

IV SIMPOZIJUM SA MEĐUNARODNIM UČEŠĆEM ZDRAVSTVENA ZAŠTITA I REPRODUKCIJA PAPKARA, KOPITARA, ŽIVINE I MESOJEDA

ZBORNİK PREDAVANJA



UDRUŽENJE VETERINARA
PRAKTIČARA SRBIJE (UVPS)

Hotel "M" – Beograd, 8-9. april 2022.

UDRUŽENJE VETERINARA PRAKTIČARA SRBIJE (UVPS)



ZBORNİK PREDAVANJA

IV SIMPOZIJUM
sa međunarodnim učešćem

***“Zdravstvena zaštita i reprodukcija
papkara, kopitara, živine i mesojeda”***

Beograd, 8 i 9. april 2022.

– ZBORNİK PREDAVANJA –

IV SIMPOZIJUM VETERINARA PRAKTIČARA SRBIJE SA MEĐUNARODNIM UČEŠĆEM
IV SYMPOSIUM OF SERBIAN VETERINARY PRACTITIONERS WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION

“Zdravstvena zaštita i reprodukcija papkara, kopitara, živine i mesojeda”

Beograd, 8 i 9. april 2022.

Organizator / Organized by:

Udruženje veterinara praktičara Srbije (UVPS) / *Union of Serbian Veterinary Practitioners*

Predsednik UVPS / Chairman: Spec. dr vet. med. Bojan Blond

Organizacioni odbor / Organizing Committee:

Predsednik / Chairman: Spec. dr vet. med. Bojan Blond

Članovi:

Prof. dr sc. vet. med. Milorad Mirilović	Prof. dr sc. vet. med. Ivan Stančić
Dr sc. vet. med. Dobrila Jakić-Dimić	Spec. dr vet. med. Mišo Kolarević (predsednik VKS)
Dr vet. med. Velibor Kesić (predsednik VKRS)	Dr vet. med. Tomislav Nikolovski (predsednik VKM)
Dr vet. med. Ranko Savić (predsednik VKCG)	Dr vet. med. Vladimir Čitaković
Dr vet. med. Goran Đmura	Dr vet. med. Zoran Knežević
Dr vet. med. Saša Marković	Dr vet. med. Miloš Jovičić

Programski odbor / Programme Committee:

Prof. dr sc. vet. med. Dragan Šefer	Dr sc. vet. med. Dejan Bugarski
Prof. dr sc. vet. med. Vladimir Nešić	Prof. dr sc. vet. med. Bojan Toholj
Mr sc. spec. vet. med. Miodrag Rajković	Dr sc. vet. med. Branislav Kureljušić
Prof. dr sc. vet. med. Jovan Bojkovski	Prof. dr sc. vet. med. Dragiša R. Trailović
Prof. dr sc. vet. med. Radmila Resanović	Dr sc. vet. med. Milanko Šekler
Prof. dr sc. vet. med. Nikolina Novakov	Prof. dr sc. vet. med. Mario Kreszinger
Spec. dr vet. med. Andrija Daković	Doc. dr sc. vet. med. Jovan Spasojević
Doc. dr sc. vet. med. Darko Davitkov	Doc. dr sc. vet. med. Miloš Vučićević
Doc. dr sc. vet. med. Milan Maletić	Prof. dr sc. vet. med. Vladimir Magaš
Prof. dr sc. vet. med. Marko Cincović	Dr sc. vet. med. Aleksandar Milovanović

Izdavač / Publisher:

Udruženje veterinara praktičara Srbije (UVPS) / *Union of Serbian Veterinary Practitioners*

Glavni i odgovorni urednik / Editor in Chief:

Spec. dr vet. med. Bojan Blond

Stručna lektura i korektura / Professional text editing:

Prof. dr sc. vet. Miodrag Lazarević

Tehnička podrška / Technical support:

Đorđe Gambelić, dipl. ing

Štampa / Printing:

Naučna KMD Beograd, 2022

Tiraž: 600 primeraka

Info organizatora: www.uvp.rs; office@uvp.rs

ISBN 978-86-900417-6-3

Organizator Simpozijuma / Organized by:

Udruženje veterinara praktičara Srbije (UVPS) / *Union of Serbian Veterinary Practitioners*

Suorganizatori Simpozijuma / Co-organizer:

- Fakultet veterinarske medicine u Beogradu / *Faculty of Veterinary Medicine Belgrade*
- Departman za veterinarsku medicinu u Novom Sadu / *Department of Veterinary Medicine, Novi Sad*
- Naučni institut za veterinarstvo Srbije / *Scientific Veterinary Institute of Serbia*
- Veterinarska komora Makedonije (VKM) / *Veterinary Chamber of Macedonia*
- Veterinarska komora Republike Srpske (VKRS) / *Veterinary Chamber of Republic of Srpska*
- Veterinarske komore Crne Gore (VKCG) / *Veterinary Chamber of Montenegro*

Pokrovitelj Simpozijuma / Supported by:

Veterinarska komora Srbije (VKS) / *Veterinary Chamber of Serbia*

Medijski partner Simpozijuma:

Veterinari bez granica

SPONZORI:

Generalni sponzor Simpozijuma

Marlo farma

Platinasti sponzor Simpozijuma

Veterinarski zavod Subotica

Zlatni sponzor Simpozijuma

Zoetis

Srebrni sponzor Simpozijuma

Ave & Vetmedic

Sponzor ručka za sve učesnike Simpozijuma 09. april 2022. godine

Pro feed - 2013.

