

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA



Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta

**UČINEK PREHRANSKIH DODATKOV NA
IZLOČANJE JAJČEC ŽELODČNO-ČREVESNIH
NEMATODOV PRI DROBNICI**

**THE EFFECT OF FEED SUPPLEMENTS ON
GASTROINTESTINAL NEMATODES
EGG SHEDDING IN SMALL RUMINANTS**

Ema Šilc

Nina Heričko

Ljubljana, 2022

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA



Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta

UDK: 636.3.9:616.34-008.89:615.322:635.62:633.832(043.2)

**UČINEK PREHRANSKIH DODATKOV NA IZLOČANJE
JAJČEC ŽELODČNO-ČREVESNIH NEMATODOV PRI
DROBNICI**

**THE EFFECT OF OF FEED SUPPLEMENTS ON
GASTROINTESTINAL NEMATODES
EGG SHEDDING IN SMALL RUMINANTS**

Ema Šilc

Nina Heričko

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, 2022

IZVLEČEK

Ključne besede: ovce, bolezni – parazitologija; nematoda – učinki zdravil; prehranski dodatki – analize; antiparazitna sredstva; feces – analize; *Cucurbita* – terapevtska raba; *Syzygium* – terapevtska raba; *Picea* – terapevtska raba; štetje jajčec parazitov; ovce

Invadiranost z želodčno-črevesnimi nematodi pri drobnici predstavlja težavo, saj negativno vpliva na splošno počutje živali in njihovo dobrobit ter zmanjšuje prirejo. Odpornost zajedavcev proti zdravilom – antihelminnikom je vse pogostejša. V literaturi je opisanih veliko rastlin, ki vsebujejo bioaktivne snovi z antiparazitnimi lastnostmi. V raziskavi smo proučevali vpliv dodatkov bučnih pogač, nageljnovih žbic in smrekovih vej na telesno kondicijo ovc, barvo očesnih veznic, konsistenco iztrebka, zamazanost okolice zadnjika, najbolj pa nas je zanimal vpliv na izločanje jajčec želodčno-črevesnih nematodov. V raziskavo je bilo vključenih 30 ovc jezersko-solčavske pasme. Ovce smo razdelili v tri skupine, v vsaki je bilo deset ovc. Prva skupina je bila kontrolna, ki je prejela enako prehrano kot pred raziskavo. Druga je 14 dni zraven običajnega obroka prejela še smrekove veje, ki so jih imele ovce na razpolago po volji. Tretja skupina je kot dodatek, dvakrat na dan, dobivala bučne pogače (200 g dan/žival) in zmlete nageljnove žbice (1,8 g dan/žival). Vzorčenje in ocenjevanje ovc smo izvedli pred pričetkom raziskave (1. dan), po koncu krmljenja dodatkov (20. dan) in 14 dni po tem, ko živali niso več dobivale dodatkov (34. dan). Ugotovili smo, da se je v kontrolni skupini pri tretjem vzorčenju število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka v povprečju povečalo za 103,46 odstotka v primerjavi s prvim vzorčenjem. Pri skupini z dodatkom smrekovih vej je prišlo v povprečju do 76,9-odstotnega povečanja števila jajčec. V tretji skupini, ki je prejela dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic, pa je prišlo do 4,5-odstotnega zmanjšanja števila jajčec v primerjavi s prvim vzorčenjem. Povprečne ocene telesne kondicije ovc, barve očesnih veznic, konsistence iztrebka, zamazanosti okolice zadnjika se med skupinami in vzorčenji niso veliko spreminjale. Statistično značilne razlike smo ugotovili pri povprečni oceni barve očesnih veznic pri obeh skupinah, ki sta dobivale prehranske dodatke, in pri oceni konsistence iztrebkov pri kontrolni skupini ter skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic. V raziskavi smo ugotovili, da se je število izločenih jajčec najbolj zmanjšalo v skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic, kar kaže na potencialno antiparazitno delovanje.

ABSTRACT

Key words: sheep diseases – parasitology; nematoda – drug effects; dietary supplements – analysis; antiparasitic agents; feces – analysis; *Cucurbita* – therapeutic use; *Syzygium* – therapeutic use; *Picea* – therapeutic use; parasite egg count; sheep.

Infection with gastrointestinal nematodes in small ruminants is serious problem and negatively affects animal welfare, general, well-being and production. Parasite resistance to anthelmintics is a worsening problem worldwide. Plants containing bioactive compounds with antiparasitic properties have been reported in the literature. In our study, the effect of pumpkin seed cake, cloves, and spruce twigs on ewes' body condition, conjunctival colour, fecal consistency, dag score, and effect on gastrointestinal nematodes egg excretion was investigated. A total of 30 ewes of the Jezersko-Solčava breed were included. They were divided into three groups of ten ewes each. The control group received their basic diet. The second group received spruce twigs *ad libitum* for 14 days. The third group received pumpkin seed cake (200 g per day/animal) and ground cloves (1.8 g per day/animal) supplement, twice daily. Sampling and evaluation of ewes was performed before the start of the study (day 1), at the end of feeding the supplements (day 20) and 14 days after receiving the supplements (day 34). It was found that in the control group, the number of *Strongylida* eggs per gram of feces increased by an average by 103.5 % compared to the first sampling. In the group fed spruce twigs supplement, the number of eggs increased by an average of 76.9 %. In the group fed pumpkin seed cake and cloves supplement, the number of eggs decreased by 4.5 % compared to the first sampling. The average values of body condition, conjunctival colour, fecal consistency, and dag score did not differ significantly between groups and samples. Statistically significant differences were observed in the average score of conjunctival colour in both groups receiving dietary supplements and in the fecal consistency score in the control group and the group receiving pumpkin seed cake and cloves supplement. The number of excreted eggs decreased the most in the group receiving the pumpkin seed cake and cloves supplement, indicating potential antiparasitic effect.

KAZALO

1	UVOD	2
1.1	ZAJEDAVSKE BOLEZNI PRI DROBNICI	2
1.1.1	Deblo nematoda – razred želodčno-črevesnih črvov	2
1.1.1.1	<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	3
1.1.1.2	<i>Chabertia ovina</i>	4
1.1.1.3	<i>Cooperia</i> spp.	4
1.1.1.4	Dictyocaulidae	5
1.1.1.5	<i>Haemonchus contortus</i>	6
1.1.1.6	<i>Nematodirus</i> spp.	7
1.1.1.7	<i>Ostertagia</i> spp.	7
1.1.1.8	Protostrongylidae	8
1.1.1.9	<i>Strongyloides</i> spp.	9
1.1.1.10	<i>Trichostrongylus</i> spp.	10
1.1.1.11	<i>Trichuris</i> spp.	10
1.1.2	Razred trakulj (cestoda)	11
1.1.2.1	<i>Moniezia</i> spp.	12
1.1.3	Razred sesačev (trematoda)	13
1.1.3.1	<i>Fasciola hepatica</i>	13
1.1.3.2	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	14
1.1.3.1	<i>Paramphistomum</i> spp.	14
1.1.4	Deblo praživali (protozoa)	15
1.1.4.1	<i>Eimeria</i> spp.	15
1.2	DIAGNOSTIKA NOTRANJNH ZAJEDAVCEV	16
1.2.1	Klinični znaki	16
1.2.2	Sedimentacija	17
1.2.4	Metoda McMaster	17
1.2.5	Metoda po Vajdi	18
1.3	ANTIHELMINTIKI	18
1.3.1	Benzimidazoli	19
1.3.2	Imidazotiazoli	20
1.3.3	Makrociklični laktoni	20
1.3.4	Salicilanilidi	21
1.4	ODPORNOST ZAJEDAVCEV PROTI ANTIPARAZITIKOM	22
1.5	DOPOLNILNE METODE IN UKREPI ZA ZMANJŠANJE IN PREPREČEVANJE PARAZITARNIH INVAZIJ	24
1.5.1	Tehnologija paše	24

1.5.2	Prehrana živali	26
1.5.3	Bioaktivne snovi.....	27
1.5.3.1	Buče	28
1.5.3.2	Rastline, ki vsebujejo tanine.....	30
1.5.3.3	Nageljnovcove žbice.....	32
2	NAMEN DELA IN HIPOTEZE.....	33
2.1	OPREDELITEV PROBLEMA.....	33
2.2	CILJ RAZISKOVANJA	34
2.3	DELOVNE HIPOTEZE.....	34
3	MATERIALI IN METODE	35
3.1	MATERIALI	35
3.2	METODE.....	37
3.2.1	Ocena telesne kondicije.....	37
3.2.2	Ocena barve očesnih veznic	38
3.2.3	Ocena zamazanosti okolice repa	39
3.2.4	Ocena konsistence iztrebka	40
3.2.5	Parazitološke preiskave	40
3.2.6	Statistična analiza.....	42
4	REZULTATI.....	43
4.1	OCENA TELESNE KONDICIJE.....	43
4.2	OCENA BARVE OČESNIH VEZNIC	45
4.3	OCENA ZAMAZANOSTI OKOLICE REPA.....	47
4.4	OCENA KONSISTENCE IZTREBKA	47
4.5	REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE	50
4.6	REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE – KOPROKULTURA.....	54
5	RAZPRAVA	57
5.1	OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC	57
5.2	OCENA ZAMAZANOSTI OKOLICE REPA IN KONSISTENCE IZTREBKA.....	59
5.3	REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE	60
6	SKLEPI	65
7	POVZETEK.....	66
8	SUMMARY.....	68
9	ZAHVALE	70
10	LITERATURA	71

KAZALO SLIK

Slika 1 Jajčeca <i>Moniezia benedeni</i> in jajčece Strongylida (Šilc, 2022)	12
Slika 2: Trop ovc na kmetiji, kjer smo opravljali raziskavo (Heričko, 2022)	35
Slika 3 Ocena telesne kondicije – lestvica (povzeto po: Kenyon in sod., 2014)	38
Slika 4 Lestvica FAMACHA® za ugotavljanje slabokrvnosti (Kaplan in sod., 2004)	39
Slika 5 Šeststopenjska lestvica za ocenjevanje zamazanosti okrog repa (University of Guelph, 2019)	39
Slika 6 Lestvica za ocenjevanje konsistence iztrebkov. Prva slika predstavlja oceno 0, druga slika je ocena 1 ter tretja slika ocena 2 (povzeto po: http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/tests- tools/tests/assessing-faecal-consistency-score.php).	40
Slika 7 Individualni odvzem vzorca iztrebka (Heričko, 2022)	41
Slika 8 Ocena telesne kondicije pri kontrolni skupini	43
Slika 9 Ocena telesne kondicije pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej	44
Slika 10 Ocena telesne kondicije pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic	44
Slika 11 Ocena barve očesnih veznic pri kontrolni skupini	45
Slika 12 Ocena barve očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej	46
Slika 13 Ocena barve očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic	46
Slika 14 Ocena konsistence iztrebka pri kontrolni skupini	48
Slika 15 Ocene konsistence iztrebka pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej	49
Slika 16 Ocena konsistence iztrebka pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic	49
Slika 17 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v kontrolni skupini	50
Slika 18 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej	51
Slika 19 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic	52
Slika 20 Prikaz rezultatov števila jajčec na gram iztrebka vseh treh vzorčenj pri kontrolni skupini (A), skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej (B), in pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic (C). Vsaka črta prikazuje posamezno ovco.	53
Slika 21 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri kontrolni skupini	54
Slika 22 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej	55
Slika 23 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic	56

KAZALO TABEL

Tabela 1 Prikaz antihelmintikov, uporabljenih v veterinarski medicini skozi različna obdobja (Maoxuan in sod., 2020).....	21
Tabela 2 Kemična sestava bučnega semena (g/kg surove teže) buč (Cucurbitaceae) po vrstah	29
Tabela 3 Rezultati analize sena	36
Tabela 4 Rezultati analize travne silaže	36
Tabela 5 Število jajčec Strongylida v iztrebkih – jajčeca na gram iztrebka [EPG] in zmanjšanje izločanja jajčec v odstotkih (FECR).....	53

KAZALO ENAČB

Enačba 1 Enačba za izračun zmanjšanja števila jajčec (povzeto po: Kaplan, 2020).....	42
--	----

1 UVOD

1.1 ZAJEDAVSKE BOLEZNI PRI DROBNICI

Rejci drobnice se soočajo s problematiko zajedavskih bolezni in pomanjkanjem učinkovitih antiparazitikov. Med zajedavskimi boleznimi največ poginov povzročajo prav želodčno-črevesni zajedavci (Zajac in Garza, 2020). Poleg gospodarske škode zajedavske bolezni negativno vplivajo tudi na dobro počutje živali (Kodermac in Tušar, 2016). Oslabijo imunski sistem, krvosesni zajedavci pa povzročajo anemijo, hipoproteinemijo in nastajanje oteklin na ventralnih delih telesa (Jacobs in sod., 2016).

Zajedavce delimo v razrede glede na mesto zajedanja in glede na skupne lastnosti (Jacobs in sod., 2016). Najpogostejši notranji zajedavci drobnice so želodčno-črevesni črvi, ki jih največkrat najdemo v črevesju in siriščniku ovc in koz. Običajno so pri drobnici hkrati prisotne različne vrste nematodov, ki skupaj povzročajo nastanek parazitarne gastroenteritisa. Značilni so nespecifični klinični znaki, kot so mršavost, driske in posledično zamazana okolica repa. Med nematode spadajo tudi pljučni črvi, katerih prvi klinični znak so pljučnice, bronhitisi in pokašljevanje. *Eimeria* spp. povzroča klinične znake predvsem pri mlajših živalih (Jacobs in sod., 2016). Biološki značaj zajedavcev določa čas pojavnosti, klinične znake in dejavnike tveganja za invazijo.

Kodermac in Tušar (2016) poročata o rezultatih koproloških preiskav drobnice, vključene v raziskavo, kjer so ugotovili, da so bila jajčeca *Strongylida* v 90,22 odstotka vzorcev, medtem ko je bila *Eimeria* spp. prisotna v 85,33 odstotka vzorcev. V nekaterih vzorcih so našli tudi *Protostrongylidae*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Trichuris* spp., *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus* spp. in *Moniezia* spp.

1.1.1 Deblo nematoda – razred želodčno-črevesnih črvov

Sem uvrščamo različne družine, rodove in vrste zajedavcev, vsem pa sta skupna nesegmentirano telo ter neposreden razvojni krog. Odrasla samica po oploditvi izloča jajčeca v prebavni trakt gostitelja, ta pa z iztrebki izloča jajčeca v okolje. Razvoj se nadaljuje v iztrebku, ki omogoča neke vrste zaščito pred vplivi okolja (Zajac in Garza, 2020). V ugodnih razmerah

se iz jajčeca razvije ličinka L1, ki se hrani z bakterijami v iztrebku. Razvoj poteka preko ličinke L2 do ličinke L3, ki je invazije sposobna razvojna oblika. Invazijske ličinke iz iztrebka potujejo v okolico, se vzpnejo na travne bilke, te pa živali zaužijejo med pašo (Zajac in Garza, 2020). Po zaužitju se znotraj gostitelja ličinka še dvakrat levi. Po vstopu v tarčni organ ali organski sistem se razvije odrasel zajedavec in tako zaključi svoj razvojni krog. Jajčeca nematodov so odporna proti vplivom iz okolja in lahko prezimijo na pašnikih. Spomladanska vrnitev živali na pašnike, obremenjene z ličinkami zajedavcev, povzroči močno invazijo pašnih živali (npr. *Trichostrongylus* spp.) (Bowmann, 2014).

Predpostavljamo, da so skoraj vse pašne živali invadirane z želodčno-črevesnimi nematodi, ki pa v manjšem številu nimajo klinično zaznavnega vpliva na zdravje živali. Povečanje števila zajedavcev in pridružene bolezni živali lahko povzročijo nastanek manj izrazite klinične slike, ki jo spremljata zmanjšan prirast in manjša ješčnost, medtem ko močnejše invazije povzročijo nastanek težje klinične oblike bolezni, ki se kaže s hujšanjem, slabokrvnostjo, drisko in edemom pod spodnjo čeljustjo (Zajac, 2006). Najpogosteje odkrijemo invazijo z več vrstami nematodov, ki skupaj povzročajo stanje, imenovano parazitarni gastroenteritis (PGE), zato je poznavanje bioloških značilnosti posameznih zajedavcev nujno za pripravo učinkovitega programa antihelmintičnega nadzora (Zajac, 2006).

1.1.1.1 *Bunostomum trigonocephalum*

Je eden izmed večjih nematodov, ki jih najdemo v tankem črevesju drobnice. Odrasli osebki merijo 10–30 mm (Taylor in sod., 2016). Ustna kapsula je velika in ventralno upognjena. Ventralno na obodu kapsule je prisoten par hitinskih rezkalnih ploščic. Karakterističen je konus *ductus oesophagei*, ki seže do roba ustne kapsule (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Posebnost *Bunostomum* spp. je t. i. tigmotropizem, sposobnost prevrtanja ovir. Invazijska ličinka L3 lahko vstopi v gostitelja peroralno ali skozi kožo, od načina vstopa je odvisen nadaljnji razvoj zajedavca (Taylor in sod., 2016). Ličinka L3 po penetraciji kože s krvjo potuje do pljuč, kjer se levi v ličinko L4. Iz pljuč se s kašljem premakne do ustne votline, nato pa vstopi v želodčno-črevesni trakt. Razvoj ličinke L3, ki gostitelja invadira peroralno, poteka brez migracije (Taylor in sod., 2016). V tankem črevesju se razvije v odraslega zajedavca. Prepatentna doba je 4–8 tednov (Taylor in sod., 2016). Odrasli zajedavci se prehranjujejo s

krvjo in povzročajo progresivno anemijo, hipoalbuminemijo in drisko. Živali hujšajo, pogosto se pojavita edem pod spodnjo čeljustjo in melena (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.2 *Chabertia ovina*

Zajeda v debelem črevesju ovc in koz, ima značilno ventralno upognjeno čašasto ustno kapsulo s podpornimi ploščicami na obodu. Na robu oboda sta dva venca trikotnih kutikularnih lističev (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Odrasli osebki merijo 13–20 mm. Gre za pogosto prisotnega zajedavca, ki redko povzroča klinične znake (Taylor in sod., 2016).

Najbolj patogeni so ličinke L5 in odrasli zajedavci, saj se z ustno kapsulo pritrdijo na sluznico debelega črevesja in se z njo prehranjujejo. Tkivo na draženje odreagira z brstenjem žlez in izločanjem sluzi. Zaradi mehanske poškodbe pride do lokalnih krvavitev sluznice in izgube beljakovin, sluznica pa postane edematozna, zadebeljena in polnokrvna (Taylor in sod., 2016). Bolezen običajno poteka subklinično. Pri močni invaziji ali sočasni invaziji z drugimi patogenimi zajedavci je vidna krvava do sluzasta driska, v iztrebku so lahko vidni zajedavci. Živali so anemične in shujšane (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.3 *Cooperia* spp.

Cooperia spp. zajeda v tankem črevesju prežvekovalcev. Gre za relativno majhne zajedavce z razširjeno povrhnjico v ustnem delu, kjer so prisotni tudi prečni obročki (Bowman, 2014). Življenjski krog je neposreden. Zaužita invazijska ličinka L3 odda levek in potuje v kripte sluznice tankega črevesja (predvsem dvanajstnika), kjer se dvakrat levi, dokončno pa odraste na površini sluznice. Prepatentna doba traja 14–21 dni (Taylor in sod., 2016).

Pri drobnici največkrat najdemo vrste *Cooperia oncophora*, *C. punctata* in *C. curticei*. Gre za blago patogenega zajedavca, ki ga pogosto najdemo skupaj z drugimi vrstami, kot so *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. in *Trichostrongylus* spp. (Bowman, 2014). V primerjavi s slednjimi je *Cooperia* spp. manj škodljiv zajedavec, ki ne sesa krvi, lahko pa mehansko poškoduje tkiva in krvne žile. Klinični znaki so vodena, zelena do črna driska, dehidracija in hujšanje. Pri mlajših živalih, ki so občutljivejše za zajedavske bolezni, lahko pride do slabokrvnosti in slabšega prirasta (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.4 Dictyocaulidae

Dictyocaulus filaria zajeda v respiratornem traktu drobnice, predilekcijsko mesto odraslih zajedavcev so predvsem bronhiji in bronhioli. Gre za makroskopsko vidne zajedavce, saj samci merijo 4–8 cm, samice pa 6–10 cm, v nasprotju z drugimi pljučnimi črvi imajo neposreden razvojni krog (Taylor in sod., 2016). Značilni sta polmesečasta zavrtost in dobra granuliranost ličinke L1, po videzu pa odrasli spominjajo na belo mokro nit, saj telo nima turgorja (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Odrasla samica izloča jajčeca v dihalne poti gostitelja, kjer se iz jajčec osvobodijo ličinke L1, ki s pomočjo t. i. mukociliarnega dvigala potujejo v žrelo. S kašljem se ličinke premaknejo v žrelo, žival ličinke požre in jim omogoči prehod do prebavil, od koder se z iztrebki izločijo v okolje (Bowman, 2014). Ličinke se v optimalnih pogojih v 7 dneh levijo do invazivne stopnje, tj. ličink L3. Te so slabo gibljive, zato se nahajajo v bližini iztrebkov. Razvoj do stopnje L3 poteka od pomladi do jeseni. Žival običajno zaužije ličinke med pašo, lahko pa se invadira v hlevu, kjer se z iztrebki izločajo tudi zajedavske ličinke (Taylor in sod., 2016). Po zaužitju ličinke L3 skozi črevesno steno vstopijo v mezenterialne bezgavke, kjer se prelevijo v L4. Razvoj se nadaljuje s potovanjem po prsnem mezigovodu (*ductus thoracicus*) in jugularni veni (*vena jugularis*), nato pa čez srce v pljuča. Znotraj pljučnega tkiva se ustavijo v kapilah, prečkajo steno in vstopijo v sapnice, kjer se dokončno razvijejo v odrasle zajedavce (Zajac in Conboy, 2006). Prepatentna doba traja 28–35 dni. Ličinke v pljučnem tkivu lahko v neugodnih razmerah mirujejo do 5 mesecev, ta pojav imenujemo hipobioza. Za invazijo so najbolj dovzetne mlade živali, predvsem tiste, ki so prvič na paši. Najtežje oblike bolezni se običajno pojavijo jeseni (Taylor in sod., 2016). Klinični znaki se pojavijo pozno poleti in jeseni, značilna sta kašelj in hujšanje. Običajno zbolijo mlajše ali starejše živali, ki so močno invadirane. Težja klinična slika se kaže s pohitrenim, oteženim dihanjem in dolgotrajnim nosnim izcedkom. Razvijejo se lahko bronhitis, bronhopnevmonija, v težjih primerih tudi pljučni edem in emfizem. Driska in slabokrvnost sta lahko posledici sočasne invazije z glistami *Trichostrongylus* spp. in velikim metljamem *Fasciola hepatica* (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.5 *Haemonchus contortus*

Gre za zelo patogene krvosesne nematode, ki zajedajo na sluznici siriščnika. So makroskopsko vidni, veliki do 30 mm, lahko jih opazimo v vsebini siriščnika (Taylor in sod., 2016). Samice so prepoznavne po značilni belo-rdeči barvi telesa, kjer se spiralno prepletata črevesje in uterus. Za odrasle osebkje je značilen lancetast izrastek na konici dorzalnega ustnega dela, s katerim poškodujejo sluznico in sesajo kapilarno kri iz siriščnikove stene (Naeem in sod., 2021). Pri samici pokrovček pokriva vulvo, samec pa ima v spodnjem delu telesa asimetričen reženj, ki ga podpirajo rebra v obliki črke Y. Spikula imata trne (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Haemonchus contortus je izrazito roden parazit, odrasla samica v optimalnih pogojih proizvede do 10.000 jajčec dnevno (Zajac in Garza, 2020). Spomladi invadirane živali izločajo jajčeca z iztrebki v okolje. Iz teh se razvijejo invazijske ličinke, ki se zaradi visoke rodnosti samice hitro kopičijo na pašniku, invadiranost živali pa je vedno močnejša. V gostitelja vstopajo čez fekalno-oralne poti. Večina jih po vstopu v sluznico siriščnika preide v fazo mirovanja ali hipobioze kot ličinka L4. Tako zagotovijo svoje preživetje v neugodnih razmerah. Prepatentna doba traja 19–21 dni. Odrasli zajedavci v gostitelju preživijo le nekaj mesecev (Zajac, 2006).

