

Vědecký výbor výživy zvířat

**TOXICKÉ LÁTKY PŘÍRODNÍHO
PŮVODU (SEKUNDÁRNÍ
METABOLITY ROSTLIN A HUB)
V SUROVINÁCH PRO VÝROBU KRMIV
A MOŽNOSTI JEJICH STANOVENÍ**

**Doc. RNDr. Lubomír Opletal, CSc.
Ing. Bohumír Šimerda**

Praha, červen 2006



Výzkumný ústav živočišné výroby
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,
PSČ: 104 01, www.vuzv.cz

OBSAH

1	Antiprotozoika a látky ovlivňující metabolismus <i>Histomonas</i> z obecného pohledu	3
1.1	Systematické zařazení	3
1.1.1	Kmen Apicomplexa	3
1.1.2	Kmen Parabasala	4
1.2	Patofyziologické projevy jmenovaných protozoálních infekcí	5
1.2.1	Kokcidiózy	5
1.2.2	Histomoniáza	7
1.3	Použití antikokcidik	10
2	Studium a použití látek přírodního původu ovlivňujících metabolismus prvoků	11
2.1	Antiprotozoika širšího spektra	13
3	Antikokcidika v širším přehledu	17
3.1	Dezinfekční postupy	17
3.2	Vakcinace	17
3.3	Vývoj antikokcidik	18
3.4	Experimentální modely používané pro studium účinků potenciálních antikokcidik	19
3.5	Praktické použití látek proti kokcidiím	21
3.5.1	Anorganické látky	21
3.5.2	Vitamíny	22
3.5.3	Látky zvyšující imunitu vůči infekci	23
3.5.4	Aplikace betainu	24
3.5.5	Přírodní látky jako antikokcidika	25
3.5.6	Komerční směsi s obsahem přírodních látek doporučované při kokcidiózách	28
3.6	Praktické použití látek proti histomoniáze	28
4	Látky ovlivňující metabolismus inkluzních mikroorganismů a diarrhoe	29
5	Možnosti zásahu přírodními látkami do rozvoje kokcidióz	30
6	Závěr	35
7	Literatura	37

1. Antiprotozoika a látky ovlivňující metabolismus *Histomonas* z obecného pohledu
Látky působící na patogenní prvoky u hospodářských zvířat mají značný hospodářský význam a to především v ochraně zvířat před kokcidiózou a nákazami způsobenými dalšími bičíkovci, především *Histomonas meleagridis*.

1.1 Systematické zařazení

1.1.1 Kmen Apicomplexa

Kmen Apicomplexa (Výtrusovci) jsou výhradně cizopasní, specializovaní prvoci se složitým vývojovým cyklem, v případě kokciidií je lze zařadit následovně:

Třída:	Sporozoa
Podtřída:	Coccidia
Řád:	Eucoccidiida
Podřád:	Eimeriina
Čeleď:	Eimeriidae

Kokcidie jsou početnou skupinou obligátně intracelulárních jednobuněčných parazitů obratlovců, s několika druhy parazitujícími u bezobratlých živočichů nejpočetnější čeleď Eimeriidae se svými 18 rody zahrnuje druhy s obligátně jednohostitelským - monoxenním typem vývojového cyklu spolu s několika druhy se schopností vytvářet klidová stádia v rezervoárových hostitelích. Vícehostitelský – heteroxenní - vývojový cyklus některých zástupců rodu *Caryospora* je v rámci čeledi vyjímkou.

Vývojový cyklus obligátně monoxenních zástupců čeledi je možno rozdělit do čtyř hlavních částí:

1. **SPOROGONIE**

je označení pro finální část vývojového cyklu, jehož konečným stadiem je infekční exogenní stadium - oocysta. Během procesu sporogonie dochází k uvolnění oocysty z hostitelské buňky a k jejímu dělení ze stadia jedné buňky tzv. sporontu přes sporoblasty na finální, infekce schopné sporozoity.

2. **EXCYSTACE**

Po pozření oocysty vhodným hostitelem dochází k uvolnění sporozoitů z oocyst - k excystaci.

Mezi faktory podmiňující excystaci patří - tělesná teplota hostitele, koncentrace oxidu uhličitého, žlučové soli a trypsin. Jejich působením dochází k dezintegraci stěny oocysty a k uvolnění pohyblivých sporozoitů do lumen střeva.

3. **MERGONIE (schizogonie)** Proces mergonie začíná penetrací sporozoitů do buněk hostitele. V buňce se sporozoity zakulatí a mění na jednojaderný meront. Uvnitř merontu dochází k mnohočetnému mitotickému dělení - tzv. endopolygonii, jejímž výsledkem jsou rohlíčkovitá stádia - merozoiti.

4. **GAMETOGONIE**

Merozoiti se po penetraci do hostitelské buňky transformují na stadia pohlavního množení tzv. gamonty. Zatímco některé merozoity dávají vzniknout samčím mikrogamontům, jiné se transformují na samičí makrogamonty. Jádro mikrogamontu se mnohočetně dělí za vzniku početných mikrogamet. Mikrogamety jsou protáhlé buňky vybavené dvojicí bičíků, které jim po uvolnění se z hostitelské buňky umožňují při vyhledávání makrogamontů čilý pohyb. Makrogamonty neprodělávají dělení, pouze rostou a po oplodnění mikrogametou se mění na zygotu, opouštějící hostitelskou buňku a po sléze i tělo hostitele. Výživa je osmotrofní.

Kmen je systematicky dělen na několik podtříd; významná je především podtřída Coccidia – kokcidie a podřád Eimeriina. Sporozoiti žijí intracelulárně, k syzygii nedochází. Gamogonie vede ke sporogonii a vzniku oocysty. Jsou to význační parazité obratlovců i bezobratlých. Náleží sem rody:

Eimeria (nejvýznamnější)

Isospora

Sarcocystis

Toxoplasma

Cryptosporidium

ad.

1.1.2 Kmen Parabasala

Kmen Parabasala (Sarcomastigophora), dělený na dva řády Trichomonadida a Hypermastigida, soustřeďuje anaerobní amitochondriální flagelanty; charakteristickými znaky je parabazální aparát (Golgiho komplex je spojen s parabazálními vlákny, je přítomna dvojitá membrána zahrnující organely (hydrogenosom) a buněčné dělení je zajištěno semiopenní pleuromitózou s extranukleárním vřetenem). Ačkoliv má ve svém názvu obsaženy oba

charakteristické znaky, Sarcodina – kořenonožci/améby a Mastigophora – bičíkovci, systematika není dosud zcela vyjasněna, a proto ji zde neuvádíme do detailu.

Tato rozsáhlá majorita parabazalidních druhů žije endobioticky buď jako neškodní intestinální komensálové, nebo jako intestinální symbionté (mutualisté) v termitech a lignofágních švábech. Patogenní část těchto parabaziliálních druhů představuje jen velmi nepatrnou část všech taxonů, nicméně, jsou velmi závažní, protože mezi ně patří významní parazité jako *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas foetus*, *Histomonas melagridis* ad.

1.2 Patofyziologické projevy jmenovaných protozoárních infekcí

Protozoární infekce jsou problémem mnohem širším, než se na první pohled zdá a jak bude ukázáno v pozdějším textu. Časté intenzivní snahy o odstranění různých forem těchto prvoků nevedou k očekávanému úspěchu. Existuje domněnka, že je to způsobeno adventivními infekcemi a to nejen bakteriózami (*Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*), ale také helmintózami, které se mohou na tíži stavu podepsat. Někdy dochází při diagnostikovaných infekcích některými prvoky (*Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis neurona* ad.) ke zhoršení stavu v důsledku infekcí jinými, doprovodnými protozoárními agens, zejména druhem *Neospora caninum*^{1,2}; takové případy se však netýkají ptáků.

1.2.1 Kokcidiózy

Kokcidióza se vyskytuje zejména u mladých jedinců (především u drůbeže, kde jsou nejvymávanější kuřata ve stáří 3 - 6 týdnů), ale postihuje i další vnímavá hospodářská i volně žijící zvířata (bažanti, zajáci, mufloni). Tato zvířata mohou působit jako vektory a jejich migrací se oospóry diseminují do okolí a mohou vytvořit ohniska nákazy. Tato nákaza však není zpravidla tak masivní, jako znečištění prostředí ve třech zemědělských produkčních oblastech a to ve velkochovech:

- slepičích a krůtích brojlerů (*Eimeria*),
- prasat (*Isospora*, *Cryptosporidium*),
- telat, jehňat, králíků (různí patogeni).

Oocysty bývají rozšiřovány do neinfikovaných oblastí jednak přenosem ošetřujícím personálem (a tam mohou být rezervoárem příští infekce) a dále přecházejí s výměty do okolního prostředí, kde se zdržují relativně dlouhou dobu a mohou odtud být zpětně instalovány.

Často se stává, že chovy jsou infikovány širším spektrem prvoků (skupina *Eimerií* u drůbeže, nebo např. *Isospora* a *Cryptosporidium* u selat). Běžné antibiotické terapie vykazují

vůči těmto parazitům relativně nízký efekt, ve střevě lze nalézt mírný zánět, doprovázený vodnatými, bílo-žlutými výkaly.

Zdá se, že v tuto chvíli je hospodářsky nejvýznamnější infekce drůbeže zástupci rodu *Eimeria*. Prvoci parazitují ve střevech, jejich biologický cyklus je složitý a trvá přibližně 7 dnů. K infekci dochází alimentární cestou oocystami, které jsou ve vnějším prostředí velmi odolné. U kuřat se objevuje snížení příjmu krmiva, malátnost, skleslost, průjem smíšený s krví, dehydratace organismu a následné uhynutí. Patogenní druhy kokcií žijí u drůbeže ve slepém střevě (*Eimeria tenella*) a tenkém střevě (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*). Z uvedeného plyne, že zásah proti tomuto invaznímu agens je velmi problémový. Jakmile dojde k rozšíření onemocnění v chovu a je nutné začít s terapií, bývají ekonomické výsledky často tristní, i když nemusí dojít k masivnímu úhynu. Komplikujícím faktorem je to, že patogen napadající zvířata bývá často ve směsných kulturách: zásah do jeho metabolismu v tenkém střevě je v podstatě dobře možný, zbavit se patogenního mikroorganismu *de facto* v uzavřeném slepém střevě je však velmi problematické. Vzhledem k fylogenetické jednoduchosti prvoka se vytváří relativně rychlá rezistence, a proto musí být prováděna v poměrně krátkých časových intervalech (1-3 roky) rotace antikokcidik. Velmi zásadní se proto objevuje požadavek čistoty chovu a to nejen při jeho založení, ale také v průběhu výkrmu; i když jsou chovy čisté, nelze si být jist tím, že někteří jedinci nejsou infikováni. Nicméně ani tento faktor nezaručuje, že se infekce nevrátí.