Veliki sponzori Simpozijuma

Biochem Balkan

Superlab

Promedia

Boehringer Ingelheim Serbia

POTENCIJALNA PRIMENA ETARSKIH ULJA PROTIV GASTROINTESTINALNIH NEMATODA OVACA – PERSPEKTIVA I BARIJERE

POTENTIAL USE OF ESSENTIAL OILS AGAINST GASTROINTESTINAL OVINE NEMATODES – PERSPECTIVES AND BARRIERS

Filip Štrbac*, Dragica Stojanović*, Radomir Ratajac**

Kratka sadržaj: *Ekonomski gubici koje gastrointestinalne nematode nanose modernom ovčarstvu postaju sve veći usled razvoja rezistencije na sintetske antihelmintike koji se koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Zbog toga, istraživači širom sveta, danas tragaju za alternativnim metodama u cilju kontrole ovih parazita. Kao moguća opcija su se zbog svojih osobina, nametnula etarska ulja i biljni proizvodi bogati različitim prirodno aktivnim jedinjenjima. Naime, prema dosadašnjim ispitivanjima, etarska ulja ispoljavaju visoku aktivnost protiv različitih razvojnih stadijuma nematoda, a uz pravilan način primene se generalno dobro tolerišu od strane sisara sa toksikološke strane gledišta. Do sada je dokazana visoka efikasnost velikog broja etarskih ulja protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca (različite vrste eukaliptusa, limunske trave, mente, čajevca, timijana, cimeta, đumbira, lavande, crnog pelena i ruzmarina), njihovih aktivnih sastojaka (timol, karvakrol, karvon, anetol, mentol, cinamaldehyd, cineol, linalol, vanilin, eugenol, limonen) kao i njihovih kombinacija (npr. cinamaldehyd:karvakrol; anetol:karvon) u laboratorijskim uslovima. Međutim, glavno ograničenje za njihovu svakodnevnu primenu predstavlja još uvek nedovoljna efikasnost u terenskim uslovima, a koja potiče od anatomsko-fizioloških specifičnosti vezanih za preživare, kao i od farmakokinetičkih osobina pojedinih etarskih ulja. Ovaj problem bi se mogao prevazići odabirom odgovarajućih etarskih ulja uz adekvatno doziranje, način primene i formulaciju samih ulja, kombinovanom sinergističkom primenom više ulja ili njihovih sastojaka, kao i primenom nanotehnologije. Nevezano za ovaj problem, etarska ulja svakako imaju potencijal da uz kombinaciju sa drugim lekovima i merama, budu deo integrisanog pristupa, dizajniranog da se postigne održiva kontrola parazita u sistemima proizvodnje preživara. Potrebna su dodatna ispitivanja u ovoj oblasti, što se posebno odnosi na istraživanje efikasnosti u terenskim uslovima.*

Ključne reči: *aktivni sastojci, antihelmintička rezistencija, etarska ulja, gastrointestinalne nematode, ovce*

UVOD

Gastrointestinalne nematode su jedan od najvažnijih uzroka smanjenja proizvodnje i ekonomskih gubitaka u modernom ovčarstvu i kozarstvu (Katiki et al,

* Dr vet. med. Filip Štrbac, dr sc. vet. med. Dragica Stojanović, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad, R. Srbija

**Dr sc. vet. med. Radomir Ratajac, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, R. Srbija

2017). Njihov štetan efekat na životinje domačine se ogleda u prouzrokovanju nedostatka apetita, dijareje, anemije, zatim smanjenog prirasta i proizvodnje mleka i mesa, smanjene radne sposobnosti životinja i fertiliteta, dok kod masovnih i težih infekcija može doći i do uginuća (Macedo et al., 2010; D'Ambolo et al., 2018). Generalno, kontrola nematodnih infekcija kod domaćih životinja se i u današnje vreme uglavnom oslanja na upotrebu antihelmintika (Borges et al., 2016). Međutim, usled neracionalne i neadekvatne upotrebe ovih lekova u smislu njihove učestale i neadekvatne upotrebe, kao i usled hiperdoziranja, došlo je do pojave rezistencije kod parazita, kao i do opadanja efikasnosti nakon primene sintetskih antihelmintika (Macedo et al., 2010).

Danas je antihelmintička rezistencija raširena širom sveta i dokazana je kod različitih vrsta nematoda (Dolinska et al., 2014). Zbog toga se u poslednje vreme intenzivno radi na razvoju novih, alternativnih strategija za kontrolu ovih parazita. U tom kontekstu se sve više spominje genetska selekcija životinja, upravljanje pašnjacima, upotreba gljiva i bakterija u smislu biološke kontrole, razvoj vakcina, primena lekovitog bilja i dr. (Zieneldin et al., 2018; Pinto et al., 2019). Poznato je da se lekovite biljke još od davnih vremena koriste za različite medicinske svrhe. To je podstaklo mnoge istraživače na ispitivanje njihove potencijalne primene i u veterinarskoj medicini, za rešavanje problema antihelmintičke rezistencije, pri čemu su rezultati dokazali da primena lekovitih biljaka, njihovih ekstrakata ili etarskih ulja predstavlja potencijalno bolju alternativnu u terapiji i/ili prevenciji određenih parazitskih oboljenja u poređenju sa sintetskim antihelminticima (Ferreira et al., 2018). Čini se, ipak, da puni potencijal medicinskih biljaka još uvek nije otkriven i zbog toga su potrebna dodatna ispitivanja.

