jajčec na gram iztrebkov pri posamezni živali.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 ZAJEDAVSKE BOLEZNI DROBNICE

Zajedavske bolezni pri drobnici predstavljajo pomemben zdravstveni problem, ki rejcem povzroča gospodarsko škodo in negativno vpliva na počutje živali. Posledično pride do zmanjšanega apetita, slabšega prirasta, hujšanja in driske. Zajedavci oslabijo imunski sistem, poslabšata se plodnost in mlečnost živali. Nekateri sesajo kri in povzročajo anemijo, hipoproteinemijo in nastajanje oteklin (edemov) na ventralnih delih telesa (Jacobs in sod., 2016).

Notranji zajedavci na različne načine škodujejo živali: črpajo hranljive snovi, uničujejo tkivo in motijo prehod črevesne vsebine. Delimo jih lahko na razrede (Trematoda, Cestoda, Nematoda, Protozoa) in glede na mesto zajedanja. Najpogostejši notranji zajedavci pri drobnici so želodčno-črevesni črvi (gliste), ki invadirajo siriščnik in črevesje ovc in koz. V pljučih zajedajo pljučni črvi (gliste), ki povzročajo težave z dihali, kot so pljučnice in bronhitisi. Eimerije povzročajo prebavne motnje in driske predvsem pri jagnjetih in kozličih. Živali so pogosto sočasno invadirane z različnimi zajedavci (Jacobs in sod., 2016).

V raziskavi, opravljeni v letu 2016, so ugotavljali prisotnost jajčec zajedavcev v vzorcih iztrebkov ovc in koz iz različnih rej v Sloveniji. Najpogosteje so določili jajčeca *Strongylida*, kar v 88,6 odstotka vzorcev, in oociste *Eimeria* spp. v 85,6 odstotka vzorcev. V manjšem številu so določili tudi *Protostrongylidae*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Trichuris* spp., *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus* spp. in *Moniezia* spp. (Kodermac in Tušar, 2016).

2.1.1 Razred sesačev (Trematoda)

Sesači (Trematoda) v svojem razvojnem krogu potrebujejo vmesnega gostitelja, najpogosteje mehkužca. Pri sesačih se lahko iz enega jajčeca razvije tudi več sto odraslih osebkov. Odrasli sesači ležejo jajčeca, v katerih se razvije miracidij. Polž požre miracidija ali pa se ta vanj zavrta. V polžu se razvije sporocista, iz nje pa večje število redij, razen pri malem metljaju

(*Dicrocoelium dendriticum)*. Sledi razvoj cerkarij, ki polža zapustijo in se nalepljene na rastline, razen pri malem metljaju, spremenijo v metacerkarije. Te so invazijska oblika sesača. Ko končni gostitelj zaužije metacerkarijo, se iz nje sprosti juvenilni sesač, ki potuje na mesto zajedanja. Tam spolno dozori in začne izločati jajčeca (Taylor in sod., 2016). Jajčeca sesačev v iztrebkih ugotavljamo s sedimentacijsko metodo (Zajac in Conboy, 2006).

2.1.1.1 Vampov sesač (*Paramphistomum* spp.)

Vampov sesač (*Paramphistomum* spp.*)* zajeda v predželodcih prežvekovalcev, mladi sesači pa zajedajo v sluznici tankega črevesja (Taylor in sod., 2016). Invazija živali z vampovim sesačem se pojavlja predvsem na vlažnejših pašnikih in v bližini voda, ker je vmesni gostitelj zajedavca semiakvatični polž (*Planorbis* in *Bulinus).* Odrasli paraziti v predželodcih tudi v večjem številu praviloma ne povzročajo klinično zaznavne bolezni. Težave povzroča sočasna invazija z velikim številom razvojnih oblik sesača, ki se zavrtajo v sluznico vitega črevesja (ileuma) in dvanajstnika (duodenuma) ter se prehranjujejo s steno črevesja. Povzročajo erozije na sluznici, enteritis, krvavitve, ulceracije, anemijo in hipoproteinemijo (Taylor in sod., 2016). Pri mladih živalih se to kaže z vodeno drisko, napenjanjem pri izločanju iztrebkov, neješčnostjo in povečano žejo. Zaradi hipoproteinemije se lahko pojavi podčeljustni edem. Odrasle sesače v vampu lahko ugotovimo le pri posmrtnem pregledu poginule živali (Zajac in Conboy, 2006).

2.1.1.2 Veliki metljaj (*Fasciola hepatica)*

V jetrih prežvekovalcev zajeda veliki metljaj (*Fasciola hepatica)*. Za svoj razvoj potrebuje vmesnega gostitelja, malega blatnega polža *(Galba truncatula),* zato se pojavlja pri živalih, ki se pasejo na vlažnih pašnikih in v bližini vode. Največ metacerkarij v okolju je od avgusta do oktobra. Med deževnimi poletji je na pašnikih število metacerkarij večje kot med suhimi. Do invazije pride, ko končni gostitelj zaužije metacerkarijo, pripeto na travno bilko. V tankem črevesju prežvekovalcev se iz metacerkarij izležejo juvenilni sesači, ki skozi trebušno votlino potujejo do jeter. Pri tem povzročajo poškodbe jetrnega tkiva in krvavitve. V žolčevodih se razvijejo odrasli metljaji in tam zaključijo razvojni krog z izločanjem novih jajčec. Veliki metljaj poškoduje žolčevode, posledično pride do zadebelitve in povečanja žolčnika.

Zajedavci se prehranjujejo s krvjo, zato lahko pride do anemije. Bolezen lahko poteka v akutni, subakutni ali kronični obliki. Akutna fascioloza (metljavost) se pojavi pozno poleti, zaradi migracije velikega števila mladih sesačev. Prihaja do hudih poškodb jetrnega tkiva in krvavitev, zato so pogosti pogini. Živali, ki invazijo preživijo, so anemične, slabotne in težko dihajo. Pojavijo se trebušna vodenica (ascites) in bolečine v trebuhu. V poznojesenskih in zimskih mesecih bolezen poteka subakutno. Ko živali dalj časa zauživajo metacerkarije, zajedavci poškodujejo žolčevode in parenhim jeter. Ovce hujšajo, so anemične, pojavljata se ascites in podčeljustni edem. Ob koncu zime in zgodaj spomladi se pojavlja kronična oblika fascioloze. Opazimo izgubo telesne mase, slabši apetit, živali so slabotne in imajo slabšo mlečnost (Taylor in sod., 2016).

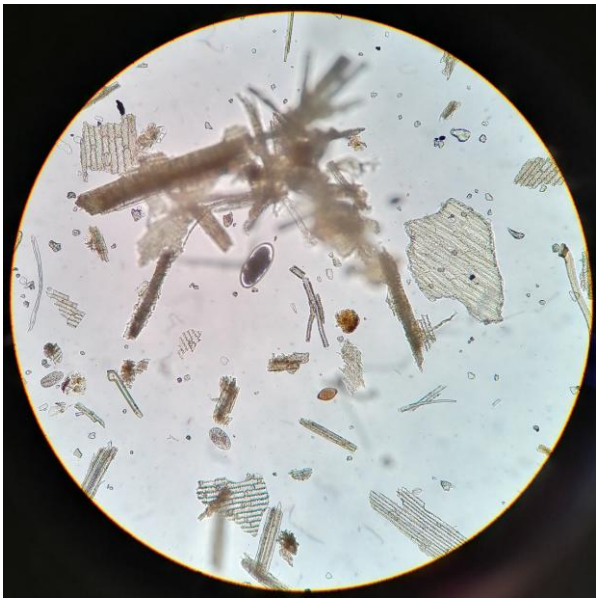
2.1.1.3 Mali metljaj (*Dicrocoelium dendriticum)*

V razvojnem krogu malega metljaja (*Dicrocoelium dendriticum)* sodelujeta dva vmesna gostitelja – suhozemni polž in mravlja. Ker vmesna gostitelja nista vezana na vodo, se mali metljaj pojavlja na suhih pašnikih. Živali se invadirajo, ko požrejo mravlje, okužene z metacerkarijo, na travnih bilkah. Mali metljaj je manj patogen od velikega, verjetno zato, ker ne potuje po jetrnem parenhimu. Poškoduje predvsem žolčevode in povzroča zadebelitev njihovih sten. Invazija pri živalih večinoma poteka subklinično, pri močnejši invaziji prihaja do anemije, oteklin in oslabelosti živali (Taylor in sod., 2016). Jajčeca malega metljaja so temne barve z že izoblikovanim miracidijem (Zajac in Conboy, 2006).

2.1.2 Razred želodčno-črevesnih črvov (Nematoda)

V razred nematodov spadajo različni želodčno-črevesni črvi (*Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Ostertagia* spp., *Haemonchus contortus* in drugi). Za vse je značilen neposreden razvojni krog. Samice črvov izločajo jajčeca v prebavila živali, ki se z iztrebki prenesejo v okolje. Jajčeca se v ugodnih razmerah razvijejo v ličinke, ki gredo skozi več razvojnih stadijev (od L1 do L3, ki je invazijska oblika). Invazijske ličinke so najpogosteje pripete na travne bilke, kjer jih pašne živali zaužijejo in tako sklenejo razvojni krog zajedavca. Jajčeca lahko prezimijo na pašnikih in spomladi povzročijo invazijo pri pašnih živalih (Bowman, 2014).

Jajčeca nematodov (razen jajčec metastrongilidov) v iztrebkih ugotavljamo s flotacijsko metodo (Slika 1) (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).



Slika 1: Jajčeca nematodov pod mikroskopom – 40-kratna povečava (Rešetič, 2020)

Figure 1: Eggs of nematodes under the microscope – 40x magnification (Rešetič, 2020)

2.1.2.1 *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus spada med najbolj patogene predstavnike *Trichostrongyloidea.* Naseljuje sluznico siriščnika in se prehranjuje s krvjo. Patogeni so ličinke in odrasli paraziti. Hemonhoza lahko pri ovcah poteka perakutno, akutno in kronično. Pri perakutni obliki pride do hemoragičnega gastritisa in pogina v roku enega tedna po hudi invaziji, brez očitnih kliničnih znakov. Pri akutni obliki pride do hude anemije, hipoproteinemije in edemov na ventralnih delih telesa ter ascitesa (Taylor in sod., 2016). Apetit je ohranjen, iztrebki so normalno formirani, razen v primeru sočasne invazije z drugimi zajedavci (Bowman, 2014). Pri kronični obliki se pojavi mikrocitna anemija kot posledica pomanjkanja železa. Ovce hujšajo, so oslabele, imajo blede očesne veznice, pojavita se pohitreno dihanje in bitje srca (Besier in sod., 2016). Na območju, kjer ta vrsta zajedavcev prevladuje, so razvili sistem FAMACHA za ugotavljanje invadiranosti živali s krvosesnim *Haemonchus contortus.*

Stopnjo anemije ocenjujemo na podlagi barve očesnih veznic in na ta način poiščemo močneje invadirane živali. Bolj prizadete živali nato selektivno zdravimo (Fleming in sod., 2006).

2.1.2.2 *Ostertagia* spp.

Teladorsagia (Ostertagia) circumcincta in *Ostertagia trifurcata* zajedata v siriščniku prežvekovalcev. Ostertagioza se pojavlja v dveh oblikah, glede na čas pojava in starost gostitelja. Pri tipu 1 gre za poletno invazijo, ki prizadene mlade živali na prvi paši. Tip 2 se pojavi pri odraslih živalih pozimi, ko se hipobiotske ličinke prebudijo. Ličinke poškodujejo sluznico siriščnika in žleze, ki proizvajajo proencim pepsinogen in želodčno kislino. Posledično se zviša pH siriščnika (z 2 na 6), kar onemogoči aktivacijo pepsinogena. To povzroči moteno prebavo beljakovin. V črevesju se lahko razmnožijo bakterije, ki jih sicer kisel pH v siriščniku uniči. Značilni klinični znaki so gastroenteritis, anemija, driska, dehidracija, izguba apetita in hujšanje (Taylor in sod., 2016).

2.1.2.3 *Trichostrongylus* spp.

Trichostrongylus axei zajeda v siriščniku, ostale vrste *Trichostrongylus (T. colubriformis, T. vitrinus, T. rugatus)* v tankem črevesju. Zajedavci poškodujejo sluznico siriščnika in črevesja, prihaja do abomasitisa, enteritisa in atrofije črevesnih resic. Klinični znaki so driska ali zaprtje, dehidracija in hujšanje. Mlade živali lahko ob močnih akutnih invazijah poginejo (Taylor in sod., 2016).

2.1.2.4 *Cooperia* spp.

Cooperia spp. zajeda v tankem črevesju prežvekovalcev. Pogosteje jo najdemo pri govedu kot pri drobnici. Največkrat se pojavlja sočasno z drugimi zajedavci (*Haemonchus* spp. ali *Ostertagia* spp.). Pri živalih se pojavijo driska, ki je lahko vodena, zelene do črne barve, dehidracija in hujšanje (Taylor in sod., 2016).

2.1.2.5 *Nematodirus* spp.

Nematodirus spp. zajeda v tankem črevesju prežvekovalcev. *Nematodirus battus* je najbolj patogen za ovce, pogine lahko do 20 odstotkov jagnjet. Najbolj patogene so ličinke, ki se razvijajo v sluznici ileuma in jo pri tem močno poškodujejo. Klinična slika se pogosto pojavi spomladi, ko zunanje temperature presežejo 10 °C, kar omogoči izvalitev ličink iz jajčec. Najpogosteje zbolevajo jagnjeta v starosti 6–12 tednov. Pojavita se vodena rumeno zelena driska in huda dehidracija. Pogin jagnjet se začne 2–3 dni po izbruhu bolezni. Takrat se jajčeca zajedavcev še ne pojavijo v iztrebku. *Nematodirus* spp. sproži razvoj imunosti v 3–4 tednih, ki traja doživljenjsko. Jagnjeta, mlajša od 6 tednov, so zavarovana z maternalnimi protitelesi. Po 10. tednu je njihov imunski sistem že dovolj razvit, da kljubujejo invaziji (Jacobs in sod., 2016).

2.1.2.6 *Strongyloides* spp.

Za *Strongyloides papillosus* je značilno, da v epiteliju resic tankega črevesja zajedajo samo odrasle samice. Povzročajo enteritis in erozijo epitelija. Pride do motene prebave in resorpcije ter slabega prirasta mladih živali. Imajo značilen razvojni krog, kjer samice ležejo jajčeca, iz katerih se razvijejo rabditiformne ali filariformne oblike ličink. Iz slednjih se razvijejo invazijske ličinke, iz rabditiformnih pa prostoživeči samci in samice (Taylor in sod., 2016). Invazijske ličinke lahko v gostitelja prodrejo skozi kožo, usta ali z mlezivom. Prodiranje ličink skozi kožo okončin je pogostejše v vlažnih hlevih, v slabih razmerah reje, kjer so živali na globokem, vlažnem nastilju. Invazija povzroči nelagodje in lokalne poškodbe kože s krastami. Poleg tega se lahko zaradi migracije ličink skozi pljuča pojavi oteženo dihanje (Taylor in sod., 2016).

2.1.2.7 *Trichuris* spp.

Trichuris spp. zajeda v slepem črevesju in se prehranjuje s krvjo. Klinični znaki se pojavijo samo ob hudi invaziji, ko pride do hemoragičnega kolitisa (Taylor in sod., 2016).

2.1.2.8 *Protostrongylidae*

Pljučne črve ali gliste (*Protostrongylus* spp.*, Müllerius capillaris, Neostrongylus* spp.) pogosteje najdemo pri kozah kot pri ovcah (Kodermac in Tušar, 2016). Zbolijo mlade živali na prvi paši, ko še nimajo razvite imunosti. Razvojni krog zajedavca se začne, ko samica v pljučih izleže embrionirana jajčeca. Iz njih se izvalijo ličinke L1. Ob kašlju ličinke L1 pridejo v ustno votlino ali žrelo in jih živali požrejo. Ličinke L1 se v okolje izločijo z iztrebki. Tam preživijo do 10 mesecev. Družina *Protostrongylidae* za svoj razvoj potrebuje vmesnega gostitelja – polža. Ličinka L1 se zavrta v polža, se tam dvakrat levi in se v dveh tednih razvije v ličinko L3. To zaužije končni gostitelj. Nato migrira v steno debelega črevesja in mezenterialne limfne vozle. Na poti skozi *ductus thoracicus*, srce in arterije pljuč se ličinke še dvakrat levijo. V pljučnem tkivu tvorijo parazitarne vozliče. Pljučne gliste povzročajo bronhitise ali verminozne pljučnice. Invadirane živali navadno začnejo kašljati proti koncu poletja, postanejo neješče in hujšajo. Če pride do sekundarne bakterijske infekcije, živali dobijo vročino. Huda invazija lahko povzroči pogin živali kljub zdravljenju z antiparazitiki (Taylor in sod., 2016). Za ugotavljanje ličink L1 pljučnih črvov v iztrebkih drobnice uporabljamo metodo po Vajdi ali Baermannu, kjer izkoriščamo termotropizem ličink (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

2.1.2.9 *Dictyocaulidae*

Za drobnico je izmed pljučnih črvov najbolj patogen *Dictyocaulus filaria*. Naseljuje bronhije drobnice in divjih prežvekovalcev ter povzroča zajedavske pljučnice. Za razliko od drugih pljučnih črvov *Dictyocaulidae* ne potrebujejo vmesnega gostitelja (Zajac in Conboy, 2006). Ličinke L1 se z iztrebki izločijo v okolje. Razvoj do ličinke L3 poteka od pomladi do jeseni. Žival zaužije ličinko L3, ki kasneje migrira iz prebavnega trakta v pljuča. Pozimi so v pljučih hipobiotske ličinke, ki dozorijo spomladi. Poleti ali jeseni se pojavijo klinični znaki, ki so hujši pri mladih živalih. Prihaja do kašlja in slabega prirasta, lahko tudi do močno oteženega dihanja in dolgotrajnega izcedka iz nosnic (Taylor in sod., 2016).

2.1.3 Razred trakulj (Cestoda)

Za trakulje je značilno segmentirano telo, zgrajeno iz več proglotid. Vsak segment vsebuje moške in ženske spolne organe. Razvojni krog je posreden, za razvoj potrebujejo vmesnega gostitelja (pri *Moniezia* spp. so to pršice v okolju) (Zajac in Conboy, 2006). Gostitelj izloča jajčeca z iztrebki. Jajčeca so obdana z ovojnico, pod katero je embriofora, znotraj katere je onkosfera s trni. Po zaužitju jajčeca želodčna kislina vmesnega gostitelja sprosti onkosfero. Ta potuje do mesta zajedanja in se oblikuje v stopnjo, imenovano metacestoda. Ko končni gostitelj poje vmesnega gostitelja z metacestodo, se skoleks metacestode pripne na sluznico črevesja. Iz skoleksa zraste odrasla trakulja (Taylor in sod., 2016). Pogosto rejci sami opazijo odrivke trakulje v iztrebkih (Zajac in Conboy, 2006). Jajčeca trakulj iz že razpadlih odrivkov v prebavilih se dokazujejo s flotacijsko metodo (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

2.1.3.1 *Moniezia* spp.

Moniezia spp. je trakulja, ki zajeda v tankem črevesju prežvekovalcev. Invazija je pogosta pri jagnjetih v prvem letu življenja, pri starejših živalih se pojavlja redkeje. Največkrat ne povzroča kliničnih znakov. Ob močnejši invaziji lahko pride do driske, zaprtja in slabe telesne kondicije. Trakulja lahko zraste do dolžine šestih metrov in povzroči zaporo črevesja, zastrupitev organizma in pogin. Trakulje z lahkoto določimo, ko v iztrebkih opazimo proglotide ali značilna jajčeca (Taylor in sod., 2016).

2.1.4 Praživali ali protozoji

Enocelični organizmi, eimerije, imajo značilen razvojni krog, ki ga lahko razdelimo na tri stopnje. Začetna faza nespolnega razmnoževanja, ki poteka v epitelni celici gostitelja, se imenuje shizogonija. Sledi ji spolna delitev, imenovana gametogonija, kjer se združujejo ženske in moške spolne celice. Tako nastane nesporulirana oocista, ki se izloči v okolje z iztrebki. V ugodnem okolju sledi tretja stopnja razmnoževanja, sporogonija ali sporulacija, kjer se oocista deli v štiri spore, v vsaki spori pa dozorita dva sporozoita. Izoblikuje se sporulirana oocista, ki je sposobna invazije.