Omenjeni krvosesni zajedavci povzročajo hudo anemijo. Patogena sta ličinka L4 in odrasel zajedavec. Znano je, da lahko en zajedavec vrste *H. contortus* dnevno poseša 50 µl krvi (Bowman, 2014). Bolezen sprva poteka subklinično, saj gostitelj uspešno nadomešča izgubljen volumen krvi. Vendar dolgotrajna izguba železa in beljakovin iz sluznice siriščnika vodi v izčrpavanje kostnega mozga in odpoved mehanizmov nadomeščanja izgube krvnih elementov. Takrat je bolezen tudi klinično prepoznana (Taylor in sod., 2016). Akutna oblika bolezni se kaže z anemijo in edemi različnih stopenj, najpogostejše sta opazna oteklina pod spodnjo čeljustjo ter zbiranje tekočine v trebuhu (ascites) (Iliev in sod., 2017). Sluznice in očesne veznice so blede, iztrebki pa temno obarvani. Živali so otopele, dlaka in volna sta slabše kakovosti. Zaradi poškodbe siriščnika in vnetnega odgovora sluznice so živali neješče in hujšajo (Angulo-Cubillan in sod., 2007). Kronični potek bolezni spremljajo blede sluznice, zmanjšana mlečnost in izguba telesne teže (Besier in sod., 2016b). *H. contortus* je edini želodčni parazit, ki primarno ne povzroča drisk (Zajac in Garza, 2020). Klinično sliko vidimo pri mladih, neimunih živalih okrog enega leta starosti, pri odraslih z oslabljenim delovanjem imunskega sistema in pri močno invadiranih odraslih živalih (Zajac, 2006). V teh primerih lahko pride do perakutnega poteka bolezni, živali nenadoma poginejo zaradi hemoragičnega gastritisa (Jacobs

in sod., 2016). Na območjih, kjer je zajedavec pogost, je priporočena uporaba sistema FAMACHA®, s katerim je mogoče prepoznati močnejše invadirane živali in jih ustrezno selektivno zdraviti (Ferreira in sod., 2019).

1.1.1.6 Nematodirus spp.

Mesto zajedanja je tanko črevo prežvekovalcev. Pri drobnici najdemo vrste *Nematodirus battus*, *N. filicollis* in *N. spathiger* (Taylor in sod., 2016). Gre za večje zajedavce, velikosti do 25 mm. Ustni del ima razširjeno, obročkasto nabrano povrhnjico in dorzalni trikotni zobek (Bowman, 2014).

V nasprotju z drugimi trihostrongilidnimi nematodi tu poteka razvoj znotraj jajčeca do invazijske ličinke L3 (Zajac in Conboy, 2006). Jajčeca so večja, razvoj ličinke pa je odvisen od okoljskih dejavnikov. Invazijska ličinka najbolj patogene vrste *N. battus* se razvije, če zmrzali sledijo toplejše temperature. Zato je spomladi na pašnikih veliko število invazijskih ličink, ki invadirajo pašne živali, klinične znake pa povzročajo pozno pomladi oziroma jeseni (Bowman, 2014). Razvoj vrst *N. spathiger* in *N. filicollis* je sezonsko manj pogojen. Živali se invadirajo z zaužitjem invazijske ličinke L3 (Bowman, 2014). Razvoj L4 do L5 se zaključi v obdobju 10–12 dni po invaziji. Prepatentna doba je 2–4 tedne. Za *N. spathiger* in *N. filicollis* je v neugodnih razmerah značilna tudi faza hipobioze ličinke L4 (Bowman, 2014). Invazija z *Nematodirus* spp. najpogosteje poteka subklinično, razen pri invaziji z *N. battus*, kjer je najbolj patogena ličinka. Po zaužitju večjega števila ličink L3 pride do poškodbe črevesne sluznice, predvsem v spodnjem tankem črevesju (ileumu). Ličinke se hranijo s sluznico in povzročajo poškodbe, kot sta atrofija resic in erozija sluznice (Taylor in sod., 2016). Tipični klinični znaki so driska, dehidracija in izguba telesne teže. Mladiči so med 6. in 10. tednom starosti močnejše prizadeti, zadržujejo se v bližini napajališč, pogine pa lahko kar do 30 odstotkov živali. Klinično sliko poslabšajo sočasne invazije s kokcidijami (Jacobs in sod., 2016).

1.1.1.7 Ostertagia spp.

Zajedavce iz rodu *Ostertagia* spp. najdemo v sluznici siriščnika prežvekovalcev. So nitasti, rdeče ali rjave barve in dolgi okrog 10 mm. Ustni del ima razširjeno povrhnjico, ki je striirana. Spikula sta paličasta, vulvo pa pokriva pokrovček (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Pri

drobnici se srečujemo z vrstami *Ostertagia circumcincta* (syn. *Teladorsagia circumcincta*) in *O. trifurcata*, pri ovcah tudi *O. ostertagi*. Prepatentno obdobje traja okrog 21 dni (brez t. i. faze mirovanja). Odpornost ličink proti mrazu je pomembna za njihovo preživetje v okolju. V gostitelju se neugodnim pogojem izognejo s fazo mirovanja oziroma zmanjšane življenjske aktivnosti, s t. i. hipobiozo (Zajac, 2006).

Poznamo dve obliki bolezni, potek pa je odvisen od letnega časa in starosti gostitelja. Bolezen tipa I povzroča invazijska ličinka L3, ki prizadene predvsem mlade živali na prvi paši (Jacobs in sod., 2016). Bolezen tipa II se pojavlja pozno pozimi ali spomladi in je posledica aktivacije hipobiotskih ličink L4, ki so jeseni v sluznici siriščenika formirale vozličke in prešle v fazo mirovanja (Zajac, 2006). Aktivirane ličinke L4 se v žleznih celicah siriščenika levijo in razvijejo v odrasle zajedavce. Zaradi poškodbe žlez, ki proizvajajo pepsinogen in želodčno kislino, pride do povišanja pH siriščenika s fiziološkega 2 na pH 7. Posledično pretvorba pepsinogena v aktivno obliko encima ni mogoča zaradi bazičnega okolja, kar moti prebavo beljakovin. Povišan pH onemogoči tudi uničenje za kisel pH občutljivih potencialno patogenih bakterij (Jacobs in sod., 2016). Klinični znaki invazije so gastroenteritis, izguba telesne teže kljub ustrezni prehrani, občasna driska, dehidracija in anemija (Zajac, 2006).

1.1.1.8 Protostrongylidae

Družino Protostrongylidae sestavljajo različni rodovi in vrste pljučnih zajedavcev, med njimi *Muellerius capillaris*, *Neostrongylus linearis* in *Protostrongylus* spp., predvsem makroskopsko vidni *P. rufescens* (Taylor in sod., 2016). So nitasti z dobro razvito kopulatrično košarico, najdemo jih v alveolah, bronhiolah ter v pljučnem parenhimu. Imajo posreden razvojni krog, vmesni gostitelji so večinoma polžki, v katerih se ličinka L1 razvije v invazijsko ličinko L3 (Bowman, 2014). Prevalenca je odvisna od prisotnosti vmesnega gostitelja v okolju.

Odrasle samice v pljučih, bronhiolah in alveolah izločajo jajčeca, iz katerih se razvije ličinka L1. S pomočjo mukociliarnega dvigala ličinke vstopijo v žrelo, od tu jih žival izkašlja ali pa jim z aktom požiranja omogoči vstop v želodčno-črevesni trakt, nato se z iztrebki izločijo v okolje. Za nadaljnji razvoj ličinka potrebuje vmesnega gostitelja, polža iz rodu *Agrolimax* sp., *Helicella* sp. ali *Helix* sp. V njem se v 14 dneh dvakrat levi in razvije v invazijsko ličinko L3. Po zaužitju ličinke L3 v končnem gostitelju potujejo skozi steno debelega črevesja v

mezenterialne bezgavke in po *ductus thoracicus* skozi srce v arterije pljuč. Na poti se dvakrat levijo, ob prihodu v pljuča pa čez kapilarno steno vstopijo v pljučni parenhim, tu se razvijejo v odrasle zajedavce, ki povzročajo parazitarne vozličke, značilne za verminozno pljučnico (Taylor in sod., 2016). Živali kašljajo, so neješče in shujšane. Sekundarne bakterijske infekcije lahko povzročijo poslabšanje stanja in pogin (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.9 *Strongyloides* spp.

Strongyloides je rod majhnih, večinoma prostoživečih nematodov, kjer partenogenetske samice naseljujejo tanko črevesje mladih živali. Veljajo za blago patogene, vendar lahko povzročijo tudi resno obliko enteritisa (Taylor in sod., 2016). So nitasti, zajedajo le partenogenetske samice, ki merijo 2–6 mm. Najdemo jih globoko v kriptah tankega črevesja (Bowman, 2014). Imajo značilen cilindrast požiralnik, ki lahko sega do tretjine telesa zajedavca. Posebnost rodu *Strongyloides* je sposobnost prostoživečega in tudi zajedavskega načina življenja. Pri drobnici najdemo vrsto *S. papillosus* (Taylor in sod., 2016).

Znotraj jajčec, ki jih izločajo partenogenetske samice, se razvijejo rabditiformne ličinke, iz teh pa lahko filariformne. Ličinke ločimo morfološko – rabditiformna ima na požiralniku prisoten bulbus, medtem ko ga filariformna nima (Bowman, 2014). Iz rabditiformne ličinke nastanejo prostoživeči samci in samice. Filariformne ličinke se razvijejo iz rabditiformnih v invazijske ličinke L3, ki v gostitelja prodrejo skozi kožo, usta, s kolostrumom ali čez posteljico (Taylor in sod., 2016). V iztrebkih pogosto najdemo jajčece z ličinko ali redko že izvaljeno L1. Prepatentna doba je 8–14 dni. Bolezen je največkrat asimptomatska, klinični znaki pa se pojavijo pri živalih s slabšo imunostjo in pri mladičih (Bowman, 2014). Zajedanje v tankem črevesju povzroči vnetje, edem in erozijo sluznice, kar vodi v kataralno vnetje črevesja. Pojavijo se driska, dehidracija, neješčnost, anemija in respiratorni znaki, ki so posledica migracije ličink skozi pljuča. Bolezen se lahko kaže tudi z nevrološkimi znaki, ki večinoma vodijo v pogin. Eritem kože je lahko posledica prodiranja invazijskih ličink skozi kožo (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.10 *Trichostrongylus* spp.

Rod rdečkastih, nitastih, do 10 mm dolgih zajedavcev *Trichostrongylus* najdemo v tankem črevesju. Znanih je okrog 30 vrst, od teh sta najpomembnejši vrsti *T. axei*, ki kot edini predstavnik zajeda v siriščniku, in *T. colubriformis*. Pri drobnici zajedajo še *T. vitrinus*, *T. capricola*, *T. falculatus*, *T. rugatus*, *T. probolurus* in *T. longispicularis* (Taylor in sod., 2016). Med patoanatomsko preiskavo jih s prostim očesom običajno ne vidimo v vsebini prebavil, zato je potreben mikroskopski pregled (Zajac, 2006). Vrste med seboj ločimo na osnovi morfologije zadnjih delov samcev in oblike spikulov.

Iz jajčeca se v optimalnih pogojih v 7–10 dneh razvije invazijska ličinka L3. Po zaužitju prebije sluznico tankega črevesja. Tu se dvakrat levi, razvije se ličinka L5. Prepatentna doba je 14–21 dni (Taylor in sod., 2016). Ličinke L3 so sposobne preživeti zimo na pašniku. Toplejše vreme povzroči odmrtnje preživelih invazijskih ličink in do poletja praktično izginejo. Odrasli zajedavci zimo lahko preživijo znotraj gostitelja in v poletnem času povzročijo porast jajčec v iztrebkih. Ta hitro kontaminirajo pašnik in ustvarijo novo generacijo prezimitve sposobnih ličink L3 (Bowman, 2014; Zajac, 2006). Invazija z vrstami *Trichostrongylus* je običajno asimptomatska, pri prisotnosti večjega števila zajedavcev se pojavita izguba telesne teže in vodena driska, ki postane temno zelena (Zajac, 2006). Predvsem so občutljive mlade živali, ob močni invaziji lahko hitro sledi pogin (Taylor in sod., 2016).

1.1.1.11 *Trichuris* spp.

Trichuris spp. ali »bičeglavci« spadajo v naddružino *Trichinelloidea* in imajo tipično obliko. Sprednji del telesa je bičkasto oblikovan in pripet na sluznico, zadnji pa je krajši in razširjen. Samci imajo en spikul, ki je pokrit z nožnico. Najdemo jih globoko v submukozi debelega črevesja (Bowman, 2014). Pri drobnici najdemo vrste *T. discolor*, *T. globulosa*, *T. ovis*, *T. skrjabini* (Taylor in sod., 2016).

Jajčece, ki ima značilno obliko limone, se z iztrebkom izloči v okolje, odvisno od temperature okolice pa se v 1–2 mesecih v njem razvije invazijska ličinka L1. Gostitelj zaužije invazijsko obliko, v prebavilih se ovojnice razgradijo in sprostijo se ličinka L1. Ta se prebije v žleze sluznice distalnega dela ileuma, slepega in debelega črevesja, kjer se štirikrat levi. Odrasel zajedavec se

z bičkastim sprednjim delom telesa pritrdi v zgornjo plast sluznice, zadnji krajši del pa je prost v lumnu črevesja (Jacobs in sod., 2016). Prepatentna doba traja 7–10 tednov. Živali imajo občasno blago drisko s primesmi sluzi, pri težjih invazijah je lahko prisotna huda krvava driska z veliko izgubo krvi. V takih primerih najdemo večino zajedavcev v debelem črevesju (Bowman, 2014)

1.1.2 Razred trakulj (cestoda)

Spadajo pod deblo Platyheminthes, za katere je značilno dorzoventralno sploščeno telo s priseski, ki omogočajo pričvrstitev na gostitelja (Jacobs in sod., 2016). Predstavniki razreda trakulj imajo členjeno telo brez izoblikovanih telesnih votlin in brez prebavnega trakta. Hranilne snovi vsrkajo s pomočjo metabolno aktivne povrhnjice (Taylor in sod., 2016). Predstavniki so razvrščeni v dva reda, Pseudophyllidea in Cyclophyllidea. Skoraj vse trakulje, s katerimi se srečujemo v veterinarski medicini, spadajo v red Cyclophyllidea (Taylor in sod., 2016).

Odrasla trakulja je sestavljena iz glave, kratkega vratu in strobile, ki jo sestavlja veriga odrivkov, imenujemo jih proglotide. Vsaka od proglotid predstavlja samostojni spolni kompleks, saj nosi moške in ženske spolne organe. To lastnost imenujemo hermafroditizem (Bowman, 2014). Na glavi ali skoleksu so razviti priseski, ki zagotavljajo dobro pritrditev na tkivo gostitelja. Nekatere vrste imajo ob rostelumu, ki ga najdemo na temenu skoleksa, enega ali več vencev trnov (Taylor in sod., 2016). Gravidni odrivki se ločijo od strobile in se z iztrebki znajdejo v okolju. Jajčeca se osvobodijo zaradi razkroja odrivka ali, redko, čez genitalne pore (Jacobs in sod., 2016). Vmesni gostitelj zaužije jajčece, temu se s pomočjo prebavnega soka gostitelja razkroji ovojnica in sprostijo se onkosfera. Ta se s pomočjo trnov prebije skozi sluznico do krvnih in limfnih žil in migrira na predilekcijsko mesto. Tu se razvije v eno izmed larvalnih stopenj, imenujemo jo metacestoda (Taylor in sod., 2016). Končni gostitelj zaužije vmesno stopnjo trakulje, ki se z glavo pričvrsti na sluznico črevesja. Iz baze skoleksa začne rasti nova veriga odrivkov (Taylor in sod., 2016). Večina trakulj ima posredni razvojni krog z enim ali več vmesnimi gostitelji. Pri drobnici se največkrat srečamo z zajedavci *Moniezia* spp. Njihovi vmesni gostitelji so prosto živeče pršice, družine *Oribatidae*, prisotne na pašnikih (Zajac in Conboy, 2006).

1.1.2.1 Moniezia spp.

Pri drobnici zajeda *Moniezia expansa*, nahaja se v tankem črevesju. Gre za do šest metrov dolgega zajedavca brez bistvenega kliničnega pomena (Taylor in sod., 2016). Običajno je invazija ugotovljena naključno. Močnejše invazije povzročajo drisko, mogoč je nastanek črevesne obstrukcije in posledične intoksikacije živali, kar lahko povzroči pogin. Klinični znaki se pojavljajo pri mladičih do enega leta starosti (Taylor in sod., 2016). Nekateri viri poročajo o možnem negativnem učinku invazije na rast mladičev. Gre za tipično anoplocefalidno trakuljo, saj so odrivki široki in kratki. Trakulje ali njihove odrivke lastniki opazijo v iztrebkih (Jacobs in sod., 2016). V jajčecih je viden aparat hruškaste oblike in embrio s šestimi trni (heksakant) (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).



Slika 1 Jajčeca *Moniezia benedeni* in jajčece Strongylida (Šilc, 2022)

Figure 1 *Moniezia benedeni* eggs and a Strongylida egg (Šilc, 2022)

1.1.3 Razred sesačev (trematoda)

Sesači skupaj s trakuljami spadajo pod deblo Platyhelminthes, ločita jih prisotnost ust, prebavil in nečlenjeno telo. Povzročitelji zajedavskih bolezni pri drobnici spadajo v razred digenih sesačev in imajo posreden razvojni krog, ki vključuje enega ali več vmesnih gostiteljev (Taylor in sod., 2016). Večina predstavnikov je hermafroditov, sposobnih samooploditve (Bowman, 2014).

V jajčecu, ki se z iztrebkom izloči v okolje, se razvije miracidij. Ta predstavlja prvo larvalno stopnjo razvoja (Bowman, 2014). Miracidij vstopi v vmesnega gostitelja, najpogosteje mehkužca. Tu se razvije v sporocisto s številnimi nediferenciranimi zarodnimi celicami, ki se razvijejo v redije (Bowman, 2014). Sledi razvoj četrte larvalne stopnje, imenovane cercarija. V tej fazi zapusti vmesnega gostitelja. V končnega gostitelja vstopi metacercarija, invazijska stopnja brez repa, ki v prebavnem traktu sprosti juvenilnega sesača. Ta potuje do ciljnega organa, kjer spolno dozori in začne izločati jajčeca (Taylor in sod., 2016).

1.1.3.1 *Fasciola hepatica*

Telo velikega metljaja (*Fasciola hepatica*) je sploščeno, sivorjave barve s koničastim zgornjim delom, njegova oblika spominja na list akacije. Metljaji so dolgi okrog 3, široki pa do 1 cm. Imajo razvit ustni in trebušni prisesek (Taylor in sod., 2016). Za svoj razvoj potrebujejo semiakvatičnega polža (*Galba truncatula*), zato jih najdemo na pašnikih v bližini voda (Howell in Williams, 2020). Število metacercarij je odvisno od števila vmesnih gostiteljev, to pa od količine padavin. V okolju jih je največ v obdobju od avgusta do oktobra (Jacobs in sod., 2016). Končni gostitelj zaužije metacercarije, ki so na travnih bilkah. Iz njih se sprostijo juvenilni sesači, ki prodrejo skozi steno tankega črevesja in skozi trebušno votlino potujejo v jetra. Po 6–7 tednih hranjenja z jetrnim tkivom vstopijo v žolčevode, kjer se hranijo s krvjo in sluznico. V žolčevodih se razvijejo odrasli metljaji, ki po 3–6 tednih začnejo izločati jajčeca (Jacobs in sod., 2016). Prepatentna doba traja 10–12 tednov.

Veliki metljaj poškoduje jetrni parenhim in žolčevode, kar vodi v brstenje veznega tkiva in zadebelitev žolčevodov (Jacobs in sod., 2016). Akutna oblika metljavosti je posledica migracije velikega števila mladih zajedavcev. Pojavlja se pozno poleti. Pogosti so pogini zaradi hudih poškodb jetrnega tkiva in krvavitev. Zgodaj spomladi se pojavlja kronična oblika. Anemijo,

ascites in podčeljustni edem povzročajo odrasli metljaji v žolčevodih. Živali so slabotne, shujšane in imajo slabšo mlečnost (Howell in Williams, 2020).

1.1.3.2 *Dicrocoelium dendriticum*

Mali metljaj (*Dicrocoelium dendriticum*) ima suličasto obliko telesa, ki je dolgo do 1 cm. Odrasli sesači zajedajo v žolčevodih (Bowman, 2014). Razvojni krog je odvisen od dveh vmesnih gostiteljev, tj. suhozemnega polžka in mravlje. Vmesni gostitelji niso odvisni od vode, zato ga najdemo na suhih pašnikih (Jacobs in sod., 2016), pri nas na kraških. Jajčece, ki se z iztrebkom končnega gostitelja izloči v okolje in vsebuje že formiran miracidij, zaužije polžek. V njem razvita sporocista proizvede cercarije, ki so združene v gručo. Obdane s sluzjo, zapustijo polžka (Taylor in sod., 2016). Mravlje zaužijejo na rastlinah prisotne cercarije, ki se v telesnih votlinah in možganih mravlje razvijejo v metacercarije. Končni gostitelj zaužije invadirano mravljo. V tankem črevesju se iz metacercarije sprost mladi sesač in potuje v žolčevode, katerih stene postanejo zadebeljene (Bowman, 2014). Invazija največkrat poteka subklinično. Pri močnih invazijah so klinični znaki povezani z jetrno cirozo. Prepatentna doba je 10–12 tednov (Taylor in sod., 2016).

1.1.3.1 *Paramphistomum* spp.

Vampov sesač zajeda v dvanajstniku, vampu in kapici prežvekovalcev. V nasprotju z drugimi sesači telo odraslih zajedavcev ni sploščeno (Taylor in sod., 2016). Najdemo jih na pašnikih v bližini vode, prisotnost je odvisna od semiakvatičnega polža, ki je vmesni gostitelj. Iz metacercarije se v končnem gostitelju sprost juvenilni sesač, ki iz tankega črevesja potuje proti vampu, zaradi peristaltike se zavrta tudi v sluznico. Pri močnejših invazijah migracije sesačev povzročijo hud enteritis in drisko, erozijo sluznice, dehidracijo ter neješčnost (Jacobs in sod., 2016). Močnejše invazije povzročijo edem sluznice tankega črevesa, ulceracije in krvavitve. Klinično vidimo anemične sluznice in podčeljustni edem zaradi hipoproteinemije. Odrasli zajedavci v vampu kljub velikemu številu ne povzročajo težav (Taylor in sod., 2016).

1.1.4 Deblo praživali (protozoa)

Protozoji so ubikvitarni enocelični organizmi z izraženo sposobnostjo gibanja (Jacobs in sod., 2016). Prežvekovalci nosijo veliko število protozojev v predželodcih in črevesju, večinoma so koristni (Taylor, 2000). Pri drobnici boleznij največkrat povzročajo zajedavci družine Eimeriidae, redkeje *Giardia duodenalis* (Taylor, 2000). Kompleksni razvojni krog eimerij poteka v več fazah, začne se s fazo nespolnega razmnoževanja, ki ga imenujemo shizogonija. Poteka znotraj epitelnih celic prebavil gostitelja, končni produkt pa so shizonti, tj. gostiteljeve epitelne celice, napolnjene z merozoiti (Jacobs in sod., 2016). Sledi spolna delitev, imenovana gametogonija, ki poteka v sosednjih, nepoškodovanih celicah. Gre za združevanje ženskih in moških spolnih celic. Končni produkt gametogonije je zigota oziroma nesporulirana oocista, ki se z iztrebki izloči v okolje (Bowman, 2014). Ob primerni temperaturi in vlagi že v 2–3 dneh nastopi faza sporogonije ali sporulacije. Nesporulirana oocista se deli v štiri sporoblaste, ti pa se naprej razvijejo v sporociste. Te vsebujejo po dva sporozoita (Bowman, 2014). Klinični znaki invazije so večinoma nespecifični.

1.1.4.1 *Eimeria* spp.

Rod zajedavcev, ki jih najdemo v črevesju gostitelja in lahko povzročajo eno izmed ekonomsko najpomembnejših boleznij – kokcidiozo. Najpogosteje se pojavlja pri jagnjetih in kozličih med 4. in 8. tednom starosti (Taylor, 2000). Invazija pri odraslih živalih praviloma nima kliničnega pomena (Taylor in sod., 2016). Oociste kokcij (*Eimeria* spp.) so okrogle do ovoidne, dolge 10–50 µm, odvisno od vrste. Značilnost sporulirane oociste *Eimeria* spp. so štiri sporociste, vsaka ima po dva sporozoita (Bowman, 2014). So vrstno specifični zajedavci.

Žival s krmo zaužije infektivno, sporulirano oocisto. Po vstopu v želodčno-črevesni trakt se sprostijo sporozoiti, ki invadirajo črevesne celice (enterocite). Nastopi shizogonija, kjer se iz sporozoitov razvijejo trofozoiti (Bowman, 2014). Z delitvijo trofozoitov se celica napolni z merozoiti, tako nastane shizont. Celica, polna merozoitov, poči, razvojne oblike zajedavca pa invadirajo sosednje epitelne celice (Jacobs in sod., 2016). Shizogonija poteka v različnem številu ciklov, odvisno od vrste zajedavca. Merozoit se z gametogonijo razvije bodisi v mikrogameto bodisi v makrogameto, torej moško ali žensko spolno celico (Bowman, 2014).