Z hlediska současného výzkumu je atraktivní věnovat pozornost EtCRK2, cyklin-dependentnímu kinasovému genu, k jehož expresi dochází v průběhu sexuální i asexuální fáze životního cyklu *Eimeria tenella*³.

1.2.2 Histomoníáza⁴

Protože o infekci tímto invazním činitelem je v současné literatuře (nejen české) publikováno vzhledem k infekci Eimeriemi zanedbatelné množství studií, uvádíme na tomto místě širší pohled na problém.

Histomonas meleagridis je mnohotvarý organismus; parazit se vyskytuje v dutině slepého střeva a jeho sliznici ve formě bičíkaté, s jedním nebo dvěma bičíky. Exempláře se dvěma bičíky jsou ve skutečnosti parazité v pokročilém stupni replikace, protože reprodukce se uskutečňuje jednoduchým binárním dělením. V minulosti byl předmětem mnoha diskusí také nepatogenní *Parahistomonas wenrichii*, mající bičíky čtyři. Nynější konsenzus je více či méně takový, že patogenní *Histomonas* nemá s *Parahistomonas wenrichii* nic společného, až na to, že sdílí stejného mezihostitele *Heterakis gallinarum*.

Ve tkáních, jako jsou stěna slepého střeva nebo játra, se *Histomonas* vyskytuje pouze ve formě améboidní, intracelulární. Ve skutečnosti je tato tkáňová forma dalším bodem k diskusi, protože někteří autoři rozlišují tři odlišné tkáňové formy:

- formu invazní (8 – 17 μm) – formování panožek
- formu vegetativní,
- formu cystickou – zřejmě forma degenerativní, nachází se například uvnitř destruované jaterní tkáně.

Uvnitř parazita *Heterakis gallinarum* se nachází další, menší forma, která je příčinou jedné z nejintenzivnějších diskusí, a to diskusi o roli *Heterakis* v životním cyklu *Histomonas*. Tyto menší, specifické formy jsou důvodem, že správné pojmenování pro *Heterakis* ve vztahu k *Histomonas* je „mezihostitel“, a ne pouze „vektor“ nebo „přenašeč“, který může hrát roli ve složitém životním cyklu cizopasníka; u mezihostitele je pozorovatelné přizpůsobení se nebo změny cizopasníka, které jsou nutné pro dokončení jeho cyklu. U přenašeče nejsou tyto změny patrné. Bylo prokázáno, že hostitel *Heterakis* je pro přežívání *Histomonas* rozhodující a *Histomonas* se za účelem schopnosti využití tohoto rozhodujícího mezihostitele přizpůsobí. Je-li *Histomonas* ve slepém střevě ptáků dospělým *Heterakis* pozřen, penetruje do jeho střevní sliznice a migruje do jeho reprodukčních orgánů (obou pohlaví). Mimo to se histomonády v reprodukčním traktu *Heterakis* replikují, velikost *Histomonas meleagridis* se postupně redukuje a následkem toho dochází k jeho aktivní invazi do vajíček *Heterakis*. Za jiných okolností není schopna *Histomonas* přežít. Na rozdíl od kokcií druhů *Eimeria* nemají histomonády vytvořenou žádnou cystu, která by jim poskytovala možnost přežití déle než den. Histomonády jsou schopny způsobit onemocnění při nakažení ptáků kloakální cestou, avšak se stoupajícím časem jejich pobytu v okolním prostředí se stávají méně aktivní a po

pouhých 18 hodinách ztrácí veškeré schopnosti nakažení. Na druhé straně bylo také zjištěno, že je-li tento čerstvý infekční kloakální materiál podán perorálně, je možnost úspěšného přenosu zanedbatelná. Neschopnost průchodu bariérou žaludku s nízkou hodnotou pH, je dalším významným faktorem v této záležitosti. Toto zjištění podporuje význam *Heterakis* v životním cyklu *Histomonas*. Vzniká ale také určitý údiv, proč není mnohokrát žádný *Heterakis* u histomonádou infikovaných ptáků ani nakaženého hejna nalezen, jestliže je *Heterakis* pro *Histomonas* tak zásadní. Pro odpověď je nutné uvést několik různých zjištění, týkajících se obou organizmů.

Zdá se, že nejdůležitějším důvodem je tzv. „neslučitelnost“ mezi hlístem a prvokem; přenos *Heterakis* je mnohem méně úspěšný, jsou-li larvy tohoto červa nositelem a hostitelem *Histomonas*. Vyšší míra infekce histomoníazy představuje menší možnost pro setrvávání *Heterakis* ve slepém střevě. Skutečné příčiny však nejsou známy, lze se jen domnívat, že jednu z nich představuje zánětlivý proces slepého střeva, aktivovaný poškozením oběma parazity, což červům zabraňuje v průniku jeho stěnou. V průběhu životního cyklu mají larvy *Heterakis*, předtím než se vrátí do lumene střeva kde dospívají, histotropní fázi. Druhou, možná i prostší příčinou jsou potřeby výživy *Heterakis*, které jsou poměrně zvláštní (to je důvodem, proč se nacházejí převážně ve slepém střevě) a skládají se z částečně strávených výměšků. Je-li přítomen zánětlivý proces, funkce slepého střeva je změněna, červi nenalézají dostatek potravy, což vede k jejich vyhladovění a vymizení.

Je-li histomoníaza v hejně přítomna, poté, co bylo hejno infikováno embryonovanými vajíčky *Heterakis*, není pro její další šíření *Heterakis* nezbytný. Existují domněnky, že parazit se sám změnil a že je nyní proti prostředí více odolný než v období let šedesátých a sedmdesátých, kdy byla prováděna většina zmíněných studií. Pozdější studie jen potvrdily, že ve vnějším prostředí *Histomonas* dlouho nepřežívá, neprochází bariérou nízkého pH žaludku. Skutečnost, že změny managementu, jako je restriktivní krmění, mohou vést ke zvýšení pH ve voleti a žaludku, vysvětluje některé případy existence zvýšené možnosti na přímý přenos *Histomonas*. Také bylo prokázáno, že experimentální perorální přenos čerstvými kontaminovanými exkrementy byl po půstu ptáků úspěšný.

Existují domněnky, že léty se chov změnil a vyskytují se i mezidruhové rozdíly v citlivosti k *Histomonas* a *Heterakis* (například bažanti a krůty). Dále jsou nalézány rozdíly i mezi plemeny jednoho druhu (například Rhode Island Red ve srovnání s kuřaty New Hampshire). Proto je důvodný požadavek, aby další výzkum zhodnotil, zda i tento faktor nemůže být důvodem, proč vznikla domněnka, že chovatelům drůbeže nastane více problémů než v minulosti.

V experimentálních skupinách bez *Heterakis* byli použiti jako šířitelé histomoniázy ptáci infikovaní kloakálně. Ukázalo se, že přímý přenos je možný a že rychlost šíření nákazy je přímo úměrná s procentem ptáků-širitelů. To, že se onemocnění mohlo dále rozšířit na celé hejno, způsobilo pouhých 10 % experimentálně infikovaných ptáků. Při použití 25 % ptáků jako širitelů podlehl celá skupina exitu vlivem *Histomonas* jen po několika málo dnech. Od doby, kdy bylo prokázáno, že přímý perorální přenos není v běžných podmínkách možný, musela být nalezena dlouho hledaná „alternativní cesta“ pro přímý přenos v terénních podmínkách, která by byla stejná jako cesta použitá experimentálně: cesta kloakální. Při experimentální nákaze ptáků byly cévky zaváděny vzhůru, několik centimetrů do konečníku, nyní je však zcela jisté, že k úspěšné infekci je dostačující kontakt zevní části kloaky s infekčním agens. Histomonády jsou pravděpodobně transportovány do slepého střeva při jakémsi antiperistaltickém pohybu. V přirozených podmínkách, ve chvíli, kdy se infekce pravděpodobně skrývá v hejně již dlouho nepovšimnuta, by mohl být tento přímý přenos „kloakálního pití“ důležitým faktorem pro vysvětlení explozivního propuknutí histomoniázy. Nicméně tento přímý typ přenosu je nepochybně mechanismem s malým poměrem úspěšnosti, který nabude významu pouze v případě, že je infikováno velké množství ptáků, kteří vylučují vysokou koncentraci histomonád. *Histomonas* používá ve skutečnosti „strategii kamikadze“. Vždy, když je do trusu vyloučeno vysoké množství histomonád, může napadnout vysoké množství „obětí“. Při čerstvém napadení hejna (přes *Heterakis*), jakkoli jsou možnosti tohoto invazního procesu omezené, může být přítomnost *Heterakis* v tomto stupni rozhodující i pro další šíření uvnitř hejna.

Velmi zásadní potřebou je vědět, jaký je distribuční práh pro tento „přímý kamikadze přenos“ nebo jaké podmínky prostředí mohou tento práh snížit a které jej mohou zvýšit. Nepochybně významný na šíření tohoto onemocnění je vliv kvality podestýlky. Nízké teploty a suchost mají negativní vliv na míru přežití *Histomonas* (což je z obecného pohledu velmi logické). Průjem má vliv na kvalitu podestýlky; čím je vyšší, tím masivnější je šíření infekce.