Cilj ovog rada je da se kroz pregled dosadašnjih rezultata, stavova i dostignuća, razmotre perspektiva i ograničenja potencijalne primene etarskih ulja protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca, kao i da se generalno ukaže na značaj ovih supstanci za veterinarsku medicinu i rešavanje problema antihelmintičke rezistencije.

Antihelmintička rezistencija, osobine etarskih ulja i mehanizam njihovog dejstva

Gastrointestinalne nematode i gastroenteritis koje one izazivaju, su limitirajući faktor u intenzivnom ovčarstvu, kako u svetu, tako i kod nas. Štete koje izazivaju ovi paraziti iz rodova *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*, *Ostertagia*, *Nematodirus* i drugih, su ogromne, a danas se navode i kao jedan od vodećih uzroka ekonomskih gubitaka u zemljama sa razvijenim ovčarstvom (Simin i sar., 2018). Razvoj antihelmintičke rezistencije, koja se definiše kao sposobnost parazita da prežive doze lekova koje su inače letalne za parazite iste vrste i istog stadijuma razvoja (Geary et al., 2012), predstavlja dodatni problem sa kojim se suočava moderno stočarstvo. Mehanizmi njenog nastanka su različiti i obuhva-

taju genetske promene ciljnog mesta dejstva leka, promene u transportu leka i promene u metabolizmu leka unutar samih parazita (James et al., 2009). Postoje mnogobrojni izveštaji o sve većoj antihelmintičkoj rezistenciji na benzimidazole i makrociklične laktone, lekove koji se najčešće koriste kao antihelmintici, a Simin i saradnici (2014) su dokazali rezistenciju na ivermektin i kod nas. Zbog svega napomenutog, danas se sve više razmišlja u pravcu korišćenja alternativnih metoda za kontrolu pomenutih parazita.

Etarska ili esencijalna ulja su lako isparljivi prirodni metabolički produkti biljaka čija tačna uloga još uvek nije dovoljno razjašnjena (Butnariu i Sarac, 2018). Ove supstance zapravo predstavljaju kompleksnu mešavinu velikog broja različitih jedinjenja, pre svega terpena i terpenoida, sa velikim biotehnološkim i farmaceutskim potencijalom (Ferreira et al., 2018). Neka od ovih jedinjenja su aktivni sastojci etarskih ulja: linalool, kamfor, timol, mentol, karvakrol, geraniol, limonen, cineol, pinen i citronelol (Dhifi et al., 2016). Pri tome se čini da upravo hemijski sastav određenog etarskog ulja, odnosno prisustvo i količina pomenutih jedinjenja diktira i njegovo potencijalno medicinsko dejstvo. Etarska ulja se mogu dobiti iz različitih delova biljaka kao što su listovi, cvetovi, koren i semenke i to najčešće procesom hidrodestilacije, hladnim presovanjem ili ekstrakcijom pomoću organskih rastvarača (Sovilj i Spasojević 2001, Dhifi et al., 2016). Međutim, iako se esencijalna ulja već naširoko koriste u terapiji i prevenciji oboljenja kod ljudi, njihova upotreba u kontroli infektivnih i parazitskih oboljenja kod životinja još uvek nije dostigla svoj potencijal (Ratajac i sar., 2011).

Tačni mehanizmi antinematodnog dejstva esencijalnih ulja su još uvek predmet proučavanja. Andre et al. (2018) smatraju da je antiparazitski efekat određenog etarskog ulja povezan sa njegovim glavnim sastojkom ili sa interakcijom jedinjenja koje ulaze u njegov sastav. Isti autori objašnjavaju da bioaktivni sastojci etarskih ulja prodiru u kutikulu nematode transkutikularnom difuzijom ostavljajući za sobom kutikularne lezije i nakon toga utiču na mehanizme lokomocije samih parazita. Marjanović (2019) je dokazao da karvakrol, važan sastojak velikog broja etarskih ulja, poseduje osobine kompetitivnog/nekompetitivnog antagoniste nikotinskog acetilholinskog receptora (nAChR) nematoda i time efikasno i značajno inhibira kontrakcije neuromuskularnog aparata. Isti autor je dokazao i da karvakrol potencira inhibitorne efekte gama-aminobuterne kiseline (GABA), što dovodi do paralize parazita. Od drugih mogućih mehanizama delovanja terpenkih jedinjenja, navode se i inhibitorni uticaj na rast parazita i njihove enzime, a zatim i uticaj na plazma membranu ćelija parazita kao i ometanje metaboličkih puteva (Chagas et al., 2018). Pri tome je važno napomenuti da je u više slučajeva dokazano da etarska ulja i njihovi sastojci deluju protiv svih razvojnih stadijuma parazita, odnosno jaja, larvi i adulta (Ferreira et al., 2016; Ferreira et al., 2018; Andre et al., 2016; Andre et al., 2017).

Etarska ulja i njihovi sastojci sa dokazanom potencijalnom aktivnošću protiv gastrointestinalnih nematode

S obzirom na veliki broj potencijalno lekovitih biljaka, potrebno je među njima pronaći one koje bi mogle imati određeno medicinsko dejstvo. To važi i kada su u pitanju etarska ulja sa dejstvom protiv gastrointestinalnih nematoda. Hoste i saradnici (2008) smatraju da je najbolji način za identifikaciju prirodnih resursa sa potencijalnom biološkom aktivnošću opšti skrining većeg broja vrsta biljaka određenog geografskog ili klimatskog područja. Pri tome se, kao filteri, koriste tri glavna načina selekcije potencijalnih biljaka: 1. korišćenje prethodnih znanja o biohemijskoj prirodi bioaktivnog jedinjenja; 2. korišćenje tradicionalnih znanja, odnosno naučna potvrda efikasnosti tradicionalno upotrebljivanih resursa i 3. posmatranje samih životinja u kontekstu vrsta biljaka koje koriste u svojoj ishrani i povezivanje sa određenim medicinskim efektima. Sve nabrojano nije jednostavno, ali je neophodno kako bi se uštedelo vreme i finansijska sredstva tako što će se ispitivati samo one biljke za koje je sa razlogom pretpostavljeno da bi mogle imati određenu medicinsku delotvornost.