Ko gostitelj zaužije sporulirano oocisto iz okolja, se sprostijo sporozoiti in invadirajo posamezne epitelne celice. Začne se razvoj shizonta, ki je epitelna celica, napolnjena z merozoiti (produkti delitve trofozoita). Ko celica gostitelja poči, lahko merozoiti invadirajo nove epitelne celice kot trofozoiti. Glede na vrsto eimerij poteka različno število ciklov shizogonije. Ko merozoit vstopi v spolno razmnoževanje ali gametogonijo, se lahko preoblikuje v makrogameto, žensko spolno celico, ali mikrogameto, moško spolno celico. Ob združitvi teh dveh nastane zigota, okrog katere se oblikuje ovojnica. Nastane nesporulirana oocista, ki zapusti gostitelja in sporulira. Oociste so zelo odporne proti zunanjim vplivom in lahko v okolici preživijo več let. V ugodnih razmerah lahko sporulirajo že v 2–3 dneh. Imunost gostitelja se razvija počasi, število zajedavcev pa se hitro povečuje (Jacobs in sod., 2016). Oociste eimerij v iztrebkih ugotavljamo s flotacijsko metodo (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

2.1.4.1 *Eimeria* spp.

Eimerije povzročajo bolezen, imenovano kokcidioza. Pojavlja se predvsem pri mladih živalih (jagnjeta/kozliči) v starosti treh tednov do šestih mesecev. Invadirane mlade živali izločajo velike količine oocist in so tako glavni vir kontaminacije okolja. Eimerije so vrstno specifične (ne prehajajo med živalskimi vrstami, npr. med govedom in ovcami). Prisotne so lahko tudi pri odraslih živalih, pri katerih praviloma ne povzročajo zdravstvenih težav. Bolezen izbruhne ob stresnih situacijah, ko se zmanjša odpornost živali. Stres lahko predstavljajo selitev živali, menjava krmnega obroka, prenaseljenost, porod, različni veterinarski in zootehnični posegi. Bolezen je pogostejša ob slabi higieni v hlevih. Tako so živali v naravi in v pašnih sistemih reje manj izpostavljene oocistam, kar vodi v manjšo invadiranost. Večina invazij poteka brez kliničnih znakov, saj je tanko črevo prežvekovalcev dolgo in se črevesne celice hitro obnavljajo. Ob hujši invaziji prihaja do slabe absorpcije hranilnih snovi iz tankega črevesja. Bolj patogene so eimerije, ki invadirajo končni del tankega črevesja, slepo in debelo črevo. Pri močni invaziji pride do hude, lahko tudi krvave driske. Živali so neješče, se napenjajo ob iztrebljanju in so zaradi bolečin zgrbljene. Prizadete živali oslabijo, zaostanejo v rasti in lahko tudi poginejo (Taylor in sod., 2016). Kokcidiozo preprečujemo z vsakodnevnim čiščenjem hlevov. Nastilj mora biti čist in suh. Krmo polagamo v jasli, da preprečimo njeno onesnaženje z iztrebki (Jacobs in sod., 2016).

2.2 DIAGNOSTIKA NOTRANJIH ZAJEDAVCEV

2.2.1 Klinična slika

Klinični znaki parazitoz so odvisni od vrste gostitelja, njegove starosti in odpornosti, prav tako od vrste povzročitelja. Pogosto so živali sočasno invadirane z različnimi zajedavci. Prenaseljenost živali, preveč popaseni pašniki, slaba prehrana in slaba higiena hlevov povečajo možnost za pojav parazitoz. Najpogostejši klinični znaki so prebavne motnje, driska, hujšanje, slab prirast, slabokrvnost, otekline na ventralnih delih telesa, kašelj in oteženo dihanje. Pri diagnostiki si pomagamo z anamnestičnimi podatki (Pogačnik in sod., 1998).

Ena od glavnih ovir pri selektivnem pristopu zdravljenja je pomanjkanje učinkovite in cenovno dostopne metode za odkrivanje živali, ki zdravljenje res potrebujejo. V Južni Afriki so razvili sistem FAMACHA, ki se uporablja za ugotavljanje stopnje anemije pri živalih na osnovi barve očesnih veznic (Bath in sod., 1996). Slabost te metode je, da je učinkovita le za zaznavanje invazije s krvosesnimi želodčno-črevesnimi zajedavci, kot je *Haemonchus contortus*, pri katerem je anemija glavni patološki učinek (Fleming in sod., 2006). Prav zaradi tega je bilo treba sistem dopolniti tako, da zajema tudi nekrvosesne zajedavce. V ta namen uporabljamo sistem kontrole petih kritičnih točk – Five Point Check (Bath in van Wyk, 2009).

Opazujemo:

- okolico nosnic – nosni izcedek lahko kaže na invazijo z nosnimi zolji, ki povzročajo poškodbe nosnih in obnosnih votlin. Če sta zraven prisotna tudi kašelj in oteženo dihanje, posumimo na pljučne črve;
- očesne veznice (sistem FAMACHA) – za ugotavljanje krvosesnih zajedavcev in drugih vzrokov, ki povzročajo anemijo;
- glava – močne invazije s paraziti povzročijo pomanjkanje beljakovin v krvi, kar vodi v nastanek edema ventralnih delov telesa, najpogosteje podčeljustnega edema. Priporočljivo je, da izključimo druge vzroke za hipoproteinemijo;
- hrbet – ocenjujemo telesno kondicijo živali. Neizenačena kondicija med živalmi iste starosti je lahko posledica kroničnih bolezni, med katere uvrščamo tudi zajedavske bolezni;

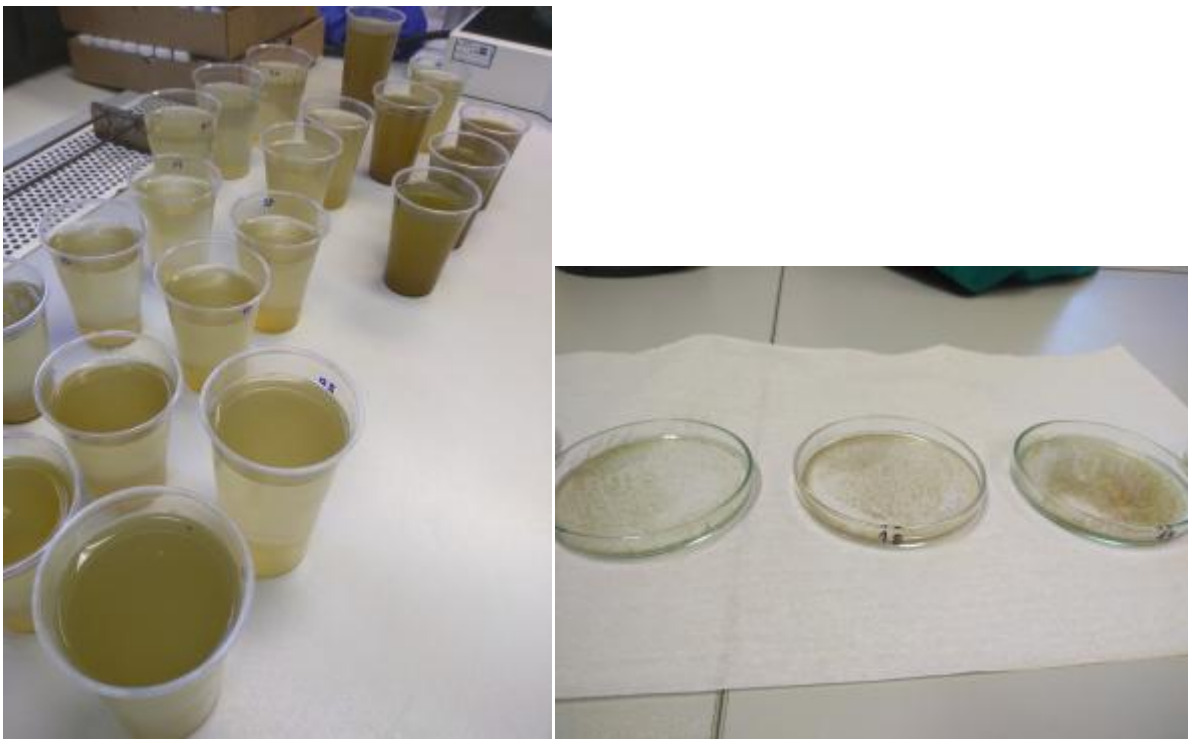
– rep – opazujemo okolico repa in prisotnost driske. Večina notranjih zajedavcev povzroča driske, vendar je lahko vzrok tudi drugje. Najprimerneje je zdraviti le živali z drisko, saj to predstavlja smotrno uporabo antiparazitikov.

2.2.2 Parazitološke preiskave

Prisotnost parazitov lahko potrjujemo z različnimi parazitološkimi preiskavami. Ugotavljamo prisotnost jajčec, oocist ali ličink parazitov, priporočljivo je tudi štetje jajčec ali oocist na gram iztrebka. Kadar so v organizmu prisotne samo mlade oblike parazitov, ki še ne izločajo jajčec, koprološka preiskava ni zanesljiva. Za koprološke preiskave odvzamemo sveže iztrebke, po možnosti iz danke živali. Pri prežvekovalcih se izogibamo jemanju iztrebkov s tal (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Priporočljiva je redna kontrola iztrebkov, vsaj enkrat na leto, pred in 7–14 dni po zdravljenju proti zajedavcem. Za učinkovito zdravljenje velja, če se število jajčec na gram iztrebka zmanjša za več kot 90 odstotkov (FDA, 2020).

2.2.2.1 Sedimentacija

Sedimentacija je kvalitativna diagnostična koprološka metoda, kjer iščemo težka jajčeca v iztrebkih. Težka jajčeca imajo višjo specifično težo kot voda (ca. 1,3), zato v vodi potonejo na dno. Sedimentacijo izvedemo tako, da 2–3 g iztrebka razpršimo skozi sito v čašo, napolnjeno z vodovodno vodo. Počakamo trideset minut, da se jajčeca posedejo na dno. Nato odlijemo tri četrtine vsebine čaše in ponovno dolijemo vodo. Po desetih minutah postopek ponovimo. Večkrat ko speremo vsebino čaše, laže bomo pregledali sediment. Ko je vsebina v čaši dovolj bistra, večino vode odlijemo, sediment pa pretočimo v petrijevko z ravnim dnom. Sediment pregledamo pod mikroskopom. S to metodo dokazujemo jajčeca digenih sesačev, vendar lahko opazimo tudi jajčeca nematodov, večjih oocist kokcidij in jajčeca trakulj (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

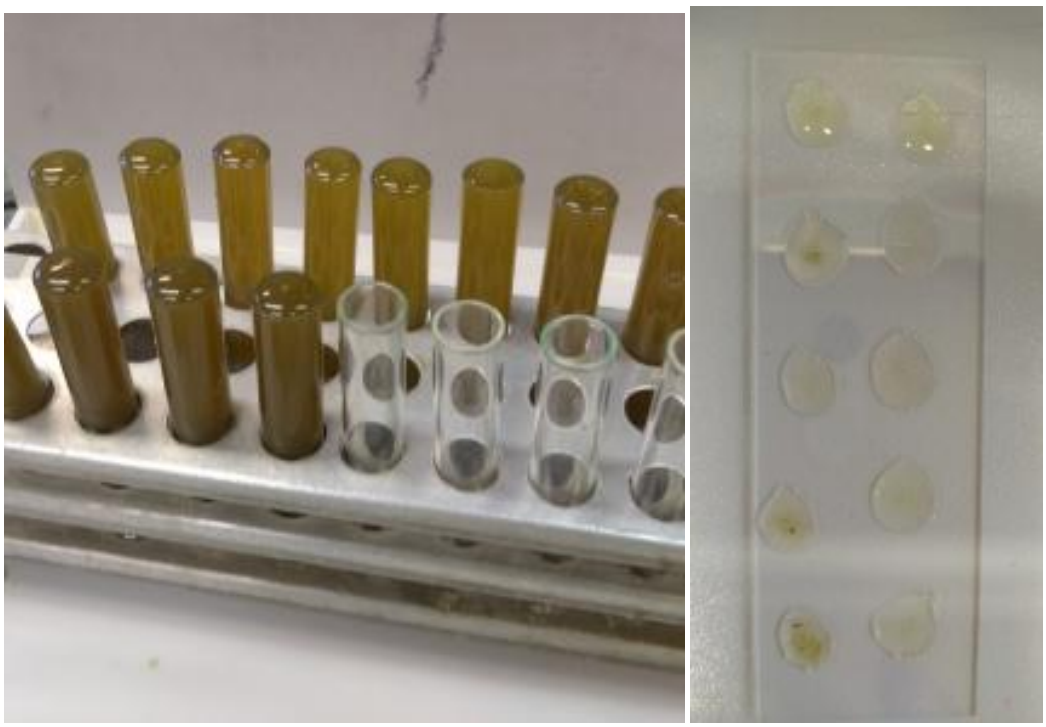


Slika 2: Sedimentacijska metoda (Mirtič, 2020)

Figure 2: Sedimentation method (Mirtič, 2020)

2.2.2.2 Flotacija

Flotacija je kvalitativna diagnostična koprološka metoda, kjer iščemo lahka jajčeca v iztrebkih. Za to metodo potrebujemo nasičeno raztopino NaCl, v kateri lahka jajčeca lebdijo (imajo specifično težo, manjšo od 1,2). V prahovko damo 2–3 g iztrebkov in jih prelijemo z nasičeno raztopino NaCl ter dobro premešamo. Pripravimo epruvete, v katere do roba nalijemo precejeno tekočino iz prahovke (ustvari se nam izbočena površina). Počakamo tri do pet minut, da se lahka jajčeca naberejo na sredini konveksne površine. Z mikrobiološko zanko zajamemo kapljico iz sredine konveksne površine in jo prenesemo na predmetnico. Še eno kapljico ujamemo iz roba tekočine. Pod mikroskopom lahko določamo jajčeca nematodov, oociste eimerij in jajčeca trakulj (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).



Slika 3: Flotacijska metoda (Mirtič, 2020)

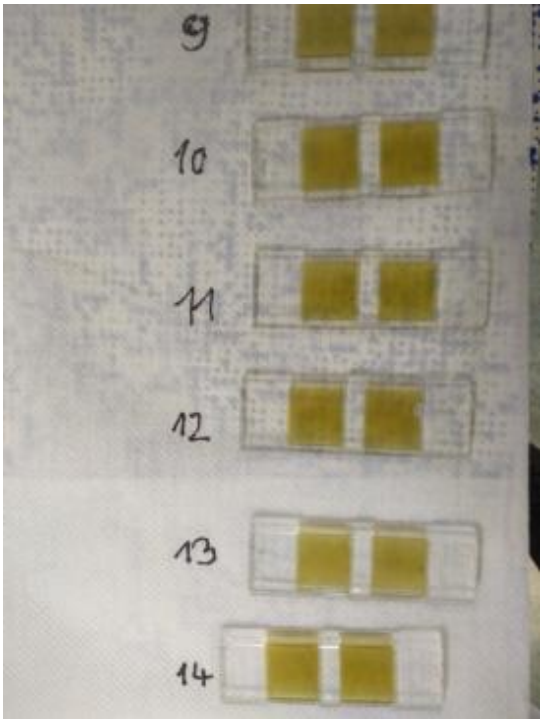
Figure 3: Flotation method (Mirtič, 2020)

2.2.2.3 Metoda McMaster

McMaster je kvantitativna koprološka metoda, ki nam pove, koliko jajčec glist, trakulj ali oocist eimerij je prisotnih v gramu iztrebka. Tako laže ocenimo stopnjo invazije in obremenjenost okolja z jajčeci ali oocistami. Izvajamo jo z modificirano flotacijsko metodo. Potrebujemo McMaster komoro, ki ima dve ločeni komorici, na sredini teh pa zarisan kvadrat v velikosti 1 x 1 cm. Kvadrat je razdeljen na 5–6 pravokotnikov, kar nam olajša štetje jajčec ali oocist.

Za to metodo zatehtamo 4 g iztrebka, dolijemo nasičeno raztopino NaCl in dobro premešamo. Raztopino skozi sito prelijemo v merilni valj in spiramo do oznake 60 ml. Dobljeno tekočino vnesemo v McMaster komorici in pustimo pet minut. Pod mikroskopom (100-kratna povečava) preštejemo vsa jajčeca ali oociste, ki jih opazimo na vseh robovih in v notranjosti

vseh pravokotnikov. Če jajčec v eni komorici ni veliko, potem preštejemo tudi jajčeca v drugi komorici. Kadar preštejemo jajčeca ali oociste v eni komorici, število jajčec pomnožimo s 100, če preštejemo obe komorici, pa s 50 (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

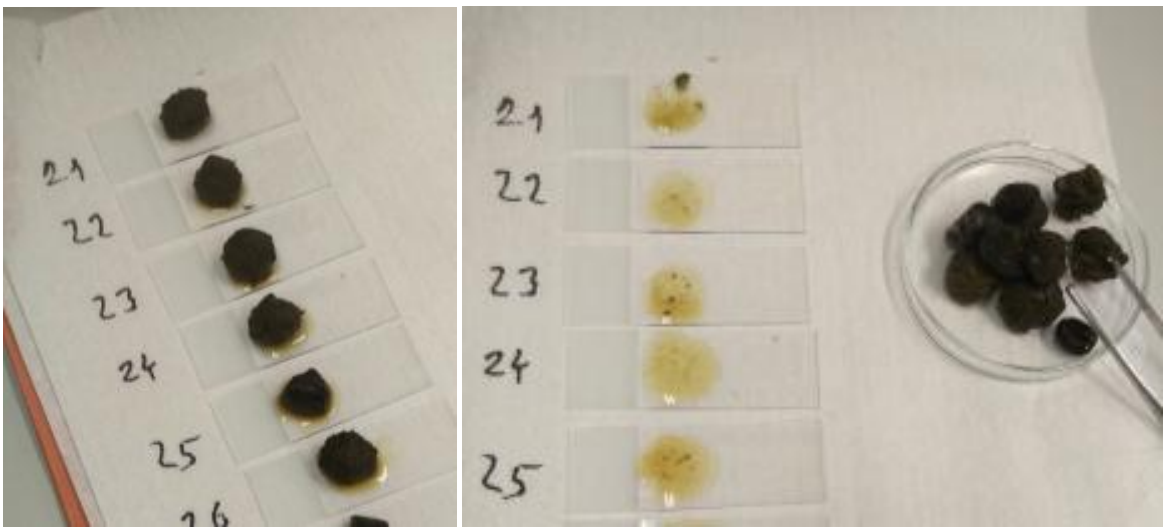


Slika 4: Metoda McMaster (Mirtič, 2020)

Figure 4: McMaster method (Mirtič, 2020)

2.2.2.4 Metoda po Vajdi

S to koprološko diagnostično metodo dokazujemo prisotnost ličink L1 pljučnih črvov v formiranih iztrebkih. Izkoriščamo termotropizem ličink, kar pomeni, da se te premikajo iz hladnejšega v toplejše okolje. Metodo izvedemo tako, da formiran iztrebek položimo na predmetnico in ga obdamo z nekaj kapljicami tople vode (40 °C). Po 10 minutah iztrebek odstranimo in tekočino pregledamo pod mikroskopom. Ličinke se zberejo na robovih kapljice in se živahno premikajo (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).



Slika 5: Metoda po Vajdi (Mirtič, 2020)

Figure 5: Vajda method (Mirtič, 2020)

2.3. ANTIPARAZITIKI

Trenutno so za drobnico v uporabi trije razredi antiparazitikov – benzimidazoli, makrociklični laktoni in imidazotiazoli.

2.3.1 Benzimidazoli

Gre za veliko skupino kemičnih snovi, ki se uporabljajo za zdravljenje invazij z nematodi, imajo pa tudi omejeno aktivnost proti trakuljam in odraslim oblikam sesačev. Delujejo tudi ovicidno. V zajedavcu se vežejo na strukturno beljakovino beta tubulin in tako onemogočijo oblikovanje mikrotubulov, inhibirajo celični transport in metabolizem energije. S tem povzročijo izčrpanje energetskih rezerv in izločanje odpadnih snovi iz celic zajedavca. Večji ko je kontaktni čas med benzimidazolom in zajedavcem, večja bo učinkovitost zdravljenja. Kljub temu da so učinkoviti proti mnogim vrstam nematodov, pa je njihova učinkovitost proti *Haemonchus contortus* precej majhna. Med benzimidazoli je pogosto prisotna navzkrižna rezistenca, saj delujejo na enak način. Beta tubulinski receptorji so pri odpornih sevih zajedavcev namreč spremenjeni, tako da se benzimidazoli nanje ne morejo vezati. Najbolj

učinkoviti benzimidazoli so tisti z najdaljšo razpolovno dobo, saj efektivne koncentracije v plazmi in prebavilih povečajo njihovo učinkovitost proti ličinkam in proti odraslim nematodom. Na splošno so pri prežvekovalcih učinkovitejši, saj se njihova pasaža skozi prebavila upočasni v vampu. Še boljši učinek dosežemo, če 24 ur pred aplikacijo peroralne oblike živalim omejimo dostop do krme, ker bo tako prehod skozi prebavila počasnejši, večji pa bosta tudi absorpcija in razpoložljivost antiparazitika. Benzimidazoli imajo lahko teratogene učinke, zato jih ni priporočljivo dajati v začetku brejosti (Vercruysse in Claerebout, 2016).