Bylo prokázáno, že přitěžující vliv má také kokcidióza, například společná infekce *E. tenella* a *Histomonas* u brojlerů. Další skutečností je, že nezbytným předpokladem pro vznik lézí u krůt je přítomnost některých bakterií. Tato podpora ve vývoji lézí při histomoniáze byla prokázána u *Clostridium perfringens* a *Escherichia coli*. Vezmeme-li v úvahu vztah dysbakteriózy a kokcidiózy, je jisté, že spolehlivá kontrola kokcidiózy může být při snižování problémů způsobených *Histomonas* rovněž důležitá. Výzkum prahových hodnot je faktorem, který není zdaleka vyřešen. Z uvedeného vyplývá, že oba přenosy, přímý i nepřímý (nepřímý přes *Heterakis*), jsou možné, ale důležité je uvědomit si, že hejno napadené *Heterakis* bude

poskytovat mnohem lepší podmínky pro rychlejší šíření onemocnění uvnitř hejna, nepřetržitý zdroj nákazy pro další hejno umístěné ve stejných prostorách nebo může sloužit jako zdroj infekce pro další prostory. Ochranná opatření, které je možné realizovat:

- *hygienu* (eliminace transferu lidskými přenašeči),
- *zabránit kontaktu s ptáky žijícími ve volné přírodě*, zejména bažanty, kteří jsou nejproduktivnějšími hostiteli *Heterakis*, mohou produkovat masivní množství vajíček *Heterakis* nesoucích *Histomonas*,
- *udržovat aciditu GIT* (žaludku) na nízké úrovni,
- *maximálně snížit vlhkost podestýlky* a zabránit tak kloakálnímu přenosu,
- *snížit možnost adventivní bakteriózy krůt a kuřat*,
- *kontrola kokcidiózy*,
- *protiparazitární opatření* – pravidelný odčervovací program; odčervování však musí probíhat na základě prepatentní periody (doba mezi požitím zárodečného vajíčka parazita a výskytem životaschopných vajíček další generace v exkrementech) *Heterakis gallinarum*, která je velmi krátká. Protože tato prepatentní perioda trvá jen 24 až 30 dní, musí být tyto odčervovací programy intenzivnější s maximálním intervalem mezi jednotlivými odčervováními 3 týdny. V dnešní době je převážná většina odčervovacích programů zaměřena hlavně na škrkavky (*Ascaridia*), které mají prepatentní periodu delší, minimálně 35 dní. Jde o logickou strategii, protože samotný *Heterakis gallinarum* není sám o sobě velmi škodlivý. Odčervení proti škrkavkám každých 7 týdnů dovoluje *Heterakis* v existujících prostorách přežívat. Skutečným záměrem však musí být vymýtit *Heterakis* z prostředí všech ohrožených druhů drůbeže, obzvláště krůt. Proces odčervení (*Heterakis* má až 80 % ptáků) je však možné realizovat jen antiinvazním chemoterapeutikem, zejména flubendazolem.

1.3 Použití antikocidik

Pro účel této přehledné práce je používán výraz **antikocidika**, který zahrnuje dvě hladiny účinků látek:

- kokcidiostatika (preventivní)
- kokcidiocida (terapeutické látky)

O histomonostaticích přírodního původu bude hovořeno jen okrajově (jsou známy látky jen syntetické), protože literární údaje o této skupině farmak scházejí; histomonocida nejsou vůbec známa.

Obecně z hlediska použití jsou antikokcidika dělena do dvou skupin a to na látky:

- použitelné preventivně; aplikují se do krmiva ve výrobnách (součást doplňků biofaktorů), konečné koncentrace s pohybují od 3 - 125 mg/kg připraveného krmiva,
- použitelné terapeuticky; aplikují se ihned při prvním výskytu příznaků onemocnění, nejlépe prostřednictvím pitné vody, musí být dodrženo doporučené schéma dávkování.

Problematika aplikace antikokcidik je v podmínkách velkochovů (zejména drůbeže) velmi složitá a nejednoznačná a musí být posuzována z několika hledisek:

- a) **účinnost:** prakticky jsou vyžadovány látky se širokým spektrem účinnosti na různé druhy kokcií. Rozšíření spektra účinnosti a zvýšení spektra účinku se dosahuje v některých případech kombinací antikokcidik,
- b) **rezistence:** jsou vyžadována antikokcidika, která nevyvolávají vznik rezistentních kmenů. Protože jsou tyto látky aplikovány kontinuálně, dlouhodobě, v nízkých dávkách v krmných směsích, lze tomuto požadavku jen velmi obtížně vyhovět. Nástup rezistence závisí na mechanismu účinku látky, na charakteru účinku (kokcidiostatický nebo kokcidiocidní). Z těchto důvodů je nutné provádět náležitou rotaci jak už bylo uvedeno. Rotace antikokcidik je aktuální zejména u látek syntetického původu,
- c) **snášlivost:** vzhledem k dlouhodobé aplikaci v krmivech se vyžaduje, aby látky měly nízkou toxicitu, co největší terapeutickou šíři a co nejméně vedlejších účinků. Sledují se především vedlejší účinky na snášku vajec a růst,
- d) **zdravotně-hygienické hledisko:** z hlediska profylaktických antikokcidik je významné především u slepičích a krůtích brojlerů a u slepic na snášku; u brojlerů je doba výkrmu velmi krátká (např. oproti králíkům a prasatům) a rezidua nesmí ovlivnit kvalitu živočišných produktů (lipofilní látky, které se z části nebiotransformují mohou být deponovány do vajec), proto musí být tyto látky vypuštěny z krmných směsí ve stanovené ochranné lhůtě před porážkou. U většiny syntetických látek je ochranná lhůta 3 - 5 dnů, u sulfonamidů 10 - více dnů.
- e) **ostatní požadavky:** důležité jsou také vlastnosti, které ovlivňují technologické aspekty využívání antikokcidik jako je dobrá homogenita ve směsích, dostatečná stabilita, minimální výskyt interakcí s ostatními komponentami krmiv, dosažitelnost látek (v případě látek přírodní povahy), cena, vhodné analytické metody pro stanovení intaktních látek i jejich reziduí a v neposlední řadě také organoleptické vlastnosti.

2. Studium a použití látek přírodního původu ovlivňujících metabolismus prvků

Úvod ve formě předchozí kapitoly má ukázat komplexnost a složitost zásahu proti kokcidiím a skutečnost, že po eliminaci antikokcidických antibiotik (z nichž některé z nich mohou také fungovat jako stimulatory růstu) a syntetických chemoterapeutik bude nutné významně upravit zásah proti těmto protozoárním onemocněním:

1. *zvýšit čistotu chovů* na hranice možnosti čistoty, aby nedošlo k reinfekci z nedokonale vyčištěných prostorů (ze zbytků steliva, hromadění zbytků výkalů v blízkosti chovných míst, dekontaminace prostorů, kde se manipuluje s krmivem atd.). Do této oblasti patří také použití nových desinfekčních prostředků, které jsou účinné, šetrné vůči okolnímu prostředí a nevzniká na ně rezistence. Tyto technologické zásahy jsou pracné a tím finančně náročné,
2. *vakcinace* se zdá být progresivní cestou, která bude patrně v praktické realizaci po roce 2010 upřednostňována (alespoň u drůbeže) před preventivním antikokcidickým (kokcidiostatickým) postupem. Pokud se podaří vypracovat efektivní, široce použitelnou vakcínu (vakcíny), bude tento postup ekonomicky zajímavý vzhledem k používání látek chemického původu různé provenience,
3. *aplikace látek přírodního původu krmiv* může však přinést oproti předchozímu bodu významné výhody: obsahové látky rostlin, hub a kvasinek (ve formě standardizovaných extraktů) mohou mít (a většinou mají) kromě antikokcidického (kokcidiostatického) účinku ještě další prospěšné biologické účinky, jako antioxidační, antidiarrhoidální, digestivní, zvyšující proteosyntézu aj. V tomto ohledu budou mít přírodní látky výhody oproti látkám zcela syntetickým.

Protože je hledání látek z přírodních zdrojů velmi obtížné – v literatuře je uvedeno poměrně malé množství údajů o přírodních látkách s tímto účinkem v porovnání s látkami zcela syntetickými – rozdělili jsme tento přehled do několika úrovní a to na:

- *látky působící všeobecně na protozoa*, bez ohledu na to, jak jsou jednotlivé rodové nebo druhové taxony systematicky zařazeny. Z literárních údajů vyplývá, že metabolismus jednotlivých taxonů je složitý a může se stát, že některé přírodní látky, které působí na jiná protozoa než na zástupce podřádu Eimeriina mohou na Eimerie etc. účinkovat, ačkoliv to dosud nebylo příliš široce zkoušeno: přírodní antikokcidikum halofuginon bylo poprvé izolováno z extraktu rostliny *Dichroa febrifuga*. Původní extrakt (febrifugin) vykázal nejen antikokcidickou, ale i antimalarickou aktivitu. Tento extrakt však nebyl nikdy prakticky použit, protože měl velmi úzkou terapeutickou šíři (rozpětí 3 ppm), teprve po jeho vyčištění nabyl halofuginon smysl. Extrakty z jiných rostlin byly shledány jako

účinné vůči jiným invazivním agens jako např. proti patogenním zástupcům rodů *Plasmodium*, *Amoeba*, *Trichomonas*, některým členovcům a také proti některým červům^{5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18} (většinou se jedná o účinky artemisininu z *Artemisia annua*).

- *látky působící na kokcidia a histomoniázy sensu stricto*; těchto údajů je v literatuře za posledních 30 let málo. Literární profil tohoto tématu působí dojmem, jakoby se přírodní látky na Eimerie a Histomonas zkoušely jen omezeně. Podle našeho názoru však spočívá problém v komplikovanosti a náročnosti experimentálního modelu. Ačkoliv se validní model na kuřatech už používá, je škoda, že není vypracován model využívající protozoí a histomonií *in vitro* (tak, jako u jiných typů živočišných buněk). Takový model by byl pro pilotní screeningové práce zcela ideální, i když zpočátku pracný, je však etický, nakonec i levnější a umožňuje tak screening až o několik řádů vyššího počtu látek. Určitou variantu zde představuje použití enzymových systémů, především cGMP dependentní protein kinasy (EC 2.7.11.12).
- *látky ovlivňující metabolismus inkluzních mikroorganismů* (resp. nežádoucí část spektra střevní flóry) a *diarrhoe*; doprovodným fenoménem pro infekce zažívacího traktu zvířat jsou průjmy a rychlá eliminace oocyst. Přírodní látky, které snižují riziko průjmu a mohou ovlivnit povrchovou strukturu oocysty ve smyslu její metabolické destabilizace jsou z hlediska likvidace tohoto typu protozoóz přínosné.

2.1 Antiprotozoika širšího spektra

Zvýšení odolnosti vůči protozoárním nálezům lze dosáhnout podáním manázy a fosfolipázy – enzymů zvláštní skupiny, charakterizovaných schopností štěpit vazbu, která uvolňuje proteiny nebo sacharidy na buněčném povrchu u buněk, které neobsahují antiinfekční agens. Tyto látky hrají významnou roli v antiinfekčním působení¹⁹. Významnou roli začínají také hrát histon-acetyl-transferázové inhibitory²⁰, resp. inhibitory parazitární histon-deacetylázy^{21,22,23,24}. Podobnou roli hrají deriváty hypoxanthin-guanin-fosforibosyltransferázy; tento enzymový model může být použit jako *in vitro* testovací model pro zjišťování látek s antiprotozoální aktivitou^{25,26}.