Rezultat združitve moške in ženske spolne celice je zigota. Prepatentna doba traja 12–33 dni. Razvoj kokcidij povzroči poškodbe črevesne sluznice, kar vodi v zmanjšano absorpcijo vode in hranil ter posledično drisko. Klinični znaki se kažejo z vodenno drisko, katere posledica je zamazana okolica repa in zadnjega dela živali, neješčnostjo, hujšanjem in zaostajanjem v rasti. Pri težjem poteku se lahko razvija krvava driska in anemija, zaradi hude dehidracije živali poginejo (Foreyt, 1990). Praviloma gre za mešano invazijo več vrst eimerij, bolezen najpogosteje izbruhne ob stresnih dogodkih in zmanjšani odpornosti živali (Bowman, 2014). Pogosteje se pojavi v hlevih s slabo higieno. Bolezen preprečujemo z vsakodnevnim čiščenjem hleva in preprečevanjem paše na močno obremenjenem pašniku (Taylor in sod., 2016).

1.2 DIAGNOSTIKA NOTRANJIH ZAJEDAVCEV

Diagnostika invazij z notranjimi zajedavci temelji na kliničnem pregledu in koproloških preiskavah. Te so se izkazale za najzanesljivejše, razen pri invazijah z zajedavci, kjer klinične znake povzročijo že razvojne oblike (Van Wyk in sod., 2004). Idealen vzorec je svež iztrebek iz danke živali, izogibamo se jemanju iztrebkov s tal (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Mednarodne smernice priporočajo redno koprološko preiskavo iztrebkov živali, vsaj enkrat letno. Priporočljiva je preiskava pred zdravljenjem in 7–14 dni po zdravljenju z antihelmintikom (EMA, 2015).

1.2.1 Klinični znaki

Različne vrste zajedavcev povzročajo različne oblike obolenj in posledično klinično sliko. Prav tako je ta odvisna od gostitelja in njegovega imunskega odgovora na zajedanje. Običajno so živali invadirane z različnimi vrstami zajedavcev.

1.2.2 Sedimentacija

S sedimentacijsko metodo ugotavljamo težka jajčeca v iztrebkih, tj. težja od specifične teže vode (njihova specifična teža je okrog 1,3). V čaši z vodo potonejo na dno. Metodo uporabljamo za dokazovanje jajčec digenih sesačev, najdemo lahko tudi jajčeca trakulj, nematodov in večje oociste kokcidij (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Gre za kvalitativno metodo.

Metodo izvedemo tako, da 2–3 g iztrebka razpršimo skozi mrežico v čašo z 250–300 ml vode. Počakamo, da jajčeca sedimentirajo. Po 30 minutah odlijemo $\frac{3}{4}$ vsebine čaše in do roba dolijemo vodovodno vodo. Počakamo 10 minut in ponovno odlijemo vodo iz čaše, sediment pa prelijemo v petrijevko. Sediment pogledamo pod mikroskopom (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

1.2.3 Flotacija

S flotacijo izvajamo detekcijo oocist kokcidijskih jajčec nematodov in nekaterih trakulj. V nasičeni raztopini lahka jajčeca flotirajo in se premikajo proti površini. Uporabljamo lahko nasičeno raztopino kuhinjske soli ali nasičeno raztopino sladkorja (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Gre za kvalitativno metodo.

Vzorec iztrebka (2–3 g) damo v prahovko, prelijemo z nasičeno raztopino in dobro razpršimo iztrebke z mešanjem. V stojalu pripravimo epruvete, v katere s pomočjo lijaka skozi mrežico prelijemo vsebino prahovke. Tekočino moramo naliti do roba epruvete, tako se ustvari konveksni meniskus. V 3–5 minutah se lahka jajčeca naberejo na sredini meniskusa. S pravokotno zapognjeno ezo se nežno dotaknemo sredine konveksne površine in zajamemo kapljico, v kateri so ujeta jajčeca ali oociste (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Kapljico na predmetnem stekelcu pregledamo pod mikroskopom.

1.2.4 Metoda McMaster

Metoda McMaster je kvantitativna koprološka metoda, s pomočjo katere določimo stopnjo invazije. Gre za modifikacijo flotacijske metode. Z njo ugotavljamo število jajčec ali oocist v enem gramu iztrebka (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Štiri grame iztrebka prelijemo z nasičeno raztopino in premešamo. Skozi mrežico prelijemo v merilni valj in spiramo do oznake 60 ml. Vsebino merilnega valja vlijemo v plastenko in tekočino vlijemo v komorici McMaster ter počakamo 5 minut. Na 100-kratni povečavi mikroskopa preštejemo vse oociste oziroma jajčeca na robovih in znotraj pravokotnikov, ki sestavljajo označen kvadrat obeh komoric McMaster. Število jajčec, prešteti v eni komorici, pomnožimo s 100 oziroma s 50, če smo prešteli jajčeca v obeh komoricah. Dobimo število oocist ali jajčec na gram iztrebka (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

1.2.5 Metoda po Vajdi

Za dokaz ličink L1 pljučnih črvov v iztrebkih uporabljamo metodo po Vajdi. Gre za kvalitativno metodo. Bistvo metode je izkoriščanje termotropizma ličink, tj. gibanje iz hladnejšega v toplejše okolje (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

Na predmetnico položimo iztrebek in ga oblijemo z nekaj kapljicami tople vode (okrog 40 °C). Deset minut kasneje iztrebek odstranimo, kapljico pa pregledamo pod mikroskopom. Ličinke so zbrane ob robu kapljice in se premikajo (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Vrsto določimo s pomočjo morfologije repkov, po obliki sprednjega dela telesa ali po velikosti in zrnatosti ličink (Vergles Rataj in Bidovec, 2004).

1.3 ANTIHELMINTIKI

Pri drobnici se za zdravljenje želodčno-črevesnih zajedavcev uporabljajo antihelmintiki iz skupin benzimidazoli (albendazol, fenbendazol), imidazotiazoli, makrociklični laktoni (ivermektin, moksidektin, eprinomektin, doramektin) in salicilanilidi (oksiklozanid, klozantel, rafoksanid) (EMA, 2020). Med seboj se razlikujejo po različnih mehanizmi, izvoru in spektru delovanja. V Sloveniji so registrirana zdravila iz skupine benzimidazolov, imidazotiazolov (levamisol), makrocikličnih laktonov in salicilanilidov.

Trenutne smernice smotrne uporabe antihelmintikov so: (1) uporaba dveh ali več učinkovin iz različnih skupin z različnimi mehanizmi delovanja; (2) zdravljenje jagnjet in opuščanje zdravljenja odraslih ovc; (3) selektivno netretiranje deleža živali v čredi, običajno najtežjih 10–

20 odstotkov in (4) selektivno tretiranje na osnovi parametrov stopnje invazije oziroma prirasta živali (Kaplan, 2020). Uporaba več različnih učinkovin hkrati zagotavlja širokospektralni učinek. Drugi (ali tretji) uporabljen antihelmintik lahko uniči zajedavce, ki so razvili rezistenco proti prvi (ali drugi) učinkovini, in tako razredči populacijo odpornih zajedavcev. Poleg tega pa ima lahko uporaba različnih učinkovin aditiven učinek (Kaplan, 2020). V Sloveniji so za drobnico registrirani antiparazitiki: (1) benzimidazoli (albendazol, fenbendazol, flubendazol, triklabendazol), (2) imidazotiazoli (levamizol), (3) makrociklični laktoni (doramektin, eprinomectin, ivermectin) in (4) salicilanidi (oksiklozanid, rafoksanid) (JAZMP, 2022).

1.3.1 Benzimidazoli

Benzimidazoli so bili eni izmed prvih modernih antihelmintikov na tržišču. Z vezavo na β -tubulin preprečujejo polimerizacijo mikrotubulina in s tem inhibirajo normalen proces celičnega metabolizma zajedavcev. Delujejo na večino razvojnih stopenj nematodov, tudi na nekatere razvojne oblike. Nekateri predstavniki benzimidazolov se uporabljajo za zdravljenje invazij s trakuljami in odraslimi oblikami sesačev. Imajo širok spekter delovanja in široko terapevtsko širino (EMA, 2017). Zaradi enakega mehanizma delovanja se tu srečujemo z navzkrižno rezistenco. Že leta 1964, tj. po treh letih od vstopa na trg, so prvič poročali o pojavu rezistence proti tiabendazolu pri zajedavcu *Haemonchus contortus* (EMA, 2017). Rezistenca temelji na spremembi izotipa na genu za β -tubulin, zaradi katerega pride do spremembe receptorjev na tubulinih in zmanjšane ali onemogočene vezave benzimidazolov (Papadopoulos in sod., 2012). Avtorji poročajo o različno visoki prevalenci odpornosti proti benzimidazolom, nekje med 23 in 86 odstotki, odvisno od države. Zadnje raziskave kažejo na najmanj 73,3-odstotno prevalenco pri drobnici na Nizozemskem (Ploeger in Everts, 2018; Rose in sod., 2015; Rose in sod., 2020). V mediteranskem pasu je rezistenca na benzimidazole prisotna, a ne vzbuja skrbi. V Španiji je prisotnost rezistence proti benzimidazolom med 18- in 35-odstotna (Papadopoulos in sod., 2012).

1.3.2 Imidazotiazoli

Imidazotiazoli so širokospektralni antihelmintiki, ki učinkujejo proti nematodom. Delujejo na živčni sistem kot agonisti acetilholinskih receptorjev zajedavcev in povzročijo spastično paralizo. Učinkujejo na odrasle osebkke in ličinke. Znana je tudi sicer manjša učinkovitost na ličinke *Ostertagia* spp. v fazi hipobioze. Najpomembnejši predstavnik imidazotiazolov je levamizol. Rose in sod. (2020) poročajo o do 48-odstotni prevalenci rezistence proti levamizolu v Evropi. Mehanizem nastanka rezistence temelji na zmanjšanju števila receptorjev in tako zmanjšanem številu aktivnih mest za vezavo antihelmintika. Predvsem je problematična visoka prevalenca rezistence proti antihelmintikom, ki jih uporabljamo namesto levamizola (Junquera, 2021). Ta nima ovicidnega delovanja in slabše deluje proti hipobiotskim ličinkam, kot so na primer ličinke *O. ostertagi*.

1.3.3 Makrociklični laktoni

Makrociklični laktoni se vežejo na kloridne kanalčke celičnih membran zajedavca, kar povzroči večjo prepustnost za kloridne ione, hiperpolarizacijo celice in smrt zajedavca. Imajo širok spekter delovanja, ki vključuje večino nematodov, njihovih razvojnih oblik in večino zunanjih zajedavcev. So derivati mikroorganizmov iz rodu *Streptomyces*, akumulirajo se v maščobnem tkivu in izločajo z mlekom. Delimo jih na avermektine (ivermektin) in milbemicine (Junquera, 2021). Vse pogostejša je rezistenca proti makrocikličnim laktonom v populaciji nematodov, med njimi so zajedavci iz rodov *Cooperia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Oesophagostomum*, *Ostertagia* in *Trichostrongylus*. Ploeger in Everts (2018) poročata o 78,3-odstotni prevalenci rezistence proti ivermektinu v populaciji ovc na Nizozemskem, medtem ko je rezistenca proti moksidektinu manj pogosta (46,9-odstotna).

1.3.4 Salicilanilidi

Motijo proces oksidativne fosforilacije v mitohondrijih in povzročijo motnjo proizvodnje ATP. S tem ovirajo normalno gibalno sposobnost zajedavcev (Junquera, 2021). So ozko spektralni antiparazitiki, v Sloveniji sta registrirana oksiklozanid in rafoksanid (JAZMP, 2022). Prvi deluje proti odraslim oblikam *F. hepatica*, drugi pa deluje proti odraslim oblikam in pozni razvojni fazi velikega metljaja ter proti nematodom iz rodov *Haemonchus* in *Bunostomum* (Junquera, 2021).

Tabela 1 Prikaz antihelmintikov, uporabljenih v veterinarski medicini skozi različna obdobja (Maoxuan in sod., 2020)

Table 1 An overview of anthelmintics used in veterinary medicine over different periods (Maoxuan et al., 2020)

Razred zdravil	Mehanizem delovanja	Ime zdravilne učinkovine	Leto prve odobritve	Leto poročanja o prvem pojavu rezistence
Heterociklične spojine	Agonist inhibitornih GABA-receptorjev	Piperazin	1954	1966
Benzimidazoli	Inhibicija polimerizacije mikrotubulov z vezavo na tubulin	Mebendazol Albendazol	1972 1972	1975 1983
Tetrahidropirimidini	Agonist nikotinskih acetilholinskih receptorjev	Morantel Pirantel	1970 1974	1979 1996
Imidazotiazoli	Agonist nikotinskih acetilholinskih receptorjev	Levamisol	1970	1979
Makrociklični laktoni	Alosterični modulator kloridnih kanalčkov	Ivermektin Moksidektin	1981 1991	1988 1995
Amino-acetonitrilni derivati	Agonist nikotinskih acetilholinskih receptorjev	Monepantel	2009	2013
Spiroindoli	Antagonist nikotinskih acetilholinskih receptorjev	Derkvantel	2010	2016
Aminofenilamidini	Agonist nikotinskih acetilholinskih receptorjev	Tribendimidin	2004	-
Oktadepsi-peptid	Aktivacija od kalcija odvisnih kalijevih kanalčkov (SLO-1)	Emodepsid	2005	-

1.4 ODPORNOST ZAJEDAVCEV PROTI ANTIPARAZITIKOM

Odpornost proti antiparazitikom je dedna lastnost zajedavcev, ki omogoči preživetje učinkov antiparazitnega zdravila, za katerega so bili prej dovzetni. Zaradi povečanega števila preživelih zajedavcev moramo povečati odmerek, koncentracijo ali zamenjati učinkovino (Kaplan, 2020). Odpornost postane problem, ko vse večji odstotek populacije zajedavcev nosi gene za odpornost, kar jim omogoča preživetje zdravljenja, ki je bilo v preteklosti učinkovito (FDA, 2021). Nezadovoljiv odgovor invadiranih živali na zdravljenje z antiparazitiki je prvi viden znak odpornosti, o kateri najpogosteje poročajo pri drobnici. Predstavlja veliko grožnjo zdravju in dobrobiti živali po vsem svetu, saj nadzor parazitov še vedno temelji na uporabi širokospektralnih antihelmintikov (Traversa in von Samson-Himmelstjerna, 2016).

Mehanizem razvoja rezistence je povezan z mutacijami, saj te omogočajo variacijo dednega zapisa. Gre za načelo naravne selekcije. V populaciji zajedavcev, izpostavljenim antiparazitiku, bodo preživel le tisti, ki nosijo gen ali mutacijo za odpornost proti antiparazitiku, ki so mu bili izpostavljeni. Dlje časa trajajoča izpostavljenost antiparazitiku poveča verjetnost, da bodo preživel le odporni zajedavci. Tako selekcija omogoči razmnoževanje proti antiparazitiku odporni populaciji zajedavcev, ki svoje alele prenesejo v naslednjo generacijo (Gilleard in Beech, 2007; Køhler, 2001). Dolžina življenjskega cikla zajedavca pogojuje hitrost razvoja odpornosti proti antiparazitikom, saj se v eni sezoni zajedavci s krajšim življenjskim ciklom večkrat razmnožijo. Ta je sicer odvisen od bioloških dejavnikov, vremenskih razmer in hrane, ki je na voljo. Znano je, da imajo zajedavci s skrb vzbujajočo ravniyo odpornosti večinoma kratek življenjski cikel, primer je *H. contortus* s 14–21-dnevnim razvojnim krogom (Junquera, 2021). Prav tako imajo velik vpliv na upočasnitev razvoja odpornosti refugije, tj. populacije zajedavcev, ki antihelmintiku še niso bile izpostavljene (Hodgkinson in sod., 2019). Kljub temu so omenjene populacije v stiku z zajedavci, ki so preživel zdravljenje, in se z njimi razmnožujejo. Na ta način redčijo delež odpornih zajedavcev v populaciji in podaljšajo čas razvoja odpornosti (Hodgkinson in sod., 2019).

Køhler (2001) antihelmintično odpornost opredeljuje kot genetsko preneseno izgubo občutljivosti zdravila pri populacijah zajedavcev, ki so bile prej občutljive za isto zdravilo. Po zdravljenju živali z antihelmintikom dovzetni zajedavci odmrejo, odporni pa preživijo in tako prenesejo gene odpornosti na svoje potomce. Posledično se v populaciji poveča delež odpornih zajedavcev. Razvoj odpornosti lahko potrdimo s parazitološko preiskavo, kjer primerjamo

število jajčec zajedavcev pred aplikacijo antihelmintika in po njej, t. i. testom zmanjšanja števila jajčec oziroma angleško Fecal Egg Count Reduction Testing (FECRT) (Torres in Hoste, 2008).

Navedeni podatki odražajo stanje v populaciji želodčno-črevesnih zajedavcev, najdenih v rejah ovč v Evropi. Belecke in sod. (2021) iz Danske, Švedske, Norveške in Litve poročajo o do 86-odstotni prevalenci odpornosti proti benzimidazolom. Na Danskem, Švedskem, Norveškem in v Litvi poročajo, da odpornost proti makrocikličnim laktonom znaša do 52 odstotkov, razen pri moksidektinu, za katerega beležijo do 21-odstotno prevalenco. S Slovaške poročajo o 23-odstotni prevalenci odpornosti proti ivermektinu, 3,7-odstotni proti benzimidazolom in 7,4-odstotni proti levamizolu (Papadopoulos in sod., 2012). V zahodni Franciji je prevalenca odpornosti proti benzimidazolom do 83-odstotna in proti levamizolu do 50-odstotna (Rose in sod., 2015). Papadopoulos in sod. (2001) so opazili višjo incidenco rezistence proti antiparazitikom na samotnih grških otokih, kar kaže na pohitreno nastajanje rezistence v sušnih razmerah, medtem ko so v Italiji poročali o visoki učinkovitosti antihelmintikov zaradi manj pogoste uporabe, še posebej v sušnih obdobjih (Rose in sod., 2015).

Greer in sod. (2020) poročajo o uspešnosti zmanjševanja pojavnosti rezistence s targetiranim selektivnim tretiranjem živali glede na parametre: (a) plazemski pepsinogen, (b) povprečni dnevni prirast, (c) število jajčec na gram iztrebka, (d) anemija/pepsinogen parameter, (e) protitelesa in (f) mlečnost. Med zadnjimi je med najzanesljivejšimi merjenje plazemskega pepsinogena, vendar so zaradi enostavnosti in lažje dostopnosti bolj v uporabi proizvodni parametri (Greer in sod., 2020). Pogosta je tudi uporaba lestvice FAMACHA®, ki je bolj ali manj specifična za krvosesne zajedavce (Greer in sod., 2020). Upoštevanje aktualnih smernic za antihelmintično zdravljenje je pomemben pristop k trajnostni in smotrni uporabi antiparazitikov.

1.5 DOPOLNILNE METODE IN UKREPI ZA ZMANJŠANJE IN PREPREČEVANJE PARAZITARNIH INVAZIJ

Zmanjšanje uporabe farmakološko aktivnih učinkovin pri klavnih živalih, želja po zmanjšanju njihovih ostankov v živilih živalskega izvora in okolju, napredovanje razvoja odpornosti proti antihelmintikom in težnja po trajnostnem razvoju so ključni dejavniki, ki so spodbudili iskanje trajnostnih rešitev z namenom dopolnjevanja ali nadomeščanja klasičnih metod zatiranja in nadzora parazitov (Rahman in Seip, 2007). To lahko dosežemo s tehnologijo paše, prehrano živali, dodajanjem nekaterih rastlin, ki vsebujejo sekundarne rastlinske učinkovine z dokazanim antihelmintičnim učinkom. Dopolnilne metode temeljijo na zmanjševanju izpostavljenosti živali zajedavcem oziroma invazijskim ličinkam ter povečanju odpornosti živali proti zajedavcem.

1.5.1 Tehnologija paše

Pašniki predstavljajo ugodno okolje za sklenitev razvojnih krogov notranjih zajedavcev, zato je pravilna ureditev pašnikov temeljno orodje za njihov nadzor. Ustrezno upravljanje pašnikov vpliva na zmanjševanje invazij dovzetnih živali in bolj trajnostno živinorejo. Velik vpliv na zajedavce, živali in pašnike imajo vremenske razmere in letni čas. Vlaga in temperatura sta pomembni za izvalitev jajčec, plezanje invazijskih ličink po travnih bilkah in za njihovo preživetje v okolju. Med vročim in suhim vremenom se bo zaradi vročine in sončne svetlobe uničilo veliko jajčec in razvijajočih se ličink, zato vmesna ali čistilna košnja pašnikov blizu tal uniči veliko razvojnih oblik, saj pride do izpostavljenosti tal in travnih bilk toploti, sončni svetlobi, zmanjša pa se tudi količina vlage, zato ni več ugodnih razmer za preživetje ličink (Coffey in Hale, 2012).

Na voljo je več ukrepov. V vseh rejah ni mogoče zagotoviti vseh, zagotovo pa lahko uporabijo katerega od spodaj naštetih:

(1) Ohranjanje primerne višine trave je pomembno za živali pa tudi za čredinke, da se omogočijo ustrezne razmere za hitro rast trave. Ovce so še posebej nagnjene k paši travnih bilk pri tleh. Pomembno je natančno opazovanje višine trave. Živali se premaknejo na nov pašnik, preden se višina trave zniža pod sedem centimetrov. To koristi obnavljanju vegetacije, živali pa zaužijejo manj invazijskih ličink, saj jih je največ pri tleh (Coffey in Hale, 2012).

(2) Kadar imamo na pašniku manjše število živali, imamo posledično tudi manjšo koncentracijo ličink. Ker na enem področju ni tako velike koncentracije živali, lahko te izbirajo, na katerih površinah se bodo pasle, tako da se bodo izognile območjem, ki so onesnažena z iztrebki. To zmanjšuje zauživanje ličink (po določenem času zaradi vplivov okolja odmrejo), s tem pa se prekine življenjski krog zajedavca (Bowie, 2014).

(3) Vodenje evidenc o paši nam pomaga spremljati, kdaj so se živali začele pasti in kdaj so zapustile čredinko. Koristno je narediti načrt, v katerem naj bo navedeno, katere živali se bodo pasle prve, saj ima nepopasena trava praviloma tudi največjo prehransko vrednost. Torej bi lahko tudi rekli, da imajo živali možnost izbire hranljivejših in okusnejših rastlin. Tako si zagotovijo boljšo prehrano. Priporočljivo je, da se prve pasejo najbolj dovzetne živali in da živali z najvišjimi prehranskimi potrebami namestimo na najbolj hranljive pašnike. Menjava čredink je ključna za preprečevanje invazij. Zadrževanje živali na istem pašniku močno poveča kontaminacijo pašnika. V optimalnih razmerah *Haemonchus contortus* v 21–25 dneh zaključi razvojni krog. Vendar pa bodo živali, ki že vsebujejo razvojno obliko parazita, izločale jajčeca prvi dan in iz teh jajčec se lahko že četrti ali peti dan izležejo invazijske ličinke. To je razlog za premik živali pred četrtem dnem (Coffey in Hale, 2012).

(4) Zagotovimo počivanje pašnika. Na ta način se pašnik lahko obnovi, posuši, večina zajedavcev pa se premakne proti zemlji, k bazi rastlin. Tveganje za invazijo se močno zmanjša, če se živali pasejo na suhem pašniku (Kumar in sod., 2013). Dolžina počitka je odvisna od več dejavnikov (tip tal, podnebje ipd.), v osnovi priporočajo vsaj dva do sedem tednov počitka (Kumar in sod., 2013).

(5) Pašnike zaščitimo z ograjo ali električnim pastirjem, da preprečimo vstop divjim prežvekovalcem, ki so prav tako lahko prenašalci parazitov na pašnik. Večinoma ta ukrep že uporabljamo, saj so pašniki ograjeni tako, da preprečimo pobeg živalim (Coffey in Hale, 2012).

(6) Ugotovili so, da je dober zaščitni ukrep uporaba več vrst živali, ki se pasejo skupaj ali izmenično. Druga, odporna vrsta živali, popase invazijske ličinke, nato pa pašnik pustimo, da trava ponovno zraste, preden se nanj vrnejo ovce in koze. *Haemonchus* spp. invadira govedo, ovce in koze, ampak govedo ni tako občutljivo zanj, kot je drobnica. Zato lahko pašnik zasede perutnina ali konji (Coffey in Hale, 2012).