2.3.2 Makrociklični laktoni

V to skupino antiparazitikov spadajo avermektini in milbemicini. Gre za kemične derivate talnih organizmov iz rodu *Streptomyces*. Med seboj imajo podobno strukturo in podoben mehanizem delovanja. Aktivna učinkovina se veže na klorove kanalčke celičnih membran zajedavca in povzroči večjo prepustnost za kloridne ione, zaradi česar pride do hiperpolarizacije celice, paralize in smrti zajedavca. Najbolj znan predstavnik avermektinov je ivermektin. Deluje proti nematodom, artropodom in insektom. Ostali kemoterapevtiki iz te skupine, ki se še uporabljajo pri drobnici, so eprinomektin, doramektin in abamektin. Najbolj poznan predstavnik milbemicinov je moksidektin. Makrociklični laktoni se koncentrirajo v maščobnem tkivu. Dolžina zaščite je odvisna od načina vnosa in telesne kondicije živali. Izločajo se v mleko, zato jih ni dovoljeno uporabljati za zdravljenje živali v laktaciji za prirejo mleka. Izjema so moksidektinski pripravki v obliki kožnih polivov, ki se v mleko ne izločajo, ter eprinomektin (Vercruysse in Claerebout, 2016).

2.3.3 Imidazotiazoli

So širokospektralne učinkovine, ki se uporabljajo za zdravljenje invazij z nematodi. Z agonističnim delovanjem na acetilholinske receptorje pri zajedavcu povzročijo spastično paralizo. Zaradi mehanizma delovanja je pomembnejša njihova koncentracija v organizmu kot pa dolžina izpostavljenosti učinkovini. Nimajo dlje časa trajajočega učinka. Rezistenca ni tako razširjena kot pri benzimidazolih. Pojavlja se zaradi modifikacije oziroma zmanjšanja števila holinergičnih receptorjev pri zajedavcih. Glavna predstavnika te skupine sta levamisol in

morantel. Levamisol je zelo učinkovit proti odraslim in nezrelim oblikam nematodov, ima pa manjšo učinkovitost proti hipobiotskim ličinkam, kot so ličinke *Ostertagia ostertagi*. Nima ovicidnega delovanja. Pri višjih odmerkih in dolgotrajnem dajanju ima lahko levamisol tudi imunostimulativni učinek (Vercruysse in Claerebout, 2016).

2.4 ODPORNOST ZAJEDAVCEV PROTI ANTIPARAZITIKOM

O odpornosti oziroma rezistenci zajedavcev proti antiparazitikom so prvič poročali že v letu 1957. Danes se odpornost parazitov proti zdravilom povečuje pri vseh vrstah domačih živali in postaja globalen problem. Najbolj je odpornost aktualna pri pašnih živalih, saj so te stalno izpostavljene ličinkam zajedavcev (Fleming in sod., 2006). Pri drobnici najpogosteje opisujejo odpornost proti benzimidazolom in makrocikličnim laktonom (FDA, 2020). Papadopoulos in sod. (2012) poročajo o odpornosti populacij *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia* spp. in *Trichostrongylus* spp. proti benzimidazolom, makrocikličnim laktonom in imidazotiazolom pri ovcah po vsej Evropi.

Rezistenca ali odpornost proti antiparazitikom je definirana kot zmanjšana učinkovitost antiparazitikov v populaciji zajedavcev, ki je bila v preteklosti dovzetna za zdravljenje z enakim sredstvom. Zmanjšana učinkovitost je rezultat povečane frekvence alelov za rezistenco, ki je posledica selekcije zaradi ponavljajoče se uporabe antiparazitika.

Nematodi v prebavnem traktu drobnice imajo številne genetske lastnosti, ki jim omogočajo hiter razvoj rezistence. Najpomembnejše značilnosti so evolucija nukleotidnega zaporedja, sposobnost migracije in visok reprodukcijski potencial posameznega zajedavca. Vse te lastnosti jim omogočajo, da hitro in uspešno odgovorijo na kemični napad z antiparazitikom ter še naprej razvijajo in širijo gene za rezistenco na naslednje generacije zajedavcev (Fleming in sod., 2006).

Po zdravljenju z antiparazitikom dovzetni zajedavci poginejo, odporni pa preživijo in prenesejo gene za rezistenco na potomstvo. Odpornost postane problem takrat, ko se poveča delež populacije zajedavcev z geni za rezistenco. K odpornosti prispevajo mnogi dejavniki, med drugim narava, patogenost in genotip zajedavca, imunski sistem gostitelja, način zdravljenja, mehanizem delovanja antiparazitika, razpolovni čas sredstva (dolgo časa delujoče

učinkovine povzročijo hitrejši razvoj odpornosti kot pa tiste, ki se hitro izločijo iz organizma), odmerek antiparazitika, ki se je uporabil za zdravljenje, način reje tropa idr. Pogoste napake, ki prispevajo k povečanju odpornosti pri zajedavcih, so (FDA, 2020):

– zdravljenje vseh živali v tropu hkrati, s čimer se uničijo vsi dovzetni zajedavci, sočasno pa se poveča delež odpornih zajedavcev v populaciji;

– prepogosto zdravljenje živali brez predhodnih parazitoloških preiskav;

– zdravljenje v obdobju, ko je v okolju malo ličink, s čimer se poveča delež jajčec odpornih zajedavcev (npr. pozimi, ko je na pašniku malo jajčec, ali med vročim, suhim poletjem);

– uporaba premajhnih odmerkov antiparazitika (predvsem pri kozah, ki potrebujejo večje odmerke zdravila kot ovce);

– zdravljenje z zdravili, za katera nismo prepričani, da so na določenem gospodarstvu učinkovita, in

– zanašanje le na antiparazitike za nadzor nad zajedavci.

S kliničnega vidika je pomembno vedeti, da je rezistenca genetska lastnost, ki se fenotipsko izrazi le, ko frekvence alelov za odpornost dosežejo dovolj visoko vrednost. Tako morajo strategije za preprečevanje nadaljnjega razvoja rezistence temeljiti na upočasnitvi nastanka rezistentnih genov. V proces evolucije odpornosti morajo biti vključene dovolj zgodaj, še preden se pojavijo klinični dokazi, da je antiparazitik manj učinkovit. To je najlaže doseči z dobro prakso in programom zdravljenja, ki zagotavlja vzdrževanje primernega deleža populacije zajedavcev, ki antiparazitiku ni izpostavljena (angl. refugia). Na te osebke torej ni selekcijskega pritiska, da razvijejo rezistenco. S tem se izognemo selekciji na odpornost, hkrati pa vzdržujemo delež dovzetnih zajedavcev na gospodarstvu. Posledično se zmanjša delež odpornih zajedavcev v populaciji in poveča verjetnost, da bo zdravljenje z antiparazitiki uspešno. Populacija neizpostavljenih zajedavcev vključuje zajedavce, prisotne pri živalih, ki niso bile zdravljene (zajedavci znotraj telesa gostitelja), prostoživeče razvojne stopnje (jajčeca

in ličinke), prisotne v okolju v času zdravljenja, ter razvojne oblike zajedavcev, na katere antiparazitik ne učinkuje – nekatere stopnje ličink (Fleming in sod., 2006).

Dlje časa je veljalo priporočilo, da se z antiparazitikom zdravijo vse živali hkrati, predvsem v obdobju, ko je razmnoževanje in širjenje zajedavcev na vrhuncu, ali takrat, ko ena ali več živali kaže klinične znake invazije. Vendar so ugotovili, da taka strategija le pospešuje nastanek rezistence. Močno zmanjšanje populacije neizpostavljenih zajedavcev namreč povzroči visok selekcijski pritisk za razvoj rezistence pri zajedavcih. Novejše smernice priporočajo selektivni pristop k zdravljenju, kjer se zdravijo le živali, ki to potrebujejo. Tak pristop je v skladu z dejstvom, da je le 20–30 odstotkov živali nosilcev 80 odstotkov zajedavcev na celotnem gospodarstvu. Pri zdravljenju živali z majhnim številom zajedavcev uničimo le majhen del zajedavcev, odstranimo pa pomemben vir neizpostavljenih zajedavcev in pospešimo razvoj odpornosti. Za ohranitev občutljivih zajedavcev je nujno, da pustimo del tropa nezdravljen, zdravimo le živali, ki so močno invadirane ali slabo prenašajo invazijo. Tako vzpostavimo uspešen nadzor nad zajedavci v tropu, zmanjšamo strošek zdravljenja in upočasnimo razvoj odpornosti proti antiparazitikom (Fleming in sod., 2006). V preteklosti so svetovali, da se po zdravljenju z antiparazitikom živali prestavijo na nov pašnik. Danes je glede tega več pomislekov, saj naj bi tako početje dajalo prednost razvoju jajčecem odpornih zajedavcev na novem pašniku. Zato se sedaj priporoča, da ostanejo živali po zdravljenju še nekaj dni na isti površini ali pa jih začasno premestimo na drugo površino (Hepworth in sod., 2006).

V zadnjih 25 letih ni bilo razvitih novih vrst antiparazitikov za rabo pri živalih, pa tudi zanimanje za pridobitev registracije za nove učinkovine je zaradi majhnega ekonomskega potenciala pri reji drobnice le majhno. Tako postaja vse jasneje, da se v prihodnosti za nadzor nad zajedavci pri drobnici ne bo več mogoče zanesti le na antiparazitike. To postavlja veterinarje in raziskovalce pred nov izziv – kako uporabiti že znane metode ter poiskati in razviti nove možnosti za nadzor nad zajedavci pri rejnih živalih, hkrati pa tudi zmanjšati porabo antiparazitikov (Fleming in sod., 2006). Čeprav rezistenca proti antiparazitikom na ljudi neposredno ne vpliva, vseeno predstavlja grožnjo zdravju in dobrobiti rejnih živali. Močne invazije z zajedavci se pri živalih odražajo v slabši prireji, zdravstvenih težavah (driska, anemija, izguba telesne mase) in večjem deležu pogina. Raziskave kažejo na to, da se

nadaljnjega razvoja rezistence ne da ustaviti, lahko pa se z ustreznimi metodami zdravljenja in s tehnologijo reje ta proces upočasni (FDA, 2020).

Tabela 1: Povzetek rezistence proti antiparazitikom pri glavnih želodčno-črevesnih zajedavcih drobnice v Evropi (Rose in sod., 2015)

Table 1: Summary of anthelmintic resistance reported in the major gastrointestinal nematode species infecting small ruminants in Europe (Rose et al., 2015)

ANTIHELMINTIK	GOSTITELJ	DRŽAVA
Telodorsagia spp.		
BZ	Ovce	Češka, Danska, Francija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Slovaška, Španija, Združeno kraljestvo (UK), Norveška
	Koze	Francija, Italija, Danska, Nizozemska, Španija, UK, Norveška
ML	Ovce	Češka, Danska, Italija, Nizozemska, Slovaška, Španija, Švedska, UK
	Koze	Danska, Italija, Švica, UK
LEV	Ovce	Danska, Francija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Španija, UK
	Koze	Danska, Francija, UK
MDR	Ovce	Danska, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Španija, UK
	Koze	Danska, Francija, UK
Trichostrongylus spp.		
BZ	Ovce	Danska, Francija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Norveška, Slovaška, Španija, UK
	Koze	Danska, Francija, Italija, Nizozemska, Norveška
ML	Ovce	Danska, Grčija, Italija, Nizozemska, Slovaška, Španija, UK
	Koze	Danska, Italija, Švica
LEV	Ovce	Danska, Francija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Španija, UK
	Koze	Danska, Francija
MDR	Ovce	Danska, Nemčija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Španija, UK
	Koze	Danska, Francija
Haemonchus contortus		
BZ	Ovce	Francija, Nemčija, Grčija, Nizozemska, Norveška, Slovaška, Švedska, Švica, UK
	Koze	Francija, Nizozemska, Švica
ML	Ovce	Češka, Nemčija, Grčija, Italija, Nizozemska, Slovaška, Švica
	Koze	Nemčija, Švica
LEV	Ovce	Grčija, Nizozemska
	Koze	Francija
MDR	Ovce	Grčija, Nizozemska
	Koze	Francija, Švica

Legenda: BZ = benzimidazoli, ML = makrociklični laktoni, LEV = levamisol, MDR = rezistenca proti več zdravilom

2.5 KONTROLA UČINKOVITOSTI ZDRAVLJENJA

Ocena učinkovitosti zdravljenja je bistvena za načrtovanje programa nadzora nad zajedavci na vsakem gospodarstvu. Pri premajhnem odmerku ali dajanju antiparazitika na način, pri katerem bo absorpcija učinkovine suboptimalna in bo biološka razpoložljivost zdravila majhna, bodo delno odporni zajedavci preživeli v večjem deležu. Preživetje popolnoma ali delno rezistentnih heterozigotov poveča verjetnost, da se ob parjenju teh proizvajajo popolnoma odporne generacije homozigotov (Fleming in sod., 2006).

Kontrolo učinkovitosti zdravljenja izvajamo z različnimi parazitološkimi preiskavami. Najbolj poznan je test zmanjšanja števila jajčec (FECRT – fecal egg count reduction test). Pred zdravljenjem odvzamemo vzorce iztrebkov določenemu številu živali v tropu. Z metodo McMaster preštejemo število jajčec nematodov in število oocist na gram iztrebka. Isto skupino živali ponovno vzorčimo 7 do 14 dni po zdravljenju in ponovimo parazitološke preiskave. Zdravljenje je učinkovito, če se število jajčec po zdravljenju zmanjša za več kot 90 odstotkov. Če je uspeh zdravljenja slabši in izključimo druge mogoče napake (premajhni odmerki), lahko govorimo o rezistenci zajedavcev proti uporabljenemu antiparazitiku. Rezistenca zajedavcev proti antiparazitikom se med posameznimi rejami razlikuje. Učinkovitost zdravljenja je priporočljivo kontrolirati po vsakem zdravljenju. Če se po zdravljenju število jajčec zmanjša za več kot 90 odstotkov, vendar manj kot pri predhodnem testu (npr. pri prvem testu se je število jajčec zmanjšalo za 98 odstotkov, pri drugem testu pa za 92 odstotkov), že lahko sumimo na pojav rezistence proti določenemu antiparazitiku (FDA, 2020).

Rezistenco zajedavcev določamo tudi s testom PCR, ki prepoznava genski zapis zajedavca. S testom izleganja jajčec (angl. Egg Hatch Test) ugotavljamo odpornost zajedavcev proti benzimidazolom. Sveža jajčeca preiskovanega zajedavca inkubiramo, nato pa jim dodamo različne koncentracije antiparazitikov. Iz deleža jajčec, ki se izvalijo, lahko predvidimo efektiven odmerek ali koncentracijo antiparazitika, ki je potrebna za uničenje jajčec.

S testom razvoja ličink (angl. Larval Development Assay) *in vitro* ugotavljamo odpornost proti benzimidazolom, levamisolu in makrocikličnim laktonom. Jajčeca v približno enakem številu nasadimo na trdna gojišča z ustreznimi pogoji za razvoj ličink. Vsako gojišče vsebuje

različno, vnaprej določeno količino vsaj enega antiparazitika. Gojišča inkubiramo in po obdobju, ki je običajno potrebno za izvalitev ličink, opazujemo njihov razvoj in ugotavljamo učinkovitost zdravila (FDA, 2020; Sargison, 2009; Ruffel in sod., 2018).

Sodobna priporočila za zdravljenje invazije z zajedavci temeljijo na selektivnem zdravljenju, kar upočasnjuje razvoj rezistence. To je učinkovit pristop za zmanjšanje števila proti antiparazitiku odpornih zajedavcev, saj se s takim pristopom ohranja delež neizpostavljenih zajedavcev, ki so občutljivi za zdravljenje z antiparazitikom. Ideja tega pristopa je, da se z različnimi parazitološkimi preiskavami (npr. McMaster) in s sistemom kontrole petih kritičnih točk prepoznajo in nato zdravijo le živali z visoko stopnjo invadiranosti. Uporaba omenjenih metod sicer zahteva več časa, vendar zmanjša stroške pri rejcih, saj porabijo manj antiparazitika za ustrezen učinek zdravljenja. Test FAMACHA morajo rejci opravljati vsaj enkrat mesečno, metodo McMaster pa tako pogosto, kolikor jim dopusti čas, pomembna je predvsem pri ovcah z oceno 3 po testu FAMACHA. Take živali je treba zdraviti, še posebej če imajo v iztrebkih veliko število izločenih jajčec (Bowie, 2014; Van Wyk in Bath, 2002).

Navsezadnje je pri procesu odpravljanja notranjih zajedavcev in preventivi pomembno prepoznati kritična obdobja za živali v tropu, ko so te najbolj občutljive. Najbolj dovzetne živali so jagnjeta in ovce z mladiči oziroma tiste, ki so proti koncu brejosti. Pri ovcah z dvojčki in trojčki obstaja večje tveganje, saj potrebujejo več energije in beljakovin, v trebušni votlini imajo manj prostora in ne morejo požreti zadostne količine krme. Tudi njihovi mladiči so dovzetnejši, saj prejmejo manj mleka in mleziva kot jagnjeta, ki so bila rojena kot enojčki. Mladiči še nimajo razvite imunosti proti notranjim zajedavcem, ta se razvije počasi in le, če so izpostavljeni zajedavcem, ker se s tem vzpostavi imunski odziv. Živali, ki so bile invadirane kot mladiči, imajo večjo toleranco in odpornost proti njim, ko so starejše, v primerjavi z živalmi, ki se z zajedavci srečajo kasneje. Odpornost se povsem razvije pri 4–9 mesecih starosti, odvisno od pasme živali, vrste zajedavca in izpostavljenosti. Najvišji delež izločenih jajčec se pojavi pri 11 tednih starosti (Hepworth in sod., 2006).

Pri drobnici je dobro poznan t. i. spring rise fenomen ali pomladanska aktivnost zajedavcev, ki je večkratno povečanje števila jajčec na g iztrebka brez novih invazij. Pojavi se zaradi hormonalnih sprememb in slabšega imunskega odziva živali v obdobju od dveh tednov pred

porodom do osmih tednov po njem. Ovce imajo zaradi poroda in laktacije pogosto večje potrebe po energiji, kot so sposobne zaužiti krme. Število jajčec v iztrebkih je pri ovcah s slabšo telesno kondicijo večje, prav tako je večje pri mladicah in pri ovcah z dvojčki, v primerjavi s tistimi, ki so breje z enojčki. Invadirane živali bodo v laktaciji imele manj mleka, jagnjeta bodo slabše priraščala in bodo bolj podvržena invazijam. Izločala bodo več jajčec in kontaminirala pašne površine. Zato je pomembno poskrbeti, da so pri brejih ovcah in mladih, rastočih živalih pokrite potrebe po energiji in hranljivih snoveh. Po potrebi se ovce z več mladiči v gnezdu loči od ostalih in se jih dodatno krmi, z dodatkom leguminoz oziroma beljakovin (Hepworth in sod., 2006).

2.6 DRUGE METODE ZATIRANJA PARAZITOV

Razvoj ekološkega kmetijstva, ozaveščenost javnosti glede ostankov kemičnih substanc v živalskih proizvodih in napredujoč razvoj rezistence zajedavcev proti antiparazitikom so raziskovalce spodbudili k iskanju trajnostnih alternativ, ki bi dopolnjevale ali nadomeščale uporabo klasičnih antiparazitikov pri odpravljanju zajedavcev, hkrati pa bi bile manj škodljive za zdravje živali, ljudi in okolje (Rahman in Seip, 2007). Največ raziskav na to temo so izvedli na nematodu *Haemonchus contortus*, ker je ta pogost zajedavec pri drobnici in povzroči največ škode. Tako so odkrili številne manj konvencionalne metode, s katerimi se lahko izvaja nadzor nad zajedavci, v okolju in na živalih (Santos in Carvalho, 2014). Najbolj perspektivne metode so opisane v nadaljevanju.

2.6.1 Bioaktivne sestavine rastlin

Rastline predstavljajo rastlinojedim živalim vir hranljivih snovi, poleg tega pa so bogat vir bioaktivnih snovi. Večinoma gre za sekundarne metabolite, ki so lahko živalim v korist ali škodo, zaradi svojih lastnosti pa predstavljajo potencialno alternativo uporabi kemoterapevtikov (Hoste in sod., 2006). Kemični antiparazitiki zajedavca ubijejo s specifičnimi mehanizmi, medtem ko naravni antiparazitiki najverjetneje uporabljajo

nespecifične mehanizme, s tem pa obstaja manjša verjetnost za razvoj rezistence proti njihovemu delovanju (Bowie, 2014).