Zajímavou zkušeností je podávání látek do pitné vody, které se uplatňují při tvorbě oxidu dusnatého (L-arginin) a některých nesteroidních antiflogistik (NSAIDs; ibuprofen); toto antiprotozoální opatření se uplatnilo např. pro zvýšení produkce vajec²⁷.

O přírodních látkách a vývoji selektivních antiprotozoálních léčiv je poměrně obsírně pojednáno v práci Wrighta a spol.²⁸.

V tomto přehledu se jedná o širší skupiny látek anebo širší skupiny protozoárních agens, protože jejich studium je nepochybně inspirativní.

Tab. 1 Antiprotozoika širšího spektra – přehled

Název látky, původ	Strukturní skupina	Poznámka	Lit.
Kvasinoid <i>Castela texana</i>	kvasinoid		29
Jatrogrossidion, jatrofon <i>Jatropha gorossidentata</i> <i>J. isabellii</i>	terpenické laktony	antiprotozoální aktivita	30
Artemisinin dihydroartemisinin Alkylderiváty artemisininu <i>Artemisia annua</i>	terpen	deriváty artemisininu a 10-substituovan. dihydroartemisininu jako potenciální antiprotozoika a antimalarika účinek proti <i>Toxoplasma</i> sp.	31,32 33
Flavan-3-oly, (-)-epigallo- katechin, a jeho gallát <i>Helianthemum glomeratum</i>	Flavan-3-oly, katechiny	Entamoeba histolytica, Giardia lamblia	34
Chloroforin, maackiain- acetat, formononetin-acetat <i>Virgilia oroboides</i> <i>Chlorophora excelsa</i>	isoflavony	Entamoeba histolytica	35
Geraniny A, B, C a D <i>Geranium niveum</i>	procyanidiny	Entamoeba histolytica, Giardia lamblia	36,37
(-)-Epikatechin (-)-Epigallokatechin	přírodní flavonoidy	Entamoeba histolytica, Giardia lamblia	38
Flavonoidy <i>Conyza filaginoides</i>	flavonol-kaffeoyl- glykosidy kemferolu, isorhamnetinu, kvercetin	Entamoeba, Giardia	39
Formononetin, kastanin, odoratin, glycitein, pseudo- baptogenin, fujikinetin, kuneatin <i>Dalbergia frutescens</i>	isoflavony	Giardia	40
Labdanové sloučeniny <i>čeled' Asteraceae</i> <i>čeled' Lamiaceae</i> <i>čeled' Cupressaceae</i>	diterpeny	imunomodulační aktivita, indukce enzymů, protizánětlivá aktivita, antifungální aktivita.	41
Různé látky <i>Galipea longiflora</i>	chinolinové alkaloidy	Leishmania	42
koronaridin, 18-methoxykoronaridin <i>Iboga sp., Peschiera australis</i>	indolové alkaloidy	Leishmania amazonensis	43
Sarachin <i>Saracha punctata</i>	aminosteroid	Leishmania braziliensis, Trypanosoma cruzi	44
Různé látky <i>Triclisia patens</i>	bisbenzylisochinolinové alkaloidy	Leishmania donovani Trypanosoma brucei var. brucei	45
8a-Hydroxytaurin <i>Artemisia santonicum</i>	terpen	Leishmania donovani	46
Diospyrin <i>Diospyros sp.</i>	dimerní benzochinon	Leishmania donovani	47,48
Chalkony <i>Různé rostlinné taxony</i>	přírodní chalkony	Leishmania donovani, L. infantum, L. enrieti, L. major	49
5-Epi-kudtriol Kudtriol <i>Jasonia glutinosa</i>	seskviterpenický alkohol	Leishmania donovani, Plasmodium falciparum	50
N-Methyliriodendronin, 2-O,N-dimethyliriodendronin, liriodenin, dicentrinon, korydin aloe-emodin <i>Stephania dinklagei</i>	oxoaporfinové alkaloidy aporfinový alkaloid anthrachinon	Leishmania donovani, Plasmodium falciparum Trypanosoma brucei	51
Různé sloučeniny	triterpeny typu	Leishmania donovani, Trypanosoma	52

<i>Celaenodendron mexicanum</i>	karboxylových kyselin a tirukalanové, biflavonoidy	brucei	
Klaivanolid <i>Uvaria klaineana</i>	lakton	Leishmania donovani, Trypanosoma brucei brucei	53
Hederakolchisid A aj. <i>Hedera colchica</i> <i>H. caucasigena, H. helix, H. pastuchowii</i>	triterpenoidní saponiny	Leishmania infantum, Trichomonas vaginalis	54,55
Terpeny <i>Různé rostlinné taxony</i>	seskviterpeny (germakranolidy)	Leishmania major	56
Liriodenin, O-methylmoschatolin ad. <i>Unonopsis buchtienii</i>	aporfinové alkaloidy	Leishmania major, L. donovani, Trypanosoma brucei	57
Muzanzagenin (+)-Nyasol <i>Asparagus africanus</i>	steroidní saponin lignan	Leishmania major, Plasmodium falciparum	58
2'-Epicykloisobrachykumarinonepoxid, Cykloisobrachykumarinonepoxid, Dihydrobrachykalyxolid <i>Vernonia brachycalyx</i>	5-methylkumariny	Leishmania major, Plasmodium falciparum	59,60
Terpeny <i>Neurolaena lobata</i>	seskviterpenické laktony	Leishmania mexicana, Trichomonas cruzi, Trichomonas vaginalis	61
Rolliniastatin-1, sylvaticin, skvamocin, rollidecin B, liriorezinol B, oxoaporfin, liriodenin <i>Rollinia emarginata</i>	acetogeniny	Leishmania, Trypanosoma	62
Chalkony, dihydrochalkony a jejich analogy	polosyntetické deriváty	Leishmania-fumarat-reduktáza; izolace, QSAR metodologie pro syntézu nových potenciálních léčiv	63
Kaulosidy A-G aj. <i>Caulophyllum robustum</i>	triterpenoidní saponiny	modifikace struktury a funkčních vlastností buněčných membrán, širší biologické účinky	64
Artemisinin <i>Artemisia annua</i>	terpen	Neospora caninum	65
Habropetalin A <i>Triphyophyllum peltatum</i>	naftylisochinolinový alkaloid	Plasmodium falciparum	66
Naftochinony		Plasmodium falciparum	67
Terpeny <i>Galpinia glauca</i>	terpenoidy nor-friedelanového a nor-sekofriedelanového typu	Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei brucei, Leishmania donovani	68
Akuleatin D <i>Amomum aculeatum</i>	alkenon	Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei rhodesiense, T. cruzi	69
Triterpeny, tanniny <i>Combretum olle</i>	pentacyklické triterpeny, třísloviny (tanniny)	Plasmodium falciparum, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani	70
Kurkumin, demethoxykurkumin, bis-demethoxykurkumin <i>Curcuma longa</i>	fenolické diketony	Plasmodium falciparum, Leishmania major	71
Glinosidy A a B <i>Glinus oppositifolius</i>	triterpenoidní saponiny	Plasmodium sp.	72
Glykosidy substituovaného benzylalkoholu <i>Amburana cearensis</i>	fenolické glykosidy	Plasmodium sp.	73
Minkvartynová kyselina <i>Minquartia guaianensis</i>	hydroxysterarová kyselina	Plasmodium, Leishmania	74

Alkanolestery karnitinu	D,L- D-, L-karnitin	polosyntetické deriváty	75
Hypoestoxid <i>Hypoestes rosea</i>	terpen	polosyntetické deriváty, vysoká účinnost vůči protozoárním infekcím	76
Physaliny <i>Physalis angulata</i>	steroly ergostanového typu	profylakticky působí proti autoimunitním onemocnění u savců, physalin B: imunomodulační vlastnosti a aktivita vůči Leishmania	77
Usninová kyselina <i>Cladonia sp., Usnea sp., Lecanora, sp., Ramalina, sp., Evernia sp.</i>	dibenzofurandion	Protozoa	78
Giganteosidy D, E <i>Cephalaria gigantea</i>	triterpenoidní saponin	Protozoa	79
Dehydrozalužanin C <i>Munnozia maronii</i>	seskviterpenický lakton	Protozoa	80
d-Endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i>	protein	Protozoa	81
2,6-dihydroxyfissinolid <i>Khaya senegalensis</i>	limonoid	Protozoa (střední aktivita)	82
Polyenamidy čeledi Asteraceae, Piperaceae, Rutaceae	polyen-amidy alifatických kyselin	review	83
Chalkony z různých přírodních zdrojů, syntetické	chalkony	review	84
Různé látky různé rostlinné taxony	různé struktury	review	85
Směs látek <i>Camellia sinensis</i>	procyanidiny, katechiny	review	86
Různé látky různé rostlinné taxony	různé struktury	review	87
Acetogeniny čeleď Annonaceae	různé struktury	review - inhibice mitochondriálního metabolismu;	88
Různé látky	různé struktury	review – látky působící proti zástupcům r. Schistosoma: minulost, současnost a budoucnost	89
Různé látky	různé struktury	review – mechanismus účinku látek působících proti zástupcům r. Schistosoma	90
Různé látky různé taxony	alkaloidy, terpeny, chinony, flavonoidy, aurony, xanthony, cyklické tetrapeptidy	review 1990-1999	91
Procyanidiny <i>Geranium niveum</i>	procyanidiny	review, mexické léčivé rostliny	92
Různé látky různé rostlinné taxony	různé struktury	review-tropické rostliny	93
Agrimorfol <i>Arimonia pilosa</i>	tanin, polosyntetický analog	Schistosoma sp.	94
Terpeny <i>Vernonia amygdalina</i>	seskviterpenické laktony steroidní glykosidy	Schistosoma sp.	95
Mevinolin	inhibitor 3-HMGCo-reduktázy	Schistosoma sp.	96
12-dihydroartemisinin	terpen	Schistosoma sp.	97
Fenoly <i>Dryopteris crassirhizoma</i>	fenolické látky	Schistosoma sp.	98
Silice, pryskyřice <i>Commiphora molmol</i>	terpeny	Schistosoma mansoni	99

Terpeny <i>Zingiber officinale</i>		Schistosoma mansoni, Biomphalalaria glabrata, Mollusca	100
Alpinumisoflavon Dimethylalpinumisoflavon Robustová kyselina <i>Millettia thonningii</i>	isoflavony 3-fenylkumariny	Schistosoma, Mollusca	101, 102
Kvasinoidy <i>Eurycoma longifolia</i>	listy	Schistosoma, Plasmodium,	103
Terpeny <i>Guarea rhopalocarpa</i>	diterpeny pimarandienového typu	Trypanosoma brucei brucei	104
Glutathion. deriváty	oligopeptidy	Trypanosoma brucei, T. cruzi, Leishmania donovani	105

3 Antikokcidika v širším přehledu

Zbavení chovů kokcidióz je prakticky nemožné. Mechanismus fyziologie těchto prvoků a jejich životaschopnost je multifaktoriální záležitost, zahrnující mnoho stupňů volnosti a tím vysokou entropii. Zásahy musí být proto pokud možno simultánní a pokud možno konsekventní.