(7) Ko živali zdravimo z antihelmintikom, je priporočljivo, da jih še nekaj dni pustimo na isti površini. Tako nazaj dobijo nekaj ličink za antiparazitik občutljivih zajedavcev. Na nov pašnik

tako ni zgolj vnosa odpornih zajedavcev. Če bi jih takoj po zdravljenju predstavili na nov pašnik, bi to lahko prispevalo k razvoju jajčec odpornih zajedavcev, kar bi pospešilo razvoj rezistence (Hepworth in sod., 2006).

(8) V času, ko na pašniku nimamo nobenih živali, lahko to površino zasejemo z drugo kulturo ali pa pokosimo, če seveda površina to omogoča (Bowie, 2014).

1.5.2 Prehrana živali

Prehrana živali močno vpliva na zdravstveno stanje živali. Povečan delež beljakovin v krmnem obroku izboljša imunski odziv, zmanjša število izločenih jajčec zajedavcev in uravnava neješčnost zaradi parazitov (Burke in Miller, 2020). Telo namreč uporablja beljakovine za obnovo tkiv, ki jih poškodujejo notranji zajedavci. V eni izmed raziskav so ovcam pasme merino v krmni obrok dodajali 250 g bombažnega semena na žival na dan, bodisi šest tednov pred porodom bodisi šest tednov po njem. V obeh primerih je prišlo do 66-odstotnega znižanja števila jajčec *H. contortus*. Jagnjeta merino (stara pet mesecev) so v drugi študiji le dvakrat na teden hranili z bombaževo moko, po 350 g na žival v enem obroku. Jagnjeta so imela za 44 odstotkov večji prirast kot jagnjeta brez dodatka; imela pa so tudi za 35 odstotkov manjše število jajčec zajedavcev na gram iztrebka. Jagnjeta, ki so jim dodajali sojino moko (250 g/žival), so imela višje priraste in višje vrednosti hematokrita kot jagnjeta, ki jim niso dodajali sojine moke. To pomeni manj anemij in posledično manjšo verjetnost zapletov pri invaziji s *H. contortus* (Coffey in Hale, 2012).

Poleg beljakovin je treba vključiti še minerale in mikroelemente, zlasti baker, fosfor in cink, predvsem zadnja sta pomembna za delovanje imunskega sistema (Coffey in Hale, 2012). Treba je poudariti, da so ovce bolj občutljive za baker kot koze. V nasprotju z drugimi minerali se baker ne absorbira na podlagi dnevnih potreb živali, temveč sorazmerno s koncentracijo v njihovi prehrani. Odvečni baker se akumulira v jetrih in počasi izloča skozi ledvice. Priporočena je uporaba mineralno-vitaminske mešanice, prilagojene ovcam (Ontario Veterinary College, 2021).

Dobro krmljene živali so tudi v boljšem zdravstvenem stanju, kar pomeni, da lažje prebolijo invazijo z zajedavci kot pa shirane živali. Iz tega razloga so za invazijo veliko bolj dovzetne

mlade živali, ki še nimajo povsem razvite imunosti proti zajedavcem, saj traja nekaj mesecev, da se razvije imunski odziv (koze potrebujejo več časa kot ovce) (Rahman in Seip, 2007).

1.5.3 Bioaktivne snovi

Nekatere rastline vsebujejo sekundarne rastlinske učinkovine z dokazanim antihelmintičnim učinkom. Med njimi so tanini, laktoni, alkaloidi, saponini, terpeni, glikozidi in fenoli (Burke in Miller, 2020). To so predvsem sekundarni metaboliti, ki imajo potencial uporabe kot dopolnilne metode (Hoste in sod., 2006). Pri nekaterih od njih je že bil dokazan antihelmintični učinek (Matthews in sod., 2016). Pogosta je uporaba kombinacije trav, stročnic in drugih rastlin, ki vsebujejo tanine in sekviterpene z antihelmintičnim delovanjem. Pomembno je poudariti, da koze v primerjavi z ovcami prenesejo večjo količino taninov v krmi brez škodljivih učinkov (Coffey in Hale, 2012).

Bioaktivne spojine so v majhnih količinah prisotne v živilih, predvsem v sadju, zelenjavi in celih zrnih, in so koristne za zdravje. Gre za molekule, ki imajo terapevtski potencial z vplivom na vnos energije, hkrati pa delujejo protivnetno, zmanjšujejo oksidativni stres in presnovne motnje (Diana in sod., 2019). Bioaktivne spojine lahko modulirajo presnovne procese in kažejo pozitivne lastnosti, kot so antioksidativni učinek, zaviranje aktivnosti receptorjev, zaviranje ali indukcija encimov in vpliv na izražanje genov. Raznolikost kemičnih struktur vpliva na biološko uporabnost in lastnosti, medtem ko lahko antinutritivni dejavniki zmanjšajo biološko uporabnost nekaterih spojin ali zavirajo prebavne encime (Septembre in Remize, 2018).

Potencialni učinki bioaktivnih spojin in hranilnih snovi na zdravje so odvisni od procesa prebave, saj ta vpliva na bioaktivne spojine, njihovo stabilnost ter posledično na biološko uporabnost in potencialne koristne učinke na zdravje (Diana in sod., 2019). Zdravilne rastline se v tradicionalni medicini uporabljajo že od antičnih časov. Njihova uporaba se je večinoma prenašala z ustnim izročilom na podlagi učinkovitosti in varnosti pri zdravljenju določenih bolezni in je bila sčasoma zabeležena v zeliščnih priročnikih. Za njihove zdravilne učinke so odgovorne biološko aktivne snovi z zdravilom podobnimi učinki, ki jih vsebujejo (Pan in sod., 2013). Odkrivanje zdravilnih učinkovin iz zdravilnih rastlin še naprej zagotavlja pomemben vir novih zdravil (Diana in sod., 2019).

Uporaba določenih rastlin in njihovih produktov lahko vpliva na preživitveno sposobnost, giblјivost in plodnost parazita, tako v *in vitro* ter *in vivo* pogojih. Za nekatere rastline je bilo potrjeno, da je njihova uporaba povezana z izboljšanjem imunskega odgovora gostitelja. Aktivne komponente v nekaterih rastlinah so že raziskane, veliko pa je še neznanih.

Navadna turška detelja (*Onobrychis viciifolia*) je pokazala antihelmintično delovanje na migracijo parazita *Haemonchus contortus*, in sicer na razvojno obliko L3. Učinek pripisujejo predvsem kondenziranim taninom, ki jih vsebuje v večjih količinah (Barrau in sod., 2005).

Dokazano je, da je timol najpomembnejša spojina za antihelmintično delovanje eteričnega olja vrtnе materine dušice (*Thymus vulgaris*). Učinkovit je proti izvalitvi jajčec *Haemonchus contortus*, razvoju ličink in proti odraslim. Dejansko sta bila tako eterično olje in timol, ki predstavljata 50,22 odstotka oljne sestave, učinkovita proti trem glavnim razvojnim stadijem *H. contortus*. Olje in timol sta zmanjšala izvalitev jajčec za 96,4–100 odstotkov, razvoj ličink za 90,8–100 odstotkov in giblјivost ličink za 97–100 odstotkov. Podobno kot pozitivna kontrola (levamizol 20 mg/ml) sta olje in timol v prvih 8 urah poskusa popolnoma zavrla giblјivost odraslih *H. contortus*. (Ferreira in sod., 2016).

1.5.3.1 Buče

Antihelmintično delovanje ugotavljamo pri bučah; muškatni buči (*Cucurbita moschata*), oljni buči (*Cucurbitata pepa*) in buči velikanki (*Cucurbita maxima*). Bučna semena vsebujejo aminokislino, imenovano kukurbitacin (Barrau, 2005). Predstavlja do 1 odstotka mase bučnega semena. Odgovorna je za antihelmintično delovanje semena. Neposreden toksičen način delovanja te učinkovine na nematode še ni čisto poznan. Kukurbitacin naj bi paraliziral zajedavce v prebavilih (Strickland in sod., 2009).

V spodnji tabeli je predstavljena kemična zgradba bučnih semen različnih vrst buč (Mi Young Kim in sod., 2017).

Tabela 2 Kemična sestava bučnega semena (g/kg surove teže) buč (Cucurbitaceae) po vrstah

Table 2 Chemical composition of pumpkin seeds (g/kg raw weight) of pumpkins (Cucurbitaceae) by species

	<i>C. pepo</i>	<i>C. moschata</i>	<i>C. maxima</i>
Ogljikovi hidrati	122,20 ± 7,47	140,19 ± 7,60	129,08 ± 8,25
Beljakovine	308,83 ± 83	298,11 ± 14,75	274,85 ± 10,04
Maščobe	439,88 ± 2,88	456,76 ± 11,66	524,34 ± 1,32
Vlaknine	148,42 ± 0,55	108,51 ± 8,36	161,54 ± 6,79
Pepel	55,02 ± 1,00	53,15 ± 0,20	44,22 ± 0,36
Vlaga	74,06 ± 0,91	51,79 ± 6,04	27,51 ± 0,21

Pogosto se v prehrani uporabljajo bučne pogače, saj so odličen beljakovinsko bogat ostanek po stiskanju olja iz semen buč. Bučne pogače vsebujejo velik delež beljakovin, ki se giblje tudi preko 600 g/kg suhe snovi. Vsebnost surovih maščob variira predvsem v odvisnosti od tehnologije iztiskanja olja iz semen. Količina surovih maščob je po rezultatih precej variabilna, med 98,61 g/kg in 197,10 g/kg suhe snovi bučnih pogač (Marič, 2009).

Bučna semena vsebujejo zelo majhne količine kukurbitacina in zaradi težav z izolacijo teh spojin v velikih količinah številne njihove potencialne uporabe ostajajo neraziskane. Poročali so o potrditvenem testu za ugotavljanje prisotnosti kukurbitacinov v ekstraktih in frakcijah bučnih semen, pri čemer se vzorec meša s trifeniltetrazolijevim kloridom. Pojav rdeče oborine formazina kaže na prisotnost kukurbitacinov (Njoroge in sod., 1994).

Farmakološki učinki bučnih semen so prav tako povezani z njihovima 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).

Strickland in sod. (2009) navajajo, da se kot tradicionalen način za zdravljenje želodčno-črevesnih nematodov v Avstraliji (zmanjšanje njihovega števila) pri ovcah uporablja 500 g zmletih bučnih semen, kuhanih v 3 litrih vode in ohlajenih, pred hranjenjem pa se odstrani odvečna voda. Živalim jih ponudijo kot dodatek k prehrani. Ta način uporabe nakazuje, da kukurbitacin ni toplotno občutljiv.

Opravili so poskus (Strickland in sod., 2009), v katerega so vključili 18 4-mesečnih jagnjet pasme merino. Jagnjeta so najprej dehelmintizirali, nato so jih invadirali s 4000 ličinkami L3

H. contortus. Štiri tedne kasneje so opravili štetje jajčec v iztrebkih in jagnjeta razporedili v skupine. Ena skupina je prejela bučna semena, druga je prejela česen, tretja pa je bila kontrolna skupina. Bučna semena in česen so dajali štirinajst dni. Jagnjeta so dobivala 0,2 g/kg telesne mase česna, v drugi skupini pa bučna semena v količini 0,33 g/kg telesne mase. Bučna semena so pripravili tako, da so jih pet dni sušili v sušilniku na 70 °C. Zunanjo trdo semensko ovojnico so odstranili ročno. Pripravke so dodajali h komercialno pripravljenim peletom. Štetje števila jajčec želodčno-črevesnih nematodov so izvajali tedensko. V skupini, ki je dobivala bučna semena, so ugotovili 65,5-odstotno zmanjšanje začetnega števila jajčec v iztrebku, vendar se je to povečalo nazaj na začetno število, takoj ko živalim niso več dodajali bučnih semen (Strickland in sod., 2009).

Matthews in sodelavci (2016) so v poskus vključili kozličke ($n = 10$), stare v povprečju 185,1 dneva. Enaindvajset dni so jim dajali zmleta bučna semena (*Cucurbita pepo*), vmešana v hrano, in sicer 5 g/kg telesne mase. V drugem poskusu so imeli kozličke, v povprečju stare 166,4 dneva ($n = 13$). Dobivali so bučno olje v odmerku 2 ml/kg telesne mase, kar naj bi bilo ekvivalentno 5 g bučnih semen. Peroralno so vsakemu posebej 35 dni aplicirali bučno olje. Ugotovili so, da se število jajčec na gram iztrebka v nobenem poskusu ni zmanjšalo, torej zdravljenje parazitarne invazije ni bilo učinkovito (Matthews in sod., 2016).

1.5.3.2 Rastline, ki vsebujejo tanine

Tanine in njihove lastnosti so odkrili v 18. stoletju. Njihovo ime izhaja iz keltske besede za hrast, ki je tudi najbolj znan predstavnik te skupine rastlin (Kos, 2007). Osnovna gradbena enota je fenol, katerega hidroksilne skupine so proste. Delimo jih na hidrolizirajoče in kondenzirane tanine. Hidrolizirajoči tanini so estri, ki vsebujejo ogljikohidratno jedro (po navadi glukozo) s hidroksilnimi in fenolnimi skupinami. Najbolj znan hidrolizirajoči tanin je taninska kislina, ki jo pridobivajo iz hrastovih šišek (Kompnej, 2003). Tanini so topni v vodi, čeprav je lahko topnost molekul z veliko molekulsko maso močno omejena. Tanini se z beljakovinami in polisaharidi, kot so celuloza, hemiceluloza in pektin, povezujejo v komplekse (Suhovevšnik, 2005).

Uživanje visokih koncentracij kondenziranih taninov ($>7\%$) je povezano s številnimi škodljivimi učinki na prežvekovalce, kot so zmanjšanje vnosa hrane, zaviranje rasti in poseganje v morfolgijo in proteolitično aktivnost mikrobov v vampu. Nizke ali zmerne

koncentracije kondenziranih taninov (<6 %) so imele pozitivne učinke na prežvekovalce; na primer večji prirast in večjo proizvodnjo mleka. Tudi kakovost volne se je z uživanjem kondenziranih taninov izboljšala (Mlin, 2003). Tanini se namreč vežejo na beljakovine v vampu, jih na ta način zaščitijo pred mikrobno prebavo in tako povečajo izkoristljivost beljakovin za prežvekovalce, kar ima številne pozitivne učinke.

Tanine vsebujejo grmovnice, trave, metuljnice (lucerna, detelja ipd.), drevesa (les, plodovi, lubje ipd.) in začimbe (pehtran, cimet, timijan, nageljnovе žbice ipd.). Odzivi živali na krmo z vsebnostjo taninov so odvisni od vrste, saj so poznani po trpkem okusu. To pomeni, da na površini sluznic tvorijo tanek sloj netopnih denaturiranih beljakovin. Posledice adstringentnega delovanja so trpek okus, povečana izsušenost sluznice in s tem tudi zmanjšana konzumacijska sposobnost (Komprij, 2003).

V raziskavah so postavili dve hipotezi antihelmintičnega delovanja na zajedavce. Prvič, tanini delujejo posredno, z izboljšanjem odziva gostitelja na parazite. Tanini lahko zaradi svoje sposobnosti vezave na beljakovine zaščitijo beljakovine pred razgradnjo v vampu ter povečajo pretok beljakovin in absorpcijo aminokislin v tankem črevesu. To ugodno vpliva na homeostazo v črevesju gostitelja in posledično na njegov imunski odziv proti zajedavcem (Hoste in sod., 2009). Druga neposredna hipoteza predvideva, da tanini delujejo proti zajedavcem tako, da zaviralno vplivajo na njihove ključne biološke procese. To hipotezo podpirajo rezultati številnih testov *in vitro* in, kar je pomembno, študije *in vivo* na ovcah in kozah. Natančni mehanizmi delovanja ostajajo nejasni in se lahko razlikujejo glede na vrsto parazita, njegovo stopnjo razvoja in morda biokemične značilnosti rastlin, ki so jih krmili (Hoste in sod., 2009).

Upoštevati je treba sposobnost kondenziranih taninov, da se vežejo na beljakovine in spremenijo njihove fizikalne in kemijske lastnosti, zlasti ker je znano, da je povrhnjica parazitov bogata s prolinom in hidroksiprolinom (Thompson in Geary, 1995). Ta sposobnost bi lahko razložila spremembe na povrhnjici, ki jih opazimo z optično elektronsko mikroskopijo po stiku zajedavca s kondenziranimi tanini (Bahuaud, 2006). Tanin učinkuje na parazite tako, da zavira metabolizem energije, njihovo motorično aktivnost in izleganje jajčec. V raziskavah so največkrat proučevali kondenzirane tanine (French, 2017).

1.5.3.3 Nageljnovе žbice

Nageljnovе žbice ali klinčki so močno dišeči in pekoči posušeni cvetni popki dišečega klinčevca (*Syzygium aromaticum* L.). Rastlina dišeči klinčevce spada v družino Myrtaceae. Nageljnovе žbice so prastara začimba. Najprej so jih uporabljali v vzhodni Aziji. V Evropi so to začimbo spoznali relativno pozno. Dišeče klinčevce gojijo v Indoneziji, Indiji in na Madagaskarju (Bhowmik in sod., 2012). Olje nageljnovih žbic vsebuje evgenol, ki mu pripisujejo antimikrobno, protibolečinsko, antioksidativno, antimutageno, protikancerogeno, protivnetno ter antihelmintično delovanje (Kamataou in sod., 2012).

Nageljnovе žbice predstavljajo enega najbogatejših virov fenolnih spojin, kot so evgenol, evgenol acetat in galna kislina, ter ima velik potencial za farmacevtsko, kozmetično, živilsko in kmetijsko uporabo (Cortés-Rojas in sod., 2014). Presnovo evgenola so proučevali pri ljudeh. Znano je, da se evgenol po peroralni uporabi zlahka absorbira in hitro pride v kri z razpolovno dobo 14 oziroma 18 ur (Leem in sod., 2011). Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) je dokazala, da je sprejemljiva dnevna količina nageljnovih žbic pri ljudeh 2,5 mg/kg telesne teže (Ogunwande in sod., 2005). Toksičnost olja so dokazali le pri ribah, kjer je koncentracija znašala 18,2 mg/ml oziroma 21,7 mg/ml vode v akvariju (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 osebkke *Haemonchus contortus*, kjer so dosegli 100-odstoten pogin zajedavcev že v nekaj minutah, prav tako je ekstrakt deloval ovicidno (Charitha in sod., 2017).

Veerakumari in Kumar (2017) sta dokazala, da je etanolni ekstrakt (0,5 mg/ml) iz nageljnih žbic zaviral gibljivost in metabolizem nematoda *H. contortus*. Inhibiral je aktivnost encima sukcinat dehidrogenaze (SDH) pri odraslih osebkkih *Haemonchus contortus in vitro*, kar je zmanjšalo proizvodnjo ATP parazita in povzročilo njegov pogin.

2 NAMEN DELA IN HIPOTEZE

2.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Invazije z želodčno-črevesnimi zajedavci imajo velik vpliv na zdravje in dobrobit živali, njihov negativni vpliv na proizvodnjo povzroča rejcem gospodarsko škodo, zato zajedavske bolezni predstavljajo rastočo problematiko na področju živinoreje in trajnostnega razvoja (Baltrusis in sod., 2020). Trenutno uveljavljeni načini nadzora in preprečevanja invazij temeljijo na ponavljajoči se uporabi antihelmintikov, tako za zdravljenje obolelih živali kot za preprečevanje večjih izgub z zmanjšanjem števila zajedavcev (Hoste in sod., 2005). O vedno večji problematiki pojava odpornosti proti antihelmintikom so poročali že leta 1997 (Wallis, 1997). Od 60. let prejšnjega stoletja, ko so na tržišče prišli prvi komercialni antihelmintiki, so zajedavske bolezni uspešno nadzorovali s pomočjo strateške in predvsem pogoste uporabe sintetičnih antihelmintikov (Kaplan, 2020). V zadnjih treh desetletjih se soočamo s pomanjkanjem učinkovitih antihelmintikov, medtem ko novih še ni na voljo. V nekaterih državah sveta je zaradi visoke stopnje rezistence proti antihelmintikom nadzor nad zajedavskimi boleznimi vedno težje dosegljiv. Upoštevajoč stroške raziskav in čas, potreben za sprostitve novih zdravil na trg, lahko zaključimo, da bodo v prihodnosti novi antihelmintiki precej dražji od trenutno najdražjih proizvodov (Kaplan, 2020). Vse to je, poleg težnje k trajnostnemu razvoju in zmanjšanju ravni reziduumov v naravi in živalskih produktih, glavni povod za iskanje alternativnih rešitev (Hoste in sod., 2005).

Pred razvojem sintetičnih antihelmintikov so temelj za nadzor zajedavcev predstavljale rastline – bioaktivne snovi v njih ali njihovi sekundarni metaboliti (Hoste in sod., 2006). Večina raziskav, usmerjenih v odkrivanje učinkov bioaktivnih snovi v rastlinah, temelji na drobnici. Predvsem so znani učinki rastlin iz družine stročnic (*Fabacea*) in rastlin z visoko vsebnostjo taninov. V nasprotju s sintetičnimi antiparazitiki, ki imajo specifične mehanizme delovanja, rastlinske snovi z antiparazitnim učinkom delujejo preko nespecifičnih mehanizmov, zato je verjetnost razvoja rezistence proti njim precej manjša (Bowie, 2014).

2.2 CILJ RAZISKOVANJA

V raziskavi želimo proučiti vpliv prehranskih dodatkov na izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev pri ovcah. Cilj raziskave je ugotoviti morebitno medsebojno dopolnjevanje učinka bučnih pogač in nageljnovih žbic ter učinek smrekovih vej kot dodatkov krmi na izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev. Prav tako želimo rezultate raziskave primerjati z že opravljenimi raziskavami dodajanja rastlinskih učinkovin krmi. Glavni namen raziskovalne naloge je raziskati možnosti novih, bolj trajnostnih načinov zatiranja zajedavcev in zmanjšanja porabe sintetičnih antihelmintičnih pripravkov, raziskati možnosti zmanjšanja vpliva zajedavcev na prirejo in rejcem ponuditi dodatne alternativne ukrepe za nadzor zajedavcev pri živalih.

2.3 DELOVNE HIPOTEZE

V okviru pričujoče raziskave smo želeli preveriti naslednje hipoteze:

1. Dodajanje bučnih pogač skupaj z nageljnovimi žbicami v krmo živali učinkuje na zmanjšano izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev.
2. Dodajanje smrekovih vej v krmo živali vpliva na zmanjšano izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

Raziskovalni del smo opravili na kmetiji v osrednjeslovenski regiji. V raziskavo smo vključili 30 naključno izbranih odraslih ovc, ki smo jih kasneje razdelili v tri skupine, v vsaki je bilo po 10 ovc. Skupine so bile nastanjene v ločenih boksih. Med trajanjem raziskave so bile ovce nastanjene v hlevu zaprtega tipa s slamnatim nastiljem. Dobivale so zimski obrok, ki sestoji iz sena (1/2) in travne silaže (1/2). Ovce so bile pred pol leta nazadnje zdravljene proti zajedavcem. Povprečna starost ovc v kontrolni skupini ter skupini, ki je dobivala nageljnovе žbice in bučne pogače, je bila 2,7 leta (v kontrolni skupini minimalna starost 2 leti, maksimalna 4 leta, v skupini, krmljeni z nageljnovimi žbicami in bučnimi pogačami, pa minimalna starost 1 leto, maksimalna 4 leta), medtem ko je bila v skupini, ki je prejemale v krmo smrekove veje, povprečna starost 3 leta (minimalna 1 leto, maksimalna 4 leta).



Slika 2: Tropa ovc na kmetiji, kjer smo opravljali raziskavo (Heričko, 2022)

Figure 2 A flock of sheep included in the study (Heričko, 2022)

Rejec nam je posredoval rezultate analize krme, ki so jo dobivale ovce. Analiza je bila opravljena v laboratoriju LKS v Nemčiji. Rezultati so predstavljeni v tabelah 2 in 3.