Pri drobnici so naredili že veliko obsežnih raziskav glede učinka bioaktivnih snovi iz rastlin na nematode v prebavnem traktu. Najbolj so raziskani učinki kondenziranih taninov, ki so sekundarni metaboliti in se lahko nahajajo v vseh delih rastline. Rastlina jih uporablja v obrambne namene. Paolini in sod. (2003a) so preiskovali učinke pri kozah, invadiranih s *Haemonchus contortus*. Krmljenje krme s 5-odstotno vsebnostjo taninov v suhi snovi (dodatek ekstrakta tropske rastline *Schinopsis* sp.) je bilo povezano z znatno zmanjšanim izločanjem jajčec *Haemonchus contortus* v iztrebkih živali in je trajalo do konca poskusa. Zmanjšanje izločanja ni bilo povezano z manjšim številom zajedavcev, pač pa z oslabljeno reprodukcijsko sposobnostjo nematodov ženskega spola (Rahman in Seip, 2007). Shaik in sod. (2006) so poročali o podobnih rezultatih po krmljenju stročnice z veliko vsebnostjo taninov (*Sericea lespedeza*), vendar se je v njihovi raziskavi zmanjšalo izločanje jajčec in tudi število odraslih zajedavcev. Navadna turška detelja (*Onobrychis viciifolia*) vsebuje visoke koncentracije kondenziranih taninov. Rezultati raziskave o vplivu krmljenja koz s senom navadne turške detelje na invazijo z zajedavci so pokazali zmanjšano izločanje jajčec zajedavcev in večjo odpornost gostitelja (Paolini in sod., 2003b) Pri *in vitro* študijah so negativen vpliv na gibljivost ličink in odraslih oblik *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus* in *Trichostrongylus colubriformis* dokazali tudi pri ekstraktih rastlin kostanja (*Castanea sativa*), rdečega bora (*Pinus sylvestris*), velikega jesena (*Fraxinus excelsior*), navadne leske (*Corylus avellana*), doba (*Quercus robur*), robide (*Rubus fructicosus*) in reličnika (*Sarothamnus scoparius*). Ekstrakti so vsebovali različne koncentracije taninov (1,5–24,7 odstotka suhe snovi). Rezultati so bili najboljši pri rastlinah z večjo vsebnostjo taninov (dob, kostanj, navadna leska in robida) (Hoste in sod., 2008).

Vsebnost taninov je odvisna od vrste rastline, rastnih pogojev, stopnje razvoja, časa košnje idr. Zaradi takšnih variabilnosti se zaključki raziskav lahko razlikujejo in so neprimerljivi. Vseeno je dovolj dokazov, tako *in vitro* kot *in vivo*, da kondenzirani tanini v dovolj velikih količinah lahko vplivajo na vse stopnje nematodov in zmanjšajo stopnjo invazije (Thamsborg in sod., 2010). Treba je vedeti, da imajo tanini v velikih količinah v krmi (> 7 odstotka suhe snovi) negativne učinke na živali, kot sta npr. zmanjšan apetit in upočasnjena rast, vplivajo pa

tudi na morfologijo ter proteolitično aktivnost mikrobov v vampu (Hoste in sod., 2006). Potencialno antiparazitno aktivnost imata tudi korenina cikorije in seme volčjega boba, oba bogata z inulinom. Pri prašičih je po krmljenju posušenih korenin cikorije prišlo do skoraj popolnega prenehanja izločanja jajčec *Oesophagostomum* sp. v iztrebkih, rezultati so bili podobni tudi pri dodatku inulina v krmi (Thamsborg in sod., 2010). Pri jagnjetih so po paši, bogati s cikorijo (*Cichorium intybus* L.), v iztrebkih in *post mortem* v črevesju ugotovili manjše število zajedavcev (Bowie, 2014).

Preiskovali so tudi vpliv zmletih bučnih semen pri kozah in jagnjetih. Izkazala so se za zelo perspektivna, še posebej če so bila dodana krmi v tekoči obliki – zmešana z vodo (Bowie, 2014).

Rastlinske učinkovine se lahko uporabljajo v obliki sveže krme (paše), konzervirane krme ali kot dodatek h krmi. Največji problem je odmerjanje, saj so stranski učinki slabo poznani, prav tako je malo poznanega o mehanizmih njihovega delovanja (Bowie, 2014). Pri uporabi rastlinskih substanc se postavlja vprašanje, ali je izboljšanje stanja dejansko posledica učinkov bioaktivnih sestavin ali gre le za posreden vpliv. Bučna semena, na primer, vsebujejo veliko vsebnost beljakovin, kar izboljša prehranski status živali in okrepi njihov imunski odgovor, zaradi česar laže izločijo odrasle nematode iz prebavil, še preden se ti pripnejo na sluznico (Hoste in sod., 2006; Bowie, 2014). Česen je poznan po svojem antibakterijskem delovanju in lahko pozitivno učinkuje na prebavni trakt. *Haemonchus contortus* veliko laže uspeva v oslabljenem okolju prebavil in terapija s česnom mu na ta način oteži preživetje (Bowie, 2014). Česen je po drugi strani v večjih količinah ali pri dolgotrajnem krmljenju škodljiv. Dobro je poznan njegov negativni vpliv na rdeče krvničke (Saastamoinen in sod., 2019).

2.6.1.1 Bučna semena

Buče (*Cucurbita*) so rod iz družine bučevk (*Cucurbitaceae*). Izvirajo iz Mehike. V največji meri se danes pridelujejo muškatna buča (*Cucurbita moschata*), orjaška buča (*Cucurbita maxima*), vrtna buča (*Cucurbita pepo*) in oljna buča (*Cucurbita pepo* L. *var. oleifera*) (Ayaz in sod., 2015).

Že Indijanci so poznali številne farmakološke učinke bučnih semen. Pogosto jih uporabljajo v tradicionalni kitajski medicini – pri zdravljenju srčno-žilnih bolezni, vnetja sečnika, težav z uriniranjem, sladkorne bolezni, povečane prostate, povišanega krvnega tlaka, za preprečevanje nastanka ledvičnih kamnov, predvsem pa so poznana kot dober antiparazitik (Salehi in sod., 2019). Delovala naj bi analgetično, protivnetno in imunostimulatorno (Jafarian in sod., 2012), ekstrakt bučnih semen je pokazal tudi protimikrobno in protiglivično aktivnost (Salehi in sod., 2019).

Rezultati *in vivo* raziskave vpliva bučnih semen na notranje zajedavce pri perutnini so pokazali, da je krmljenje bučnih semen v odmerku 2 g na žival na dan zmanjšalo število odraslih nematodov in izločanje njihovih jajčec (Acorda in sod., 2019). Dobro antiparazitno delovanje je pokazal tudi alkoholni ekstrakt bučnih semen, ki so ga krmili mišim v odmerku 100 mg/kg telesne mase (Ayaz in sod., 2015). Díaz in sod. (2004) so poročali o učinkovitosti bučnih semen proti turbelarijam pri psih. Bučna semena imajo dokazano terapevtsko učinkovitost proti nematodom in antimalarijsko aktivnost. Ekstrakt bučnih semen je imel negativen vpliv na gibljivost odraslih oblik *Haemonchus contortus* pri ovcah v *in vitro* pogojih, zelo učinkovit je tudi proti *Oesophagostomum* sp. pri prašičih in *Hymenolepsis nana* pri miših (Bauri in sod., 2015). Ekstrakt bučnih semen *Cucurbita pepo* je tako *in vitro* kot *in vivo* pokazal antiparazitne učinke proti *Heligmosomoides bakeri* pri miših, zmanjšalo se je število izločenih jajčec in odraslih oblik zajedavca (Grzybek in sod., 2016).

Mehanizmi protimikrobnega in antiparazitnega delovanja bučnih semen so slabo poznani. Učinek pripisujejo sinergistični aktivnosti ekstrahiranih bioaktivnih substanc. Poznano je, da imajo izvlečki rastlin izrazitejšo biološko aktivnost kot posamezne izolirane spojine. Nedavno so dokazali, da snovi, ki so prisotne v sledovih, delujejo sinergistično z ostalimi prisotnimi snovmi in s tem potencirajo njihovo farmakološko delovanje, zmanjšajo stranske učinke in potreben odmerek za podoben učinek (Salehi in sod., 2019).

Farmakološki učinki bučnih semen so povezani z njihovo fitokemično sestavo in hranilno vrednostjo. Semena so bogata z aminokislinami, posebej z esencialnimi, kot so fenilalanin, triptofan in metionin, ter imajo visoko vsebnost vitamina E, najbolj gama tokoferola, in nenasičenih maščobnih kislin (Ayaz in sod., 2015). Vsebujejo tudi karotenoide, fenole,

terpenoide, saponine, fitosterole in polisaharide. Antiparazitne lastnosti pripisujejo predvsem sekundarnemu metabolitu kukurbitinu. Gre za aminokislino, po kemijski sestavi 3-amino-3-karboksipirolidin, ki s proteolitično aktivnostjo poškoduje povrhnjico zajedavca in povzroči njegovo paralizo, ker se vmeša v proizvodnjo energije in prekine proces oksidativne fosforilacije. S tem ko oslabi fiksacijo parazita na steno prebavil, pospeši izločanje iz gostitelja (Acorda in sod., 2019), povzroča tudi degenerativne spremembe na reprodukcijskih organih zajedavcev (Bauri in sod., 2015). Veliko pozornosti namenjajo še triterpenoidu kukurbitacinu, ki ima prav tako antiparazitno delovanje (Salehi in sod., 2019).

Do sedaj o negativnih učinkih bučnih semen na organizem še niso poročali. Pri prašičih in podganah so ob dolgotrajnem krmljenju ekstrakta bučnih semen spremljali krvne in urinske parametre ter opravili histopatološke preiskave, kjer niso ugotovili odstopanj (Grzybek in sod., 2016).

2.6.1.2 Nageljnove žbice

Nageljnove žbice (imenovane tudi klinčki) so aromatična dišavnica iz posušenih cvetnih popkov rastline oziroma drevesa dišeči klinčevec (*Syzygium aromaticum)*, ki je iz družine mirtovk (*Myrtaceae)* (Saikumari in sod., 2016). Nageljnove žbice izvirajo iz Indonezije, danes pa jih pridelujejo v različnih delih sveta (Cortés-Rojas in sod., 2014).

Njihova glavna kemijska snov so eterična olja. Že stoletja se uporabljajo kot konzervans in v različne medicinske namene v tradicionalni in moderni medicini. Imajo protimikrobne in antioksidativne lastnosti, zato imajo velik potencial v farmacevtski, kozmetični, prehrambni industriji in v kmetijstvu (Cortés-Rojas in sod., 2014). Delujejo tudi antiparazitno, protivnetno, antipiretično, spazmolitično, antialergijsko, protiglivično, antikancerogeno, antivirusno, antimutageno, karminativno, antiartritično (Saikumari in sod., 2016) in antitrombotično (Nassan in sod., 2015). Te lastnosti so posledica vsebnosti bioaktivnih snovi (alkaloidov, glikozidov, eteričnih olj ipd.) (Saikumari in sod., 2016). Poleg tega izboljšujejo delovanje peristaltike, spodbujajo izločanje želodčne kisline in delujejo anestetično (Nassan in sod., 2015).

Nageljnove žbice so bogat vir fenolov, kot so evgenol, evgenol acetat, galna kislina, metil salicilat in flavonoidi. Glavnino eteričnega olja predstavlja evgenol, bioaktivna snov, ki jim tudi v največji meri daje značilno aromo. Posušeni popki vsebujejo do 18 odstotkov eteričnih olj, od tega kar 88 odstotkov predstavlja evgenol, 5–15 odstotkov evgenol acetat in terpen beta kariofilen, do 2,1 odstotka pa terpenoid alfa humulen (Cortés-Rojas in sod., 2014). Nageljnove žbice vsebujejo med drugim še nekatere druge vrste terpenov, terpenoidov, tanine, nekatere vitamine in vanilin (Saikumari in sod., 2016). Vsebujejo več polifenolov kot večina drugih vrst rastlin, kar jim omogoča dobro antioksidativno delovanje, ki se lahko primerja celo s sintetičnimi spojinami, kot je npr. butil hidroksitoluen, umetni aditiv, ki se uporablja kot konzervans. Čeprav obstaja veliko poročil o antioksidativni aktivnosti evgenola, pa lahko ta v visokih koncentracijah deluje prooksidativno. Evgenol je odgovoren tudi za protiglivično delovanje, saj razkraja spore in micele. Ima tudi antinociceptivni učinek, saj zmanjša zaznavo bolečih dražljajev v senzornih nevronih. Že v 13. stoletju so nageljnove žbice uporabljali za lajšanje zobobolov in bolečin v sklepih. Analgetično delovanje naj bi bilo posledica aktivacije kalcijevih in kloridnih kanalčkov v ganglijskih celicah. Nekatere raziskave navajajo, da so nageljnove žbice agonisti kapsaicina. Evgenin zavira virusno DNA polimerazo in tako deluje antivirusno. Preiskovali so tudi repelentno delovanje eteričnega olja in larvicidno aktivnost evgenola ter poročali o dobri učinkovitosti (Cortés-Rojas in sod., 2014).

Mehanizem antiparazitnega delovanja nageljnovih žbic še ni poznan. Glavno vlogo pripisujejo evgenolu, ki naj bi deloval na povrhnjico zajedavca. Pri *in vitro* preiskavah so dokazali toksično delovanje evgenola na *Fasciola gigantica.* Preiskovali so tudi *in vitro* delovanje alkoholnega ekstrakta nageljnovih žbic na odrasle oblike *Haemonchus contortus* ovc, kjer so dosegli 100-odstoten pogin zajedavcev že v nekaj minutah, prav tako je ekstrakt deloval ovicidno (Charitha in sod., 2017). Ekstrakt nageljnovih žbic (0,5 mg/ml) je inhibiral aktivnost sukcinat dehidrogenaze (SDH) pri odraslih osebkih nematodov *Haemonchus contortus in vitro,* kar je zmanjšalo proizvodnjo ATP parazita in povzročilo njegov pogin (Veerakumari in Kumar, 2017).

Eterično olje nageljnovih žbic je varno za uživanje v količini, manjši od 1.500 mg/kg telesne mase. Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) v humani prehrani priporoča odmerke, ki

niso višji od 2,5 mg/kg. Toksičnost olja so preiskovali na dveh vrstah akvarijskih rib, kjer so letalne koncentracije znašale 18,2 mg/ml oziroma 21,7 mg/ml vode v akvariju (Cortés-Rojas in sod., 2014). Pri podganah, ki so jih 90 dni krmili s klovinolom (ekstraktom nageljnovih žbic) v odmerkih do 1 g/kg telesne mase, ni bilo dokazanih stranskih učinkov (Vijayasteltar in sod., 2016).

2.6.2 Biološki nadzor

Biološki dejavniki bi lahko v prihodnosti postali pomemben del integriranega nadzora nad zajedavci. Biološki nadzor je definiran kot uporaba naravnih odstranjevalcev zajedavcev, pri kateri vzdržujemo populacijo zajedavcev na nižji ravni, kot pa če odstranjevalcev ne bi bilo. Sem niso vključeni le naravni organizmi, pač pa tudi gensko modificirani, s čimer se poveča njihova učinkovitost. Identificirali so že mnogo organizmov, ki jim prostoživeče oblike zajedavcev predstavljajo vir hrane. Mednje spadajo nekatere praživali, glive, bakterije, virusi, artropodi in plenilski nematodi. Waller in sod. (2001) so testirali različne vrste gliv na sposobnost zmanjšanja števila ličink nematodov v iztrebkih pri ovcah, na sposobnost proizvodnje nematocidnih substanc in nematodom atraktivnih snovi *in vitro*. Število ličink v iztrebkih se je pri zadostnem številu konidijev gliv iz rodov *Arthrobotrys, Geniculfera* in *Monacrosporium* zmanjšalo tudi do 80 odstotkov. Ostale raziskave so pokazale, da mnoge vrste gliv izražajo nematofagno aktivnost proti različnim vrstam nematodov, vendar je le malo učinkovitih proti prostoživečim oblikam v iztrebkih ovc, saj je težko doseči dovolj veliko število spor, da bi imele zadovoljiv učinek. *Duddingtonia flagrans*, ena od nematofagnih gliv, ima lahko večji vpliv na število zajedavcev kot pa kratkoročna menjava pašnikov (Rahman in Seip, 2007). *In vivo* poskus pri uporabi nematofagnih klamidospor *Duddingtonia flagrans* v krmi ovc je pokazal zmanjšanje števila ličink želodčno-črevesnih zajedavcev v koprokulturi, še posebej ličink *Haemonchus contortus* (Fontenot in sod., 2003). Deževniki, ki živijo v organski snovi na površinski plasti zemlje, uničujejo jajčeca in ličinke, ko jih požrejo ali jih prenesejo v globlje plasti zemlje. Hrošči govnači, ki živijo na iztrebkih rastlinojedov, pripomorejo k izsušitvi iztrebkov in s tem poslabšajo življenjske razmere ličink (Rahman in Seip, 2007). Ena od možnosti za nadzor nad zajedavci je tudi zmanjšanje števila vmesnih

gostiteljev z manipuliranjem dejavnikov okolja na način, da jim ti ne ustrezajo več (npr. izsuševanje močvirnatih površin) (Salkova in sod., 2014). Pred kratkim so iz gnijočega sadja izolirali nematofagno bakterijo *Chryseobacterium nematophagum*, ki ima sposobnost raztapljanja ličinke od znotraj, potem ko jo ta zaužije. Deluje tudi na ličinke trihostrongilidov, kot so *Haemonchus contortus* in *Ostertagia ostertagi* (Page in sod., 2019).

2.6.3 Selekcija odpornih živali

Ideja te metode je, da rejec za nadaljnjo rejo odbere le živali, ki zajedavskim invazijam uspešneje kljubujejo. V eni od študij so dokazali, da se v populaciji živali, ki jih ogrožajo zajedavci, vedno pojavljajo živali, ki so odpornejše in tolerantnejše proti njim. Gre za dedno lastnost, zato rejce vzpodbujajo, da izvajajo selekcijo, saj je to najboljša dolgoročna rešitev za težave, ki jih povzroča rezistenca proti antiparazitikom. Odporne živali so manj prizadete in izločajo manj jajčec, s tem pa tudi manj kontaminirajo pašne površine in zmanjša se tveganje za invazijo ostalih živali v tropu. Toleranca ni zaželena, ker kljub temu, da so živali manj prizadete, še vedno izločajo jajčeca in prispevajo h kontaminaciji pašnikov (Hepworth in sod., 2006).

Pri ovcah so število jajčec v iztrebkih, število nematodov, ki povzročijo smrt gostitelja, in stopnjo anemije, ki jo povzroča *Haemonchus contortus*, dedne lastnosti. V državah z veliko prirejo volne, kot sta Avstralija in Nova Zelandija, so selekcijo na odpornost proti parazitom že začeli. Na voljo so komercialni DNA testi, s katerim si rejci lahko pomagajo, v večini primerov pa selekcija temelji na številu izločenih jajčec zajedavcev v iztrebkih ovc (Thamsborg in sod., 2010). Parjenje plemenskih ovnov in ovc, ki so izločali majhno število jajčec, je dalo potomce, ki prav tako izločajo majhno število jajčec (Sani in sod., 1998). Delež zmanjšanja invazij zajedavcev znaša okrog 2 odstotka letno, ni pa še podatkov o morebitnem vplivu na pogostost zdravljenja z antiparazitiki (Thamsborg in sod., 2010).

2.6.4 Izboljšanje odpornosti zaradi vpliva krme

Dobro krmljene živali so v boljšem zdravstvenem stanju in laže prenašajo ter prebolijo invazijo z zajedavci kot pa tiste, ki so podhranjene. Najbolj dovzetna za okužbo so jagnjeta, ki še nimajo povsem vzpostavljenega imunskega odziva, ter njihove matere, ki imajo oslabljen imunski sistem kot posledico stresa in hormonalnih sprememb v obporodnem obdobju (Rahman in Seip, 2007). Boljši ko je imunski sistem gostitelja, manj verjetno je, da bodo te živali kazale znake invazije z zajedavci. Nematodi v odpornih živalih ležejo manj jajčec, ki so manj trdoživa in potrebujejo dalj časa za razvoj (Stear in sod., 2007). Ovce z uravnoteženim krmnim obrokom so se bile znatno sposobnejše braniti pred zajedavci, več je bilo tudi samoozdravitev (Bowie, 2014). Glavno vlogo pri tem naj bi imele beljakovine in ustrezna oskrbljenost z minerali (Rahman in Seip, 2007).