3.1 Dezinfekční postupy

Čistota chovů je velmi významným faktorem diseminace oocyst. Zajištění této čistoty je velmi pracné a může být tedy i finančně náročné. Je to však jeden z nejšetrnějších a zdá se, že i nejúčinnějších postupů. Pro dekontaminaci jsou používány směsi halogenovaných fenolů a alkylamoniových solí (např. směsi 1,2-, 1,3- a 1,4-dichlorfenolů, dialkyldimethylammoniumhalidů – např. didecyldimethylammonium chloridu a příp. chlorofenolu. Uvádí se, že přípravek lze aplikovat přímo mezi zvířata nebo jím čistit stáje¹⁰⁶. Pro likvidaci oocyst je stále úspěšně používán především peroxid vodíku (nepáchne) s bazickými sloučeninami (pH min. 7,5); tímto postupem je výrazně snížena sporulace oocyst po exkreci zvířaty u *Eimeria tenella*¹⁰⁷.

3.2 Vakcinace

Vakcinace je v současnosti významně preferována a počet prací, které se tomuto postupu věnují, stále roste. Zastánci tohoto směru tvrdí, že po vypracování vhodných vakcín a jejich aplikaci klesne finanční náročnost na potírání kokcidióz a tento postup bude údajně lacinější než výzkum a vývoj nových antikokcidik, jejich výroba a aplikace. Zdá se to velmi logické, ale není to s největší pravděpodobností pravdivé a v blízké budoucnosti ani reálné: prozatím nejsou k dispozici zcela uspokojujivé vakcinační přípravky, výzkum je finančně náročný a při konečné aplikaci se bude muset zaplatit a navíc výzkum antikokcidik nelze zastavit

minimálně ze společenských důvodů (nelze opakovat chyby, které byly provedeny v kauze *Mycobacterium tuberculosis*, resp. *Mycobacterium avium*). Výzkum nových antikokcidik bude v klidu probíhat ještě minimálně 10 příštích let.

Nelze však popřít, že snahy v této oblasti jsou velmi excelentní, jak ukazují literární přehledy, např.¹⁰⁸, ze kterých ale také plyne, že linie chemoterapeutik bude dále zachována. Atraktivní jsou pochopitelně vakcíny, které působí příznivě při zkřížené infekce s jinými patogeny, např. *Clostridium perfringens*¹⁰⁹, DNA imunoregulační vakcíny, ovlivňující imunitní odpověď T-lymfocytů jako preventivní a terapeutický prostředek (*E. tenella*)^{110,111}. Tepelně labilní toxin (heat-labile toxin) z *Escherichia coli* může být úspěšně použit jako adjuvans do vakcíny proti infekci ptactva a drůbeže¹¹²; toxin je produkován genovou manipulací pomocí rostlin, byly připraveny jako analoga a sledována jeho protektivní imunologická aktivita. Rozpracovává se metoda vakcinace *in ovo* u drůbeže¹¹³, ale také se nabízí *per os* vakcinace (je propracována u myších kmenů s použitím *Eimeria vermiformis*)¹¹⁴. Vakcinace kuřat (*s. c.*) je prováděna poměrně úspěšně povrchovými antigeny některých Eimerií¹¹⁵. U kuřat jsou také popisovány pokusy o imunizaci živými oocystami za současné aplikace rekombinantního bovinního somatotropinu^{116,117}. Prozatím je otazné, do jaké míry by byl takový postup přijatelný v souvislosti s požadavky EU na redukci používání hormonů a antibiotik (a to zvláště u drůbeže). Z uživatelského hlediska je důležitá konstantnost účinku vakcínového přípravku, tj. nejen stabilita po aplikaci, ale také stabilita v organizmu příjemce; v tomto směru jsou zkoušeny metody permanentního uvolňování účinných látek (sustained release compositions) za použití methyl-vinyl siloxanových polymerů jako matrix¹¹⁸, běžně používané u nízkomolekulárních léčiv (např. do mikropolet s obsahem chloridu sodného a siloxanové matrix byl inkorporován rekombinantní prasečí somatotropin a tato forma podávána prasatům ve výkrmu pro stimulaci a regulaci růstu – přípravek měl dobrou odezvu).

3.3 Vývoj antikokcidik

V průběhu doby bylo pozorováno, že řada herbicidů na bázi organických sloučenin má kromě herbicidních také antiparazitární účinky vůči některým zástupcům kmene Apicomplexa. Jedná se především o deriváty triazinu a dinitroanilinu¹¹⁹ (účinné proti Eimeriím). V evropských zemích jsou však oba typy pesticidů zakázány nebo jsou zcela na ústupu a nezbyváá než hluboká analýza oprávněnosti použití takových látek k jiným účelům.

Jako významná antiprotozoální chemoterapeutika se ukázaly látky, zasahující do metabolismu cyklické GMP-dependentní proteinkinasy (PKG), jak o ní bude hovořeno dále.

Bylo také zjištěno (u kohoutků infikovaných *E. acervulina*), že při aplikaci cyklooxygenas (COX-1, COX-2; indometacin, nimesulid) dochází ke snížení vylučování oocyst (dávka v krmivu 100 ppm a 400 ppm); neschopnost obou látek zvrátit ztrátu hmotnosti zvířat navozenou infekcí naznačuje, že tento patologický efekt není spojen se zvýšenou syntézou prostanoidů jako výsledek účinku COX-2 „up-regulation“ v průběhu infekce.

Před nedávnou dobou byly publikovány výsledky výzkumu nových antikocidik, zejména charakterizace acidokalcinomů a jejich vztahu k metabolismu kokcií, objevení matioloového cyklu a šikimátové metabolické cesty v parazitech. Tyto biochemické poznatky představují velmi využitelné informace pro zaměření dalších studií ve smyslu zásahu proti životním funkcím parazitů kmene Apicomplexa¹²⁰.

3.4 Experimentální modely používané pro studium účinků potenciálních antikocidik

Experimentální studie jsou prováděny většinou na kuřatech, infikovaných standardně oocystami *E. tenella*¹²¹; tato metoda sice přináší reprezentativnější výsledky než metody *in vitro*, pro screeningové studie nových antikocidik (kokcidiostatik), při nichž je potřeba provést velké množství sériových pokusů je však neetická, pomalá, finančně nákladná a vyžaduje dokonalou dekontaminaci experimentálních prostorů, které jsou infikovány oocystami. Velmi často se používají kmeny *E. tenella*, bylo by však žádoucí použít i jiné experimentální modely: u drůbeže se vyskytuje celkem sedm druhů rodu *Eimeria*, čtyři z nich jsou však výrazně patogenní a tím ekonomicky zajímavé: *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, a *E. necatrix*. Stejně závažná je tato infekce u jiných zvířat; kokcidie u králíků jsou kosmopolitně rozšířené a diagnostikují se prakticky v každém chovu domácích králíků. Pravidelným nálezem jsou i u divokých králíků. Hlavním zdrojem nákazy pro mladé králíky jsou dospělé samice, které většinou neonemocní. Šíření je možné všemi cestami - kontaminací krmiva, vody, ošetřovateli, nářadím apod. Přenos z divokých králíků je možný zeleným krmivem, hnojením ploch králičím trusem s následným krmením zelenou pící, nákupem zvířat z nehygienických chovů atd. Predispoziční faktory pro vypuknutí klinické kokcidiózy v chovech jsou zejména náhlé změny krmiva, výkyvy teploty, zvýšená vlhkost a jakékoliv jiné oslabující faktory. Oocysty mohou být pasivně přenášeny v trusu ptáků, hlodavců (myší, potkanů) a pravděpodobně i hmyzem. Jednotlivé druhy *Eimerií* cizopasíci v trávicím traktu králíků mají rozdílnou patogenitu, vesměs se však v chovech jedná o smíšené infekce více druhů. Na závažnosti onemocnění se podílí i jiné faktory. Uplatňuje se i sekundární infekce, především *Escherichia coli*. K nejvíce patogenním druhům střevních kokcií se počítají *Eimeria intestinalis*, *E. irresidua*, *E. magna* a *E. piriformis*. Většina z nich prodělává vývoj v

hloubce sliznice. Rozsáhlé destrukce buněk epitelu střeva vyvolávají těžké katarální až difteroidní záněty, při zvláště silných infekcích i hemorrhagické záněty. Postupně dochází k atrofii klků (zmenšení klků), k těžkým poruchám trávení v důsledku posunu pH do alkalického prostředí, což podmiňuje patogenní uplatnění *E. coli*. Zvláště u mladých kusů vedou tyto procesy k rychlému vyčerpání a rozsáhlým úhynům. Patologický obraz střevní kokcidiózy se projevuje především překrvením a infiltrací sliznice (= prostoupení látky sliznicí), jejíž stěna je vždy zesílená. Pravidelným nálezem při střevní kokcidióze jsou bělošedá, případně šedožlutá ložiska velikosti až několik milimetrů. Při jaterní kokcidióze (*E. stiedai*) dochází v důsledku napadení a rozpadu buněk epitelu žlučovodu a tvorbě pojivové tkáně ke značnému zesílení stěny žlučovodů. Celý proces vede ke zbytnění jater a těžkým poruchám ve tvorbě a vylučování žluče a následným zažívacím poruchám a těžkému celkovému onemocnění.

Kromě zajíců, skotu, ovcí, muflonů, koz, spárkaté zvěře, prasat, má velký význam forma avidních kokcidióz u bažantů, koroptví, hus, kachen, krocanů, holubů (zde se onemocnění objevuje pouze u holubů). Šířitelem jsou dospělí ptáci a diseminace může být masivní. Tento typ onemocnění postihuje prakticky všechna zvířata, např. *Eimeria leuckarti* vstupuje do hostitelů, kterými jsou v tomto případě koně a osli, kokcidie rodu *Isospora* se vyskytují u masožravců, hlavně psa a kočky. Rod *Caryospora* zahrnuje mnoho druhů kokcidií parazitujících především u plazů a dravých ptáků.