Tabela 3 Rezultati analize sena

Table 3 Hay analysis results

Analitična sestava	Vsebnost (g/kg) originalnega vzorca	Vsebnost (g/kg) suhe snovi vzorca
Suha snov	882	1000
Surovi pepel	62	70
Surove beljakovine	78	88
Surove vlaknine	254	288
Surove maščobe	14	16
Sladkor	122	138

Tabela 4 Rezultati analize travne silaže

Table 4 Grass silage analysis results

Analitična sestava	Vsebnost (g/kg) originalnega vzorca	Vsebnost (g/kg) suhe snovi vzorca
Suha snov	429	1000
Surovi pepel	37	85
Surove beljakovine	36	83
Surove vlaknine	115	268
Surove maščobe	12	27
Sladkor	59	138

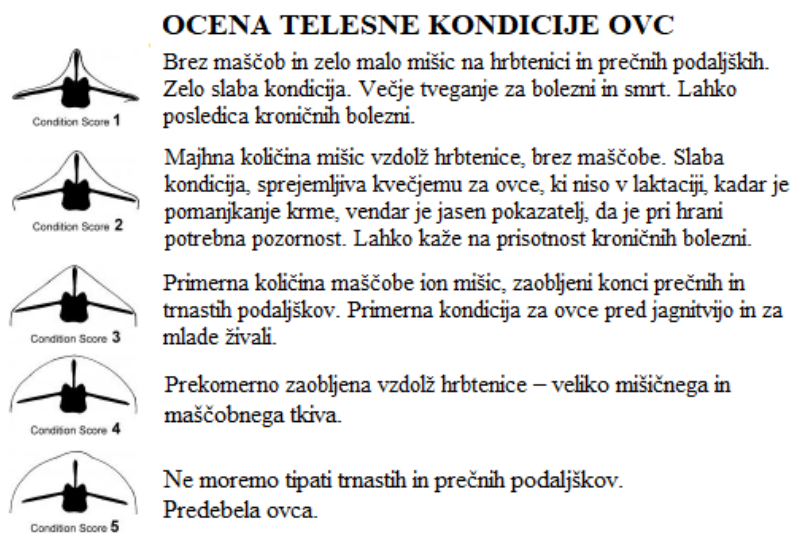
3.2 METODE

Raziskava je potekala v marcu in aprilu 2022 in je trajala 34 dni. Prvi odvzem iztrebkov (vzorci so bili odvzeti individualno iz danke) ter oceno kondicije, barve očesnih veznic, zamazanosti v okolici zadka in konsistence iztrebka smo opravili prvi dan. Po opravljeni parazitološki preiskavi smo živali razdelili v tri skupine po 10 ovc. Rejec je šesti dan začel krmiti dodatke, živali so jih dobivale 14 dni. Ponovno ocenjevanje živali in vzorčenje smo opravili 20. dan. Na ta dan je rejec prenehal krmiti z dodatki in začel krmiti samo z običajno krmo. Tretjič smo vzorčili 34. dan.

Rejec je dobil natančna navodila, kako naj ovce krmi. Kontrolna skupina je dobivala običajen obrok (seno in travno silažo). Druga skupina je dobivala dodatek bučnih pogač po 200 g na ovco na dan v dveh obrokih ter po 1,8 g sveže zmletih nageljnovih žbic na ovco na dan. Tretja skupina je imela ves čas dostop do smrekovih vej, ki so bile obešene na steno boksa. Skupaj so v tem času (v 14 dneh) požrle 14,6 kg smrekovih vej. Obirale so predvsem iglice.

3.2.1 Ocena telesne kondicije

Telesno kondicijo smo ocenili s pomočjo lestvice za oceno telesne kondicije, uporabili smo pettočkovno lestvico, kjer z vrednostjo ena ocenimo presuhe živali, z vrednostjo pet pa živali, ki so predebele. Ocenjevali smo s palpacijo maščobnih oblog na ledvenem delu hrbta, prečnih in trnastih podaljških ledvenih vretenc.



Slika 3 Ocena telesne kondicije – lestvica (povzeto po: Kenyon in sod., 2014)

Figure 3 Assessment of body condition (adapted from: Kenyon et al., 2014)

3. 2. 2 Ocena barve očesnih veznic

Za oceno barve očesnih veznic smo uporabili lestvico FAMACHA®, kjer s pomočjo barve veznic ocenimo oziroma ugotavljamo slabokrvnost živali. Ocena ena pomeni normalno rožnato barvo očesnih veznic, medtem ko so z vrednostmi štiri in pet ocenjene živali z bledo rožnato in skoraj belo barvo očesnih veznic, ki kažeta na izrazitejšo slabokrvnost. Pri teh se priporoča tretiranje z antihelmintiki (Kaplan in sod., 2004).

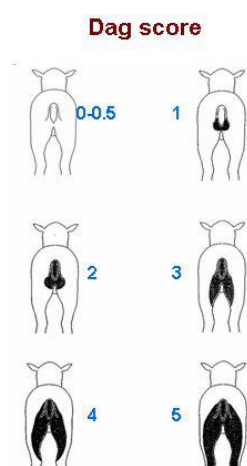


Slika 4 Lestvica FAMACHA® za ugotavljanje slabokrvnosti (Kaplan in sod., 2004)

Figure 4 FAMACHA® scale for detecting anemia (Kaplan et al., 2004)

3. 2. 3 Ocena zamazanosti okolice repa

Z ocenjevanjem zamazanosti okolice repa smo ugotavljali morebitno prisotnost drisk pri živalih. Uporabili smo šeststopenjsko lestvico, pri kateri se z nič ocenijo živali, ki niso zamazane okrog repa, pri živalih z močno drisko pa je zamazanost okrog repa med štiri in pet. Tu gre za prisotnost iztrebkov na celotnem področju zadnje strani stegen pod repom.



Slika 5 Šeststopenjska lestvica za ocenjevanje zamazanosti okrog repa (University of Guelph, 2019)

Figure 5 A six-point scale for assessing dag score (University of Guelph, 2019)

3. 2. 4 Ocena konsistence iztrebka

Prisotnost driske smo ugotavljali tudi z ocenjevanjem konsistence iztrebka med jemanjem vzorcev za parazitološke preiskave, pri čemer smo si pomagali s prilagojeno tristopenjsko lestvico. Pri živalih z oceno ena smo ugotovili dobro formirane iztrebke brez sledi driske.



Slika 6 Lestvica za ocenjevanje konsistence iztrebkov. Prva slika predstavlja oceno 0, druga slika je ocena 1 ter tretja slika ocena 2 (povzeto po: <http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/tests-tools/tests/assessing-faecal-consistency-score.php>).

Figure 6 Faecal consistency score scale. In the pictures are score 0, score 1 and score 2, respectively (retrieved from <http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/tests-tools/tests/assessing-faecal-consistency-score.php>).

3. 2. 5 Parazitološke preiskave

Za parazitološke preiskave smo živalim vzorčili iztrebke individualno. Z orokavičeno roko smo rektalno odvzeli vzorce iztrebkov. Vzorčili smo po vsaj 10 g iztrebka. Za preiskavo vzorcev iztrebkov smo uporabili koprološke metode, in sicer metodo McMaster, flotacijo ter sedimentacijo (Vergles Rataj in Bidovec, 2004). Za determinacijo ličink L3 smo izdelali koprokulture.



Slika 7 Individualni odvzem vzorca iztrebka (Heričko, 2022)

Figure 7 Collecting fecal sample from individual animal (Heričko, 2022)

Koprokultura je bila pripravljena po Eckertu (1960). Pri vsaki skupini živali (kontrola; bučne pogače in nageljnovе žbice; smrekove veje) smo od vsake živali vzeli nekaj bobkov, da smo dobili skupen vzorec, jih zdrobili in pomešali s sterilno žagovino. Zmes smo prenesli v 0,5-litrске kozarce z navojem, jo navlažili in inkubirali v termostatu 10 dni na temperaturi 26 °C. Vsebinsko v kozarcih smo vsakih nekaj dni pretresli in prezračili tako, da smo za nekaj minut odvili in dvignili pokrov. Če se nam je zdelo potrebno, smo zmes ponovno navlažili. Po 10 dneh smo kozarce do vrha napolnili z vodo, pokrili s petrijevko in obrnili. V petrijevko smo nato nalili vodo do roba in pustili stati čez noč. V tem času so ličinke L3 priplavale v tekočino v petrijevki. To tekočino smo s pasterjevo pipeto prenesli v 15-milimetrsko epruveto, pustili sedimentirati najmanj 10 minut in odsesali supernatant, da je ostalo 2 ml sedimenta z ličinkami, ki smo jih nato hranili v hladilniku do determinacije.

Determinacijo smo opravili na podlagi morfoloških značilnosti ličink tretje razvojne stopnje L3 (Knoll in sod., 2021; van Wyk in sod., 2004). Nekaj kapljic smo, iz sedimenta, ki smo ga premešali, odvzeli iz epruvete in prenesli na predmetno steklo. K temu smo dodali kapljico ali dve jodove raztopine, da smo lahko opazovali in determinirali ličinke L3. Determinirali smo 100 ličink iz vsakega skupnega vzorca.

Ob vsakem jemanju vzorcev, smo naredili tri koprokulture, za vsako skupino ovc. Pripravili in preiskali smo devet koprokultur.

3. 2. 6 Statistična analiza

Statistično analizo smo naredili s pomočjo programa IBM SPSS Statistics, ver. 28.0.1.1. Z opisno statistiko smo analizirali rezultate ocen telesne kondicije, barve očesnih veznic, zamazanosti okolice repa, konsistence iztrebkov in števila jajčec Strongylida na gram iztrebkov v vzorcih. Zaradi majhnega števila živali v posamezni skupini smo za primerjavo med vzorčenji uporabili Friedmanov neparametrični test za dva ali več odvisnih vzorcev.

Za primerjavo in ugotavljanje morebitnega zmanjšanja števila jajčec Strongylida v vzorcih smo izračunali aritmetično sredino števila jajčec v vzorcih posamezne skupine pred (FEC1) in po tretmaju (FEC2) in uporabili enačbo 1 (Kaplan, 2020).

$$\text{Zmanjšanje števila jajčec (\%)} = \left[\frac{FEC1 - FEC2}{FEC1} \right] \times 100$$

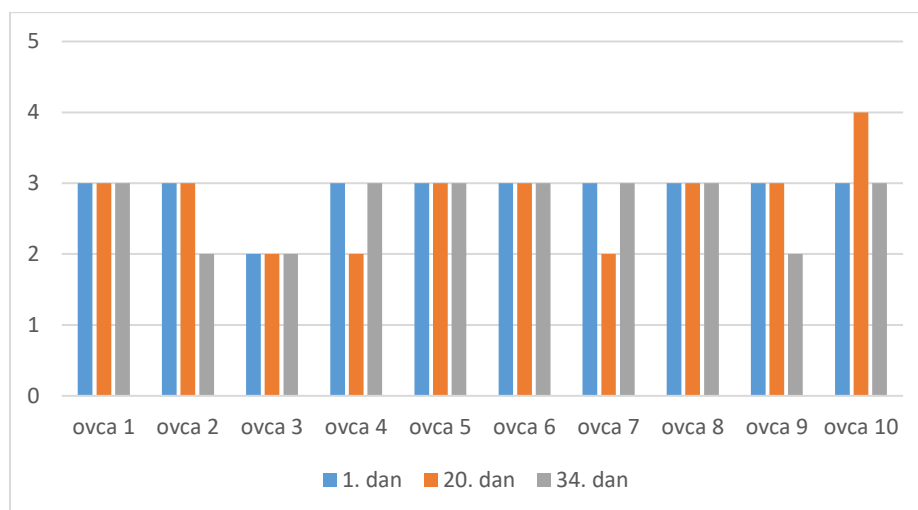
Enačba 1 Enačba za izračun zmanjšanja števila jajčec (povzeto po: Kaplan, 2020)

4 REZULTATI

V sklopu raziskovalnega dela smo pregledali 32 ovc, dve od teh zaradi težav pri zbiranju vzorcev v raziskavo nista bili vključeni. Rezultati so prikazani za vsako skupino ovc posebej.

4.1 OCENA TELESNE KONDICIJE

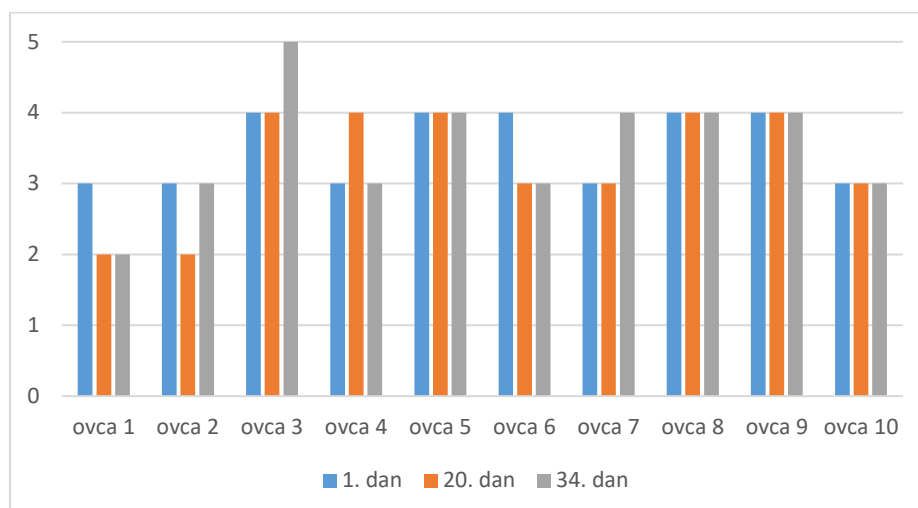
Na začetku raziskave smo preverili telesno kondicijo, ker je povezana ne samo z zajedavci, ampak tudi s splošnim zdravstvenim stanjem živali, v nadaljevanju pa smo ugotavljali morebiten vpliv dodatkov na spremembo telesne kondicije. Uporabljali smo lestvico, pri kateri je idealna ocena telesne kondicije 3,0.



Slika 8 Ocena telesne kondicije pri kontrolni skupini

Figure 8 Body condition score of the control group

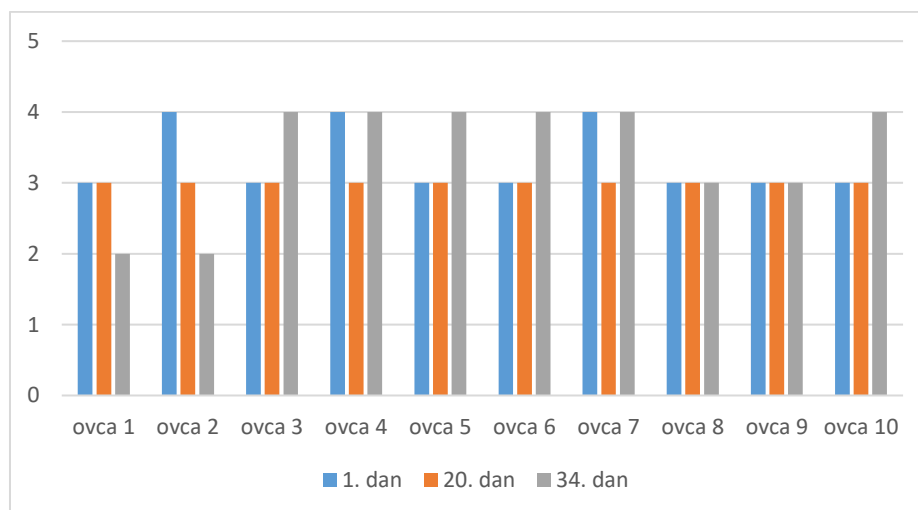
Povprečna ocena telesne kondicije pri kontrolni skupini ovc je bila pri prvem merjenju 2,9 (min. 2, maks. 3), pri drugem merjenju je znašala 2,8 (min. 2, maks. 4), pri tretjem pa 2,7 (min. 2, maks. 3). Ocene telesne kondicije se med merjenji niso statistično značilno razlikovale ($p = 0,549$).



Slika 9 Ocena telesne kondicije pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej

Figure 9 Body condition score in the spruce twigs supplemented group

Povprečna ocena telesne kondicije je bila pri skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, pri prvem merjenju 3,5 (min. 3, maks. 4). Pri drugem merjenju je znašala 3,3 (min. 2, maks. 4), pri tretjem merjenju pa je bila 3,5 (min. 2, maks. 5), razlika ni bila statistično značilna ($p = 0,449$).



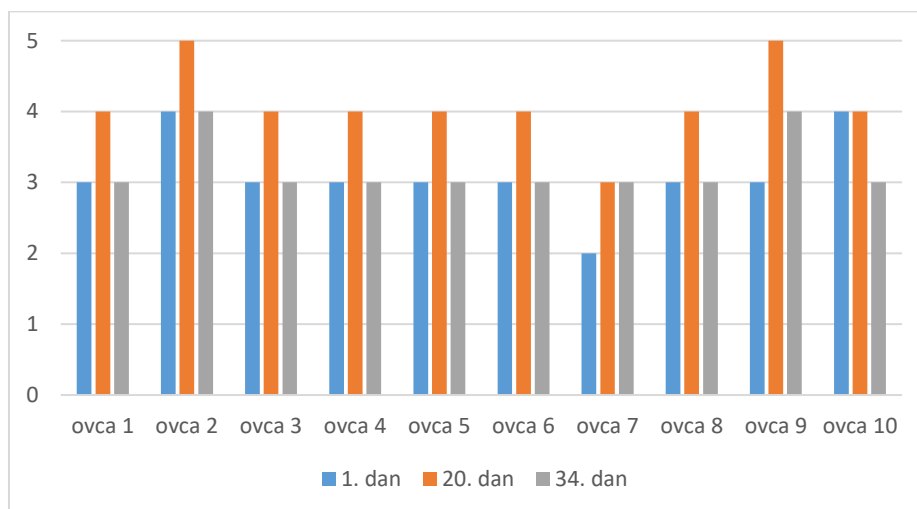
Slika 10 Ocena telesne kondicije pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic

Figure 10 Body condition score in the pumpkin seed cake and cloves supplemented group

Povprečna vrednost ocene telesne kondicije je bila pri skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, pri prvem vzorčenju 3,3 (min. 3, maks. 4), pri drugem vzorčenju 3,0 (min. 3, maks. 3), pri tretjem pa 3,4 (min. 2, maks. 4). Razlika med ocenami kondicije ni bila statistično značilna ($p = 0,179$).

4.2 OCENA BARVE OČESNIH VEZNIC

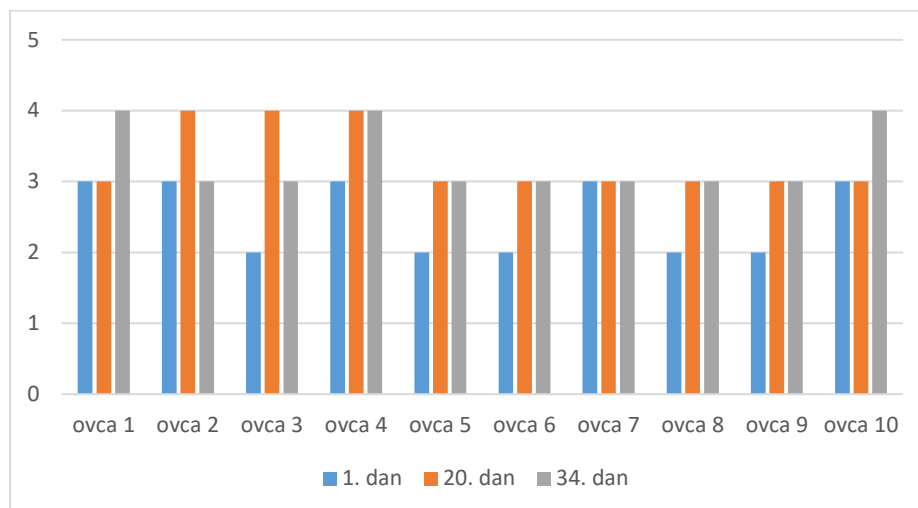
Pri ovcah smo s pomočjo barvne lestvice FAMACHA® ocenjevali barvo očesnih veznic z namenom odkrivanja slabokrvnosti. Zanimale so nas morebitne razlike med posameznimi vzorčenji.



Slika 11 Ocena barve očesnih veznic pri kontrolni skupini

Figure 11 Conjunctiva colour assessment in the control group

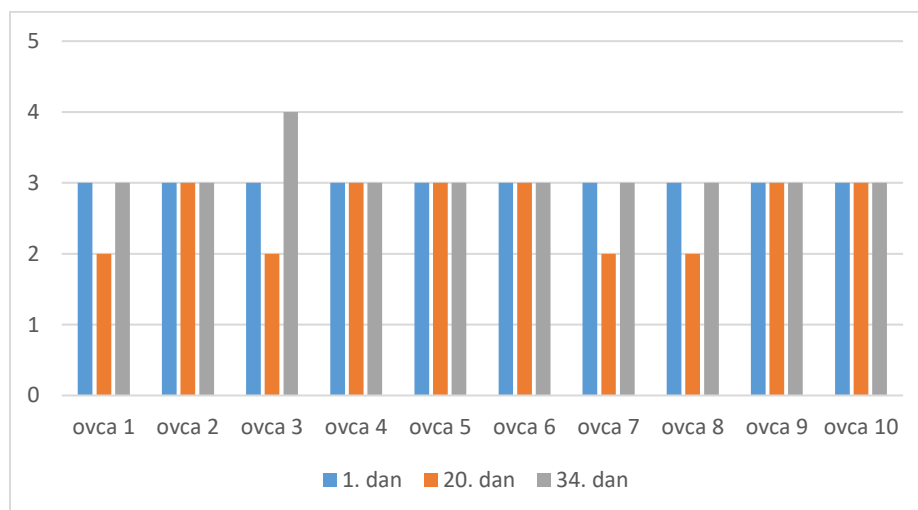
Povprečna vrednost ocene barve očesnih veznic pri kontrolni skupini je bila pri prvem vzorčenju 3,1 (min. 2, maks. 4). Pri drugem vzorčenju je bila 4,1 (min. 3, maks. 5) in pri tretjem 3,2 (min. 3, maks. 4). Razlika med ocenami ni bila statistično značilna ($p = 0,717$).



Slika 12 Ocena barve očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej

Figure 12 Conjunctiva colour assessment in the spruce twigs supplemented group

Povprečna vrednost ocene barve očesnih veznic je bila pri skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, pri prvem vzorčenju 2,5 (min. 2, maks. 3), pri drugem in tretjem pa 3,3 (min. 3, maks. 4), razlika je bila statistično značilna ($p = 0,002$).



Slika 13 Ocena barve očesnih veznic pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic

Figure 13 Conjunctiva colour assessment in the pumpkin seed cake and cloves supplemented group

Povprečna vrednost ocene barve očesnih veznic je bila pri skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, pri prvem merjenju 3,0 (min. 3,0, maks. 3,0), pri drugem merjenju 2,6 (min. 2, maks. 3) in pri tretjem 3,1 (min. 3, maks. 4). Razlika med ocenami barve očesnih veznic je bila statistično značilna ($p = 0,023$).

4.3 OCENA ZAMAZANOSTI OKOLICE REPA

Pogost klinični znak pri živalih, invadiranih z želodčno-črevesnimi zajedavci, so dalj časa trajajoče, ponavljajoče se driske. Take živali imajo običajno zamazano okolico repa, ob rektalnem odvzemu vzorcev pa ugotovimo mehkejšo ali celo tekočo konsistenco. Normalno je iztrebek pri drobnici čvrst in formiran v bobke.

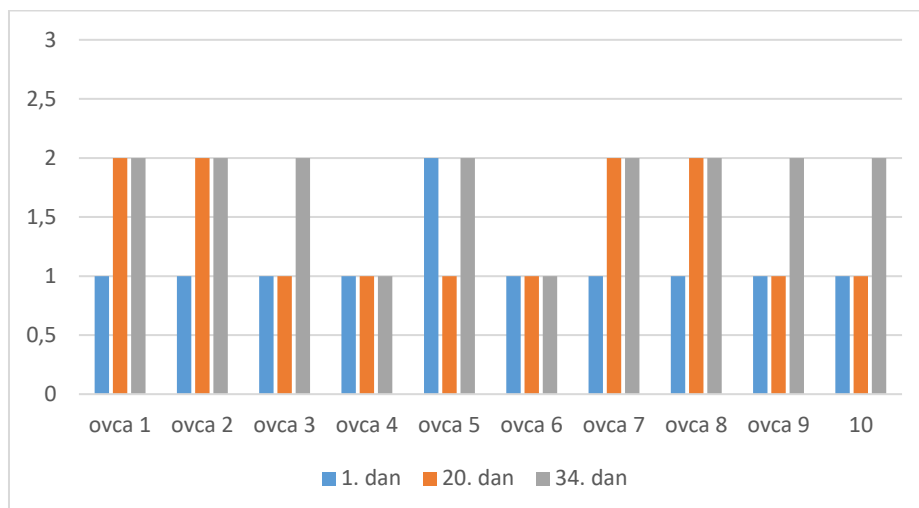
Pri kontrolni skupini nobena ovca ni kazala znakov driske, okolica repa je bila pri vseh ovcah čista (ocena 0).

Pri skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, je bila povprečna vrednost ocene zamazanosti okolice repa pri prvem vzorčenju 0,4 (min. 0, maks. 1,0), pri drugem 0 in pri tretjem 0,1 (min. 0, maks. 1,0). Razlika med ocenami ni bila statistično značilna ($p = 0,097$).

Pri skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, je bila povprečna vrednost ocene zamazanosti okolice repa pri prvem vzorčenju 0,1 (min. 0, maks. 1,0), pri drugem 0 ter pri tretjem 0,1 (min. 0, maks. 1,0). Razlika med ocenami vzorčenj ni bila statistično značilna ($p = 0,607$).