Do sada je ispitivana i dokazana aktivnost velikog broja različitih etarskih ulja protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca. Neki od objavljenih radova se baziraju na samim etarskim uljima, a neki na njihovim sastojcima. U tom kontekstu se često spominju etarska ulja različitih vrsta eukaliptusa (*Eucalyptus strategiana*, *Eucalyptus citriodora* i *Eucalyptus globulus*), limunske trave (*Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon martinii* i *Cymbopogon schoenanthus*), različite vrste i hibridi mente (*Mentha x piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha longifolia*), čajevca (*Melaleuca alternifolia* i *Melaleuca quinquenervia*), timijana (*Thymus vulgaris*), bibera (*Piper aduncum*), cimeta (*Cinnamomum verum*), kao i mnoge druge egzotične biljke (*Arisaema franchetianum*, *Citrus sinensis*, *Croton zehtneri*, *Hesperozygis myrtooides*, *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* *Ruta chalepensis*, *Zanthoxylum simulans* i druge) (Molefe et al., 2012; Fonseca et al., 2013; Katiki et al., 2017; Andre et al., 2018, Zeineldin et al., 2018). Ovom spisku se mogu dodati etarska ulja još nekih nama poznatih biljaka kao što su đumbir (*Zingiber officinale*), lavanda (*Lavandula officinalis*), crni pelen (*Artemisia vulgaris*), ruzmarin (*Rosmarinus officinalis*) i druge (Chagas et al., 2018; Ferreira et al., 2018; Malik et al., 2019; Pinto et al., 2019). Vučinić i saradnici (2012) ističu značaj origana (*Origanum vulgare*), bogatog karvakrolom i timolom, kao lekovite biljke sa izuzetno širokom mogućnošću primene u veterinarskoj medicini. Pretpostavlja se da bi ova biljka mogla biti efikasna i protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca, iako su literaturni podaci na ovu temu oskudni. Ne treba zaboraviti ni etarsko ulje rtanjskog čaja (*Satureja montana*), naše izuzetno lekovite biljke poreklom sa planine Rtanj, koja se već naširoko koristi u humanoj medicini kod različitih oboljenja. Ratajac i saradnici (2011) su ispitali i dokazali antimikrobni potencijal ovog ulja. Rezultati dobijeni gasnom hromatografijom u ovom istraživanju su dokazali izuzetno bogat sastav ovog etarskog ulja (karvakrol, linalool, p-cimen). Može se zaključiti da bi ono moglo biti delotvorno i protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca, što bi tek trebalo ispitati.

Pojedina istraživanja se baziraju i na ispitivanju efikasnosti određenih izolovanih aktivnih sastojaka etarskih ulja. Tako su Andre i saradnici (2016) ispitivali efikasnost karvakrola i njegovog acetilovanog derivata karvakrol-acetata (CA) protiv *Haemonchus contortus* i dokazali dobru efikasnost u *in vitro* (inhibicija izleganja larvi 99,7% za karvakrol i 89,3% za CA pri koncentraciji 8 mg/ml; inhibicija razvoja larvi od 100% i za karvakrol i za CA pri koncentraciji 2 mg/ml) i *in vivo* uslovima (65,9% redukcija broja parazitskih jaja u fecesu kod ovaca 16 dana nakon tretmana sa CA). Slično istraživanje su sprovedi Andre i saradnici (2017) za timol i timol-acetat (TA), koji su ispoljili sličnu efikasnost u *in vitro* (inhibicija izleganja larvi od 98% za timol pri koncentraciji 0,5 mg/ml, a 67,1% za TA pri koncentraciji 4 mg/ml) i u *in vivo* ispitivanjima (redukcija broja jaja u fecesu 14 dana nakon tretmana od 59,8 % za timol i 76,2 % za TA) u poređenju sa karvakrolom i CA. Na kraju, na osnovu rezultata ispitivanja toksičnosti aktivnih sastojaka ulja i njihovih acetilovanih derivata na miševima, autori zaključuju da acetilovanje dodatno smanjuje toksičnost ovih sastojaka.

Katiki i saradnici (2017) su poredili efikasnost više različitih aktivnih sastojaka koji se inače nalaze u etarskim uljima, na osnovu srednje letalne koncentracije (LC_{50}) ovih sastojaka prema multirezistentnim sojevima *Haemonchus contortus*. Dobijeni su sledeći rezultati: cinamaldehyd, aktivan sastojak etarskog ulja cimeta, je bio najefikasniji sa LC_{50} od 0,018 mg/ml, koga slede anetol i karvon sa LC_{50} od 0,07, odnosno 0,085 mg/ml. Nakon njih, najefikasniji su bili već spomenuti karvakrol i timol sa LC_{50} od 0,11 i 0,13 mg/ml, koje slede linalool (0,29), vanilin (0,57), eugenol (0,57), cineol (4,74) i limonen (207,5 mg/ml). U istom ispitivanju, istraživači su ispitali i efikasnost mogućih binarnih, tercijarnih i kvatenernih sinergističkih kombinacija pomenutih aktivnih sastojaka, gde su se kao najefikasnije pokazale kombinacije cinamaldehyd:karvakrol i anetol:karvon sa LC_{50} od 0,012, odnosno 0,013 mg/ml. Očigledno je da bi se u kliničkoj praksi pored čistih etarskih ulja ili pojedinih njihovih sastojaka, potencijalno mogle koristiti i njihove kombinacije radi dobijanja pozitivnog željenog sinergističkog efekta, kao i kombinacije sa već postojećim lekovima.