Z těchto faktů plyne, že izolovaný *in vitro* model by byl pro základní studie velmi žádoucí; v tomto směru existují už výsledky opět však pro *in vitro* kulturu *Eimeria tenella*¹²². Určitý krok na této cestě může představovat vypracovaná metoda čištění a sporulace kokcidiálních cyst a oocyst, která byla vypracována v souvislosti se studiem vakcinace *in ovo*¹²³. Výborným objektem pro studium je také použití enzymů, např. cGMP dependentních protein kináz (PKG) z *Eimeria maxima* a *Plasmodium falciparum*¹²⁴. Tento enzym, izolovaný z *Eimeria tenella* a *Toxoplasma gondii* je produkován klonovací technikou¹²⁵ a zdá se, že je to výborný systém pro hodnocení antiprotozoik *in vitro*. U PKG z *E. maxima* a *Plasmodium falciparum* byla zjištěna sekvence, kódovací geny pro produkci protilátek a byla potvrzena možnost využití těchto enzymů k identifikaci potenciálních antiprotozoik; za použití enzymového modelu PKG (*Eimeria* u kuřat, *Toxoplasma* u myší) byl u některých substituovaných pyrrolů a imidazopyridinu zjištěn inhibiční účinek vůči oběma protozoálním taxonům^{124,126,127}. Metoda umožňuje zajímavou variační šíři studia. Inhibice PKG začíná být zjišťována i u látek přírodního původu, např. tenellonů A a B (*Diaporthe* sp., Acomycetes)

s benzofenonovou strukturou¹²⁸ a terfenylů (terferol, terfenyly 2, 3 a 4; *Phoma* sp., Actinomycetes)¹²⁹.

3.5 Praktické použití látek proti kokcidiím

V této kapitole uvádíme pouze přírodní látky, které se v léčbě kokcidióz uplatňují, anebo jsou velmi perspektivní a další látky, které účinek antikokcidik potencují, jako jsou některé anorganické látky a vitamíny.

Velmi důležitou záležitostí je zvýšení odolnosti zvířat vůči nepříznivým vlivům vnějšího prostředí, které navodí jejich rezistenci vůči atakům invazních agens. Tato otázka je v poslední době velmi široce diskutována, protože je spojena s použitím antibiotických stimulátorů růstu, které jsou v současné době zakázány a jsou hledány jiné (přírodní) látky, které by tato antibiotika nahradily. Na základě současných znalostí si lze jen velmi obtížně představit, že existují takové přírodní látky neantibiotického charakteru, které by toho byly v plné míře schopné. V případě, že budou přírodní látky používány, se musí jednat o směsi látek, působících různým farmakodynamickým účinkem (adaptogeny, imunostimulancia, látky s antiinvazním účinkem v GIT, látky zvyšující proteosyntézu, působící proti zánětu ad.). Těmto studiím, zejména z hlediska zvládnutí kokcidióz u různých hospodářských zvířat je věnována pozornost formou diskusních přehledných prací, např.¹³⁰. V úvahu potom přichází takové látky jako je anakardová kyselina, zinečnaté soli organických kyselin (některé s biologickou dostupností ovšem problematickou), betainy a probiotika (*Bacillus* sp.), jak o tom bude hovořeno dále. Některé syntetické látky (léčiva) mají v tomto ohledu velmi příznivé vlastnosti, např. modulátory biosyntézy oxidu dusnatého, nebo nesteroidní antiflogistika (ibuprofen), u nichž bylo prokázáno profylaktické působení vůči kokcidióze a např. u slepic zvýšení snášky vajec²⁷, jen stěží však mohou být použity z důvodů, které netřeba rozvádět.

3.5.1 Anorganické látky

Při sledování interakce mezi Ca a Zn u cíleně infikovaných kuřat (směsnou kulturou *Eimeria* sp.) bylo zjištěno, že hladiny Zn (63-123 ppm v krmivu) nemají při současné infekci vliv na příjem potravy, zatímco tento příjem je snížen u vysoké hladiny Ca (1,987 %); infekce a vysoká hladina Ca v krmivu signifikantně snižuje hmotnost kuřat. Relativní přírůstek byl vyšší u vysoké hladiny Ca (1,98 %) a zvýšil se u vysoké hladiny Ca a současně vysoké hladině Zn (93 nebo 123 ppm) v průběhu 1-21 dní v postinfekční periodě. Interakce mezi hladinou Ca a infekcí byla také signifikantní. Hladiny Ca a Zn měly nižší efekt na konverzi krmiva, ale efektivita utilizace krmiva na jednotku hmotnosti byla snížena v infikované

skupině v obou případech. Mortalita kuřat byla vyšší ve skupině Ca 1,98 % + Zn 63 ppm a to k 5. dni po infekci. Krmivo, obsahující 1,98 % Ca a 93 nebo 123 ppm Zn snižovalo depresi růstu a zvyšovalo konverzi kuřat po infekci kokcidiemi¹³¹. Komplexní sůl zinku s glycinem (2Gly.2ZnCl₂.2H₂O) byla aplikována s maduramycinem a sledován antioxidační status brojlerů infikovaných *E. tenella* (plazmatické hladiny malondialdehydu, erytrocytární SOD a katalasa). Infekce Eimerií navozuje oxidační stres a bylo prokázáno, že kombinace Zn-solí s antibiotikem tento stav částečně eliminuje¹³². Bylo také zjištěno, že komplexní bazická sůl Zn a Cu (CuO,78ZnO,22)(OH)₃Cl obnovuje antioxidační ochranný systém u kuřat infikovaných *E. acervulina*¹³³. Po aplikaci Zn ve formě aminokyselinového komplexu kuřatům (infekce *E. acervulina* nebo *E. tenella*) byla sledována hladina karotenoidů a pigmentace těla a nohy ptáků: zvířata, která dostávala komplex zinku měla výrazně vyšší hladiny karotenoidů v séru a vybarvení tkání oproti kontrole; interaktivní vliv mezi Zn a salinomycinem však zaznamenán nebyl¹³⁴.

Velmi významná se zdá být aplikace Na solí zejména v kombinaci s ionoforovými antikokcidiky (salinomycin) u slepičích brojlerů; natrium-hydrokarbonát má velmi příznivý vliv na produkci brojlerů¹³⁵. Natrium-hydrokarbonát vykázal také velmi příznivé účinky v kukuřičně-sojovém krmivu při současné aplikaci jiných antikokcidik (monensin: zvýšení hmotnosti zvířat, využitelnost krmiva; halofuginon, lasalocid, monensin, salinomycin: redukce mortality; lasalocid, monensin, salinomycin: zvýšení hmotnosti prsního svalu). Podobné účinky byly nalezeny při současné aplikaci monensinu a natrium-hydrogenkarbonátu u krůtích brojlerů¹³⁶. Sodné soli (hydroxid sodný, thiosíran sodný) jsou také součástí tekutého antikokcidika, obsahujícího jako hlavní účinné látky sulfadimidin a trimethoprim¹³⁷. Problému interakce Na solí (zejména hydrogenkarbonátu a chloridu) s antikokcidiky, synergický účinek, vliv na vodní rovnováhu a růst zvířat, byl v nedávné době diskutován v přehledném článku¹³⁸.

3.5.2 Vitamíny

Z vitamínů, které mají velmi významný vliv na průběh kokcidióz stojí na prvním místě kyselina askorbová (vitamín C): kromě svého základního významu v syntéze kolagenu, L-karnitinu, 1,25-dihydroxyvitaminu D, adrenalinu a nadledvinkových hormonů, aktivuje významně imunitní systém. U zvířat byla v dávce 100 mg/kg krmiva (resp. 500 mg/litr nápojové vody) 5 dnů před a 5 dnů po vakcinaci výrazně stimulována tvorba protilátek, u kokcidiózních zvířat byla po dávce 500 mg/litr nápojové vody zvětšena kapacita imunitního systému¹³⁹.

3.5.3 Látky zvyšující imunitu vůči infekci

Při podávání antikokcidik hraje důležitou roli skutečnost, do jaké míry interferuje léčivo s vývojem imunity (imunity proti Eimeriím), jakým způsobem se to odráží na různých ukazatelích infekce^{140,141}. O fyziologických funkcích intra-epiteliálních lymfocytů v mukóze střev z hlediska imunity vůči kokcidiím je málo známo. Většina těchto buněk jsou T-buňky, ale jejich fenotyp a aktivační charakteristiky jsou odlišné od periferních T-buněk¹⁴². Je však nesporné, že tyto buňky hrají v imunitě dost zásadní roli. O studium funkce T-lymfocytů a cytokinů při infekci je velký zájem v souvislosti s vývojem vakcíny proti avidním kmenům kokcidií a z toho plyne potřeba znalostí chování hostitelského imunitního systému, který se snaží navodit ochrannou imunitu¹⁴³. Je známo, že významnou roli v modulaci imunity hraje L-arginin; infekce *E. acervulina* snižuje obsah argininu v plazmě a tato snížená hladina je s největší pravděpodobností spojena s nutriční malabsorpcí, která se vyvíjí v důsledku infekce a je nesignifikantně ovlivněn syntézou oxidu dusnatého, která je spojena s imunitní odpovědí¹⁴⁴. L-Arginin je nepochybně důležitý jako substrát pro vznik oxidu dusnatého; biosyntéza tohoto mediátoru je indukována syntázou oxidu dusnatého (iNOS) a může být stimulována v průběhu imunitní odpovědi při infekci. Při sledování vlivu denní dávky L-argininu na vývoj kokcidiózy u kuřat bylo zjištěno, že ačkoliv emise oocyst pocházejících z *E. maxima* (po jedné dávce argininu denně: 500 mg/kg) nebo *E. acervulina* (dvojitá denní dávka argininu: po 500 mg/kg) nebyla ovlivněna, počet oocyst z *E. tenella* byl snížen a to při obou dávkách argininu¹⁴⁵. Při studiu tohoto patogenního agens se ukázalo, že přísada L-argininu do krmiva může chránit kuřata proti kokcidióze a oxid dusnatý může hrát významnou roli právě v případě *E. tenella* a zabránit, nebo alespoň retardovat průběh kokcidióze¹⁴⁶.

Provokace syntázy oxidu dusnatého a zvýšení imunitní odpovědi vůči infekci kokcidiemi může být dosaženo také jiným způsobem: byl představen model fázové transferové katalýzy v biologických systémech, představovaný kombinací polyuronidů (alginátů) a bivalentních makro- a mikroelementů, který specificky zásobuje buňky a tkáň kyslíkem: tento fázový katalyzátor adhezuje na makrofág a může provokovat syntázu oxidu dusnatého a zvyšovat tak imunitu vůči kokcidióze u kuřat¹⁴⁷.