Večina raziskav s področja prehrane kaže, da je izguba beljakovin zaradi invazije s *Haemonchus contortus* posledica premajhne količine krme (Bowie, 2014). Študija Coopa in Holmesa (1996) je pokazala, da sta pri invaziji z želodčno-črevesnimi črvi manjša količina krme in slabša izkoristljivost povzročili večjo izgubo beljakovin. Beljakovine so v organizmu nujno potrebne za rast in imunski odgovor. Če jih organizem nima dovolj, bodo nekatere funkcije v prednosti pred drugimi, večinoma ne v korist imunskemu sistemu. Invazija z notranjimi zajedavci povzroči nizko raven beljakovin v krvi zaradi povečane potrebe po aminokislinah v tkivih poškodovanega prebavnega trakta in povečane proizvodnje mukoproteinov, medtem ko se zaradi slabšega apetita in resorpcije zmanjša zaloga beljakovin. Posledica je neposredna tekmovalnost med imunskim sistemom in ostalimi telesnimi tkivi za aminokisline. Periferna tkiva ne prejmejo dovolj hranljivih snovi za optimalno rast. Dodatek beljakovin v krmo med ali pred invazijo lahko prepreči ali zmanjša klinične znake invazije s *Haemonchus contortus*, patološke spremembe so manj izrazite (Sykes in Coop, 2001). Dodatne beljakovine v krmnem obroku povečajo zmožnost gostitelja, da popravi poškodbe sluznice, ki jih povzročijo zajedavci (Bowie, 2014). Študija Van Houterta in sod. (1995) je pokazala, da dodatek beljakovin ublaži zmanjšanje prireje pri živalih, poveča izločanje zajedavcev iz organizma, zmanjša izločanje jajčec in uporabo antiparazitikov, hkrati pa poveča količino volne in premer volnenih vlaken. Preiskovali so tudi različno krmo in vpliv na zajedavce pri ovcah. Dokazali so korelacijo med dodatkom beljakovin in večjo

sposobnostjo celičnega imunskega odziva proti zajedavcem. Tudi drugi avtorji (Niezen in sod., 2002) so prišli do podobnega zaključka, da je krmljenje bele detelje imelo pozitiven učinek na jagnjeta, zmanjšalo se je število izločenih jajčec in odraslih zajedavcev v prebavnem traktu. Valderabano in sod. (2002) pri krmljenju krme z višjo vsebnostjo beljakovin niso ugotovili zmanjšanja števila izločenih jajčec, so pa opazili, da so bile samice nematodov manjše in so imele omejeno sposobnost za razmnoževanje (Rahman in Seip, 2007). Pri študiji, izvedeni na merino ovcah, kjer so živalim šest tednov pred ali po porodu dnevno dodajali 250 g bombažnega semena kot vir beljakovin, je prišlo v obeh primerih do 66-odstotnega zmanjšanja izločanja jajčec (Hepworth in sod., 2006).

Tudi struktura in sestava krme naj bi vplivali na število zajedavcev, bolj specifično na reprodukcijski potencial. Manjša vsebnost vlaknin in večja vsebnost lahko prebavljivih ogljikovih hidratov v krmi lahko zmanjša število zajedavcev (Santos in Carvalho, 2014).

2.6.5 Tehnologija paše

Osnova za uspešen nadzor nad zajedavci pri drobnici je vzdrževanje kontaminacije pašnikov na dovolj nizki ravni, da živali niso izpostavljene preveliki količini invazijskih ličink (Rahman in Seip, 2007). Zaradi načina paše so ovce dovzetnejše za invazijo z zajedavci, ker travno rušo popasejo bliže tlom kot ostale vrste rejnih živali. Prav tako se ovce manj izogibajo območjem, ki so kontaminirana z iztrebki (Hepworth in sod., 2006).

Obstajata dve definiciji, varen in čist pašnik. Slednji je izraz za površino z ničnim ali zelo majhnim tveganjem za invazijo s paraziti, ko se tja preseli trop. Varen pašnik je tisti, ki je minimalno kontaminiran. Da se kontaminiranost pašnika znatno zmanjša, traja od 3 do 9 mesecev, odvisno od podnebja in letnega časa. Izjema so jajčeca *Nematodirus* sp., ki lahko na pašniku preživijo več kot eno leto. Pomembno je poznati življenjski krog parazitov, saj lahko tako predvidimo, koliko časa smejo živali ostati na istem pašniku, preden se razvije naslednja generacija invazijskih ličink (Rahman in Seip, 2007). Menjavanje pašnikov oziroma čredink omogoča, da ličinke na pašniku odmrejo, še preden jih živali zaužijejo, ali da trava zraste hitreje, kot pa lahko ličinke plezajo. Ličinke *Haemonchus contortus* plezajo le nekaj

centimetrov visoko in za plezanje potrebujejo dovolj vlage. Če se živali pasejo na površinah z višjo travo in ne povsem pri tleh, se na ta način zmanjša stopnja invazije, zato je priporočljivo premakniti živali na drug pašnik, še preden trenutnega popasejo povsem do tal (Bowie, 2014). Nekatere raziskave, kjer so raziskovali vertikalno migracijo ličink, kažejo, da se ličinke lahko pojavljajo tudi več kot 20 cm visoko na travni bilki, vendar se jih večina nahaja na bazi rastline, sploh v sušnih obdobjih. To pomeni, da paša na višji travi ne bo popolnoma preprečila invazije (Hepworth in sod., 2006), jo bo pa močno zmanjšala.

Zmanjšanje števila živali na pašniku zmanjša tudi koncentracijo ličink, saj je s tem omejeno število živali, ki izločajo jajčeca z iztrebki, na voljo pa je tudi več površine za pašo, kar vpliva na boljšo prehrano živali. Če imajo živali dovolj prostora, se bodo izogibale območij, ki so onesnažena z iztrebki, kar zmanjša zauživanje ličink in prekine življenjski krog zajedavca. Ličinke po določenem času propadejo zaradi vplivov okolja in organizmov iz tal, ki jih uničijo. Koliko časa to traja, je odvisno od podnebja in okolja. Ena od možnosti je tudi, da živali premaknemo na drugo površino, še preden je pašnik preveč onesnažen. Menjavanje pašnikov se lahko izvaja na različne načine. V času, ko tropa ni na določeni površini, se lahko ta zaseje z drugo kulturo, če površina to omogoča (njiva), vmes se lahko izvaja košnja, pusti površina počivati ali pa se nanjo preselijo živali drugih vrst. *Haemonchus* spp. invadira govedo, ovce in koze, zato lahko pašnik zasede perutnina ali konji (Bowie, 2014) in tudi odraslo govedo, saj pri njih ne povzroča veliko težav. Za zmanjšanje števila zajedavcev je treba poznati dejavnike, ki zavirajo ali spodbujajo preživetje ličink. Število ličink zajedavcev se poveča v toplem, vlažnem vremenu, med daljšimi obdobji paše živali iste vrste na istem pašniku, pri nizki odpornosti gostitelja in večji gostoti živali. Število ličink zajedavcev na pašniku se zmanjša v suhih in vročih obdobjih (Hepworth in sod., 2006). Kljub pogostemu prepričanju, da ličinke ne prezimijo, temu ni tako. Prav jesenska generacija ličink naj bi bila glavni vir kontaminacije pašnika v naslednji sezoni (Rahman in Seip, 2007). Pri notranjih zajedavcih je poznan fenomen hipobioze, kar pomeni, da lahko v obdobjih, ko jim zunanje okolje ne ustreza, preživijo znotraj gostitelja (Hepworth in sod., 2006). Da vse ličinke odmrejo in pašnik postane popolnoma čist, mora od prejšnje paše miniti vsaj eno leto. Za večino rejcev je to zaradi pomanjkanja površin in tehnologije reje na paši nemogoče, zato se priporoča sočasno izvajanje drugih metod za nadzor (selektivno zdravljenje, primerna

prehrana ipd.) (Bowie, 2014). Najbolj kakovostni in čisti pašniki naj bodo namenjeni najbolj dovzetnim živalim (jagnjeta, ovce v obporodnem obdobju), saj so te skupine najbolj ranljive in izločajo največ jajčec, kasneje pa se lahko na isti pašnik naselijo odpornejše živali (Hepworth in sod., 2006).

2.6.6 Cepljenje

Za izdelavo cepiv trenutno raziskujejo možnosti uporabe ekskretornih in sekretornih glikoproteinov zajedavca *Haemonchus contortus*. Dokazali so namreč dober imunski odgovor ovc po cepljenju z nekaterimi proteazami, ki jih v izobilju najdemo na površini in v izločkih zajedavca. Najboljše rezultate so ugotovili pri uporabi glikoproteinov, pridobljenih iz površine mikrovilov. Pred kratkim so razvili cepivo Barbervax®, ki vsebuje beljakovine iz stene prebavil *Haemonchus contortus*, med drugim H11 in H-gal-GP, ki spadata med zaščitna in skrita antigena, kar pomeni, da med invazijo nista izpostavljena imunskemu sistemu gostitelja. Pri cepljenih jagnjetih so ugotovili znatno zmanjšanje pojava anemije, 65–72-odstotno zmanjšanje izločanja jajčec *Haemonchus* spp. in zmanjšano število odraslih zajedavcev v primerjavi s kontrolno skupino. Ker gre za skrite antigene, je treba za vzdrževanje zadostnega imunskega odziva cepljenje ponavljati. V omenjeni raziskavi so bile ovce cepljene šestkrat v 3–4-tedenskih intervalih. V cepljeni skupini ovc je v primerjavi s kontrolno skupino manj živali potrebovalo zdravljenje z antiparazitiki (Basetto in sod., 2018).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIAL

Poskus z dodajanjem bučnih pogač in zmletih nageljnovih žbic smo izvedli v tropu, kjer redijo 130 ovc jezersko-solčavske pasme. Kmetija se nahaja v osrednjeslovenski regiji. Ovce so od pomladi do pozne jeseni na paši, paša poteka v čredinkah. V zimskem času, ko so v hlevu, obrok sestoji iz sena (2/3) in travne silaže (1/3). V tropu so kontinuirane jagnjitve, oven je stalno prisoten. Ovce so bile nastanjene skupaj z jagnjeti. Pred enim letom so bile nazadnje zdravljene proti zajedavcem. V raziskavo je bilo vključenih 30 odraslih ovc, ki smo jih razdelili v tri skupine po 10 ovc.

Starost ovc v prvi skupini je bila 4,3 leta (mediana), najmlajša je bila stara 2,5 leta, najstarejša pa 9 let. V drugi skupini je bila mediana vrednost za starost ovc 4,6 leta, najmlajša je bila stara 1,5 leta in najstarejša 13 let. V tretji skupini je bila mediana vrednost za starost ovc 3,4 leta, najmlajša je bila stara 1,5 in najstarejša 6,3 leta.

Slika 6: Trop ovc, vključen v raziskavo (Rešetič, 2020)

Figure 6: A flock of sheep included in the study (Rešetič, 2020)

Na Inštitutu za varno hrano, krmo in okolje, Enota za okolje, prehrano, dobrobit in higieno živali na Veterinarski fakulteti, so izvedli analizo sestave bučnih pogač po metodi, ki jo določa Uredba Komisije (ES) št. 152/2009. Po ISO 21807:2004 so določili tudi aktivnost vode bučnih pogač, ki je znašala 0,45. Rezultati analize so predstavljeni v tabeli 2.

Tabela 2: Sestava bučnih pogač

Table 2: The composition of pumpkin seed cake

Parameter	**Vsebnost (%)**
Vlaga	6,04
Surove beljakovine	57,0
Surova olja in maščobe	13,5
Surove vlaknine	3,50
Surovi pepel	9,43

Pred začetkom raziskave smo od vsake živali odvzeli vzorce iztrebkov iz danke za parazitološko preiskavo. Pet dni po končanem sedemdnevnem krmljenju z dodatki smo ponovno individualno vzorčili iztrebke vseh 30 ovc za oceno učinka dodatkov na izločanje jajčec zajedavcev.

Na osnovi rezultatov parazitološke preiskave smo rejcu priporočili klasično zdravljenje celega tropa z antihelmintiki. Kontrolni skupini ovc smo pet dni po zdravljenju odvzeli individualne vzorce iztrebkov za oceno učinkovitosti zdravljenja.

3.2 METODE

Trideset odraslih ovc smo naključno razdelili v tri skupine po 10 ovc. Ovce v prvi skupini so dobivale običajen krmni obrok (seno in travno silažo) in so predstavljale kontrolo. Ovce v

drugi skupini so poleg običajnega krmnega obroka sedem dni dobivale po 200 g bučnih pogač na žival v dveh obrokih (zjutraj in zvečer). Ovce v tretji skupini so sedem dni dobivale po 1,8 g sveže zmletih nageljnovih žbic na žival. Rejcu smo dali natančna navodila, kako naj živali krmi. Ovce kontrolne skupine smo označili z barvo in so bile nastanjene skupaj z ostalim tropom. Ovce, ki so dobivale dodatke, so bile v tem času nastanjene v dveh ločenih boksih. V enem so bile ovce, ki so dobivale bučne pogače, v drugem pa ovce, ki so dobivale nageljnove žbice.

3.2.1 Ocena telesne kondicije

Ocenili smo telesno kondicijo ovc pred začetkom krmljenja dodatkov in po končanem tretmaju ob odvzemu vzorcev iztrebkov za parazitološko preiskavo. Kondicijo smo ocenjevali s tipanjem ledvenega dela hrbta. Ocenjevali smo stopnjo omišičenosti (dolga hrbtna mišica) ter maščobnih oblog na trnastih in prečnih podaljških ledvenih vretenc, ovce v tem času niso bile ostrižene. Uporabili smo petstopenjski sistem ocenjevanja, pri čemer ocena 1 pomeni močno shujšano žival in ocena 5 preveč zamaščeno žival. Zaradi večje natančnosti smo kondicijo ovc ocenjevali na pol točke natančno.

3.2.2 Ocena barve očesnih veznic

Pri vseh ovcah smo ocenili barvo očesnih veznic pred začetkom krmljenja dodatkov in po končanem tretmaju ob odvzemu vzorcev iztrebkov za parazitološko preiskavo. Uporabili smo petstopenjski sistem ocenjevanja FAMACHA© (van Wyk in Bath, 2002), pri čemer ocena 1 pomeni normalno rožnato barvo očesnih veznic, ocena 5 pa izrazito bledo barvo.

3.2.3 Parazitološke preiskave

Za preiskavo vzorcev iztrebkov smo uporabili koprološke metode, s katerimi smo v vzorcih iskali razvojne oblike želodčno-črevesnih in pljučnih zajedavcev. Uporabili smo

sedimentacijsko in flotacijsko metodo, metodo McMaster in metodo po Vajdi (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

3.2.4 Statistična analiza

S programom SPSS (Ver 22) smo naredili opisno statistiko za oceno telesne kondicije, barve sluznic in števila jajčec *Strongylida* na gram iztrebkov v preiskovanih vzorcih. Zaradi majhnega števila živali smo za primerjavo ocene telesne kondicije in barve sluznic pri posamezni skupini pred tretmajem in po njem uporabili parni Wilcoxon Signed Rank test. Med proučevanimi lastnostmi smo izračunali korelacije po Spearmanu. Analizo variance smo naredili s proceduro GLM za ponovljene meritve. Model je vključeval vpliv skupine (tretmaja) in odvzema na proučevane lastnosti.

Za ugotavljanje zmanjšanja števila jajčec *Strongylida* v vzorcih po krmljenju dodatkov smo izračunali aritmetično sredino števila jajčec v vzorcih iz posamezne skupine pred (T1) oziroma po tretmaju (T2) in uporabili enačbo 1 (Kochapakdee in sod., 1995).

Enačba 1: Izračun zmanjšanja števila jajčec

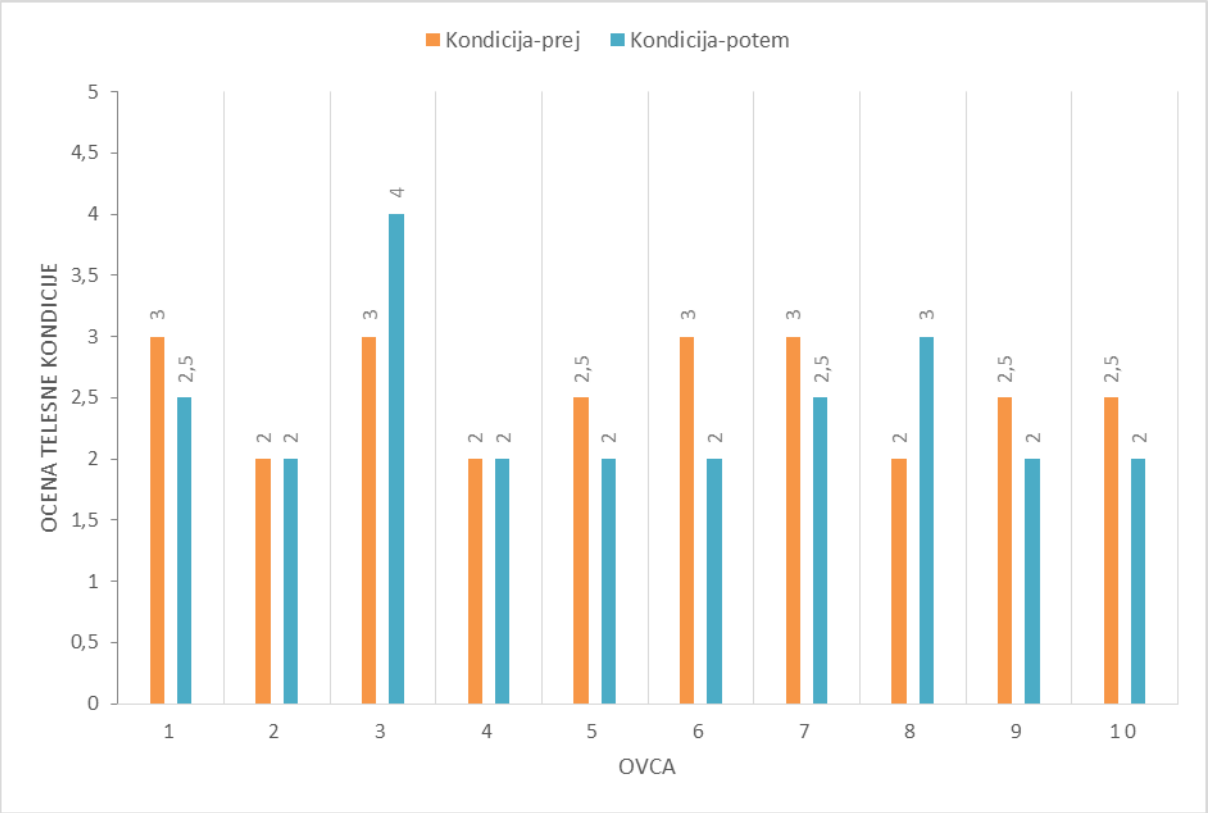
$$\text{Zmanjšanje števila jajčec (\%)} = 100 \times \left(1 - \left[\frac{T2}{T1}\right]\right)$$

Jajčeca drugih zajedavcev in oociste eimerij so bili prisotni v majhnem številu in samo pri posameznih živalih, zato jih v statistični analizi nismo upoštevali.

4 REZULTATI

4.1 OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC

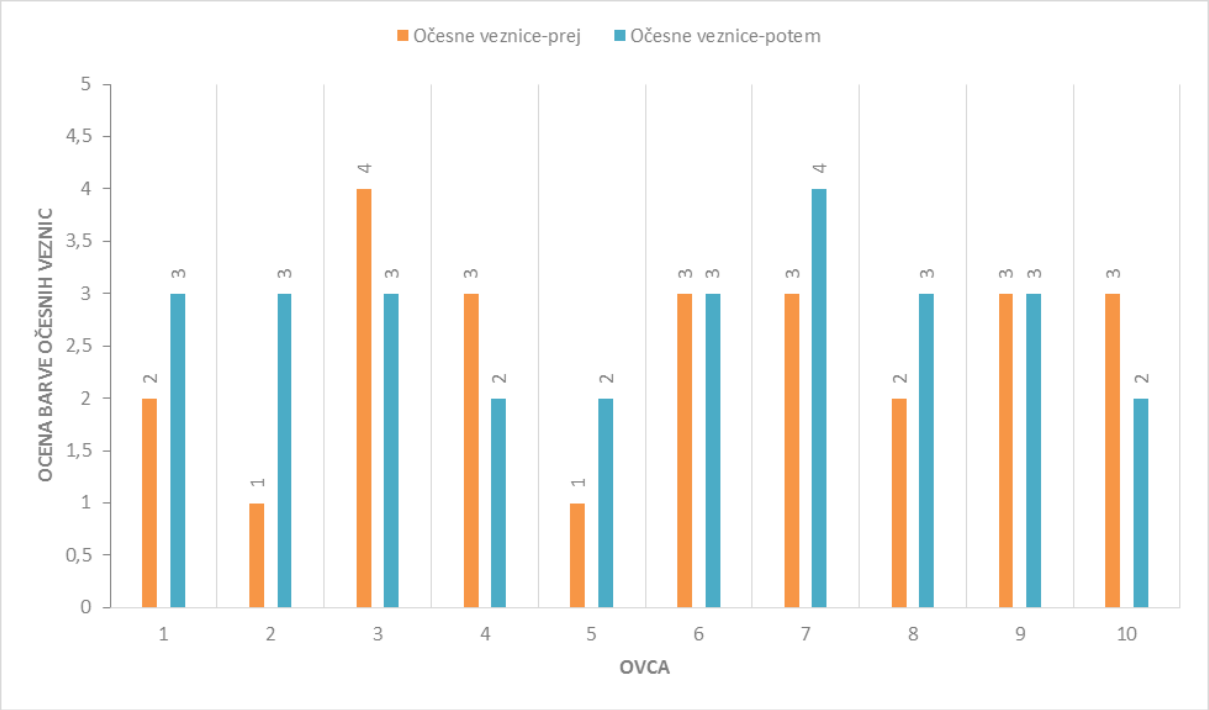
V raziskavi smo želeli ugotoviti, ali se je ovcam po dodajanju bučnih pogač ali zmletih nageljnovih žbic v krmo spremenila ocena telesne kondicije in barva očesnih veznic. Pregledali smo 30 ovc. Rezultate prikazujemo za vsako skupino ovc posebej na slikah 7–12.