4.4 OCENA KONSISTENCE IZTREBKA

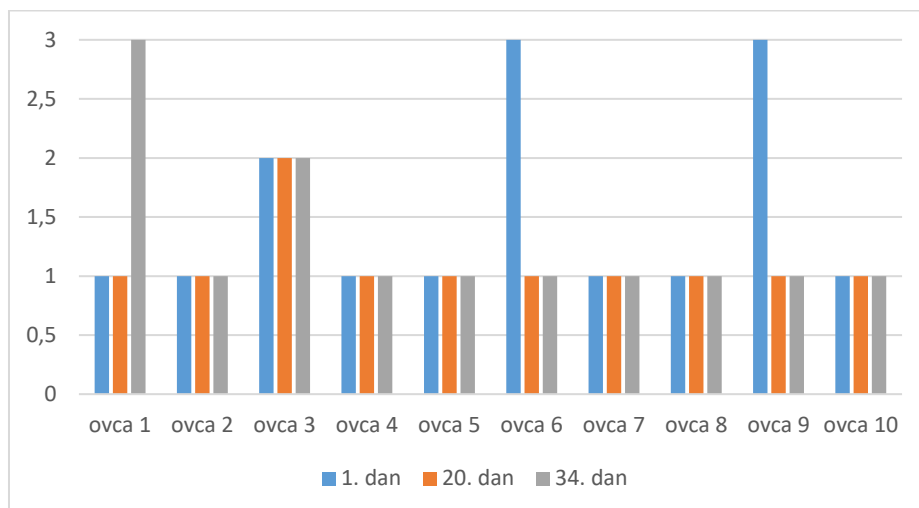
Prisotnost driske smo ugotavljali tudi z ocenjevanjem konsistence iztrebka med jemanjem vzorcev za parazitološke preiskave, pri čemer smo uporabili tristopenjsko lestvico.



Slika 14 Ocena konsistence iztrebka pri kontrolni skupini

Figure 14 Faecal consistency score results in the control group

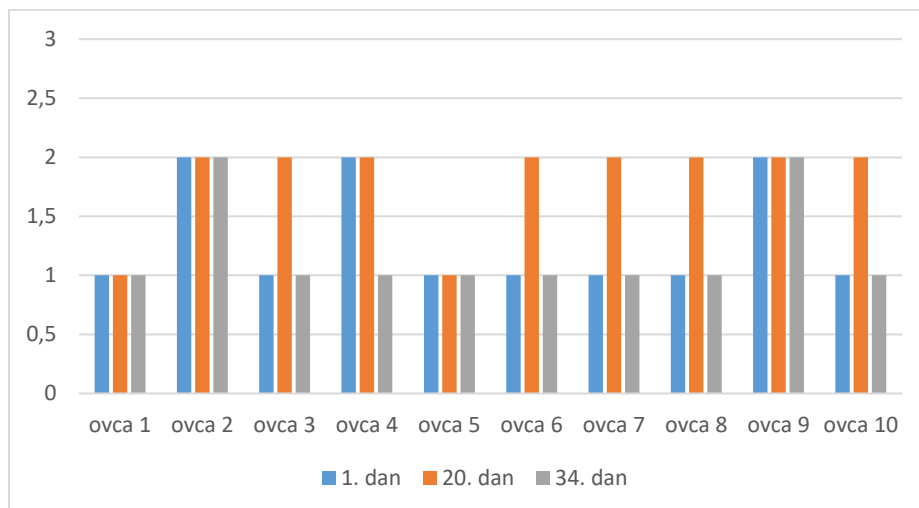
Povprečna ocena konsistence iztrebkov je pri prvem vzorčenju pri kontrolni skupini znašala 1,1 (min. 1, maks. 2), pri drugem vzorčenju 1,4 (min. 1, maks. 2) in pri tretjem 1,8 (min. 1, maks. 2). Razlika med ocenami konsistence iztrebka med vzorčenji pri kontrolni skupini je bila statistično značilna ($p < 0,001$) in se je pri drugem ter tretjem vzorčenju pri več ovcah nekoliko poslabšala.



Slika 15 Ocene konsistence iztrebka pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej

Figure 15 Faecal consistency score results in the spruce twigs supplemented group

Povprečna vrednost konsistence iztrebka pri skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, je bila pri prvem merjenju 1,5 (min. 1, maks. 3), pri drugem 1,1 (min. 1, maks. 2) ter pri tretjem 1,3 (min. 1, maks. 2). Razlika med vrednostmi ni bila statistično značilna ($p = 0,607$).



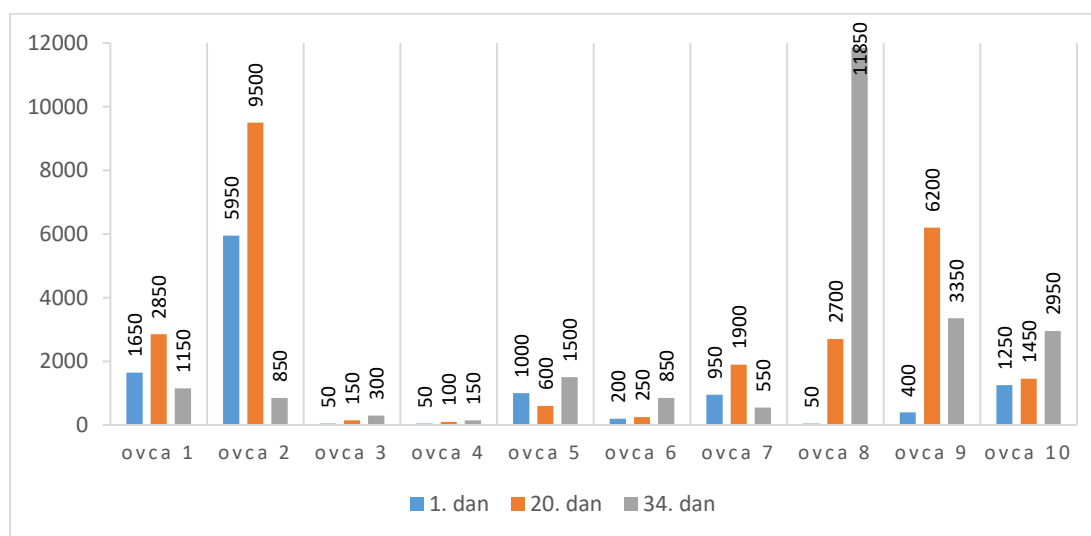
Slika 16 Ocena konsistence iztrebka pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic

Figure 16 Faecal consistency score results in the pumpkin seed cake and cloves supplemented group

Povprečna vrednost konsistence iztrebka je bila pri prvem vzorčenju 1,3 (min. 1, maks. 2), pri drugem 1,8 (min. 1, maks. 2) in pri tretjem 1,2 (min. 1, maks. 2). Razlika med vrednostmi je bila statistično značilna ($p = 0,006$).

4.5 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE

Za parazitološko preiskavo smo vsem tridesetim ovcam trikrat odvzeli vzorce iztrebka. Prvi odvzem je bil pred krmljenjem z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic ter smrekovih vej. Drugi odvzem je sledil štirinajstdnevnu krmljenju z dodatki, medtem ko je tretji odvzem potekal štirinajst dni po koncu tretmaja. S parazitološko preiskavo smo ugotavljali spremembe v številu izločenih jajčec želodčno-črevesnih nematodov na gram iztrebka.

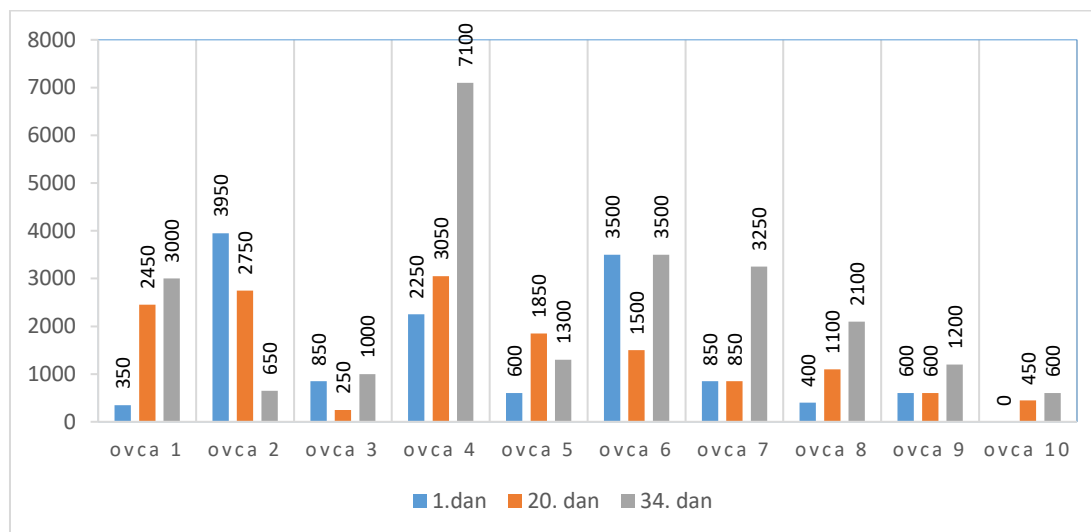


Slika 17 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v kontrolni skupini

Figure 17 The number of eggs per gram of feces of Strongylida in the individual ewe in the control group

Povprečna vrednost števila jajčec reda Strongylida v gramu iztrebka pri kontrolni skupini je bila pri prvem vzorčenju 1.155. Pri drugem vzorčenju je bila povprečna vrednost števila jajčec Strongylida 2.570, kar predstavlja 122,5-odstoten porast jajčec. Ob tretjem merjenju je bila povprečna vrednost 2.350, to je 103,46 odstotka več jajčec v gramu iztrebka kot ob prvem merjenju. Pri petih ovcah se je med posameznimi vzorčenji število jajčec v iztrebku povečalo. Pri štirih se je število sprva povečalo (drugo vzorčenje) in nato zmanjšalo (tretje vzorčenje). Pri eni živali se je število izločenih jajčec najprej zmanjšalo (drugo vzorčenje) in nato naraslo (tretje vzorčenje).

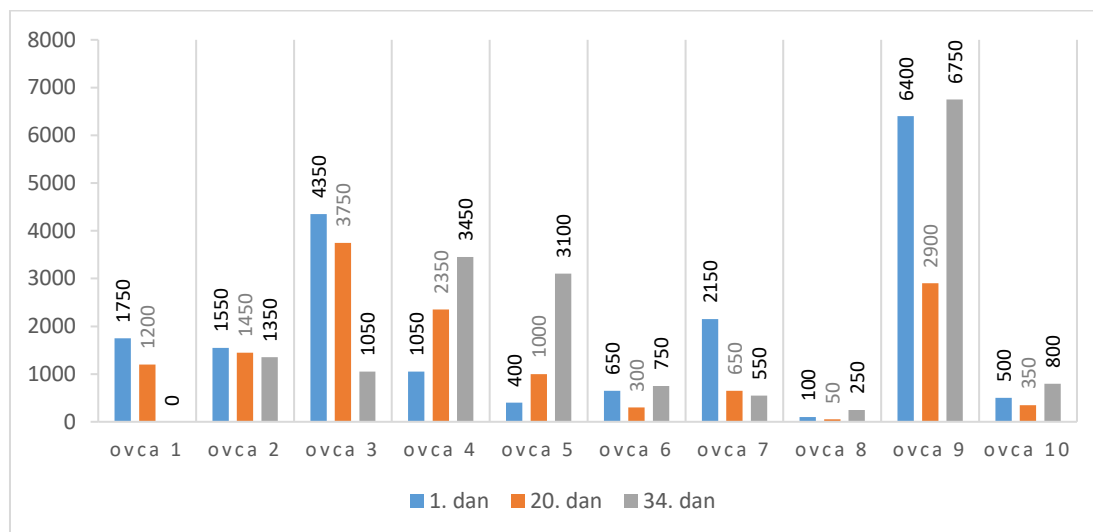
Pri nekaterih ovcah smo našli posamezna jajčeca *Nematodirus* spp. in oociste *Eimeria* spp.



Slika 18 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej

Figure 18 The number of eggs per gram of feces of Strongylida in the individual ewe in the spruce twigs supplemented group

Povprečna vrednost števila jajčec Strongylida v gramu iztrebka pri skupini, krmljeni s smrekovimi vejami, je bila pri prvem vzorčenju 1.340. Pri drugem vzorčenju je bilo povprečno število jajčec Strongylida 1.485, torej 10,82 odstotka več kot pred krmljenjem s smrekovimi vejami. Pri tretjem vzorčenju je bila povprečna vrednost 2.370, torej je šlo za 76,87-odstotno povečanje števila jajčec na gram iztrebka pri celotni skupini glede na prvo vzorčenje. Pri štirih živalih je število izločenih jajčec naraščalo med raziskavo. Pri treh živalih je bilo število izločenih jajčec pri drugem vzorčenju manjše, nato je pri tretjem naraslo. Pri dveh je bilo število sprva enako, nato je naraslo. Pri eni živali se je število najprej povečalo, nato pa zmanjšalo. Pri nekaterih ovcah smo ugotovili prisotnost jajčec *Nematodirus* spp., *Moniezia expansa*, *Moniezia benedeni*, *Trichuris* sp. in oocist *Eimeria* sp.



Slika 19 Število jajčec Strongylida na gram iztrebka pri posamezni ovci v skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic

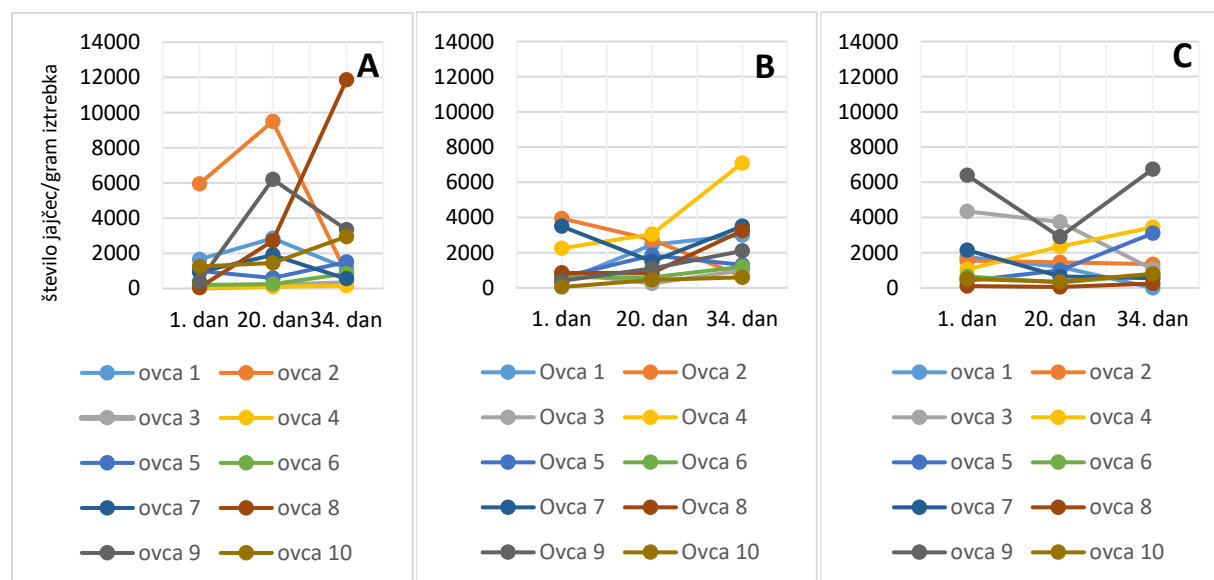
Figure 19 The number of eggs per gram of feces of Strongylida in the individual ewe in the pumpkin seed cakes and cloves supplemented group

Povprečna vrednost števila jajčec Strongylida v gramu iztrebka je bila pri skupini, krmljeni z bučnimi pogačami in nageljnovimi žbicami, ob začetku raziskave 1.890. Pri drugem vzorčenju je bila 1.400, to pomeni 25,93-odstotno zmanjšanje. Pri tretjem vzorčenju je bila povprečna vrednost 1.805, kar predstavlja 4,50-odstotno zmanjšanje od prvega vzorčenja. Pri štirih živalih se je število izločenih jajčec zmanjšalo pri drugem in tretjem vzorčenju. Pri štirih se je število sprva zmanjšalo, nato se je povečalo. Pri dveh se je število povečalo pri obeh naslednjih vzorčenjih. Pri nekaterih ovcah smo našli posamezna jajčeca *Nematodirus* spp., *Trichuris* sp., *Moniezia expansa* in oociste *Eimeria* spp.

Tabela 5 Število jajčec Strongylida v iztrebkih – jajčeca na gram iztrebka [EPG] in zmanjšanje izločanja jajčec v odstotkih (FECR)

Table 5 Strongylid faecal egg count – egg per gram [EPG] and percentage fecal egg count reduction (FECR)

Skupina	1. dan povprečna vrednost in razpon	20. dan povprečna vrednost in razpon	34. dan povprečna vrednost in razpon	FECR ₁ in FECR ₂ (%)	p-vrednost
Kontrola	1.155 (50–5.950)	2.570 (100,0–9.500)	2.350 (150–11.850)	–124,40 in –105,20	0,067
Smrekove veje	1.340 (50–3.950)	1.485 (250,0–3.050)	2.370 (600–7.100)	–10,82 in –76,87	0,027
Bučne pogače in nageljnovе žbice	1.890 (100–6.400)	1.400 (50,0–3.750)	1.805 (0–6.750)	25,93 in 4,50	0,301

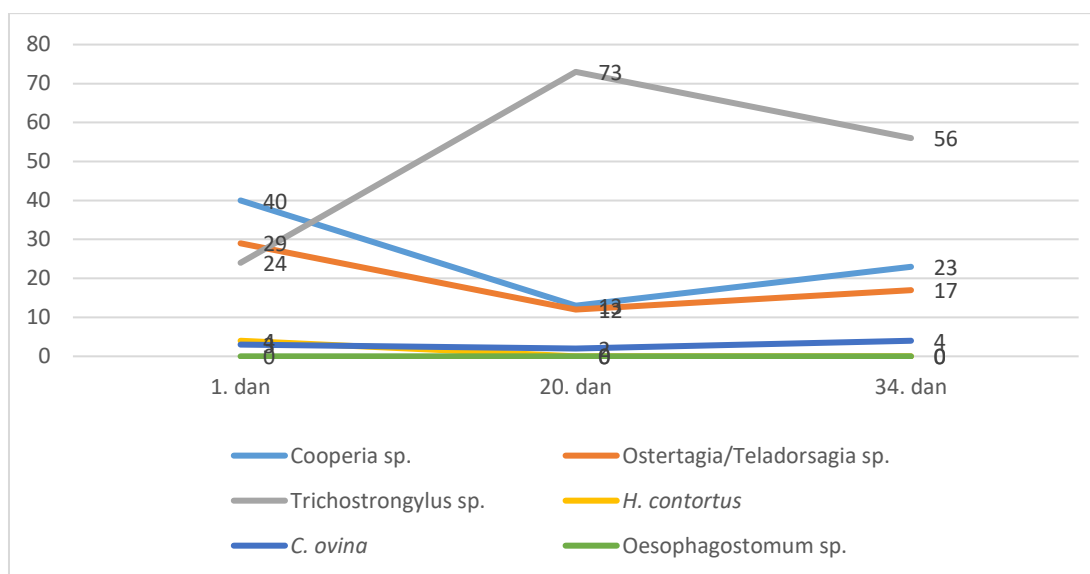
FECR₁ – primerjava 1. in 20. dan; FECR₂ – primerjava 1. in 34. dan

Slika 20 Prikaz rezultatov števila jajčec na gram iztrebka vseh treh vzorčenj pri kontrolni skupini (A), skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej (B), in pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic (C). Vsaka črta prikazuje posamezno ovco.

Figure 20 The results of Strongylid faecal egg counts in the control (A), spruce twigs supplemented (B) and pumpkin seed cake and cloves supplemented (C) groups. Each line represents individual ewe.

4.6 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE – KOPROKULTURA

Z metodo koprokulture smo pri ovcah v raziskavi izolirali ličinke L3 *Cooperia* sp., *Ostertagia*/*Teladorsagia* sp., *Trichostrongylus* sp., *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum* sp.



Slika 21 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri kontrolni skupini

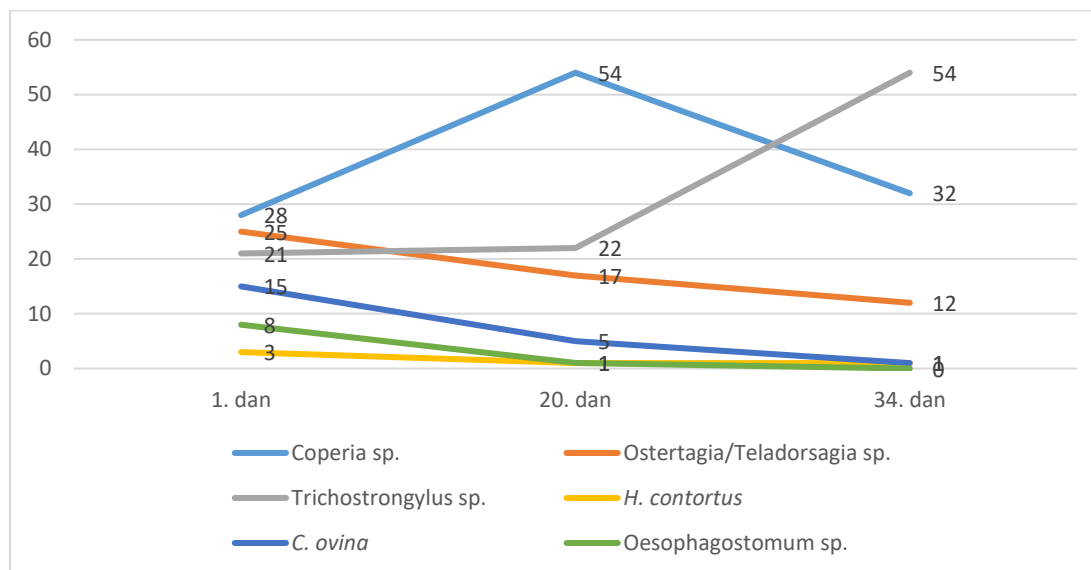
Figure 21 Larvae determination results in the control group

V kontrolni skupini smo pri prvem vzorčenju z metodo koprokulture determinirali 40 ličink L3 *Cooperia* sp. Pri drugem vzorčenju (13) je prišlo do 67,5-odstotnega zmanjšanja, pri tretjem (23) pa do 42,5-odstotnega zmanjšanja števila ličink v primerjavi s prvim vzorčenjem.

Determinirali smo tudi ličinke L3 *Ostertagia*/*Teladorsagia* sp. (29); pri drugem vzorčenju (12) je prišlo do 58,62-odstotnega zmanjšanja, pri tretjem (17) pa do 41,38-odstotnega zmanjšanja glede na prvo vzorčenje.

Prav tako je bilo pri prvem odvzemu ugotovljenih 24 ličink L3 *Trichostrongylus* sp., pri drugem (73) se je število povečalo za 204,17 odstotka. Pri tretjem odvzemu (56) je prišlo do 133,33-odstotnega povečanja glede na prvo vzorčenje.

Pri kontrolni skupini smo ugotovili tudi posamezne ličinke *Haemonchus contortus* in *Chabertia ovina*.



Slika 22 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej

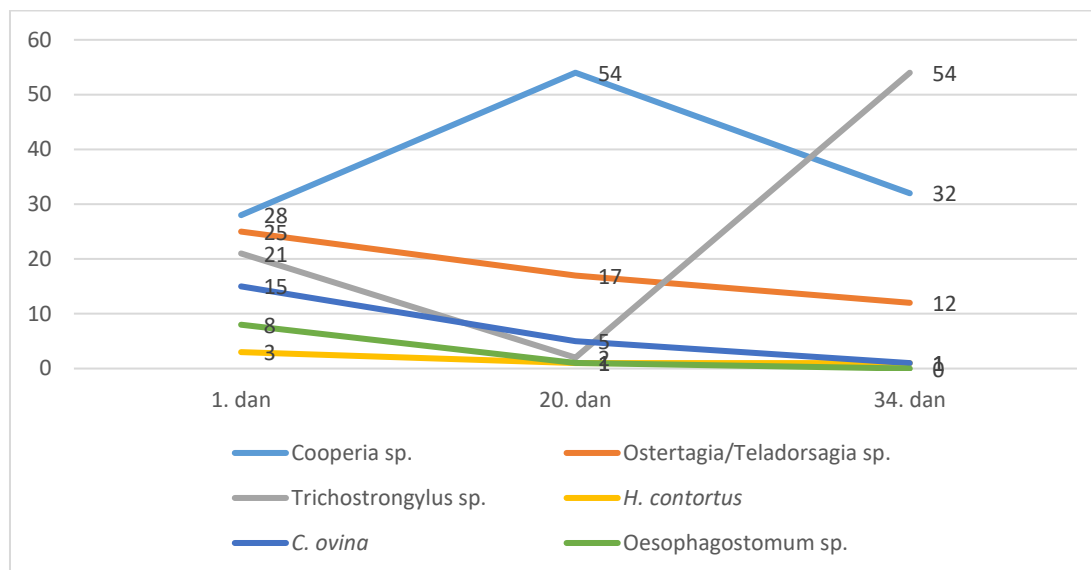
Figure 22 Larvae determination results in the spruce twigs supplemented group

Pri skupini, ki je prejela dodatek smrekovih vej, smo iz koprokulture iztrebkov pri prvem vzorčenju determinirali 28 ličink L3 *Coperia* sp. Pri drugem (54) je prišlo do 92,57-odstotnega povečanja, pri tretjem (32) pa do 14,29-odstotnega povečanja glede na prvo vzorčenje.