V současnosti je už zřejmé, že imunostimulancia hrají významnou roli v rozvoji kokcidiózy, resp. odolnosti nejen jedince, ale celého hejna. Zdá se, že v tomto ohledu se velmi dobře osvědčí β -glukany a to nejen z vyšších rostlin, ale především z hub oddělení Eumycota, které jsou velmi účinné i v humánní terapii a prevenci. Na humorální imunitní odpověď kuřat infikovaných *E. tenella* mají velmi příznivý vliv především houbové polysacharidy z *Lentinus*

edodes a *Tremella fuciformis*^{148,149}. Je velmi zajímavé, že imunopotenciační efekt vykazuje také lektin z plodnic *Fomitella fraxinea* (infekce *Eimeria acervulina*)¹⁵⁰. Imunostimulační efekt vykazují také známé vyšší rostliny, běžné s tímto cílem používané (*Astragalus membranaceus* aj.)¹⁴⁸.

Zvýšení lokální imunity po infekci *E. acervulina* nastává také po aplikaci probiotik, obsahujících *Lactobacillus*¹⁵¹. Příznivě se také uplatňují mléčné bakterie v kombinaci s protilátkami získanými imunizací vajec *Clostridium perfringens*¹⁵² (infekce *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*). Pokud se budeme dále zabývat produkty z vajec, pak zajímavé výsledky při těchto parazitárních infekcích vykazují imunoglobuliny vaječného žloutku pocházející z vajec slepic (nosnic), imunizovaných některým druhem *Eimerie*^{153,154}. Z vejcí drůbeže obsahující obsahující sekretorní IgA v bílku (drůbeži byl přidáván do krmiva imunostimulant) byl komplex bílkovin získán hydrolýzou vaječného proteinu a protilátka použita k aktivaci intestinální mukózní bariéry, produkující sekretorní IgA proti patogenním mikrobiálním antigenům drůbeže. Metoda je vhodná pro získávání velkého množství IgA protilátek a je možné ji použít u kuřat a nosnic jako prevenci kokcidiózy a infekcí salmonelami¹⁵⁵. Tyto látky lze získat také genovou manipulací v rostlinách¹⁵⁶.

Na konci této kapitoly je potřebné zmínit se o faktu, který není vždy brán zcela v úvahu: u řady syntetických anthelmintik (např. levimazol, fenvalerat, dieldrin, karbofuran, aminokarb, hiabendazol, fenbendazol, oxfendazol, ivermektin ad.) byl zjištěn imunomodulační efekt (imunostimulace nebo imunosuprese), který může nastat přímým nebo nepřímým mechanismem¹⁵⁷. Tento fakt je nutné zohledňovat i u potenciálních léčiv přírodního původu, což se dosud neděje nijak výrazně (resp. o tom nejsou v literatuře zprávy). Je však jisté, že imunostimulujících látek přírodního původu je velmi výrazná převaha nad látkami imunosupresivními, což však vůbec neznamená, že potenciální přírodní kokcidiostatika (látky ovlivňující histominiázu) by imunosupresivním účinkem nemohla disponovat.

3.5.4 Aplikace betainu

Betain (trimethylglycin), látka široce rozšířená v rostlinách a v živočiších, patří mezi lipotropní látky, které se podílejí na transferu methylskupiny a funguje *de facto* jako regenerátor methioninu a je to látka v chovech velmi dobře využitelná (ačkoliv se EU k její současné aplikaci staví poněkud rozpačitě); z jejích farmakologických účinků vyplývá, že může stabilizovat řadu fyziologických procesů¹⁵⁸ a působit preventivně vůči vývoji kokcidióz. Akumuluje se v játrech a v intestinálních tkáních a stabilizuje epiteliální intestinální struktury

zdravých kuřat i kuřat infikovaných kokciemi¹⁵⁹. Betain byl kombinován se salinomycinem a byla sledována růstová křivka kuřat infikovaných směsnou kulturou avidních Eimerií a také byla sledována invaze a vývoj kultur *Eimeria tenella* a *E. acervulina in vitro* a *in vivo*. Kombinace se salinomycinem se ukázala velmi prospěšná a měla synergický efekt¹⁶⁰. Podobný pozitivní účinek se projevil u kuřat infikovaných skupinou Eimerií po kombinaci s narasinem¹⁶¹, případně ve směsi s anakardovou kyselinou, organickými sloučeninami zinku a mikroorganismy rodu *Bacillus*¹⁶². Po infekci kuřat kmenem *Eimeria acervulina* a aplikaci samotného betainu nebyly výsledky významné: látka neovlivnila zásadně růstovou křivku zvířat, hladinu karotenoidů a dalších látek v séru, ani počet lézí u akutních i chronických infikovaných zvířat¹⁶³. Zajímavý výsledek byl nalezen v pokusech, v nichž byl sledován vliv D,L-methioninu a betainu na růstovou křivku a hmotnost jatečního produktu; ukázalo se, že betain nenahrazuje methionin v jeho funkci jako esenciální aminokyseliny v metabolismu proteinů, ale může zvyšovat hmotnost jatečního produktu¹⁶⁴. Betain přidaný do krmiva však zvyšuje počet intraepiteliálních lymfocytů v duodenu u kuřat infikovaných Eimeriemi a zvyšuje funkční vlastnosti fagocytujících buněk¹⁶⁵.

3.5.5 Přírodní látky jako antikokcidika

Tab. 2 Antikokcidika přírodního původu – přehled výsledků experimentálních studií

Název látky, původ	Strukturní skupina	Poznámka	Lit.
PRIMÁRNÍ METABOLITY A JEJICH DERIVÁTY			
EACA (deriváty lysinu)	aminokyseliny	permanentní podávání v krmivu pro prevenci a současnou léčbu kokciemi	¹⁶⁶
α-Difluoromethylornitin	aminokyseliny	Králíci, voda k pití, králík, intestinální a jaterní kokcidiózy, efektivní dávka ≥0,5 %	
Inhibitory MAO	polosyntetické deriváty guanidinu, 1-aminoguanidinu, 1,3-di-aminoguanidinu, triaminoguanidinu, p-chlorobenzylidenaminoguanidinu	reverzibilní inhibice MAO; látky sledovány jako metabolity antikokcid, neinhibujících MAO a diskutován mechanismus účinku	¹⁶⁷
Ethylestery ω-3 kyselin (EPA-Et, DHA-Et) ryba Brevoortia tyrannus	mastné kyseliny	suplementace krmiva: výrazný účinek pouze u <i>E. tenella</i> (<i>E. acervulina</i> , <i>E. maxima</i> bez významného efektu). Nutričně podmíněný oxidativní stres navozený Et-estery v GIT je efektivním deterentem cekální kokcidiózy u kuřat.	¹⁶⁸
MCT (Medium Chain Triglycerides)	kaprinová, kaprylová, laurová kyselina	<i>Eimeria</i> sp., přísada do krmiva, netoxické.	¹⁶⁹
ω-3 mastné kyseliny	mastné kyseliny	kokcidiostatická aktivita <i>E. acervulina</i> , <i>E. maxima</i> , <i>E. tenella</i>	^{170,171}
Rybí olej (ω-3 MK) + Iofrin	lipidy-inhibitor 5-lipoxigenázy	depresivní efekt na rozvoj infekce <i>E. tenella</i>	¹⁷²

Cyklo-(Pip-Ile-Trp-Aoh) aj.	cyklické tetrapeptidy	kokcidiostatický účinek	173
Apicidin (deriváty) polosynt.	cyklické tetrapeptidy	Toxoplasma, Cryptosporidium Eimeria, Plasmodium	174
Koncentrát z pokožky čerstvých olihní	proteiny	koncentrát z pokožky čerstvých olihní (odpad při průmyslovém zpracování) zpracovaný proteázou YP-SS a P-10 převedený do suchého stavu; u kuřat urychluje růst (přírůstky hmotnosti), odstraňuje příznaky infekce kokciidii	175
Fusarium sp.	cyklické tetrapeptidy	Plasmodium, Toxoplasma, kokcidie	176
Laktoferricin	protein	Eimeria stiedeeae, Toxoplasma gondii snížení infekivity sporozoity uvedených protozoí	177
β-Glukan Avenna sativa	polysacharid	imunomodulační aktivita, E. vermiformis	178, 179, 180
Mannooligosacharidy (kvasinkové)	<i>Saccharomyces</i> sp.	účinné při infekci kokciidii (Eimeria)	181
Ascogen <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	vitamíny skupiny B β-glukany	zásah do vývoje kokcidióz u slepic, signifikantní snížení exkrece oocyst a snížení tvorby intestinálních lézí	182
Vitamíny A, C, D3, E, K3 Se (0,5 mg/ kg krmiva) PABA (0,5 g/kg krmiva)	vitamíny, stopové prvky	nízkoproteinové krmivo (surový protein 17,1 %); kuřecí brojleři infik. E. tenella, E. maxima: PABS zvyšuje tělesnou hmotnost, nízký obsah proteinu zhoršoval přírůstky, směs vitamínů a Se bez efektu. Diseminace oocyst oproti kontrole nezměněna.	183
Vitamín A	vitamin	zlepšuje imunitní profil u kuřat infikovaných E. acervulina	184
Karoteny	β-karoten	E. maxima: po infekci se zvyšuje tvorba volných radikálů (kuřata), jeho přísada je vhodná	185
Organoborové sloučeniny	alifatické komplexy	antikokcidická aktivita	186
Bacillus laterosporus, kmen CM-33	dosud blíže neidentifikované látky	zvýšení konverze krmiva, přírůstků hmotnosti, celkové odolnosti	187
Xanthochinodiny Humicola FO-888	antibiotikum	nová antikokcidická látka ??	188
Sorbová kyselina + směs s ω-3 mast. kyselin.	většinou ve formě solí (K, Mg, Ca) přísada EPA, DHA	ochrana před infekcí kokciidii, přísada do krmiva nebo pitné vody profylaxe a léčba kokcidiových infekcí u hospod. a domácích zvířat	189,190
Koproflylin (methylester kys. dekalinpentandienové)	dosud neidentifikovaná houba	inhibice růstu Eimeria tenella in vitro (MIC 1,5 mM)	191
Echinacea purpurea	depsidy kávové kyseliny, polyiny	zvýšení imunity zčásti podobně jako v případě vakcinace (Eimeria)	192
Silice (složení blíže neuvedeno)	monoterpeny	Eimeria sp. (směsná kultura), vakcinování brojleři; vakcinace ovlivňuje jen nevýznamně střevní mikrobní spektrum, výrazně jej ovlivňují složky silice	193