Slika 7: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri kontrolni skupini

Figure 7: Body condition score before and after the treatment of the control group

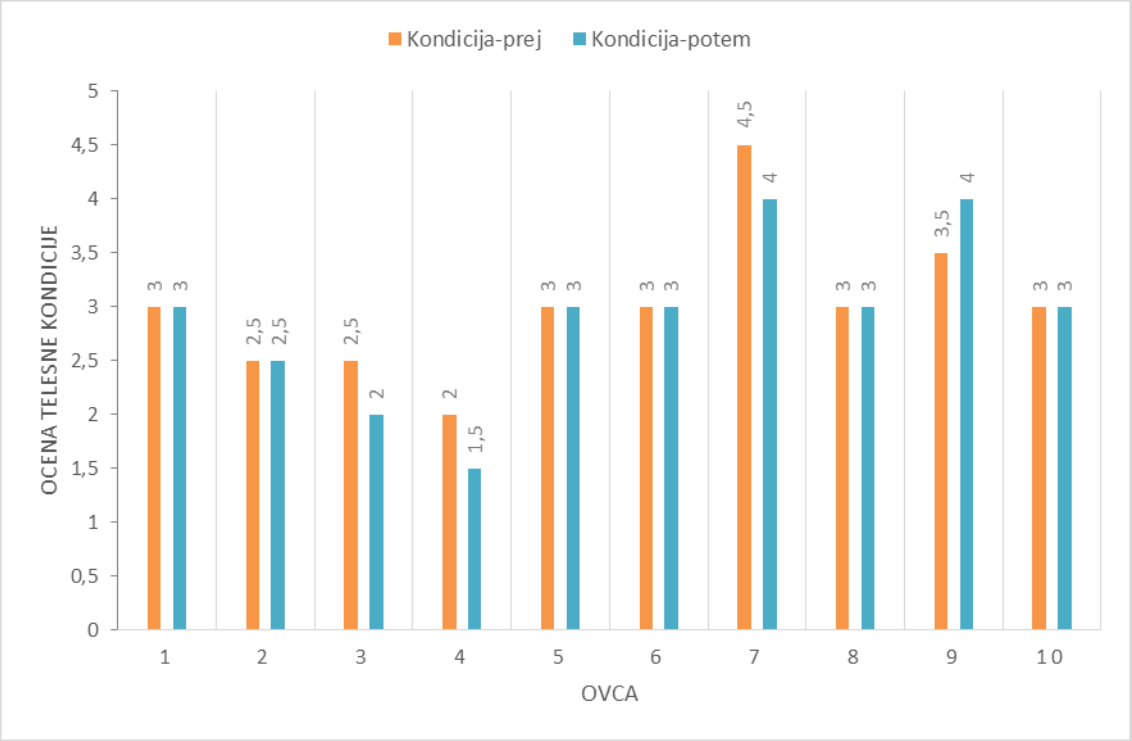
Povprečna ocena telesne kondicije pri kontrolni skupini ovc pred tretmajem je bila 2,5 (min. 2,0; max. 3,0), po tretmaju pa je bila 2,4 (min. 2,0; max. 4,0). Razlika v telesni kondiciji pred tretmajem in po njem ni bila statistično značilna (p = 0,564).



Slika 8: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri kontrolni skupini

Figure 8: The colour of eye mucous membranes assessment before and after the treatment of the control group

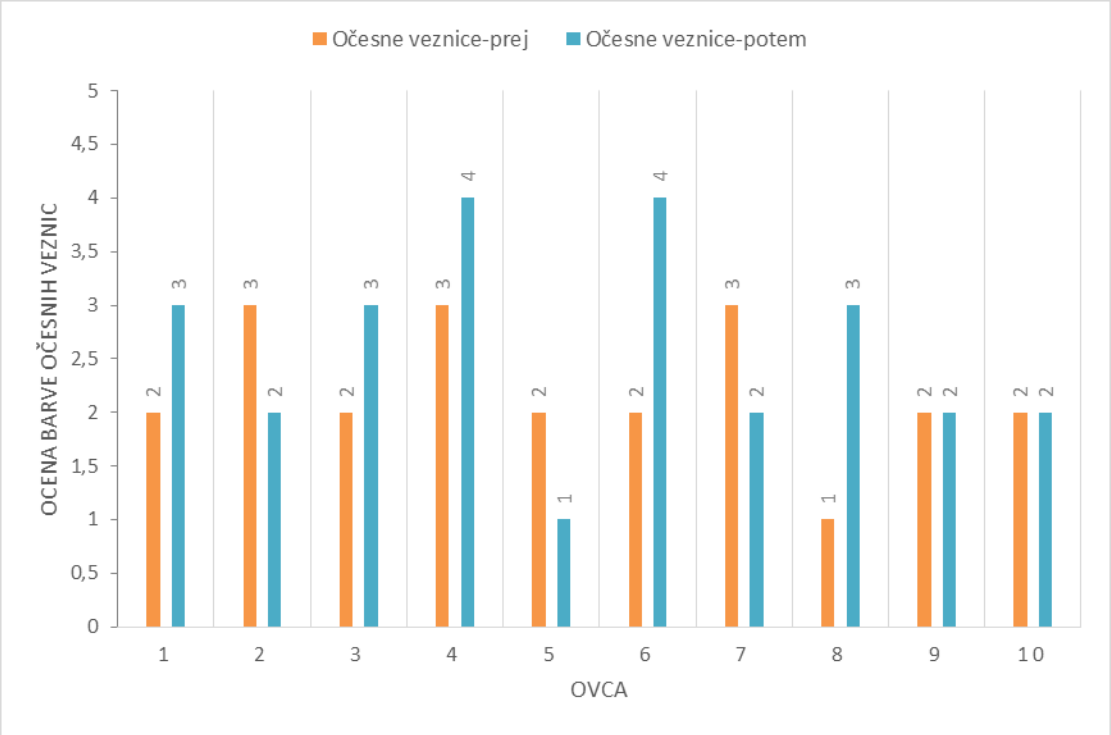
Povprečna ocena barve očesnih veznic pri kontrolni skupini ovc pred tretmajem je bila 2,5 (min. 1,0; max 4,0), po tretmaju pa je bila 2,8 (min. 2,0; max. 4,0). Razlika med vrednostma ni bila statistično značilna (p = 0,366).



Slika 9: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač

Figure 9: The body condition score before and after the treatment with pumpkin seed cake supplement

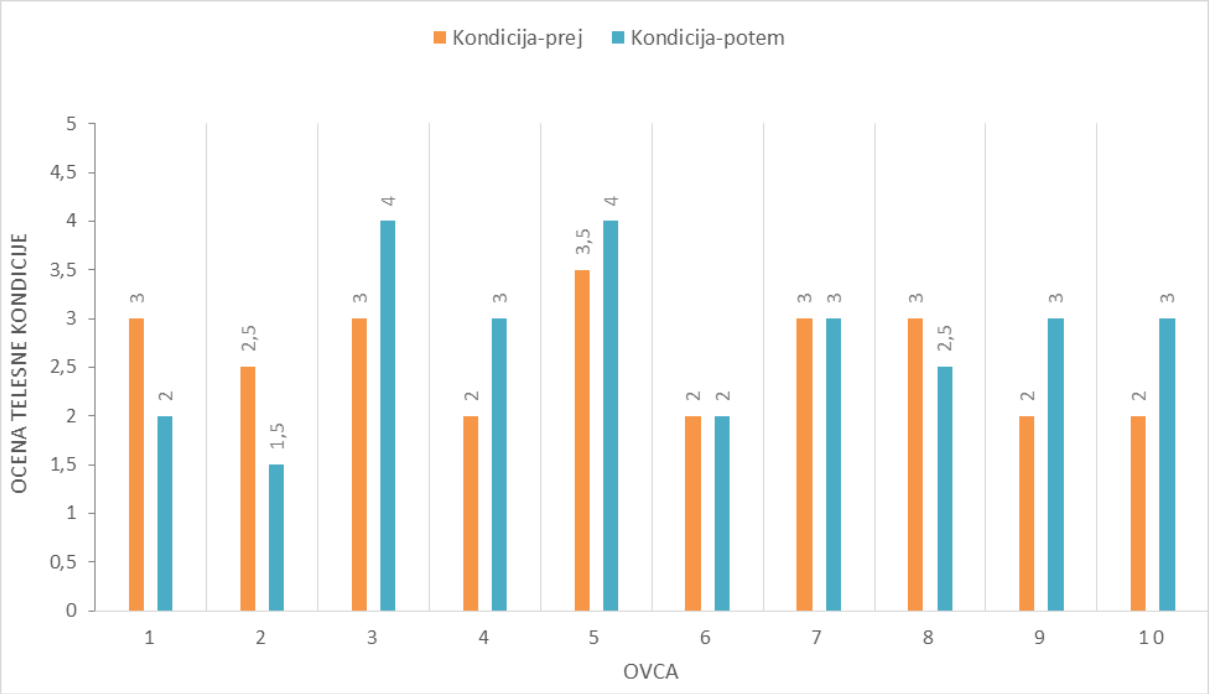
Povprečna ocena telesne kondicije pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek bučnih pogač pred tretmajem, je bila 3,0 (min. 2,0; max. 4,5), po tretmaju pa je bila 2,9 (min. 1,5; max. 4,0). Razlika med vrednostma ni bila statistično značilna (p = 0,317).



Slika 10: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač

Figure 10: The colour of eye mucous membranes assessment before and after the treatment with pumpkin seed cake supplement

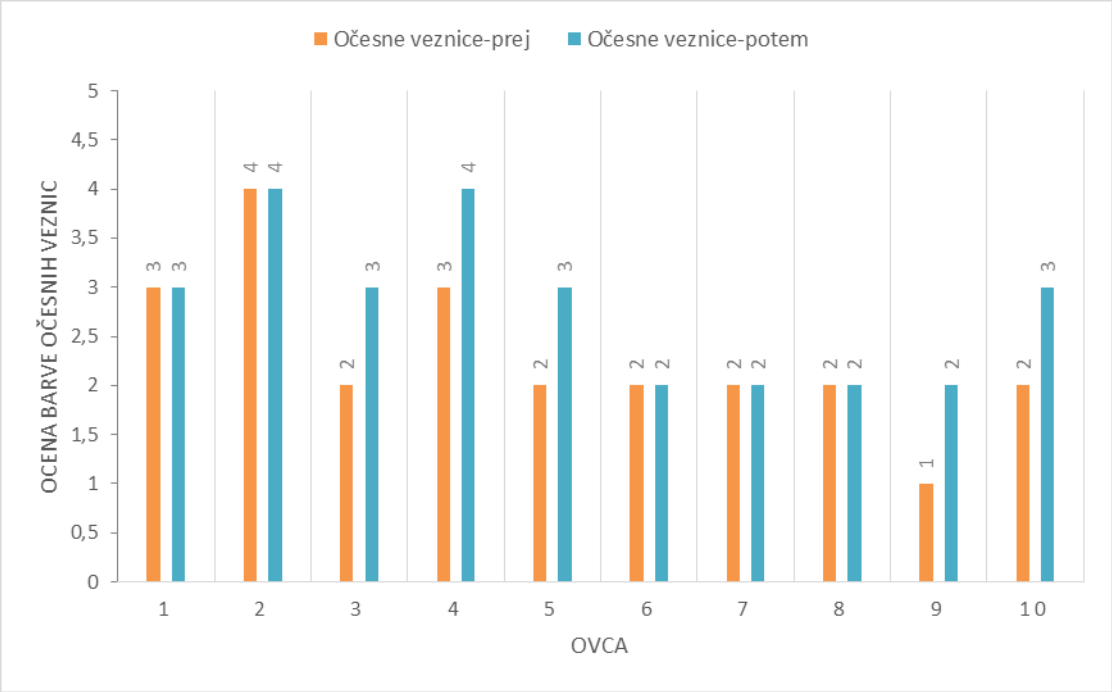
Povprečna ocena barve očesnih veznic pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek bučnih pogač pred začetkom tretmaja, je bila 2,2 (min. 1,0; max 3,0), po tretmaju pa 2,6 (min. 1,0; max. 4,0). Razlika med vrednostma ni bila statistično značilna (p = 0,271).



Slika 11: Ocena telesne kondicije pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek nageljnovih žbic

Figure 11: The body condition score before and after the treatment with cloves supplement

Povprečna ocena telesne kondicije pri skupini ovc, krmljenih z dodatkom zmletih nageljnovih žbic, je bila pred tretmajem 2,7 (min. 2,0; max. 3,5) in se po tretmaju ni spremenila (2,7; min. 1,5; max. 4,0). Razlike med vrednostma ni bilo.



Slika 12: Ocena barve očesnih veznic pred tretmajem in po njem pri skupini, ki je dobivala dodatek nageljnovih žbic

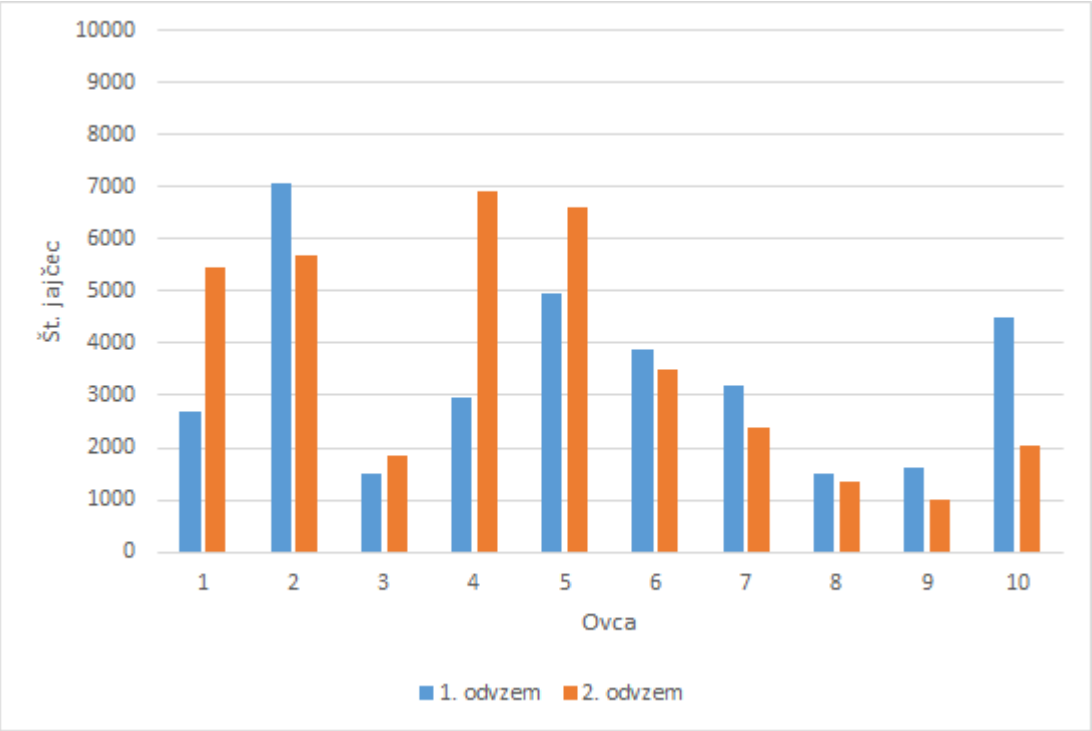
Figure 12: The colour of eye mucous membranes assessment before and after the treatment with cloves supplement

Povprečna ocena barve očesnih veznic pri skupini ovc, krmljenih z dodatkom zmletih nageljnovih žbic, je bila pred tretmajem 2,3 (min. 1,0; max 4,0), po tretmaju pa 2,8 (min. 2,0; max. 4,0). Razlika med vrednostma je bila statistično značilna (p = 0,025).

4.2 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE

Vzorci so bili odvzeti pri tridesetih ovcah dvakrat, pred začetkom krmljenja z dodatkoma in pet dni po končanem sedemdnevnem tretmaju. Ugotavljali smo spremembo v številu jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev in oocist na gram iztrebka.

Na sliki 13 so predstavljeni rezultati parazitološke preiskave pri kontrolni skupini ovc.



Slika 13: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v kontrolni skupini pred tretmajem in po njem

Figure 13: The number of eggs per gram of feces of *Strongylida* in the individual ewe from the control group, before and after the treatment

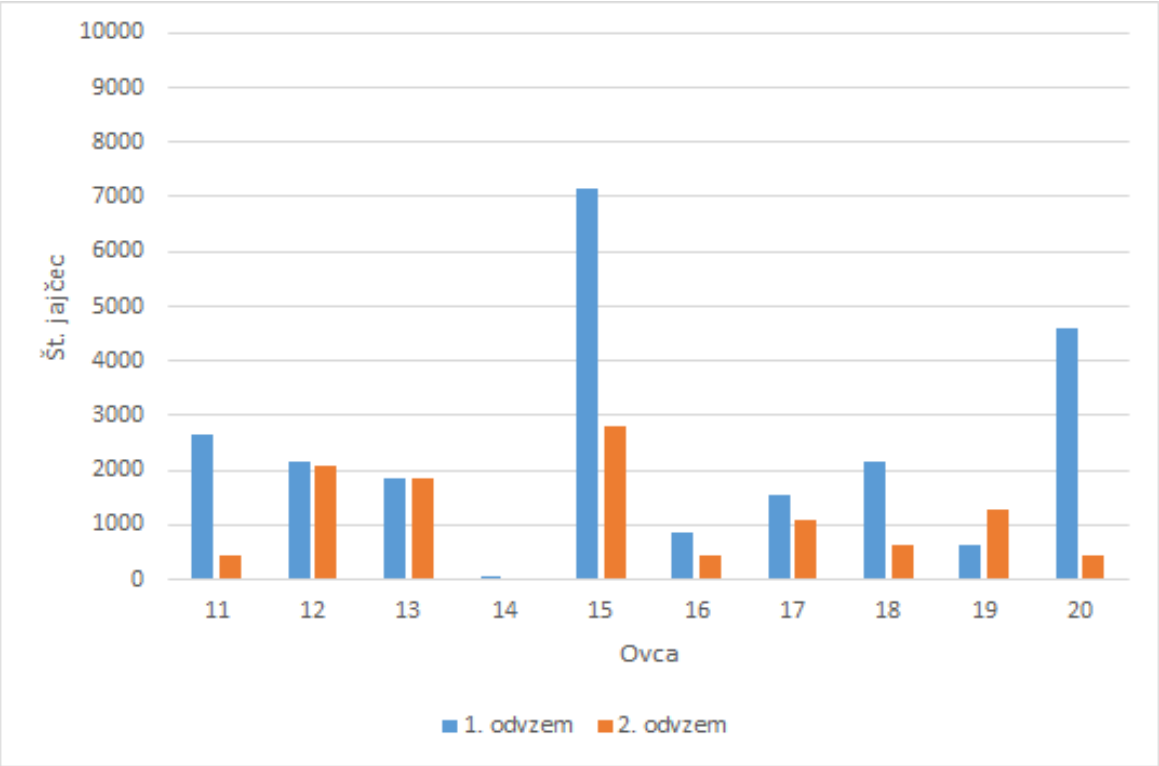
Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka se je pri kontrolni skupini zmanjšalo pri šestih ovcah, pri štirih pa se je povečalo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* povečalo za 8,7 odstotka. Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka se je najbolj povečalo pri ovci številka 4 (za 133,9 odstotka), najbolj pa se je zmanjšalo pri ovci številka 10 (za 54,4 odstotka).

Pri posameznih ovcah iz kontrolne skupine smo s parazitološko preiskavo ugotovili tudi prisotnost majhnega števila oocist *Eimeria* spp. ter jajčec črevesnih zajedavcev *Capillaria* sp., *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus* sp. in *Trichuris* sp.

Pri vseh ovcah je bila preiskava na pljučne črve negativna pri obeh odvzemih.

Pri ovcah iz kontrolne skupine smo vzorce iztrebkov pregledali še po zdravljenju s klasičnimi antiparazitiki (klosantel, doramectin), ki je bilo opravljeno po koncu našega poskusa. V vzorcih nismo našli jajčec *Strongylida*, kar pomeni, da je bilo zdravljenje uspešno. Pri treh ovcah smo našli posamezne oociste *Eimeria* spp. (50–300 OPG).

Na sliki 14 so predstavljeni rezultati parazitološke preiskave pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek bučnih pogač.