Marjanović (2019) je na osnovu rezultata dobijenih u svom istraživanju zaključio da karvakrol, karveol, mentol i timol imaju visok potencijal za primenu u antinematodnoj terapiji, samostalno ili u kombinaciji sa lekovima agonistima GABA receptora nematoda (avermektini, piperazin), agonistima nAChR (tetrahidropirimidini i imidazotiazoli) ili aminoacidonitrilima. Visoku efikasnost navedenih aktivnih sastojaka etarskih ulja autor objašnjava njihovim specifičnim i jedinstvenim mehanizmom dejstva koji im omogućava potencijalno visoku aktivnost, čak i protiv nematoda rezistentnih na klasične antihelminthike. Isto toliko je važno, koliko i visoka efikasnost, da navedene aktivne supstance u koncentracijama koje ispoljavaju jasno antinematodno dejstvo nemaju značajnije farmakološke efekte na receptore sisara, što govori u prilog njihovoj selektivnosti i niskoj toksičnosti za same životinje (Marjanović, 2019). Ovu hipotezu su potrdili i Chagas i saradnici (2018), koji su dokazali veoma nisku citotoksičnost različitih vrsta

mente (*M. arvensis* i *M. piperita*) na kulturama humanih keratinocita. Zbog toga ne čudi činjenica da su etarsko ulje *M. arvensis* i njegov glavni sastojak mentol već odobreni od strane Američke uprave za hranu i lekove (FDA) za upotrebu putem hrane za životinje (Chagas et al., 2018). S obzirom da se generalno smatra bezbednim, Trailović i saradnici (2015) zaključuju da se pored kombinovane primene sa komercijalnim antihelminticima u terapiji, karvakrol može koristiti i u prevenciji nematodnih infekcija putem ishrane životinja. Važno je napomenuti da toksičnost etarskih ulja zavisi od nekoliko faktora, pre svega od vrste ulja i njegovih aktivnih sastojaka, ali i od primenjene doze, što se mora uzeti u obzir prilikom ispitivanja.

Značaj i ograničenja dosadašnjih ispitivanja

Prilikom dokazivanja efikasnosti određene supstance, pa tako i etarskih ulja, sa potencijalnim antihelmintičkim dejstvom, mogu se koristiti različite *in vitro* i *in vivo* metode. Različitim *in vitro* metodama se ispituje uticaj određene supstance na pojedine stadijume razvoja parazita u laboratorijskim uslovima. Tako se kod EHT (engl. *egg hatch test*) ispituje inhibitorno dejstvo na piljenje larvi iz jaja, kod LDT (engl. *larval development test*) uticaj na razvoj larvi, dok se kod AWMT (engl. *adult worm motility test*) ispituje uticaj supstance na pokretljivost adultnih oblika parazita. Ukoliko se istovremeno vrši ispitivanje uticaja jedne ili malog broja supstanci i ukoliko uslovi to dozvoljavaju, u praksi se najčešće koristi kombinacija više testova kako bi se dobila što jasnija slika o potencijalnom antihelmintičkom dejstvu neke supstance. Sa druge strane, *in vivo* metode se baziraju na ispitivanju efikasnosti u samim terenskim uslovima i na taj način mogu pružiti jasniju sliku o efikasnosti određene aktivne supstance. Pri tome, najčešće korišćena metoda – FECRT (engl. *faecal egg count reduction test*) meri uticaj primene leka na smanjenje broja parazitskih jaja u fecesu životinja u određenim danima nakon tretmana (Hoste et al., 2008; Borges et al., 2016).

Većina ispitivanja uticaja određenih etarskih ulja na gastrointestinalne nematode ovaca se bazira na *in vitro* metodama, dok su samo u nekima od njih uporedno sprovedena i odgovarajuća *in vivo* ispitivanja. Postavlja se pitanje da li se određena supstanca može zaista smatrati efikasnom i primenljivom samo na osnovu laboratorijskih rezultata. Zbog toga, Hoste i saradnici (2008) smatraju da se zaključci izvedeni iz dobijenih *in vitro* rezultata moraju uvek potvrditi u daljim *in vivo* studijama, kako kontrolisanim, tako i u farmskim uslovima. U pojedinim slučajevima su se etarska ulja, čija je antihelmintička aktivnost pre toga bila dokazana u različitim laboratorijskim testovima, pokazala kao neefikasna ili nedovoljno efikasna u samim terenskim uslovima. Prema vodiču Svetskog udruženja za napredak u parazitologiji – WAAVP, traži se efikasnost od najmanje 90% (Geary et al., 2012). Ovakve i slične razlike između rezultata dobijenih u *in vitro* i *in vivo* studijama Hoste i saradnici (2008) i Borges i saradnici (2016) objašnjavaju anatomsko-fiziološkim specifičnostima vezanim za preživare. Naime, s obzirom