Pri prvem vzorčenju smo ugotovili 25 ličink L3 *Ostertagia/Teladorsagia* sp., pri drugem (17) je prišlo do 32-odstotnega zmanjšanja, pri tretjem vzorčenju (12) pa do 52-odstotnega zmanjšanja števila ličink.

Pri prvem vzorčenju smo determinirali 21 ličink L3 *Trichostrongylus* sp., pri drugem (22) se je število povečalo za 4,76 odstotka, pri tretjem (54) pa za 157,14 odstotka glede na prvo vzorčenje.

Ugotovili smo tudi prisotnost posameznih ličink L3 *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, in *Oesophagostomum* sp.



Slika 23 Rezultati determinacije ličink iz koprokulture pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic

Figure 23 Larvae determination results in the pumpkin seed cake and cloves supplemented group

Pri prvem vzorčenju smo pri skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic, iz koprokulture iztrebkov determinirali 46 ličink L3 *Cooperia* sp. Pri drugem (25) je prišlo do 45,65-odstotnega zmanjšanja, pri tretjem (47) pa do 2,17-odstotnega povečanja števila ličink glede na prvo vzorčenje.

Determinirali smo tudi 21 ličink L3 *Ostertagia/Teladorsagia* sp., pri drugem (20) se je število zmanjšalo za 4,76 odstotka, pri tretjem (12) vzorčenju pa za 42,86 odstotka.

Pri prvem vzorčenju smo dokazali 20 ličink L3 *Trichostrongylus* sp., pri drugem (46) vzorčenju je prišlo do 130-odstotnega povečanja, pri tretjem (35) pa do 75-odstotnega povečanja števila glede na prvo vzorčenje.

Ugotovili smo prisotnost posameznih ličink L3 *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina* in *Oesophagostomum* sp.

5 RAZPRAVA

V študiji smo raziskovali učinek dodatkov bučnih pogač in nageljnovih žbic ter smrekovih vej na izločanje jajčec želodčno-črevesnih nematodov pri ovcah. Ježek in sod. (2021) poročajo o ugodnem vplivu dodajanja bučnih pogač in mletih nageljnovih žbic na zmanjšanje števila jajčec na gram iztrebka pri ovcah. V naši raziskavi smo želeli ugotoviti morebitno sinergistično delovanje kombinacije bučnih pogač in nageljnovih žbic na izločanje jajčec zajedavcev. Prav tako smo želeli preveriti, ali dodajanje smrekovih vej h krmi res vpliva na izločanje jajčec zajedavcev z iztrebki, o čemer slišimo v ustnem izročilu med ljudmi, ni pa podatkov v znanstveni literaturi.

5.1 OCENA TELESNE KONDICIJE IN BARVE OČESNIH VEZNIC

V sklopu raziskovalnega dela smo želeli preveriti morebiten ugoden vpliv dodatkov na zmanjšanje izločanja jajčec z iztrebki in tudi na ocene telesne kondicije, barve očesnih veznic in prisotnost driske.

Pri živalih v kontrolni skupini je bila povprečna vrednost ocene telesne kondicije pred tretmajem 2,9. Po dveh tednih se je spustila na 2,8 in nato na 2,7. Pri skupini, ki je dobivala dodatek smrekovih vej, se je povprečna vrednost ocene telesne kondicije po dveh tednih krmljenja spremenila s 3,5 na 3,3 in potem nazaj na 3,5. Povprečna vrednost ocene telesne kondicije pri skupini, krmljeni z bučnimi pogačami in nageljnovimi žbicami, se je s 3,3 spustila na 3,0 in nato zrasla na 3,4. Telesna kondicija se je med raziskovalnim delom spreminjala, a se je po štirih tednih vrnila nazaj na prvotno raven. Razlike med vrednostmi med posameznimi odvzemi niso bile statistično značilne. Pri kontrolni skupini se je povprečna vrednost spustila na nižjo raven, kot je bila ugotovljena na začetku raziskovalnega dela. To je lahko vsaj deloma povezano s parazitaro invazijo in dejstvom, da ovce niso dobivale dodatkov, ki bi vplivali na zajedavce ali zmanjševali njihove vplive na organizem. Invazije z želodčno-črevesnimi paraziti povzročijo hujšanje, kar se odraža na slabši oceni telesne kondicije (Bowman, 2014).

Dodajanje krme z visoko vsebnostjo beljakovin, mineralov in vitaminov ugodno vpliva na metabolizem živali. Jyske in sod. (2021) poročajo o visoki vsebnosti vitamina C, beljakovin, kalija, kalcija in prehranskih vlaknin v smrekovih iglicah. Grzybek in sod. (2016) poročajo o antihelmintičnem učinku kukurbitacina v bučnih semenih in o visoki vsebnosti beljakovin. Coop in Kyriazakis (2001) v študiji poročata o pomembnosti sestave krmnega beljakovinskega

obroka. Ta močno vpliva na izražanje imunosti in reprodukcijsko sposobnost ovc. Kenyon in sod. (2014) so ugotovili močan vpliv telesne kondicije na reprodukcijsko sposobnost ovc. Pri živalih, ki so imele slabšo kondicijo, poročajo o kasnejšem začetku sezone parjenja. Za izboljšanje ocene telesne kondicije pri ovci bi morala žival pridobiti 3,3–16,0 kg telesne mase, seveda odvisno od pasme in kategorije živali (laktacija, presušitev, odstavitev idr.). Zmlete nageljnovke imajo malo energijske vrednosti in zato niso pripomogle k izboljšanju ocene telesne kondicije. Dodajanje bučnih pogač v krmo bi po pričakovanju lahko vplivalo na izboljšanje ocene telesne kondicije zaradi potencialnega antiparazitnega učinka in visoke vsebnosti beljakovin, vendar bi bilo treba za doseg učinka bučne pogače v krmo dodajati daljše obdobje, kot je bilo določeno v naši raziskavi.

Pri kontrolni skupini je bila povprečna vrednost ocene očesnih veznic na začetku 3,1, pri drugem ocenjevanju se je poslabšala (4,1), pri tretjem merjenju se je spet izboljšala na 3,2. Pri živalih, krmljenih z dodatkom smrekovih vej, je bila povprečna vrednost ocene pred začetkom tretiranja 2,5. Pri drugem in tretjem vzorčenju je bila statistično značilno slabša (3,3). Povprečna vrednost ocene očesnih veznic pri živalih, krmljenih z dodatkom bučnih pogač in nageljnove žbice, je bila pri prvem vzorčenju 3,0, pri drugem nekoliko boljša (2,6) in pri tretjem slabša (3,1) glede na prvo merjenje, tu so bile razlike statistično značilne. Pri skupini, krmljeni z bučnimi pogačami in nageljnove žbicami, se je rezultat sprva izboljšal, temu pa je sledilo poslabšanje, končna vrednost je bila slabša od prve. Ugotovljena opažanja pripisujemo delovanju želodčno-črevesnih zajedavcev, ki so jih živali še vedno imele in med katerimi so bili tudi nekateri krvosesi zajedavci, ki smo jih determinirali iz koprokulture (*H. contortus*). Pri takšnih invazijah je še vedno potreben proces ponovnega nastajanja rdečih krvničk. Na oceno barve očesnih veznic vplivajo tudi drugi dejavniki, povezani z individualnimi razlikami med živalimi. Med njimi so (1) vazokonstrikcija zaradi stresnega odziva, (2) lokalni vnetni odgovor, (3) vazokonstrikcija kot posledica fiziološkega stanja živali, (4) dedna rezistenca proti želodčno-črevesnim nematodom, pri katerih so klinični znaki anemije manj opazni (Di Loria in sod., 2009). Pomisliti moramo tudi na napake pri ocenjevanju očesnih veznic (ocenjevanje v senčnem, temnem prostoru). Di Loria in sod. (2009) so v raziskavi ugotovili nizko občutljivost sistema FAMACHA© (9–66-odstotno glede na hematokrit in 8–66-odstotno glede na vsebnost hemoglobina). Poročajo, da se največ napak pri ocenjevanju zgodi pri določanju ocene 3. Specifičnost sistema FAMACHA© je bila 60–98-odstotna, vendar je za učinkovito zdravljenje z antiparazitiki visoka občutljivost testa pomembnejša (Di Loria in sod., 2009). Ugotovili so,

da je bilo 40 odstotkov vzorcev, pri katerih so z laboratorijskimi testi diagnosticirali anemijo, po sistemu FAMACHA© ocenjenih z oceno 1 ali 2.

5.2 OCENA ZAMAZANOSTI OKOLICE REPA IN KONSISTENCE IZTREBKA

Pri kontrolni skupini smo ugotovili odsotnost zamazanosti okolice repov pri vseh treh vzorčenjih. Živali niso imele driske. Povprečna vrednost konsistence iztrebkov je bila pri prvem vzorčenju 1,1 in se je med raziskovalnim delom statistično značilno poslabšala (20. dan je znašala 1,4, 34. dan pa 1,8).

Povprečna vrednost ocene zamazanosti okolice repov je bila pri skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, pri prvem vzorčenju 0,4 in se je med raziskavo nekoliko izboljšala (0 in 0,1). Povprečna vrednost ocene konsistence iztrebkov se med raziskavo ni veliko spreminjala (1,3 in 1,1), pri tretjem vzorčenju je bila pri eni izmed živali v skupini prisotna driska, pri ostalih je bila konsistenca normalna. Smrekovi vršički vsebujejo tanine, prehranske vlaknine in vitamin C, ki blagodejno delujejo na prebavila (Jyske in sod., 2021). Blomstrand in sod. (2022) so v raziskavi ugotavljali vpliv krmljenja jagnjet z dodatkom ekstrakta smrekovega lubja, ki je bogato s tanini, na izločanje oocist eimerij. Pri tretiranih živalih so v primerjavi s kontrolno skupino ugotovili manjšo pojavnost driske po prenehanju krmljenja z dodatkom. Poročajo pa tudi o neželenih stranskih učinkih, kot so neješčnost, indigestije in slabša ocena telesne kondicije. V naši raziskavi so ovce smrekove veje lahko jedle po volji in so jih v prvih dneh obirale pogosteje kot kasneje.

Pri živalih, krmljenih z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, je bila povprečna vrednost zamazanosti okolice repa pri prvem merjenju 0,1, med raziskavo je ostala nizka (0 in 0,1). Povprečna vrednost konsistence iztrebka je bila pri prvem vzorčenju 1,3, pri drugem smo pri osmih živalih ugotovili mehkejše iztrebke (ocena 2,0), pri tretjem pa je bila povprečna vrednost konsistence boljša od začetne (1,2). Zanimivo je, da se je povprečna vrednost konsistence iztrebkov (1,8) pri drugem vzorčenju poslabšala, medtem ko se je vrednost pri tretjem vzorčenju glede na ugotovljeno pred krmljenjem z dodatki izboljšala. Rezultati raziskave niso povsem v skladu z našimi pričakovanji, saj se je pri skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, izločanje jajčec zajedavcev najbolj zmanjšalo. Pričakovali smo izboljšanje konsistence iztrebkov. Pelegrin-Valls in sod. (2020) so v svoji raziskavi ugotovili, da

zmanjšanje deleža beljakovin v krmi ne vpliva na konsistenco iztrebka. Vendar beljakovinski dodatek h krmi preprečuje oksidativni stres in imunsko neravnovesje črevesne sluznice ter blagodejno vpliva na prebavila (Pelegrin-Valls in sod., 2020). Pri parametrih zamazanosti okolice repa in konsistence iztrebkov pa je pri interpretaciji treba upoštevati tudi druge dejavnike. Poleg zajedavcev imata močan vpliv na konsistenco iztrebkov tudi prehrana in stres.

5.3 REZULTATI PARAZITOLOŠKE PREISKAVE

Pri obdelavi podatkov, pridobljenih s parazitološko preiskavo, smo ugotovili, da se je v kontrolni skupini število jajčec *Strongylida* na gram iztrebka povečalo pri petih ovcah. Pri štirih ovcah se je število jajčec sprva povečalo (20. dan), nato pa se je zmanjšalo (34. dan), medtem ko je pri eni ovci prišlo sprva do zmanjšanja (20. dan), nato pa se je število izločenih jajčec povečalo (34. dan). Tako je po drugem vzorčenju povprečna vrednost števila jajčec na gram iztrebka zrasla za 122,5 odstotka, pri tretjem vzorčenju pa se je glede na prvo vzorčenje povečala za 103,46 odstotka. Zaradi odsotnosti dejavnikov, ki bi vplivali na zmanjšanje števila izločenih jajčec, je rezultat pričakovan. Število jajčec je pri posameznih živalih variiralo, kar je najverjetneje posledica vpliva tudi drugih, individualnih dejavnikov.

Število izločenih jajčec pri živalih, krmljenih z dodatkom smrekovih vej, se je povečalo pri štirih ovcah. Pri dveh je število sprva ostalo nespremenjeno (drugo vzorčenje), pri tretjem vzorčenju pa se je povečalo. Pri dveh živalih se je po dvotedenskem dodajanju smrekovih vej število zmanjšalo (drugo vzorčenje), štirinajst dni po prenehanju dodajanja pa je blago naraslo (tretje vzorčenje). Samo pri eni ovci se je število jajčec zmanjšalo pri obeh naslednjih vzorčenjih. Po štirinajstih dnevih dodajanja smrekovih vej v krmo je prišlo do 10,8-odstotnega povečanja števila jajčec v primerjavi s prvim vzorčenjem, kar je precej manj kot pri kontrolni skupini. Pri tretjem vzorčenju se je število jajčec v iztrebkih povečalo za 76,9 odstotka v primerjavi s prvim vzorčenjem. Rezultat bi si lahko razlagali s tem, da je potencialni učinek smrekovih vej na zajedavce po koncu krmljenja popustil. Blomstrand in sod. (2022) so v raziskavi enajst dni tretirali jagnjeta z izvlečkom smrekovega lubja, ki so ga natančno odmerjali. Ugotovili so zmanjšanje izločenih oocist eimerij še vsaj enajst dni po koncu, kar je lahko povezano tudi z dolžino razvojnega kroga pri *Eimerii* spp. V naši raziskavi so ovce imele smrekove veje na voljo ves čas, zato odmerjanje ni bilo natančno.

Pri skupini ovc, krmljenih z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, se je pri štirih ovcah število izločenih jajčec pri obeh naslednjih vzorčenjih zmanjšalo. Pri štirih se je število sprva zmanjšalo (drugo vzorčenje), pri tretjem vzorčenju pa je bilo opazno blago povečanje. Pri dveh živalih se je število jajčec povečalo pri obeh naslednjih vzorčenjih. Po štirinajstdnevem krmljenju z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic se je povprečna vrednost števila izločenih jajčec v iztrebkih sprva zmanjšala za 25,93 odstotka, pri tretjem vzorčenju pa je bila povprečna vrednost izločenih jajčec v primerjavi s prvim vzorčenjem manjša za 4,5 odstotka. Rezultati nakazujejo na potencialen inhibitoren vpliv krmljenja z bučnimi pogačami in nageljnovidnimi žbicami na izločanje jajčec z iztrebki, ki traja tudi po koncu dodajanja v krmo. Pozitiven vpliv dodajanja bučnih pogač v krmo živalim je mogoče pripisati visoki vsebnosti beljakovin (57 odstotkov surovih beljakovin), kar gostitelju omogoča, da popravi poškodbe tkiv, ki jih povzročijo zajedavci (Bowie, 2014). Coop in Kyriazakis (2001) poročata, da lahko ovca z želodčno-črevesnimi zajedavci dnevno izgubi 4–5 g dušika zaradi izgube beljakovin skozi črevesni trakt. Tu gre predvsem za izgubo beljakovin krvne plazme. Dodatek beljakovin ugodno vpliva na zmanjšanje izločanja jajčec zajedavcev in posledično na manjšo porabo antiparazitikov ter zmanjšuje vpliv zajedavcev na zdravstveno stanje in prirejo živali (Coffey in Hale, 2012). Povečan delež beljakovin v krmnem obroku izboljša imunski odziv, zmanjša število izločenih jajčec zajedavcev v iztrebku in uravnava neješčnost zaradi parazitov (Burke in Miller, 2020). V bučnih pogačah je poleg visokega deleža beljakovin pomembna prisotnost bioaktivnih snovi iz bučnega semena, tj. aminokisline kukurbitacin in drugih. Sekundarni metabolit kukurbitin ima antiparaziten učinek (Grzybek in sod., 2016). Strickland in sod. (2009) poročajo o paralitičnem učinku kukurbitina na zajedavce v prebavilih, zaradi oslABLJENE zmožnosti pritrjanja na steno prebavil pa se pospeši izločanje zajedavcev iz gostitelja. Bučna semena imajo protivnetno delovanje in so blagodejna za imunski sistem (Strickland in sod., 2009). Zmanjšanje števila izločenih jajčec zajedavcev v naši raziskavi lahko deloma pripišemo tudi bioaktivnim snovem, ki jih vsebujejo nageljnove žbice. Med njimi so alkaloidi, glikozidi, eterična olja in evgenol (Cortés-Rojas in sod., 2014). Ta je pomemben zaradi svojega delovanja na povrhnjico zajedavca, imajo pa nageljnove žbice tudi ovicidno delovanje (Charitha in sod., 2017).

Bučna semena in nageljnove žbice vsebujejo tudi tanine (Hoste in sod., 2006). Ti zavirajo metabolizem energije zajedavcev, njihovo motorično aktivnost in izleganje jajčec (French, 2017). Nizke do zmerne koncentracije kondenziranih taninov (<6 %) imajo blagodejen učinek

na rastlinojede živali, kar se kaže v hitrejši rasti, visoki mlečnosti in boljši kakovosti volne (Mlin, 2003). Zaradi vezave na beljakovine zaščitijo njihovo razgradnjo v vampu in povečajo absorpcijo aminokislin v tankem črevesju, kar ugodno vpliva na homeostazo v črevesju gostitelja in njegov imunski odziv (Hoste in sod., 2009). Bahuaud (2006) poroča o spremembah na povrhnjici zajedavcev, ki so jih opazili z elektronskim mikroskopom po stiku s kondenziranimi tanini. Med rastlinami z visoko vsebnostjo taninov so tudi smrekove veje. Smrekovi vršički poleg taninov vsebujejo tudi druge sekundarne metabolite, kot so flavonoidi, stilbeni in terpenoidi. Imajo tudi antioksidativno delovanje, saj so bogate z vitaminom C (Jyske in sod., 2020). Glede na rezultate naše raziskave je dodatek smrekovih vej preprečil močno povečanje števila izločenih jajčec. Pri kontrolni skupini je prišlo do 122,5-odstotnega in 103,5-odstotnega povečanja (pri drugem oziroma tretjem vzorčenju), pri skupini, krmljeni s smrekovimi vejami, pa je bilo povečanje izločenih jajčec 10,8-odstotno in 76,9-odstotno.

V raziskavi so Ježek in sod. (2021) ugotovili precejšnje zmanjšanje števila jajčec *Strongylida* na gram iztrebka. Pri sedemdnevem krmljenju z bučnimi pogačami se je število jajčec na gram iztrebka zmanjšalo za 52,9 odstotka, medtem ko se je pri dodatku zmletih nageljnovih žbic v povprečju zmanjšalo za 40,6 odstotka. Če to primerjamo z rezultati naše študije, je mogoče sklepati na prisotnost vpliva drugih dejavnikov na izid raziskave. Ježek in sod. (2021) so raziskavo izvajali v mesecu novembru in decembru, naša raziskava pa je potekala spomladi. Po ugotovitvah raziskav naj bi se aktivnost in izločanje jajčec zajedavcev jeseni zmanjšala (Bowman, 2014). Že pri primerjavi rezultatov kontrolne skupine med obema raziskavama je opazna razlika. V naši raziskavi se je v obdobju devetnajstih dni od prvega vzorčenja izločanje jajčec zajedavcev povečalo za 122,5 odstotka oziroma za 103,5 odstotka v obdobju štirih tednov. Ježek in sod. (2021) poročajo o 8,7-odstotnem porastu števila jajčec v gramu iztrebkov v dvanajstih dneh.

Na razlike med raziskavama bi lahko vplival različen čas med odvzemi. Glede na biologijo in razvojne kroge želodčno-črevesnih nematodov bi to prav tako lahko imelo velik vpliv. Pri večini namreč prepatentna doba traja dva do tri tedne (Zajac, 2006; Zajac, 2020). V našem raziskovalnem delu smo ujeli vsaj en razvojni krog. González-Garduño in sod. (2021) pišejo o pomembnosti pojava t. i. »*spring rise*«, povečane pomladanske aktivnosti zajedavcev. Gre za fenomen, pri katerem se močno poveča število izločenih jajčec na gram iztrebka (Bowman, 2014; González-Garduño in sod., 2021). To je posledica povečane plodnosti samic zajedavcev, ki so prezimile v fazi mirovanja kot ličinke L4 v sluznici prebavil, zaradi sprememb delovanja

imunskega sistema živali. V krvni plazmi se zmanjša koncentracija protiteles, zmanjša se število cirkulirajočih eozinofilcev, lokalno v črevesju pa se zmanjša titer protiteles IgG1, IgM, IgA in IgE ter nekaterih celic (globularnih levkocitov, vrčastih celic, mastocitov) (González-Garduño in sod., 2021). V tem obdobju se pogosto pojavijo klinični znaki parazitoz, prav tako so živali dovzetnejše za druge okužbe. Ogroženi so tudi mladiči, saj se naivni, brez predhodnih okužb srečujejo z okoljem, v katerem je povečano število zajedavcev (Bowman, 2014).

Terapevtski potencial rastlin kot alternativa zdravljenju zajedavskih bolezni ni zanemarljiv (Castagna in sod., 2019). Castagna in sod. (2019) predlagajo, da bi morali naravni rastlinski dodatki ali ekstrakti zamenjati ali vsaj dopolnjevati zdravljenje živali proti zajedavcem za dosego zmanjšanja uporabe sintetičnih pripravkov, s čimer se na osnovi rezultatov naše raziskave strinjamo. Raziskave kažejo, da so naravni dodatki pri zmanjšanju števila želodčno-črevesnih zajedavcev pri drobnici redko tako učinkoviti kot sintetični pripravki. Lahko pa s sočasno uporabo drugih metod zatiranja zajedavcev, kot so npr. rotacija čredink, strateški pristop k refugijam in dopolnilno krmljenje z bioaktivnimi snovmi, postopoma zmanjšamo uporabo sintetičnih učinkovin na sprejemljivo raven (Castagna in sod., 2019). Porast rezistence zajedavcev proti antihelmintikom ni edini dejavnik preusmeritve v uporabo naravnih dodatkov h krmljenju, pač pa je nezanemarljiva tudi vedno večja ozaveščenost potrošnika o možnosti zaostankov zdravil v živilih živalskega izvora (Castagna in sod., 2019).

Na voljo je vedno več podatkov o učinkovitosti rastlinskih snovi na zmanjševanje negativnega vpliva zajedavcev na gostitelja. Pričakujemo, da bo v prihodnosti še več podobnih raziskav, ki bodo proučevale potencialno delovanje rastlin in bioaktivnih snovi na zajedavce. Na podlagi rezultatov predhodne podobne raziskave (Ježek in sod., 2021), v kateri so proučevali vpliv dodajanja bučnih pogač in nageljnovih žbic ovcam v ločenih skupinah, bi pričakovali, da se ob skupnem dajanju obeh dodatkov vpliv na izločanje jajčec poveča, kar smo želeli preveriti v pričujoči raziskavi. Vendar na osnovi rezultatov naše raziskave aditivnega učinka med posameznimi dodatki ne moremo potrditi. Kljub temu pa naši rezultati kažejo na potencialno antiparazitno delovanje dodatkov bučnih pogač, nageljnovih žbic in smrekovih vej na zmanjšanje izločanja jajčec zajedavcev. Za potrditev aditivnega učinka bučnih pogač in nageljnovih žbic oziroma morebitnega učinka smrekovih vej bi bilo treba opraviti raziskavo, ki bi potekala v jesenskem času oziroma v času brez vpliva t. i. »spring rise«. V raziskavo bi lahko vključili ovce, ki pred tem niso bile tretirane z antiparazitiki, ali jagnjeta, ki bi jih umetno inokulirali z želodčno-črevesnimi zajedavci.