Slika 14: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač, pred tretmajem in po njem

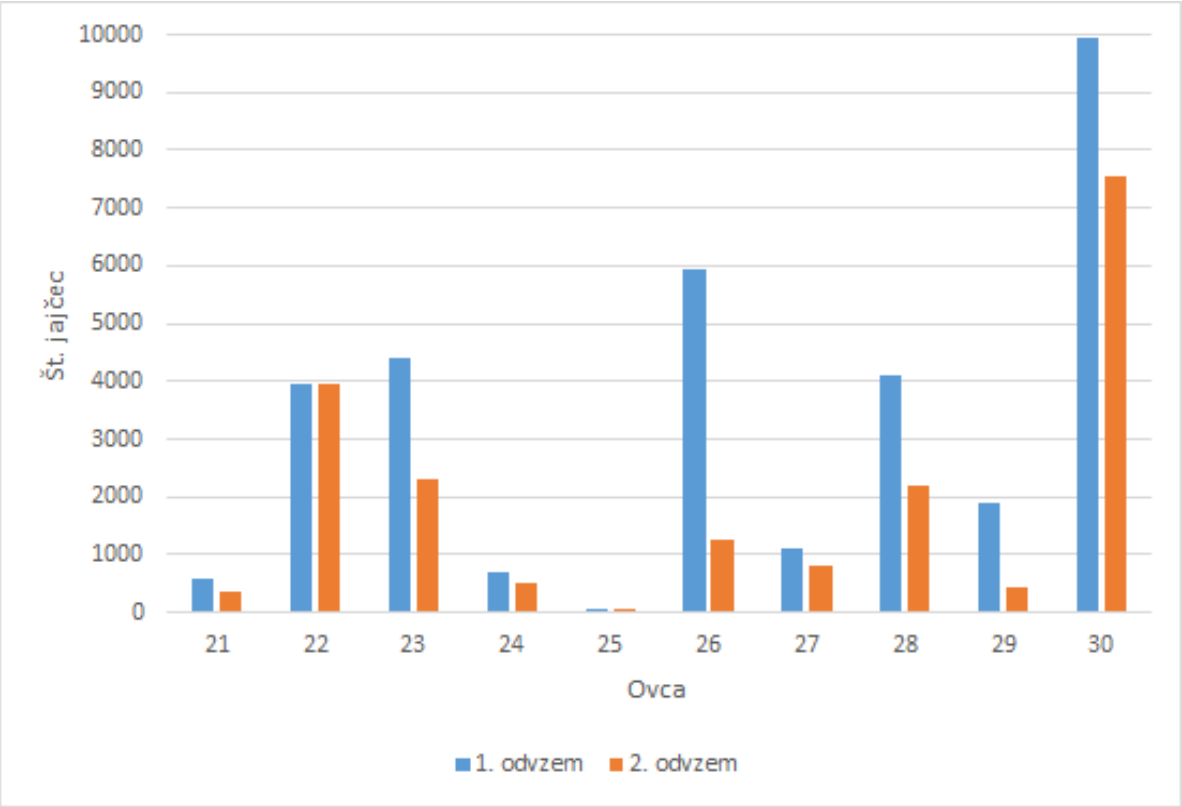
Figure 14: The number of eggs per gram of feces of *Strongylida* in the individual ewe from the group fed with pumpkin seed cakes supplement, before and after treatment

Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka se je v skupini ovc, ki so dobivale dodatek bučnih pogač, zmanjšalo pri osmih ovcah, pri eni se je število podvojilo, pri eni pa se ni spremenilo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 52,9 odstotka. Število jajčec

Strongylida na gram iztrebka se je najbolj zmanjšalo pri ovci št. 14 (za 100 odstotkov), povečalo pa se je pri ovci št. 19 (za 100 odstotkov).

Pri ovcah te skupine smo s parazitološko preiskavo pri obeh odvzemih ugotovili tudi prisotnost oocist *Eimeria* spp. in jajčec črevesnih zajedavcev *Nematodirus* sp. Pri vseh ovcah je bila preiskava na pljučne črve negativna pri obeh odvzemih.

Na sliki 15 so predstavljeni rezultati parazitološke preiskave pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek zmletih nageljnovih žbic.



Slika 15: Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, ki je dobivala dodatek zmletih nageljnovih žbic, pred tretmajem in po njem

Figure 15: The number of eggs per gram of feces of *Strongylida* in the individual ewe from the group fed with cloves supplement, before and after the treatment

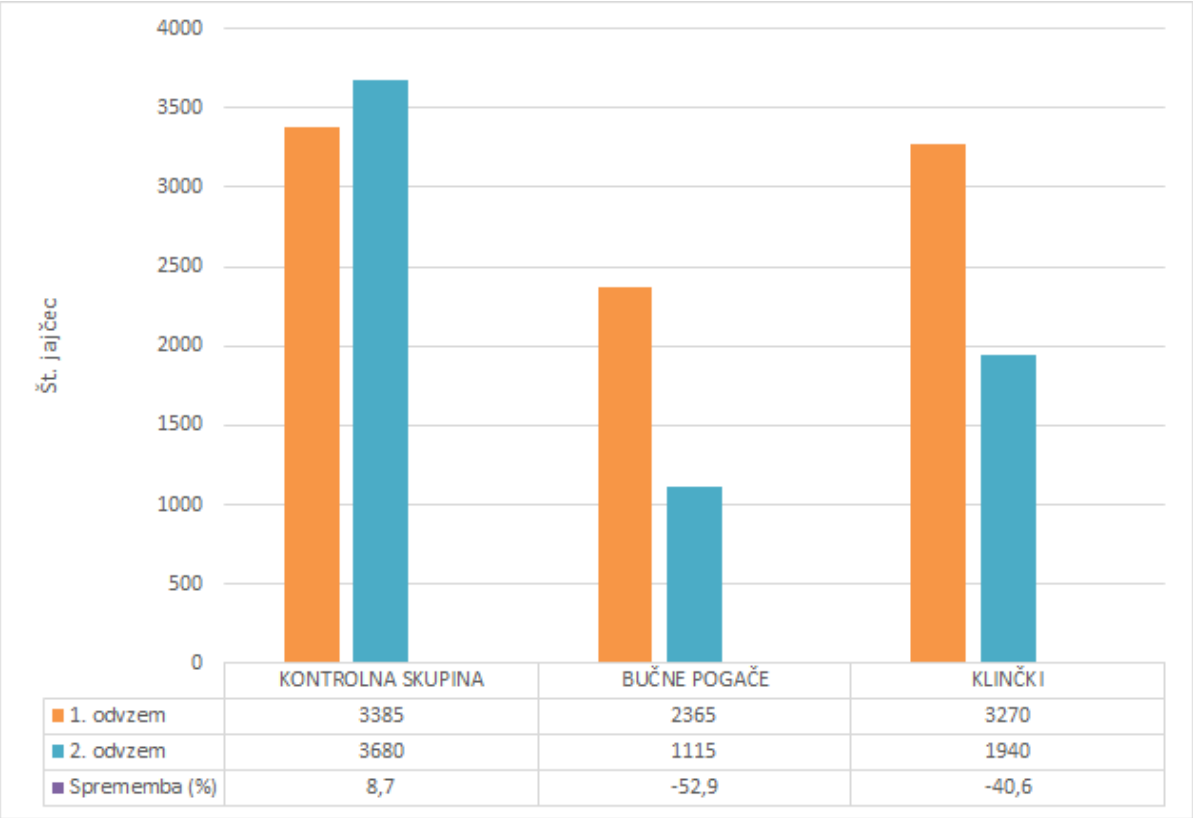
Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka se je pri skupini ovc, ki je dodatno dobivala zmlete nageljnove žbice, zmanjšalo pri osmih ovcah, pri dveh ovcah pa se število ni spremenilo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 40,7 odstotka. Število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka se je najbolj zmanjšalo pri ovci št. 29 (za 76,3 odstotka).

Pri ovcah iz te skupine smo s parazitološko preiskavo pri obeh odvzemih ugotovili tudi prisotnost oocist *Eimeria* spp. ter jajčec črevesnih zajedavcev *Nematodirus* sp., *Trichuris* sp. in *Strongyloides papillosus.* Pri vseh ovcah je bila preiskava na pljučne črve negativna pri obeh odvzemih.

Korelacije med preiskovanimi lastnostmi – oceno kondicije, oceno sluznic in številom jajčec *Strongylida* na gram iztrebkov – niso bile statistično značilne ($p > 0,05$).
Z analizo variance smo ugotovili statistično značilen vpliv vzorčenja (pred tretmajem ali po njem) na število jajčec *Strongylida* na gram iztrebkov ($p = 0,025$) in oceno sluznic ($p = 0,031$), ne pa na oceno kondicije (0,447). Skupina (tretma) ni imela statistično značilnega vpliva na preiskovane lastnosti ($p > 0,05$).

4.3 VPLIV TRETMAJA NA IZLOČANJE JAJČEC STRONGYLIDA

Na sliki 16 prikazujemo srednje vrednosti za število jajčec na gram iztrebka pred tretmajem in po njem pri vseh treh skupinah.



Slika 16: Srednja vrednost števila jajčec *Strongylida* pri posamezni skupini ovc pred tretmajem in po njem ter delež zmanjšanja ali povečanja števila jajčec pri posamezni skupini

Figure 16: Arithmetic mean of the number of eggs per gram of faeces of *Strongylida* in the each group, before and after the treatment; percentage of decreasing or increasing of the egg number in each group.

Srednja vrednost za število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri kontrolni skupini je bila pred tretmajem 3.385 jajčec, po tretmaju pa 3.680 jajčec. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* povečalo za 8,7 odstotka. Najmanjše število jajčec na gram iztrebka pred tretmajem je bilo 1.500, največje pa 7.050. Najmanjše število jajčec po tretmaju je bilo 1.000, največje pa 6.900 na gram iztrebka.

Srednja vrednost števila jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek bučnih pogač, je bila pred tretmajem 2.365, po tretmaju pa 1.115. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 52,9 odstotka. Najmanjše število jajčec na gram iztrebka pred tretmajem je bilo 50, največje pa 7.150. Najmanjše število jajčec na gram iztrebka po tretmaju je bilo 0, največje pa 2.800.

Srednja vrednost števila jajčec *Strongylida* na gram iztrebka pri skupini ovc, ki je dobivala dodatek zmletih nageljnovih žbic, je bila pred tretmajem 3.270, po tretmaju pa 1.940. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 40,6 odstotka. Najmanjše število jajčec na gram iztrebka pred tretmajem je bilo 50, največje pa 9.950. Najmanjše število jajčec na gram iztrebka po tretmaju je bilo 50, največje pa 7.550.

5 RAZPRAVA

5.1 OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC

V raziskavi smo želeli ugotoviti, ali se ovcam po tretmaju z dodatkom bučnih pogač ali zmletih nageljnovih žbic v krmo spremenita ocena telesne kondicije in barva očesnih veznic.

Povprečna ocena telesne kondicije se je pri kontrolni skupini spremenila iz 2,5 v 2,4, pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač, pa iz 3,0 v 2,9. Pri skupini, ki je dobivala dodatek zmletih nageljnovih žbic, je ostala enaka (2,7). Zaključimo lahko, da je telesna kondicija pri ovcah v vseh skupinah ostala skoraj nespremenjena pred tretmajem in po njem, zato med njimi nismo ugotovili statistično značilne razlike.

Znano je, da so ustrezno krmljene živali v boljšem zdravstvenem stanju in laže prenašajo ter prebolijo invazijo z zajedavci kot pa tiste, ki so podhranjene (Rahman in Seip, 2007). Priporočljivo je, da krmo obogatimo z beljakovinami, še preden pride do resne parazitarne invazije. Bučne pogače predstavljajo dober vir beljakovin. Kljub visoki energijski vrednosti bučnih pogač pri ovcah ni prišlo do izboljšanja telesne kondicije, saj smo jih krmili le sedem dni. Omenjeno časovno obdobje med obema ocenjevanjema je bilo prekratko, da bi prišlo do zaznavnega izboljšanja telesne kondicije. Da bi se ocena telesne kondicije pri ovci izboljšala za eno enoto, bi morala žival glede na različne navedbe avtorjev pridobiti 3,3–16,0 kg telesne mase – odvisno od pasme in stadija pri živali (jagnje po odstavitvi, ovca v laktaciji, presušena ovca) (Kenyon in sod., 2014). Na boljšo oceno telesne kondicije niso vplivale niti zmlete nageljnove žbice, ki imajo sicer majhno energijsko vrednost. Subjektivno ocenjevanje telesne kondicije ni tako natančno in morda bi s tehtanjem živali dobili drugačne rezultate, saj bi zaznali že manjše spremembe v telesni masi.

Povprečna ocena očesnih veznic se je pri kontrolni skupini spremenila iz 2,5 v 2,8, pri skupini, ki je dodatno dobivala bučne pogače, iz 2,2 v 2,6 in pri skupini, ki je dodatno dobivala zmlete nageljnove žbice, iz 2,3 v 2,8. Povprečna ocena očesnih veznic se je pri vseh skupinah med raziskavo nekoliko poslabšala, vendar značilnih razlik med skupinami ni bilo. Razlog bi lahko bil v kratkem času med obema ocenjevanjema in v majhnem številu živali,

kjer zaradi individualnih razlik med živalmi majhne razlike v barvi očesnih veznic niso bile značilne. Statistično značilna je bila le sprememba barve očesnih veznic pred tretmajem z zmletimi nageljnovimi žbicami in po njem. Ovce so dodatek nageljnovih žbic dobivale samo sedem dni. Čeprav so bili rezultati parazitološke preiskave ugodni, lahko to deloma pripišemo dejstvu, da so bili lahko še vedno prisotni krvosesni nematodi in da novonastali eritrociti potrebujejo nekaj časa, da povsem dozorijo in postanejo funkcionalni. Tako se v krvnem obtoku pojavijo šele po petih dneh (Reece, 2015).

5.2 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE

Pri kontrolni skupini se je število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka zmanjšalo pri šestih ovcah, pri štirih pa se je število povečalo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* povečalo za 8,7 odstotka, kar je pričakovano, saj živali niso dobivale pripravkov ali dodatkov, ki bi delovali proti zajedavcem. Razvojne oblike zajedavcev so lahko dozorele in tudi same začele izločati jajčeca. Število jajčec se ni povečalo pri vseh ovcah, zato lahko sklepamo, da je na spreminjanje števila izločenih jajčec vplival še kateri drug dejavnik.

Pri skupini ovc, krmljenih z dodatkom bučnih pogač, se je število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka zmanjšalo pri osmih ovcah, pri eni ovci se je podvojilo, pri eni pa se ni spremenilo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 52,9 odstotka. Zmanjšanje števila jajčec najverjetneje lahko pripišemo aktivnosti snovi, ki se nahajajo v bučnih pogačah, in visoki vsebnosti beljakovin (57 odstotkov surovih beljakovin). Dokazano je, da primerna oskrba živali z beljakovinami pomaga ob že prisotni resni invaziji z želodčno-črevesnimi črvi, saj lahko prepreči ali zmanjša klinične znake invazije s *Haemonchus contortus* in tudi patološke spremembe so manj izrazite (Sykes in Coop, 2001). Beljakovine imajo pomembno vlogo pri imunskem odzivu živali. Dodatne beljakovine v prehrani povečajo zmožnost gostitelja, da popravi poškodbe sluznice, ki jih povzročijo zajedavci (Bowie, 2014). Študija Van Houterta in sod. (1995) je pokazala, da dodatek beljakovin ublaži zmanjšanje prireje pri živali, poveča izločanje zajedavcev iz organizma, zmanjša izločanje jajčec in uporabo antiparazitikov. Antiparazitne lastnosti pripisujejo predvsem sekundarnemu metabolitu

kukurbitinu. Ta pospeši izločanje zajedavcev iz gostitelja s tem, ko oslabi njihovo zmožnost pritrjanja na steno prebavil (Acorda in sod., 2019), povzroča pa tudi degenerativne spremembe na reprodukcijskih organih zajedavcev (Bauri in sod., 2015). Veliko pozornosti se namenja tudi triterpenoidu kukurbitacinu, ki ima prav tako učinkovito antiparazitno delovanje (Salehi in sod., 2019). Jafarian in sod. (2012) pripisujejo bučnim semenom protivnetno delovanje in podporno delovanje imunskemu sistemu. Bučna semena imajo dober antiparazitski učinek tudi pri drugih živalskih vrstah, na primer pri perutnini (Acorda in sod., 2019) in pri miših (Ayaz in sod., 2015), kjer je ob uporabi prišlo do zmanjšanja števila odraslih parazitov in tudi števila izločenih jajčec. Bauri in sod. (2015) opisujejo učinek ekstrakta bučnih semen na *H. contortus* v *in vitro* pogojih, kjer se je gibljivost odraslih parazitov zmanjšala. Grzybek in sod. (2016) so pri prašičih in podganah ob dolgotrajnem krmljenju ekstrakta bučnih semen spremljali krvne in urinske parametre ter histopatologijo in niso ugotovili odstopanj. Bučne pogače so za živali okusna krma, za rejca pa so lahko dostopne in predstavljajo močno krmilo, enostavno za dokrmljevanje. Poleg tega, da predstavljajo dobro alternativo uporabi antiparazitikov, so lahko tudi nadomestek vira beljakovin in s tem zmanjšajo stroške za antiparazitike.

Pri skupini ovc, krmljenih z dodatkom zmletih nageljnovih žbic, se je število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka zmanjšalo pri osmih ovcah, pri dveh se število ni spremenilo. V povprečju se je število jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 40,6 odstotka. Zmanjšanje števila izločenih jajčec lahko pripišemo bioaktivnim snovem, ki jih vsebujejo nageljnove žbice (alkaloidi, glikozidi, eterična olja ipd.) (Saikumari in sod., 2016), predvsem evgenolu, ki naj bi deloval na povrhnjico zajedavca. Charitha in sod. (2017) so preiskovali *in vitro* delovanje alkoholnega ekstrakta nageljnovih žbic na odrasle osebke *Haemonchus contortus* pri ovcah in dosegli 100-odstoten pogin zajedavcev v nekaj minutah. Omenjeni ekstrakt je bil tudi uspešen ovicid. Treba je vedeti, da negativni stranski učinki še niso dobro raziskani, zato moramo nageljnove žbice uporabljati previdno in v ustreznem odmerku. V naši raziskavi stranskih učinkov nismo opazili. Nageljnove žbice so lahko dostopne in se enostavno odmerjajo. Rejec nam je povedal, da jih ovce na začetku poskusa niso hotele žreti, verjetno zaradi specifičnosti okusa in vonja, vendar kasneje s tem niso več imele težav.

Ugotovitve naše raziskave kažejo, da so bučna semena in nageljnove žbice pri zmanjšanju izločanja jajčec želodčno-črevesnih nematodov skoraj tako učinkoviti kot tanini. Vpliv kondenziranih taninov so proučevali Paolini in sod. (2003a). Koze, ki so bile namensko invadirane z ličinkami *Haemonchus contortus*, so osem dni krmili z ekstraktom tropske rastline *Schinopsis* sp., ki vsebuje velike količine kondenziranih taninov. Po štirih tednih se je izločanje jajčec parazita zmanjšalo za 64 odstotkov v primerjavi s kontrolno skupino. Zmanjšanega števila jajčec v iztrebkih po dodajanju tanina niso povezovali z manjšim številom zajedavcev, ampak z oslabljeno reprodukcijo samic nematodov (Rahman in Seip, 2007). Podobne rezultate so predstavili Shaik in sod. (2006), ki so koze krmili s stročnico *Sericea lespedeza*, ki je vsebovala veliko taninov. V tem primeru se ni zmanjšalo le število jajčec na g iztrebka, ampak tudi število odraslih zajedavcev. Vendar pa imajo tanini v količinah, večjih kot 7 odstotkov v suhi snovi krme, negativen učinek na živali; zmanjšajo apetit, upočasnijo rast, spremenijo tudi morfologijo in aktivnost vampove mikrobiote (Hoste in sod., 2006). Bowie (2014) je ugotavljal, da je paša, bogata s cikorijo, ki tudi vsebuje tanine, pri jagnjetih zmanjšala število zajedavcev v črevesju. Prav tako je ugotovil, da zmleta bučna semena pri kozah in jagnjetih dajejo dobre rezultate v terapiji proti parazitom.

Pri ovcah iz kontrolne skupine smo vzorce iztrebkov pregledali še po opravljenem zdravljenju s klasičnimi antiparazitiki. Zdravljenje je bilo uspešno, kajti v vzorcih nismo več našli jajčec *Strongylida*. Pri treh ovcah smo našli le posamezne oociste eimerij (50–300 oocist na gram iztrebka). Za zdravljenje eimerij je potrebno drugo antiparazitno sredstvo kot za želodčno-črevesne zajedavce.

Podobnih raziskav o vplivu bučnih semen in nageljnovih žbic na izločanje jajčec želodčno-črevesnih nematodov pri drobnici v do sedaj objavljeni literaturi nismo zasledili. Potrebne bi bile še dodatne raziskave o bučnih semenih, nageljnovih žbicah in njihovi morebitni kombinaciji v uporabi za zmanjšanje prisotnosti parazitov zaradi potencialnih sinergističnih učinkov. Prav tako bi moral poskus trajati dlje časa, da bi lahko proučili še vpliv različnih sezon in različne osnovne krme (paša, zimski obrok) v teh sezonah. Zavedamo se tudi, da je bilo v poskus vključenih premalo živali, da bi lahko ugotovitve posplošili na živalsko vrsto, prav tako bi morali vključiti več tropov različnih pasem ovc.