na peroralnu primenu etarskih ulja, flora i različiti sastojci rumena preživara mogu značajno uticati na njihove aktivne sastojke u smislu strukturalnih promena i njihove deaktivacije u rumenu, što dovodi do neefikasnosti samih ulja. Zbog svega navedenog, potrebno je pronaći načine da se zaobiđu navedene barijere, pri čemu se u tom kontekstu najčešće spominju odabir odgovarajuće doze, formulacije etarskih ulja i načina aplikacije, višekratna aplikacija etarskih ulja u odgovarajućim vremenskim intervalima kao i već pomenuti sinergizam etarskih ulja ili njihovih sastojaka. Chagas i saradnici (2018) tome pridodaju da treba gledati u pravcu etarskih ulja i aktivnih sastojaka koji se izlučuju iz organizma fecesom (jer utiču na parazite u svim fazama razvoja duž gastrointestinalnog trakta), a ne glukuronidacijom putem urina. Potrebno je ipak naglasiti da su laboratorijska ispitivanja veoma važna i da služe kao osnov i prvi korak u dokazivanju efikasnosti određene supstance, pa tako i etarskih ulja, na osnovu kojih se mogu planirati ispitivanja i u *in vivo* uslovima.

Kao jedna od mogućnosti povećanja efikasnosti etarskih ulja u terenskim uslovima se poslednjih godina sve više spominje nanotehnologija, koja je privukla veliko interesovanje istraživača širom sveta zbog fizičkih, hemijskih i bioloških svojstava nanopreparata (Tomar et al., 2017). Među ovim tehnikama se posebno ističu tehnike nanokapsulacije i nanoemulzije. Nanokapsulacija predstavlja tehniku kod koje se mala količina aktivne čestice pakuje u jedinstvenu polimernu membranu kako bi se formirale kapsule. Ova tehnika se koristi za sigurno čuvanje bioaktivnih jedinjenja (mikronutritiventi, polifenoli, enzimi, biljni proizvodi i antioksidanti) od nepovoljnih uslova spoljašnje sredine, kao i za njihovo otpuštanje na ciljnim mestima. Pri tome treba obratiti pažnju na to koja će se enkapsulirajuća matrica koristiti jer od nje zavise navedena svojstva, kao i na njenu toksičnost po životinje i životnu sredinu. Sa druge strane, nanoemulzije, male kapljice veličine 20-200 nm, predstavljaju termodinamički stabilne, optički čiste, prozirne ili providne heterogene sisteme sastavljene od dve faze tečnosti (uljana i vodena) uz dodatak jedne ili više površinski aktivnih materija (tween 80, kapriol 90, poloksamer 124 i 188 i druge). U svom istraživanju, Macedo i saradnici (2019) su dokazali veću efikasnost nanoemulzije etarskog ulja *Cymbopogon citratus* (CcEOn) u poređenju sa standardno pripremljenim preparatom (CcEO) u *in vivo* uslovima (redukcija broja jaja u fecesu 8. dana nakon tretmana je iznosila 51,7% za CcEOn u poređenju sa samo 19,6% za CcEO, dok je 16. dana redukcija iznosila 47 % za CcEOn u poređenju sa 23,9% za CcEO). Međutim, broj istraživanja u oblasti primene nanopreparata etarskih ulja i njihovih antihelminičkih svojstava je još uvek ograničen.

Pored navedenih ograničenja, prednosti upotrebe biljaka i njihovih produkata kao antihelminitika su brojne. Ferreira i saradnici (2018) ističu prednosti upotrebe lekovitog bilja zbog ekonomičnosti i lake dostupnosti, posebno u manje razvijenim državama sa razvijenim biodiverzitetom. Isti autori navode da su zbog velikog broja aktivnih sastojaka koje deluju sinergistički na različite stadijume parazita, biljni preparati verovatno manje podložni razvoju rezistencije od stra-

ne parazita u poređenju sa sintetskim antihelminticima. To potvrđuju i Trailović i saradnici (2015), koji manju podložnost antihelmintičkoj rezistenciji aktivnih sastojaka etarskih ulja kao što je karvakrol objašnjavaju njihovim višestrukim ciljnim mestima dejstva kod parazita. Takođe, biljni preparati se generalno dobro tolerišu od strane životinja sa toksikološke strane gledišta, a čini se i da ostavljaju malu količinu rezidua u životinjskim proizvodima poput mleka i mesa. Bez obzira na još uvek nedovoljnu efikasnost u terenskim uslovima u svojstvu antiparazitika da se mogu koristiti sama, Macedo i saradnici (2010) smatraju da bi se etarska ulja mogla koristiti zajedno sa sintetskim antihelminticima i drugim metodama kao deo integrisanog pristupa dizajniranog da bi se postigla održiva kontrola parazita u sistemima proizvodnje preživara. Na taj način, etarska ulja i drugi biljni preparata mogu biti veoma značajni u borbi protiv antihelmintičke rezistencije.