Bučne pogače so lahko dostopne in jih zaradi visoke vsebnosti beljakovin v prehrani domačih živali lahko uporabljamo kot močno krmilo. So dobrega okusa in enostavne za dokrmljevanje, zato bi njihov potencial lahko izkoristili za pomoč živalim, ki so invadirane z zajedavci. Lahko dostopne so tudi nageljnovе žbice in smrekove veje, zlasti slednje živali rade jedo.

V začetku raziskave smo si postavili dve hipotezi, na kateri lahko vsaj delno odgovorimo. Prvo hipotezo, ki trdi, da dodajanje bučnih pogač in nageljniovih žbic v ovčjo krmo vpliva na zmanjšano izločanje jajčec z iztrebki, lahko potrdimo. Zmanjšano število jajčec v iztrebkih je bilo opazno še do štirinajst dni po prenehanju krmljenja z dodatkom bučnih pogač in nageljniovih žbic.

Druga hipoteza, da dodajanje smrekovih vej v ovčjo krmo vpliva na zmanjšano izločanje jajčec z iztrebki, vsaj delno drži. Krmljenje z dodatkom smrekovih vejic ni zmanjšalo števila jajčec v iztrebkih med posameznimi vzorčenji, lahko pa s primerjavo z rezultati kontrolne skupine zaključimo, da je imelo vsaj delni učinek na zmanjšano izločanje jajčec z iztrebki.

6 SKLEPI

V raziskovalni nalogi smo ugotovili, da je po štirinajstdnevem krmljenju s prehranskimi dodatki prišlo do zmanjšanja števila jajčec na gram iztrebka glede na kontrolno skupino. Znatnih odstopanj v drugih preiskovanih parametrih (telesna kondicija; barva očesnih veznic; zamazanost okolice repa; konsistenca iztrebka) nismo ugotovili.

Pri ovcah iz kontrolne skupine se je število jajčec Strongylida (na gram iztrebka) po prenehanju krmljenja z dodatki povečalo za 103,46 odstotka glede na prvo vzorčenje.

Pri ovcah, krmljenih z dodatkom smrekovih vejic, se je število jajčec Strongylida v iztrebkih v primerjavi s prvim vzorčenjem povečalo za 76,9 odstotka.

Pri ovcah, krmljenih z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, se je povprečno število izločenih jajčec Strongylida v iztrebkih v primerjavi s prvim vzorčenjem zmanjšalo za 4,5 odstotka.

Krmljenje z dodatkom rastlinskih proizvodov z bioaktivnimi snovmi bi lahko zmanjšalo porabo antiparazitikov in upočasnilo razvoj rezistence proti antiparazitikom. Z manjšo porabo antiparazitikov bi lahko izboljšali ekonomičnost reje in zmanjšali prisotnost rezidua v okolju in živalskih proizvodih.

7 POVZETEK

V raziskavi smo proučevali vpliv krmljenja z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic oziroma smrekovih vej na izločanje jajčec želodčno-črevesnih zajedavcev. Želeli smo ugotoviti, ali imajo tradicionalno uporabljani rastlinski proizvodi vpliv na zajedavce pri ovcah in ali bi njihova uporaba lahko zmanjšala porabo komercialnih antiparazitikov ter s tem upočasnila pojav rezistence proti antiparazitikom. V literaturi smo zasledili širok nabor informacij o rastlinah, ki vsebujejo bioaktivne snovi z antiparazitnimi lastnosti. Odločili smo se, da v raziskavo vključimo bučne pogače in nageljnovе žbice ter smrekove veje. Ugotavljali smo morebiten vpliv naravnih prehranskih dodatkov na telesno kondicijo ovc, barvo očesnih veznic, konsistenco iztrebka, zamazanost okolice zadnjika ter, kar nas je najbolj zanimalo, na število izločenih jajčec parazitov na gram iztrebka. V raziskavo je bilo vključenih 30 ovc jezersko-solčavske pasme. Ovce smo razdelili v tri skupine, v vsaki je bilo po deset ovc. Prva, kontrolna skupina je dobivala običajen krmni obrok. Druga skupina je zraven običajnega obroka prejela še smrekove veje, ki so jih imele ovce ves čas na razpolago in so jih jedle po volji. Tretja skupina je poleg običajnega krmnega obroka dvakrat dnevno dobila bučne pogače (200 g dnevno/žival) in zmlete nageljnovе žbice (1,8 g dnevno/žival).

Prvo vzorčenje smo opravili prvi dan. Vzorce iztrebkov smo parazitološko preiskali četrty dan in ugotovili primerno porazdeljenost živali v skupinah glede števila jajčec v iztrebkih. Rejec je šesti dan začel krmiti z dodatki. Ponovno ocenjevanje in vzorčenje smo opravili po štirinajstih dneh, tj. 20. dan. Na ta dan je rejec prenehal krmiti z dodatki in začel pokladati samo običajno krmo. Tretjič smo vzorčili 34. dan, štirinajst dni po prenehanju krmljenja z dodatki.

Telesna kondicija se je med raziskovalnim delom spreminjala, a se je po štirih tednih vrnila nazaj na prvotno raven, razlike med odvzemi niso bile statistično značilne. To pa ne velja za kontrolno skupino, kjer se je povprečna vrednost spustila na nižjo raven, kot je bila ugotovljena na začetku. Pri ocenjevanju barve očesnih veznic smo pri ovcah, krmljenih z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, ugotovili boljši rezultat po krmljenju z dodatki, razlike so bile statistično značilne. Pri ocenjevanju barve očesnih veznic v kontrolni skupini in skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, nismo ugotovili vpliva prehranskih dodatkov. Živalim, krmljenim s smrekovimi vejami, je povprečna ocena zamazanosti okolice zadnjika padla, tako je po štirinajstih dneh krmljenja znašala 0, medtem ko pri ostalih ni bilo sprememb v zamazanosti pred tretmajem in po njem. Glede na rezultate parazitološke preiskave smo

ugotovili, da je v kontrolni skupini glede na prvo vzorčenje prišlo do 103,46-odstotnega povečanja števila jajčec Strongylida na gram iztrebka. Rezultat je pričakovan, saj v prehrano nismo dodajali nobenih dodatkov, ki bi vplivali na zmanjšanje števila jajčec. Pri drugi skupini, krmljeni z dodatkom smrekovih vej, je prišlo do 76,9-odstotnega povečanja števila jajčec Strongylida na gram iztrebka. V skupini, krmljeni z dodatkom bučnih pogač in nageljnovih žbic, je prišlo do 4,5-odstotnega zmanjšanja števila jajčec Strongylida na gram iztrebka.

V raziskavi smo ugotovili, da se je število izločenih jajčec najbolj zmanjšalo v skupini, ki je dobivala dodatek bučnih pogač in nageljnovih žbic, kar kaže na potencialno antiparazitno delovanje. Blagodejni učinek lahko pripišemo tudi visoki vrednosti beljakovin v bučnih pogačah, kar gostitelju omogoči hitrejšo regeneracijo tkiva. Glede na rezultate menimo, da bi tudi smrekove veje lahko ugodno vplivale na invadirane živali, saj je v primerjavi s kontrolno skupino prišlo do zmanjšanja izločanja želodčno-črevesnih nematodov. Menimo, da je uporaba preiskovanih dodatkov priporočljiva, saj blagodejno vplivajo na zdravstveno stanje črede in dobrobit živali, njihova enostavna uporaba in dostopnost pa bi potencialno zmanjšala porabo antiparazitikov in s tem izboljšala ekonomičnost reje.

8 SUMMARY

In our study, the effect of feeding pumpkin seed cake, cloves and spruce twigs supplement on gastrointestinal egg excretion was investigated. Scientific validation of traditionally used plant products with antiparasitic activity is lacking. In our study, we investigated whether the use of traditionally used plant products has an impact on gastrointestinal nematodes in sheep and whether they have the potential to reduce the consumption of commercial anthelmintics, thereby slowing emerging anthelmintic resistance. A wide range of information on herbal preparations containing bioactive compounds is described. The effects of pumpkin seed cake, cloves, and spruce twigs on ewe body condition, conjunctival colour, faecal consistency, dag score, and effects on excretion of gastrointestinal nematode eggs were studied. A total of 30 ewes of the Jezersko-Solčava breed were included. They were divided into three groups of ten ewes each. The control group received their basic diet. The second group received spruce twigs *ad libitum* for 14 days. The third group received pumpkin seed cake (200 g per day/animal) and ground cloves (1.8 g per day/animal) twice daily as a supplement. Sampling and evaluation of ewes was performed before the start of the study (day 1) to determine if the distribution of animals among groups was appropriate. Sampling and evaluation were performed at the end of feeding the supplements (day 20) and 14 days after receiving the supplements (day 34).

In the control group, the body condition score decreased to a lower level than initially observed; otherwise, it did not change significantly during the study. Mean scores of conjunctival colour, faecal consistency, and dag score did not differ significantly between groups and samples. Statistically significant differences were observed in the average score of conjunctival colour in both groups receiving supplements and in the score of faecal consistency in the control group and in the group receiving pumpkin seed cake and cloves. A decrease in dag score was observed on day 20 in the ewes fed spruce twigs. No effect of feeding spruce twigs supplement on conjunctival colour was noted.

In the control group, a 103.46 % increase in Strongylida eggs per gram of faeces was observed compared to the first sampling. This result is expected due to the lack of administration of antiparasitic agents. It was found that in the group fed with spruce twigs, the number of eggs increased by 76.9 % on average. In the group fed with pumpkin seed cake and cloves supplement, the number of eggs decreased by 4.5 % compared to the first sampling.

We concluded that pumpkin seed cake and cloves decreased the number of Strongylida eggs per gram of faeces, suggesting a possible antiparasitic effect. The high protein content of pumpkin seed cake allows better regeneration of infested tissues, thus having a positive effect on the host. The addition of spruce twigs showed a potential positive effect on the animals, as there was a small decrease in Strongylida eggs per gram of faeces compared to the control group. We conclude that the use of the studied feed supplements is recommended because they might have a positive effect on the health of the flock and reduce the consumption of anthelmintics, improving animal welfare and the profitability of farming.

9 ZAHVALE

Radi bi se zahvalili mentorici doc. dr. Jožici Ježek, dr. vet. med., in somentorici doc. dr. Aleksandri Vergles Rataj, dr. vet. med. Iskrena hvala za vse deljeno znanje, spodbujanje in usmerjanje pri pisanju raziskovalne naloge.

Hvala rejcu, ki je sodeloval pri izvedbi raziskovalne naloge in upošteval vsa navodila.

Hvala Enoti za parazite na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo za pomoč pri opravljanju praktičnega dela naloge.

Hvala asistentu Jaki Jakobu Hodniku in študentom, ki so pomagali pri vzorčenju.

Hvala knjižničarkam Stanislavi Ujc, Giti Grecs Smole in Slavici Sekulić za pomoč pri pregledu literature.

Hvala družini in prijateljem za vso spodbudo in podporo.

10 LITERATURA

Angulo-Cubillán FJ, García-Coiradas L, Cuquerella M, De la Fuente C, Alunda JM. *Haemonchus contortus*-sheep relationship: a review. *Rev Cient* 2007; 17(6): 577–87.

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.

Bahuaud D, Montinez-Ortiz-de-Montellona C, Chanvean S, et al. Effects of four tanniferous plant extracts on the in vitro exsheathment of third-stage larvae of parasite nematodes. *Parasitology* 2006; 132(4): 545–54.

Baltrušis P, Halvarsson P, Höglund J. Utilization of droplet digital PCR to survey resistance associated polymorphisms in the β tubulin gene of *Haemonchus contortus* in sheep flock in Sweden. *Vet Parasitol* 2020; 288:e109278 (6str.). doi:10.1016/j.vetpar.2020.109278

Barrau E, Fabre N, Fouraste I, Hoste H. Effect of bioactive compounds from Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the *In Vitro* larval migration of *Haemonchus contortus*: Role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology* 2005; 131(4):531–8.

Beleckè A, Kupčinskas T, Stadalienė I et al. Anthelmintic resistance in small ruminants in the Nordic-Baltic region. *Acta Vet Scand* 2021; 63:e18 (7str.). doi: 10.1186/s13028-021-00583-1

Besier RB, Kahn LP, Sargison ND, Van Wyk JA. The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. *Adv Parasitol* 2016;93:e 95–143. doi: [10.1016/bs.apar.2016.02.022](https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.022)

Bhowmik D, Sampath Kumar K, Yadav A, Shweta S, Shravan P, Amit Sankar D. Recent trends in indian traditional herbs *Syzygium Aromaticum* and its health benefits. *J Pharmacogn Phytochem* 2012; 1(1): 13–22.

Blomstrand, BM, Enemark, HL, Steinshamn H *et al.* Administration of spruce bark (*Picea abies*) extracts in young lambs exhibits anticoccidial effects but reduces milk intake and body weight gain. *Acta Vet Scand* 2022. 64(10) 10 (10 str.) doi: 10.1186/s13028-022-00629-y.

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.

Burke JM, Miller JE. Sustainable approaches to parasite control in ruminant livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2020; 36(1): 89–107.

Castagna F, Palma E, Cringoli G, et al. Use of complementary natural feed for gastrointestinal nematodes control in sheep: effectiveness and benefits for animals. *Animals*, 9(12). doi: 10.3390/ani9121037

Charitha VG, 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(8): 968–70.

Coffey L, Hale M. Tools for managing internal parasites in small ruminants: pasture management [online]. Mundhwe: ATTRA, 2012: 20 str.

<https://attra.ncat.org/htmlpub/tools-for-managing-internal-parasites-in-small-ruminants-pasture-management/> (16.6.2022)

Coop RL, Kyriazakis I. Influence of host nutrition on development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol* 2001; 17(7): 325–30.

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

Di Loria A, Veneziano V, Piantedosi D, et al. Evaluation of the FAMACHA system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. *Vet Parasitol* 2009; 161(1/2): 53–9.

Eckert J. Die Diagnose des Magen-Darmstrongylidenbefalles des Schafes durch Differenzierung der freilebenden dritten Larven. *Zentralbl Vet Med* 1960 7: 612–30.

Ferreira LE, Benincasa BI, Fachin AL, et al. *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. *Vet Parasitol*; 2016; 288:e70–6. doi: [10.1016/j.vetpar.2016.08.011](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.011)

Ferreira JB, Sotomaior CS, Bezerra ACDS, et al. Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in tropical hair sheep. *Trop Anim Health Prod* 2019; 51(6): 1767–71.

Foreyt WJ. Coccidiosis and cryptosporidiosis in cheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1990; 6(3): 655–70.

French KE. Plant-based solutions to global livestock anthelmintic resistance. *Ethnobiol Lett* 2017; 9(2): 110–23.

Gilleard JS, Beech RN. Population genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. *Parasitology*. 2007; 134(8): 1133–47.

González-Garduño R, Arece-García J, Torres- Hernández G. Physiological, immunological and genetic factors in the resistance and susceptibility to gastrointestinal nematodes of sheep in the peripartum period: A review. *Helminthologia* 2021; 58(2): 134–51.

Grzybek M, Kukula-Koch W, Strachecka A, Jaworska A, Phiri AM, Paleolog J, Tomczuk K. Evaluation of Antihelmintic Activity and Composition of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extract – In Vitro and in Vivo Studies. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(9): 1456–77.

Greer AW, Van Wyk JA, Byaruhanga C, et al. Refugia-based strategies for parasite control in Livestock. *Vet Clin Nort Am Food Anim Prac* 2020; 36(1): 31–3.

Handbook for the control of internal parasites of sheep and goats [online]. Guelph: University of Guelph, 2019. https://cdn.dal.ca/content/dam/dalhousie/pdf/faculty/agriculture/oacc/en/livestock/Handbook_Control_of_Parasites_of_Sheep_Dec2010.pdf (16.6.2022)

Hepworth K, Neary M, Hutchens T. Managing internal parasitism in sheep and goats [online]. West Lafayette : Purdue University Cooperative Extension Service, 2006:1–10. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/as/as-573-w.pdf> (16.6.2022)

Hodgkinson JE , Kaplan RM, Kenyon F, et al. Refugia and anthelmintic resistance: concepts and challenges. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2019; 10: 51–7.

Howell AK, Williams DJL. The epidemiology and control of liver flukes in cattle and sheep. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2020; 36(1): 109–23.

Hoste H, Brunet S, Paolini D, et al. Compared in vitro anthelmintic effects of eight tannin-rich plants browsed by goats in the southern part of France. *Opt Méditerran Sér A Sém Méditerran* 2009;85: 431–6.

Hoste H, Torres-Acosta JF, Paolini V, et al. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Rumin Res* 2005; 60(1/2): 141–51.

Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology* 2006; 22(6): 253–61.

Iliev P, Prelezov P, Ivanov A, Kirkova Z, Tonev A. Clinical study of acute haemonchosis in lambs. *Trakia J Sci* 2017; 15(11): 74–8.

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

Ježek J, Mirtič K, Rešetič N, Hodnik JJ, Vergles Rataj A. The effect of pumpkin seed cake and ground cloves (*Syzygium aromaticum*) supplementation on gastrointestinal nematode egg shedding in sheep. *Parasite*. 2021; 28:e78 (8 str.). doi: 10.1051/parasite/2021076

Jyske T, Järvenpää E, Kunnas S, et al. Sprouts and Needles of Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) as Nordic specialty—consumer acceptance, stability of nutrients, and bioactivities during storage. *Molecules* 2021; 25(18): e4187(23 str.). doi: [10.3390/molecules25184187](https://doi.org/10.3390/molecules25184187)

Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM. Eugenol—from the remote Maluku islands to the International market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules* 2012; 17(6): 6953–6953: 6953–81.

Kaplan RM, Burke JM, et al. Validation of the FAMACHA © eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. *Vet Parasitol* 2004; 123(1/2): 105–20.

Kaplan RM. The changing landscape of parasite control in small ruminants [online]. American association of bovine practitioners, 2020.

<https://journals.tdl.org/bovine/index.php/AABP/article/view/8063>

Knoll S, Dessi G, Tamponi C et al. Practical guide for microscopic identification of infectious gastrointestinal nematode larvae in sheep from Sardinia, Italy, backed by molecular analysis. *Parasites & Vectors* 2021;14: 2–14.

Kenyon PR, Maloney SK, Blache D. 2014. Review of sheep body condition score in relation to production characteristics. *N Z J Agricult Res* 2014; 51(1): 38–64.

Komprej A, Orešnik A, Pogačnik M, Vidrih A. Vpliv peroralno dodanih taninov na dnevni prirast in sestavo inzrebke pri ovcah in kozah. *Zb BF UL Kmet* 2003; 82(1): 25–36.

Kos T. Vpliv taninov na tvorbo kratkoverižnih maščobnih kislin in metana pri in vitro fermentaciji v vampovem soku. Ljubljana: Univeza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko 2007. Diplomsko delo.

Köhler P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int J Parasitol* 2001; 31(4): 336–45.

Kodermac P, Ježek J, Tušar J, Vergles-Rataj A. Parazitoze pri drobnici. *Slo Vet Res* 2016: 46–9.

Kumar N, Rao TK, Varghese A, Rathor VS. Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* 2013; 37(2): 151–7.

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

Leem HH, Kim EO, Seo MJ, Choi SW. Antioxidant and anti-inflammatory activities of eugenol and its derivatives from clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011; 40(10): 1361–70.

Matthews KK, O'Brien DJ, Whitley NC, Burke JM, Miller JE, Barczewski RA. Investigation of possible pumpkin seeds and ginger effects on gastrointestinal nematode infection indicators in meat goat kids and lambs. *Small Rumin Res* 2016; 136: 1–6.

Mlin BR, Barry TN, Attwoodb GT, McNabb WC. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review Anim Feed Sci Technol 2003; 106(1/4): 3–19.

Naeem M, Iqbal Z, Roohi N. Ovine haemonchosis: a review. Trop Anim Health Produc 2021; 53(1): e19 (11 str.). doi: [10.1007/s11250-020-02439-8](https://doi.org/10.1007/s11250-020-02439-8)

Njoroge GN, Newton LE. Edible and poisonous species of cucurbitaceae in the central highlands of Kenya. J East Afr Nat Hist. 1994; 83(2): 101–15.

Ogunwande IA, Olawore NO, Ekundayo O, Walker TM, Schmidt JM, Setzer WN. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. Int J Aromather 2005; 15(3):147–52.

Pan SY, Zhou SF, Gao SH, et al. New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: cam's outstanding contribution to modern therapeutics. Evid Based Complement Alternat Med 2013; e627375 (25 str.) doi: [10.1155/2013/627375](https://doi.org/10.1155/2013/627375)

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

Papadopoulos E. Drought and flock isolation may enhance the development of anthelmintic resistance in nematodes. Vet Parasitol 2001, 97: 253–59. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00435-6

Pelegrin-Valls J, Maertín-Alonso MJ, Vertolin JR, et al. Effect of dietary crude protein on productive efficiency, nutrient digestibility, blood metabolites and gastrointestinal immune markers in light lambs. Animals 2020; 2–16. doi:10.3390/ani100203

Ploeger HW, Everts RR. Alarming levels of anthelmintic resistance against gastrointestinal nematodes in sheep in the Netherlands. Vet Parasit 2018, 262: 11–5. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.09.007

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. Landbauforschung 2007; 57(3): 285–95.

Rose Vineer H, Morgan ER, Hertzberg H, et al. Increasing importance of anthelmintic resistance in European livestock: creation and meta-analysis of an open database. *Parasite* 2020; 27: e69 (16 str.) doi: [10.1051/parasite/2020062](https://doi.org/10.1051/parasite/2020062)

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

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

Santos DI, Saraiva JMA, Vicente AA, Moldão-Martins M. Methods of determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. In: Barba FJ, Saraiva JMA, Lorenzo JM, eds. [Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds](#). Amsterdam: Elsevier, 2019: 23–54.

Septembre-Malaterre A, Remize P, Poucheret P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds: changes in bioactive compounds during lactic acid fermentation. *Food Res Int* 2018; 104: 86–99.

Stuchlikova LR, Matoušková P, Vokral I, et al. Metabolism of albendazole, triclabendazole and flubendazole in *Haemonchus contortus* adults: sex differences, resistance-related differences and the identification of new metabolites. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2018; 8(1): 50–8.

Strickland VJ, Krebs GL, Potts W. Pumpkin kernel and garlic as alternative treatments for the control of *Haemonchus contortus* in sheep. *Anim Prod Sci* 2009; 49(2): 139–44.

Suhoveršnik J. Vpliv hidrolizirajočih taninov kostanja na mlečnost in sestavine kravjega mleka. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko 2005. Diplomsko delo.

Taylor M. Protozoal disease in cattle and sheep. In *Pract*, 2000; 22: 604–17.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Veterinary parasitology*. 4th ed. Chichester : Wiley Blackwell 2016: 436–515.

Thompson DP, Geary TG. The structure and function of helminth surfaces. In: Mesr JJ, Müller M, eds. *Biochemistry and molecular biology of parasites*. Amsterdam: Elsevier 1995: 203–32.

Traversa D, von Samson-Himmelstjerna G. Anthelmintic resistance in sheep gastro-intestinal Strongyles in Europe. *Small Rumin Res* 2016; 135: 75–80.

Torres-Acosta F, Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Rumin Res* 2008; 77(2): 159–73.

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

Zajac AM, Garza J. Biology, epidemiology and control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2020; 36(1): 73–87.

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

Van Wyk JA, Cabaret et al.. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology* 2004; 119: 277–306.

Waller PJ. Anthelmintic resistance. *Vet Parasitol* 1997; 72(3/4): 391–405.

INTERNETNE POVEZAVE

EMA. Zolvix [online]. Amsterdam: European Medicines Agency.

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolvix-epar-product-information_sl.pdf (22.3.2022)

EMA. Reflection paper on anthelmintic resistance [online]. Amsterdam: European Medicines Agency, 2017. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-anthelmintic-resistance_en-1.pdf (7.12.2021)

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> (15.3 2021)

JAZMP. Zdravila za uporabo v veterinarski medicini [online]. Ljubljana : Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke, 2022. <https://www.jazmp.si/veterinarska-zdravila/podatki-o-zdravilih/seznam-zdravil/> (11. 6. 2022)

Junquera P. Parasitipedia [online]. Zürich : P. Junquera , 2021.
https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2391&Itemid=2654 (29. 10. 2021)

Ontario Veterinary Collage. Copper toxicity in sheep [online]. Guelph : University of Guelph, Ontario Veterinary Collage, 2022.
https://ovc.uoguelph.ca/ruminant_health_management/copper-toxicity-sheep (15.3.2022)

Wormboss. Assessing faecal consistency score [online]. Wormboss, 2022.
<http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/tests-tools/tests/assessing-faecal-consistency-score.php> (14. 1. 2022).