6 SKLEPI

V raziskavi smo ugotovili, da sedemdnevno dokrmljevanje ovc z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic ni vplivalo na oceno telesne kondicije in barve očesnih veznic, kar pripisujemo prekratkemu času krmljenja.

Pri ovcah iz kontrolne skupine se je izločanje jajčec *Strongylida* med začetkom in koncem poskusa povečalo za 8,7 odstotka.

Pri ovcah, krmljenih z dodatkom bučnih pogač, se je izločanje jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 52,9 odstotka.

Pri ovcah, krmljenih z dodatkom zmletih nageljnovih žbic, se je izločanje jajčec *Strongylida* zmanjšalo za 40,6 odstotka.

Dodatka nageljnovih žbic in bučnih pogač sta vplivala na zmanjšano izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev pri ovcah v poskusu in predstavljata enostaven način, s katerim lahko zmanjšamo uporabo antiparazitikov pri živalih.

Dodatek bučnih pogač je ugodno vplival tudi na boljšo hranljivo vrednost krmnega obroka.

Uporaba obeh rastlinskih proizvodov bi lahko pripomogla k upočasnitvi razvoja rezistence proti antiparazitikom in ohranjanju okolja ter ugodno vplivala na dobrobit živali, ekonomičnost reje in zdravje ljudi, ki uživajo hrano živalskega izvora.

7 POVZETEK

V raziskavi smo proučevali vpliv bučnih semen in nageljnovih žbic na izločanje jajčec notranjih zajedavcev pri drobnici. Znano je, da invazije z želodčno-črevesnimi nematodi povzročajo velike gospodarske izgube, saj zmanjšajo prirejo rejnih živali, hkrati pa zajedavci ogrožajo njihovo zdravje. Zaradi povečanega pojava rezistence notranjih zajedavcev proti antiparazitikom želimo odkriti nove načine za zatiranje zajedavcev, ki bi bili cenovno ugodni in rejcem dostopni, hkrati pa tudi učinkoviti. Nekatere rastline vsebujejo bioaktivne snovi, ki imajo antiparazitne lastnosti. Mednje spadajo tudi buče in nageljnove žbice, zato bi lahko bile primerne za zmanjševanje parazitarnih invazij, vendar je o tem objavljenih zelo malo raziskav, nanašajo pa se samo na *in vitro* pogoje. Z raziskavo smo ugotavljali, kakšen vpliv imajo bučne pogače in nageljnove žbice na telesno kondicijo ovc, barvo očesnih veznic in izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev v iztrebkih ovc. V raziskavo je bilo vključenih 30 odraslih ovc jezersko-solčavske pasme, ki smo jih razdelili v tri skupine. Prva skupina ovc je sedem dni poleg običajnega krmnega obroka dobivala dodatek bučnih pogač (200 g dnevno na žival), druga skupina pa dodatek zmletih nageljnovih žbic (1,8 g dnevno na žival). Tretja skupina je bila kontrolna in je dobivala običajen krmni obrok. Pred začetkom raziskave in pet dni po koncu krmljenja dodatkov smo ocenili telesno kondicijo in barvo očesnih veznic živali ter jim odvzeli iztrebke, v katerih smo z različnimi koprološkimi metodami iskali razvojne oblike želodčno-črevesnih in pljučnih zajedavcev. Pri primerjavi ocen telesne kondicije in barve očesnih veznic pred začetkom in po koncu krmljenja dodatkov nismo ugotovili statistično značilnih razlik, kar pripisujemo prekratkemu času krmljenja dodatkov. Statistično značilno se je poslabšala samo ocena barve očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala zmlete nageljnove žbice. Čeprav so bili rezultati parazitološke preiskave ugodni, lahko rahlo poslabšanje ocene očesnih veznic pripišemo temu, da so bili pri živalih še vedno prisotni krvosesni nematodi, ter dejstvu, da novonastali eritrociti potrebujejo nekaj dni, da postanejo funkcionalni. Pri pregledu iztrebkov smo ugotovili, da se je v skupini, dodatno krmljeni z bučnimi pogačami, število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka v povprečju zmanjšalo za 52,9 odstotka, pri skupini, dodatno krmljeni z zmletimi nageljnovimi žbicami, pa za

40,6 odstotka. Pri ovcah iz kontrolne skupine se je število izločenih jajčec *Strongylida* povečalo za 8,7 odstotka.

Ugotovitve naše raziskave kažejo, da so bile bučne pogače in nageljnove žbice učinkovite pri zmanjšanju izločanja jajčec želodčno-črevesnih nematodov. Bučne pogače predstavljajo tudi dober dodaten vir beljakovin v prehrani ovc in hkrati zmanjšujejo invadiranost z zajedavci, kar je zelo spodbudno. Verjamemo, da se bo zaradi dostopnosti bučnih pogač in zaradi vseh navedenih pozitivnih učinkov povečala njihova raba pri dokrmljevanju ovc in bomo tako pripomogli k upočasnitvi razvoja rezistence proti antiparazitikom. Dober učinek so pokazale tudi zmlete nageljnove žbice, zato bi bilo v prihodnje smiselno poskusiti z dokrmljevanjem kombinacije bučnih pogač in zmletih nageljnovih žbic zaradi potencialnega sinergističnega delovanja.

8 ZAHVALE

Hvala mentorici doc. dr. Jožici Ježek, dr. vet. med., in somentorici doc. dr. Aleksandri Vergles Rataj, dr. vet. med., za nesebično pomoč, koristne nasvete, motiviranost, dragocen čas in za strokovno pomoč pri izvedbi te naloge.

Hvala rejcu, ki je privolil v sodelovanje pri raziskavi in upošteval naša navodila.

Hvala celi ekipi Enote za parazitologijo na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo za njihovo pomoč, čas, potrpežljivost in neverjetno energičnost pri izvedbi eksperimentalnega dela raziskovalne naloge.

Hvala mag. Dominiki Štabuc Starčevič za bučne pogače.

Hvala Enoti za okolje, prehrano, dobrobit in higieno živali na Inštitutu za varno hrano, krmo in okolje za izvedbo analize sestave bučnih pogač.

Hvala Veterinarski fakulteti za izkazano zaupanje in finančno podporo raziskave.

Hvala mag. Giti Grecs Smole za pomoč pri pregledu literature.

Hvala lektorici Andreji Jezernik za lektoriranje slovenskega besedila naloge.

Hvala Simonu Pekolju za lektoriranje angleškega dela najine raziskovalne naloge.

Hvala Andražu Stariču, Rebeki Turk, Urški Bergant Bertoncelj, asist. Jaki Jakobu Hodniku in Barbari Podmeninšek za pomoč pri vzorčenju.

Hvala tudi vsem prijateljem za moralno podporo.

9 LITERATURA

Acorda JA, Mangubat IYE, Divina BP. Evaluation of the *in vivo* efficacy of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seeds against gastrointestinal helminths of chickens. Turk J Vet Anim Sci 2019; 43(2): 206–11.

Ayaz E, Gökbulut C, Coşkun H, Türker A, Özsoy S, Ceylan K. Evaluation of the anthelmintic activity of pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*) in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. J Pharmacogn Phytother 2015; 7(9): 189–93.

Bassetto CC, Almeida FA, Newlands GFJ, et al. Trials with the *Haemonchus* vaccine, Barbervax®, in ewes and lambs in a tropical environment: nutrient supplementation improves protection in periparturient ewes. Vet Parasitol 2018; 264: 52–7.

Bath GF, Malan FS, van Wyk JA. The FAMACHA ovine anaemia guide to assist with the control of haemonchosis. In: Proceedings of the 7th Annual Congress of the Livestock Health and Production Group of the South African Veterinary Association. Port Elizabeth, 1996; 5.

Bath GF, van Wyk JA. The Five Point Check for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. Small Ruminant Res 2009; 86 (1/3): 6–13.

Bauri RK, Tigga MN, Kullu SS. A review on use of medicinal plants to control parasites. Indian J Nat Prod Resour 2015; 6(4): 268–77.

Besier RB, Kahn LP, Sargison ND, Van Wyk JA. Diagnosis, treatment and management of *Haemonchus contortus* in small ruminants. Adv Parasitol 2016; 93: 192–3.

Bowie EA. Alternative treatments for *Haemonchus contortus* in sheep: testing of a natural dewormer and literature review of management methods. Carlisle, Pennsylvania : Dickinson College, 2014. Honors thesis.

Bowman DD. Georgis' parasitology for veterinarians. 10th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2014: 162–5.

Charitha V, Adeppa J, Malakondaiah P. In vitro anthelmintic activity of *Syzygium aromaticum* and *Melia dubia* against *Haemonchus contortus* of sheep. Indian J Anim Sci 2017; 87: 968–70.

Coop RL, Holmes PH. Nutrition and parasite interaction. Int J Parasitol 1996; 26(8/9): 951–62.

Cortés-Rojas DF, Fernandes de Souza CR, Pereira Oliveira W. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pac J Trop Biomed 2014; 4(2): 90–6.

Diaz D, Lozano LL, Zuniga V. Preclinical studies of *Cucurbita maxima* (pumpkin seeds) a traditional intestinal antiparasitic in rural urban areas (article in Spanish). Rev Gastroenterol Perú 2004; 24(4): 323–7.

FDA. Antiparasitic resistance in cattle and small ruminants in the United States: how to detect it and what to do about it. Rockville: Center for Veterinary Medicine, Food and Drug Administration, 1–5. https://www.fda.gov/media/85805/download (8. maj 2020)

Fleming SA, Craig T, Kaplan RM, Miller JE, Navarre C, Rings M. Anthelmintic resistance of gastrointestinal parasites in small ruminants. J Vet Intern Med 2006; 20(2): 435–44.

Fontenot ME, Miller JE, Peña MT, Larsen M, Gillespie A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. Vet Parasitol 2003; 118(3/4): 203–13.

Grzybek M, Kukula-Koch W, Strachecka A et al. Evaluation of anthelmintic activity and composition of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed extracts-*in vitro* and *in vivo* studies. Int J Mol Sci 2016; 17(9): 1456.

Guarrera PM. Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. J Ethnopharmacol 1999; 68 (1/3): 183–92.

Hepworth K, Neary M, Hutchens T. Managing internal parasitism in sheep and goats. (Report No. AS–573–W). West Lafayette : Purdue University Cooperative Extension Service, 2006: 1–10.

Hordegen P, Hertzberg H, Heilmann J, Langhans W, Maurer V. The anthelmintic efficiacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. Vet Parasitol 2003; 117(1/2): 51–60.

Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. Trends Parasitol 2006; 22(6): 253–61.

Hoste H, Brunet S, Paolini V, et al. Compared *in vitro* anthelmintic effects of eight tannin-rich plants browsed by goats in the southern part of France. Option Méditerr A 2008; 85: 431–6.

Jacobs D, Fox M, Gibbons L, Hermosilla C. Principles of veterinary parasitology. Oxford: Wiley, 2016: 507–33.

Jafarian A, Zolfaghari B, Parnianifard M. The effects of methanolic, chloroform, and ethylacetate extracts of the *Cucurbita pepo L*. on the delay type hypersensitivity and antibody production. Res Pharm Sci 2012; 7(4): 217–24.

Kenyon PR, Maloney SK, Blache D. Review of sheep body condition score in relation to production characteristics. N Z J Agric Res 2014; 57(1): 38–64.

Kumar P, Singh VK. Activity of *Allium sativum, Ferula asafoetida* and *Syzygium aromaticum* against *Fasciola hepatica.* J Biol Earth Sci 2014; 4(1): 57–65.

Kochapakdee S, Pandey V, Pralomkarn W, Choldumrongkul S, Ngampongsai W, Lewpethara A. Antihelmintic resistance in goats in southern Thailand. Vet Rec 1995; 137: 124–5.

Kodermac P, Tušar J. Parazitoze in njihovo zdravljenje pri drobnici. Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2016: 52–9.

Nassan MA, Mohamed EH, Abdelhafez S, Ismail TA. Effect of clove and cinnamon extracts on experimental model of acute hematogenous pyelonephritis in albino rats: immunopathological and antimicrobial study. Int J Immunopathol Pharmacol 2015; 28(1): 60–8.

Niezen JH, Charleston WAG, Robertson HA, Shelton D, Waghorn GC, Green R. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and immunity to gastrointestinal nematodes. Vet Parasitol 2002; 105: 229–45.

Page AP, Roberts M, Félix M, Pickard D, Page A, Weir W. The golden death bacillus *Chryseobacterium nematophagum* is a novel matrix digesting pathogen of nematodes. BMC Biol 2019; 17(1): e10. doi: 10.1186/s12915-019-0632-x

Paolini V, Bergeaud JP, Grisez C, Prevot F, Dorchies P, Hoste H. Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Vet Parasitol 2003a; 113(3/4): 253–61.

Paolini V, Dorchies P, Hoste H. Effects of sainfoin hay on gastrointestinal nematode infections in goats. Vet Rec 2003b; 152(19): 600–1.

Papadopoulos E, Gallidis E, Ptochos S. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. Vet Parasitol 2012; 189(1): 85–8.

Pogačnik M, Cestnik V, Curk A et. al. Zdravje in bolezni drobnice. Ljubljana: Kmečki glas, 1998: 200–15.

Rahmann G, Seip H. Bioactive forage and phytotherapy to cure and control endo-parasite diseases in sheep and goat farming systems: a review of current scientific knowledge. Landbauforsch Völkenrode 2007; 57(3): 285–95.

Reece WO. Dukes' physiology of domestic animals. 13th ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2015: 122.

Rose H, Rinaldi L, Bosco A, et al. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. Vet Rec 2015; 176(21): 546.

Ruffel A, Raza A, Elliott T, Kotze A. The use of the larval development assay for predicting the in vivo efficacy of levamisole against *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis.* Vet Parasitol 2018; 260: 6–11.

Saastamoinen M, Sarkijarvi S, Hyyppa S. Garlic (*Allium sativum*) supplementation improves respiratory health but has increased risk of lower hematologic values in horses. Animals (Basel) 2019; 9(1): 11.

Saikumari D, Shiva Rani SK, Saxena N. Antibacterial activity of Syzigium *aromaticum L*. (Clove). Int J Curr Microbiol Appl Sci 2016; 5(11): 484–9.

Salehi B, Capanoglu E, Adrar N, et al. *Cucurbits* plants: a key emphasis to its pharmacological potential. Molecules 2019; 24(10): 1854.

Salkova D, Panayotova-Pencheva M, Movsesyan S, Beer S, Voronin M, Arkhipov I. Alternative methods for control of parasitic diseases in animals. Russ Parasitol J 2014; 93–103.

Sani RA, Panandam J, Ben Gheshir MA. Genetic selection of Santa Ines sheep resistant to *Haemonchus contortus*. In: Proceedings of Sustainable Endoparasite Control for Small Ruminants in south East Asia. Munoz, Phillipines : Central Luzon State University, 1998: 67.

Santos FCC, Carvalho NUM. Alcoholic tincture of garlic (*Allium sativum*) on gastrointestinal endoparasites of sheep: short communication. Ciênc Anim Bras 2014; 15(1): 115–8.

Sargison N. Sheep flock health: a planned approach. Oxford : Wiley, 2009: 175.

Sargison N, Scott P, Jackson F. Multiple anthelmintic resistance in sheep. Vet Rec 2001; 149 (25): 778–9.

Shaik SA, Terrill TH, Miller JE, et al. Effects of feeding *Sericea lespedeza* hay to goats infected with *Haemonchus contortus*. S Afr J Anim Sci 2004; 34(5): 248–50.

Stear MJ, Fitton L, Innocent GT, Murphy L, Rennie K, Matthews L. The dynamic influence of genetic variation on the susceptibility of sheep to gastrointestinal nematode infection. J R Soc Interface 2007; 4(16): 767–76.

Sykes AR, Coop RL. Interactions between nutrition and gastrointestinal parasitism in sheep. N Z Vet J 2001; 49(6): 222–6.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary parasitology. 4th ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2016: 436–515.

Thamsborg SM, Roepstorff A, Mejer H. Alternative approaches to control of parasites in livestock: Nordic and Baltic perspectives. Acta Vet Scand 2010; 52(1): S27.

Valderrábano J, Delfa R, Uriarte J. Effect of level of feed intake on the development of gastrointestinal parasitism in growing lambs. Vet Parasitol 2002; 104: 327–38.

Van Houtert MFJ, Barger IA, Steel JW, Windon RG, Emery DL. Effects of dietary protein intake on responses of young sheep to infection with *Trichostrongylus colubriformis*. Vet Parasitol 1995; 56: 163–80.

Van Wyk JA, Bath GF. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. Vet Res 2002; 33(5): 509–29.

Veerakumari L, Kumar SS. Effect of ethanol extract of *Syzygium aromaticum* on fumarate reductase and succinate dehydrogenase of *Haemnochus contortus*. J Global Trends Pharm Sci 2017; 8(4): 4648–55.

Vercruysse J, Claerebout E. Overview of anthelmintics. In: MSD and MSD veterinary manual [online]. Kenilworth, New: Merck Sharp & Dohme, 2014. https://www.msdvetmanual.com/pharmacology/anthelmintics/overview-of-anthelmintics (8. maj 2020)

Vergles Rataj A, Bidovec A. Priročnik za vaje iz parazitologije. Ljubljana : Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta 2004: 8–14.

Vijayasteltar L, Nair GG, Maliakel B, Kuttana R, Krishnakumar IM. Safety assessment of a standardized polyphenolic extract of clove buds: subchronic toxicity and mutagenicity studies. Toxicology Rep 2016; 439–49.

Waller PJ. Antihelmintic resistance. Vet Parasitol 1997; 72 (3-4): 391–412.

Waller PJ, Knox MR, Faedo M. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: feeding and block studies with *Duddingtonia flagrans*. Vet Parasitol 2001;102(4): 321–30.

Zajac AM, Conboy G. Veterinary clinical parasitology. 7th ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub 2006: 70–106.

10 PRILOGE

9.1 PRILOGA 1 - POROČILO O PRESKUŠANJU

Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta

Inštitut za varno hrano, krmo in okolje
Enota za okolje, prehrano, dobrobit in higieno živali

Gerbičeva 60
1000 Ljubljana, Slovenija
Telefon: (01) 4779-100
Telefax: (01) 283-22-43
dekanat@vf.uni-lj.si

UL - VF - KLINIKA ZA REPRODUKCIJO IN VELIKE ŽIVALI - PREŽVEKOVALCI
C. V MESTNI LOG 47
1000 LJUBLJANA

Številka poročila: VF-20/ 2371
EOPDHZ-20/ 28

POROČILO O PRESKUŠANJU

Datum: 12.02.2020
Naročnik: UL - VF - KLINIKA ZA REPRODUKCIJO IN VELIKE ŽIVALI - PREŽVEKOVALCI, C. V MESTNI LOG 47, 1000 LJUBLJANA
Vzorec odvzel: UL - VF - KLINIKA ZA REPRODUKCIJO IN VELIKE ŽIVALI - PREŽVEKOVALCI, C. V MESTNI LOG 47, 1000 LJUBLJANA

Datum odvzema: 22.01.2020 Ura: ni podatka
Datum zaključka preiskav: 12.02.2020
Datum sprejema: 23.01.2020
Oznaka spremnega dopisa: 23.1.2020
Vzorci so bili pregledani in so ustrezali kriterijem za sprejem.
Podatki, ki jih je zagotovil odjemalec, so razvidni iz spremnega dopisa, ki je priloga tega poročila.

K	Vzorec / Parameter	Rezultat	Enota	Metoda	Op.	Začetek / konec preiskave
	Bučna pogača					
	Vlaga	6,04	%	Uredba Komisije (ES) št. 152/2009		28.01.2020
	Surove beljakovine	57,0	%	Uredba Komisije (ES) št. 152/2009		03.02.2020-04.02 2020
	Surova olja in maščobe	13,5	%	Uredba Komisije (ES) št. 152/2009		03.02.2020
	Surove vlaknine	3,50	%	Uredba Komisije (ES) št. 152/2009		04.02.2020-05.02.2020
	Surovi pepel	9,43	%	Uredba Komisije (ES) št. 152/2009		03.02.2020-04.02.2020
	Aktivnost vode	0,45		ISO 21807:2004		12.02.2020

prof. dr. Breda Jakovac Strajn
Vodja enote

znan. sod. dr. Gabrijela Tavčar Kalcher
Predstojnica inštituta

UNIVERZA V LJUBLJANI Veterinarska fakulteta Ljubljana

Poslano:
- Arhiv

Priloge:
1. Spremni dopis z oznako: 23.1.2020

Rezultati se nanašajo izključno na prinesene in preiskane vzorce. Razmnoževanje poročila, razen v celoti, ni dovoljeno.
Podatki o uporabljeni metodi in merilni negotovosti so na voljo v laboratoriju in na https://www.vf.uni-lj.si/enota-za-zagotavljanje-kakovosti.

Stran 1 / 1