ZAKLJUČAK

Etarska ulja predstavljaju vredan prirodni resurs sa dokazanim višestrukim medicinskim potencijalom. Usled sve rasprostranjenije antihelmintičke rezistencije i sve manje efikasnosti sintetskih lekova, potencijalna upotreba etarskih ulja protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca sve više dobija na značaju. Tome ide u prilog činjenica da su etarska ulja bogata različitim aktivnim supstancama koje, usled sinergističkog dejstva, već ispoljavaju značajnu efikasnost u različitim laboratorijskim ispitivanjima protiv svih razvojnih stadijuma parazita. Glavno ograničenje za njihovu primenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi je još uvek nedovoljna efikasnost u terenskim uslovima, a za sada je broj ovih istraživanja ograničen. Ovaj nedostatak bi se mogao otkloniti odabirom najboljih ulja na osnovu prethodnih laboratorijskih ispitivanja, pravilnim odabirom doze, načina primene i formulacije samih ulja, upotrebom nanotehnologije kao i sinergističkom primenom više etarskih ulja ili njihovih izolovanih sastojaka. U svakom slučaju, etarska ulja imaju potencijal da, zajedno u kombinaciji sa prethodno navedenim merama (genetska selekcija životinja, upravljanje pašnjacima, upotreba bakterija i gljiva za biološku kontrolu i razvoj vakcina) budu deo održivog pristupa za kontrolu parazita i da na taj način doprinesu suzbijanju ili značajnom umanjivanju štete koju nanose gastrointestinalni paraziti širom sveta.

LITERATURA

1. Andre WPP, Ribeiro WLC, Cavalcante GS, Santos JMLD, Macedo ITF et al., 2016, Comparative efficacy and toxic effects of carvacryl acetate and carvacrol on sheep gastrointestinal nematodes and mice, *Veterinary Parasitology*, 218, 15, 52-8.
2. Andre WPP, Cavalcante GS, Ribeiro WLC, Santos JMLD, Macedo ITF et al., 2017, Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice, *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 26, 3, 323-30.

3. Andre WPP, Ribeiro WLC, Macedo ITF, Rondon FCM, Bevilacqua CML, 2018, Essential Oils and Their Bioactive Compounds in the Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants, *Acta Scientiae Veterinarie*, 46, 1522, 1-14.
4. Borges DGC, Borges FA, 2016, Plants and their medicinal potential for controlling gastrointestinal nematodes in ruminants, *Nematoda*, 3, e92016.
5. Butnariu M, Sarac I, 2018, Essential oils from plants, *Journal of biotechnology and biomedical science*, 1, 4, 35-43.
6. Chagas ACS, Figuerido A, Politi FAS, Moro IJ, Esteves SN et al., 2018, Efficacy of essential oils from plants cultivated in the Amazonian Biome against gastrointestinal nematodes in sheep, *Journal of Parasitic Diseases*, 42, 3, 357-64.
7. D'Ambola M, Bosco A, Ariano A, Rinaldi L, Bader A et al., 2018, *In vitro* anthelmintic efficacy of *Hypoestes forskalii* (vahl) r.br (Acanthaceae) extracts on gastrointestinal nematodes of sheep, *Veterinary Sciences*, 5, 4, 89.
8. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W, 2016, Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines (Basel)*, 3, 4, 25.
9. Dolinská M, Ivanišinová O, Königová A, Várady M, 2014, Anthelmintic resistance in sheep gastrointestinal nematodes in Slovakia detected by *in vitro* methods, *BMC Veterinary Research*, 10, 1, 233.
10. Ferreira LE, Benincasa BI, Fachin AL, França SC, Contini SHT, et al., 2016, *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep, *Veterinary Parasitology*, 228, 2016, 70-6.
11. Ferriera LE, Benincasa BI, Fachin AL, Contini SHT França SC et al., 2018, Essential oils of *Citrus aurantifolia*, *Anthemis nobile* and *Lavandula officinalis*: *in vitro* anthelmintic activities against *Haemonchus contortus*, *Parasites & Vectors*, 11, 1, 269.
12. Fonseca ZAAS, Coelho WAC., Andre WPP, Ribeiro WLC, Bessa EN et al., 2013, Use of herbal medicines in control of gastrointestinal nematodes of small ruminants: efficacies and prospects, *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 7, 2, 233-49.
13. Geary TG, Hosking BC, Skuce PJ, Von Samson-Himmelstjerna G, Maeder S et al., 2012, WAAVP Guideline on anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses, *Veterinary Parasitology*, 190, s1-2, 306-16.
14. Hoste H, Torres-Acosta JF, Alonso-Diaz MA, Brunet S, Sandoval-Castro C et al., 2008, Identification and validation of bioactive plants for the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants, *Tropical Biomedicine*, 25, 1 Suppl., 56-72.
15. James CE, Hudson AL, Davey MW, 2009, Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival 462 of the fittest? *Trends in Parasitology*, 25, 7, 328-35.
16. Katiki LM, Barbieri AME, Araujo RC, Veríssimo CJ, Louvandini H et al., 2017, Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* *in vitro*, *Veterinary Parasitology*, 243, 47-51.
17. Macedo ITF, Bevilacqua CMI, de Oliveira LMB, Camurça-Vasconcelos ALF, Vieira LS et al., 2010, Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes, *Veterinary Parasitology*, 173, 93-8.
18. Macedo ITF, de Oliveira LMB, Andre WPP, Filho JVA, dos Santos JML et al., 2019, Anthelmintic effect of *Cymbopogon citratus* essential oil and its nanoemulsion on sheep gastrointestinal nematodes, *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 28, 3, 522-27.

19. Malik S, de Mesquita LSS, Silva CR, de Mesquita JWC, de Sá Rocha E et al., 2019, Chemical profile and biological activities of essential oil from *Artemisia vulgaris* L. cultivated in Brazil, *Pharmaceuticals (Basel)*, 12, 2, 49.
20. Marjanović Đ, 2019, Ispitivanje mehanizma antinematodnog dejstva odabranih monoterpenoidnih i diterpenoidnih aktivnih sastojaka esencijalnih biljnih ulja. Doktorska disertacija, Univezitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, Katedra za Farmakologiju i toksikologiju
21. Molefe NI, Tsotetsi AM, Ashafa AM, Thekisoe OMM, 2012, *In vitro* anthelmintic effects of *Artemisia afra* and *Mentha longifolia* against parasitic gastro-intestinal nematodes of livestock, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 7, 3, 157-63.
22. Pinto NB, de Castro LM, Azambuja RHM, Capella GA, de Moura MQ et al., 2019, Ovicidal and larvicidal potential of *Rosmarinus officinalis* to control gastrointestinal nematodes of sheep, *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 28, 4, 807-11.
23. Ratajac R, Stojanović D, Petrović JM, Milanov D, Vasić R i sar., 2011, Antibacterial activity of the essential oil of Mountain Savory (*Satureja montana*) against *Arcanobacterium pyogenes*, *Planta Medica*, 77, 12, 1457.
24. Simin S, Simin V, Kuruca Lj, Savović M, Bugarski D et al., 2014, Preliminary evidence of ivermectin resistance in sheep gastrointestinal strongyles in Serbia, *Proceedings of XVI Epizootiology days of Serbia*, November 06-07, Zrenjanin, 125-6.
25. Simin S, Savović M, Lalošević V, 2018, Rezistencija na antihelminlike – ograničavajući faktor uspešne kontrole želudačne-crevne strongilidoze ovaca, *Seminar Zdravstvena zaštita i reprodukcija farmskih životinja*, 26. maj, Novi Sad, 101-12.
26. Sovilj M, Spasojević M, 2001, Proizvodnja i primena etarskih ulja iz domaćeg lekovitog bilja, *Časopis za procesnu tehniku i energetiku u poljoprivredu*, 5, 1-2, 34-8.
27. Tomar RS, 2017, Evaluation of anthelmintic activity of herbal nanoformulations against gastrointestinal nematode, *Haemonchus contortus*, PhD Thesis, Dayalbagh Educational Institute, Deemed University.
28. Trailović SM, Marjanović ĐS, Nedeljković-Trailović J, Robertson AP, Martin RJ, 2015, Interaction of carvacrol with the *Ascaris suum* nicotinic acetylcholine receptors and gamma-aminobutyric acid receptors, potential mechanism of antinematodal action, *Parasitology Research*, 114, 8, 3059-68.
29. Vučinić M, Nedeljković-Trailović J, Trailović S, Ivanović S i sar., 2012, Mogućnost primene etarskih ulja u veterinarskoj medicini i stočarstvu s posebnim osvrtom na etarsko ulje origana, *Veterinarski glasnik*, 66, 5-6, 407-16.
30. Zieneldin M, Abdelmegeid M, Barakat R, Ghanem M, 2018, A Review: Herbal Medicine as an Effective Therapeutic Approach for Treating Digestive Disorders in Small Ruminants, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 56, 1, 33-44.

Summary: *The economic losses caused by gastrointestinal nematodes to modern sheep farming are increasing due to the development of resistance to regular anthelmintics used in everyday clinical practice. Therefore, researchers around the world nowadays are looking for alternative methods to control these parasites. Essential oils, herbal products rich in various naturally active compounds, have become a viable option because of their properties. Namely, according to the previous research, essential oils show high activity against all nematode development stages and are generally well tolerated by mammals from the toxicological point of view. So far, high efficacy of a large number of essential oils against sheep gastrointestinal nematodes have been demonstrated (different species of eucalyptus, lemongrass, mint, tea tree, thyme, cinna-*

mon, ginger, mugwort, rosemary etc), their active compounds (thymol, carvacrol, carvone, anethole, menthol, cinnamaldehyde, linalool, vanillin, eugenol, cineole, limonene) as well as their combinations (e.g. cinnamaldehyde:carvacrol; anethole:carvone). However, the main limitation for their everyday use is still insufficient efficacy in field conditions, which originates from the anatomical and physiological specificities associated with ruminants, as well as from the pharmacokinetic properties of certain essential oils. This problem could be overcome by selecting the appropriate essential oils with adequate dosage, method of application and formulations of oils, by combined synergistic application of multiple oils or their ingredients, as well as the using of nanotechnology. Regardless of this problem, essential oils certainly have the potential to be, in combination with other drugs and measures, part of an integrated approach designed to achieve sustainable parasite control in ruminant production systems. Nevertheless, further examinations on this topic are needed, especially of testing efficacy in field conditions.

Key words: active compounds, anthelmintic resistance, essential oils, gastrointestinal nematodes, sheep

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд
636.2/.9(082)
614.449.973(082)

СИМПОЗИЈУМ са међународним учешћем "Здравствена заштита и репродукција папкара, копитара, живине и месоједа" (4 ; 2022 ; Београд)

Zbornik predavanja / IV Simpozijum sa međunarodnim učešćem "Zdravstvena zaštita i reprodukcija papkara, kopitara, živine i mesojeda", Beograd, 8 i 9. april 2022. ; [organizator] Udruženje veterinara praktičara Srbije ; [glavni i odgovorni urednik Bojan Blond]. - Beograd : Udruženje veterinara praktičara Srbije, 2022 (Beograd : Naučna KMD). - 285 str. : ilustr. ; 24 cm

Tiraž 600. - Bibliografija uz pojedine radove. - Summaries.

ISBN 978-86-900417-6-3

1. Удружење ветеринара велике праксе Србије (Земун)

а) Домаће животиње - Здравствена заштита - Зборници б) Домаће животиње - Размножавање - Зборници

COBISS.SR-ID 62055689