Silice <i>Origanum vulgare</i> <i>Thymus vulgaris</i> <i>Thymus serpyllum</i> <i>Thymus zygis</i> <i>Mentha piperita</i> <i>Satureja hortensis</i> <i>Satureja montana</i> <i>Satureja subspicata</i> <i>Carum copticum</i> <i>Ocimum gratissimum</i> <i>Moranda punctata</i> <i>Mosla japonica</i> <i>Salvia officinalis</i>	monoterpeny	Účinek proti kolibaciliózám, dermatomykózám, kokcidiózám, mastitidám; neúčinnější se jeví silice z <i>Origanum vulgare</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Mentha piperita</i> .	194
Artemisinin Artemisia annua	terpen	syntetické deriváty artemisininu (endoperoxidy) mají antikokcidickou aktivitu	195,196, 197,198, 199
Z-, E-Febrofugin Hydrangea macrophylla	lakton	antikokcidický účinek	200
Polohové izomery kresolu, guajakol, resorcin	jednoduché fenoly	jako emulgátor castor oil; přípravek pro postřik chránící prostory před diseminací kokcidiemi	201
Polohové izomery kresolu, guajakol, thymol, anethol, kapsaicin, korilagin (tanin) Různé rostlinné taxony	jednoduché fenoly vanillylnonenamid tříslovina	kromě kokcidiostatického účinku se zvyšuje stravitelnost živin krmné dávky a umožňuje snížit případně podávané množství antibiotik	202
Propolis	komplex fenolických látek	prevence kokcidiózy	203
Tanniny <i>Lindera obtusiloba</i> <i>Lindera ubellata</i> <i>Machilus thunbergii</i> <i>Neolitsea aciculata</i> <i>Parabenzoin praecox</i> <i>Parabenzoin trilobum</i> <i>Cinnamomum loureiri</i> <i>Illicium anisatum</i>	kondenzované fenolické sloučeniny	proti kokcidiím u domácích zvířat	204
Tanniny	polyfenoly, blíže neidentifikovány	prevence a léčba kokcidiózy	205
Tanniny <i>Pinus sp.</i> jehlice <i>Medicago sativa</i> nať <i>Quercus sp.</i> list	polyfenoly, blíže neidentifikovány	proti kokcidiím u hospod. zvířat, inhibice kokcidií, snížení počtu oocyst ve feces, zvýšení produktivity chovu	206
Tanniny rostliny vietnamské flóry	kondenzované třísloviny	působení proti intestinálním parazitům	207
Tanniny (třísloviny)	kondenzované fenolické látky	do krmiva pro prevenci kokcidiózy	208
Deriváty mikakocidinu	polosyntetické deriváty	kokcidiostatika, Mycoplasma, imunosupresivní účinky	209
Různé zdroje	steroidní sapogeniny	účinné proti <i>E. tenella</i> v krmivu	210
Různé sloučeniny z taxonů <i>Sophora flavescens</i> <i>Pulsatilla koreana</i> <i>Sinomenium acutum</i> <i>Ulmus macrocarpa</i> <i>Quisqualis indica</i> <i>Gleditschia japonica var. koraiensis</i> <i>Melia azedarach</i> <i>Torilis japonica</i> <i>Polygonum aviculare</i>	různé sloučeniny přítomné v extraktech z rostlinných částí	<i>E. tenella</i>	121

<i>Torreya nucifera</i> <i>Inula helenium</i>			
Různé sloučeniny z taxonů <i>Uncaria rhynchophylla</i> <i>Agrimoniae pilosa</i> <i>Sanguisorba officinalis</i> <i>Eclipta prostrata</i> <i>Pulsatillae koreana</i> <i>Sophora flavescens</i> <i>Rehmannia glutinosa</i> <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	různé sloučeniny přítomné v extraktech z rostlinných částí	E. tenella, infekce kuřat: potlačení krve ve feces.	²¹¹
MIKROORGANIZMY			
Corynebacterium sp. Brevibacterium sp.	bakterie	sorpce na kukuřičné hydrolyzáty obohacené glutamovou kyselinou	²¹²
Bacillus sp. + betain + anakardová kyselina + org. soli zinku	baktérie derivát aminokyseliny 2-hydroxy-6-alkylbenzoové kyseliny	účinnost proti E. acervulina u kuřat	²¹³

3.5.6 Komerční směsi s obsahem přírodních látek doporučované při kokcidiózách

YCR (yeast culture residue); při srovnání s bacitracinem a lasalocidem se ukázala jako určitá alternativa vůči uvedeným chemoterapeutikům při infekci slepičích brojlerů Eimeriemi (dávka 1 kg/tuna)²¹⁴,

GroBiotic-P; zlepšení negativních efektů po akutní i chronické infekci kuřat *Eimeria acervulina* (5 % přísady)²¹⁵,

Apacox; směs herbálních extraktů (*Agrimonia eupatoria*, *Cichona succirubra*, *Echinacea angustifolia*) s kokcidiostatickým efektem proti *Eimeria tenella* u kuřat slepičích brojlerů (výrazně nižším než lasalocid)²¹⁶,

Natustat; produkt s obsahem herbálních složek, blíže nespecifikovaných; po aplikaci kuřatům infikovaných slepičích brojlerů (*Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*) se údajně ukázal v řadě hodnotících parametrů ekvivalentním salinomycinu²¹⁷.

3.6 Praktické použití látek proti histomoniáze

V této oblasti lze zmínit jen jeden praktický údaj – použití putrescinu (1,4-diaminobutanu) do krmiva krůt (0,3/100 g krmiva), které má příznivý vliv na růst krůťat, mukosální vývoj v oblasti tenkého střeva a obnovení fyziologických procesů ve stadiu subklinické kokcidiózy²¹⁸.

V úvodní části tohoto přehledu bylo řečeno, že histomoniáza je značně závislá na infekci krůt *Heterakis gallinarum*, logicky lze tedy předpokládat, že bude zájem sledovat přírodní anthelmintika (dosud známá a používaná) na účinek vůči tomuto parazitovi. Literatura však žádné takové poznatky neuvádí, a bylo by proto neproduktivní uvádět účinná přírodní anthelmintika a dedukovat jejich efekt na *Heterakis*.

4 Látky ovlivňující metabolismus inkluzních mikroorganismů a diarrhoe

Existují přírodní látky, které potlačují růst větší skupiny invazivních agens ve střevě (kvasinek, patogenních hub aj. bakterií) a napomáhají tak ke zlepšení funkčního stavu mukózy: patogenní agens oslabují imunitní funkci střevního epitelu a tím dochází ke snazší penetraci kokciidií.

V této souvislosti lze uplatnit alkyl- (alkenyl) sulfidy, -disulfidy, -sulfoxidy, které se vyskytují v zástupcích rodu *Allium*, především *Allium sativum*. Česnek setý má významné antimutagenní, antimikrobiální (proti gram-pozitivním i gram-negativním mikroorganismům), anthelmintické, antifungální a antiprotozoální účinky^{219,220}. Byl sledován především allicin a jeho metabolity s ohledem na antimikrobiální použití²²¹.

Existuje řada dalších těkavých látek s odlišnou, terpenickou povahou, které disponují antiinvazními účinky. Bude o nich pojednáno v následující kapitole, protože se vážou k použití v prevenci kokcidióz. Nebylo však zjištěno, že by některá z nich měla tak výrazný antimikrobiální efekt jako zástupci rodu *Allium*.

Jakkoliv jsou tyto látky velmi vhodné pro použití, je nutné experimentálně zjistit, do jaké míry se deponují do živočišných tkání jednotlivých species. Jedná se většinou (před biotransformací) o látky poměrně nepolární (logP = 2,02) a mohly by se ukládat do lipofilních tkání (vajec, tuku) a způsobovat tak nežádoucí organoleptické vlastnosti.

Střevní infekce vede velmi často k exkreci nestrukturovaných výkalů, v případě kokcidióz s detekovatelnou krví.

Tab. 3 Látky používané při diarrhoe - přehled

Název látky, původ	Strukturní skupina	Poznámka	Lit.
Potravní vláknina	komplexní polysacharidy	<i>Eimeria acervulina</i> , kuřata po kukuřičné dietě se snižuje počet nekrotických lézí při enteritidě	²²²
Různé látky <i>Euphorbia hirta</i> <i>Alchornea cordifolia</i> <i>Crossopteryx febrifuga</i> <i>Nauclea latifolia</i> <i>Psidium guajava</i> <i>Tithonia diversifolia</i> <i>Harungana madagascariensis</i> <i>Mangifera indica</i> <i>Maprounea africana</i>	polyfenoly	<i>Entamoeba histolytica</i> , spasmolytická aktivita, snížení průjmu	²²³
Různé látky	různé struktury	review – zástava průjmu	²²⁴
Nonanal <i>Artemisia ludoviciana</i>	alifatický aldehyd	testováno na zdravých zvířatech na různých modelech diarrhoe	²²⁵
Berberin a podobné alkaloidy	isochinolinové alkaloidy	zástava průjmu při protozoálních infekcích (vyzkoušeno humánně)	²²⁶

5. Možnosti zásahu přírodními látkami do rozvoje kokcidióz

Tab. 2 uvádí přehled antikokcidik (resp. kokcidiostatik přírodního původu); vyplývá z ní, že výzkum není v této oblasti nijak rozsáhlý a výsledky nejsou významně povzbudivé. Samotné použití syntetických antikokcidik nepřináší vždy jednoznačné efekty (rotace antikokcidik z důvodu návyku) a může se zdát jen pravděpodobné, že přírodní zdroje přinesou látku (látky) s antikokcidickým účinkem (stejně nebo více účinné jako halofuginon). Lze spíše počítat s tím, že látky přírodní povahy, působící proti Eimeriím budou mít charakter jen kokcidiostatik, nikoliv antikokcidik. Z tohoto důvodu je potřebné, aby směsi přírodních látek, které jsou přidávány do krmiva, byly složeny z látek patřících do různých farmakoterapeutických skupin a působily vzájemně synergicky. Nabízí se následující model:

1. látky ovlivňující metabolismus kokcidií: použití steroidních saponinů. Tento typ saponinů má oproti saponinům triterpenoidním výrazně nižší hemolytickou aktivitu. V rostlinných surovinách se steroidní saponiny vyskytují ve směsi a to jako glykosidy (saponiny) spolu s aglykony (sapogeniny). Glykosidy jsou významně rozpustnější ve vodném prostředí střevního lumen a mohou se do určité míry vstřebávat. Aglykony jsou naopak nerozpustné, nevstřebávají se, působí pouze v GIT zvířat. Protože jde o látky povrchově aktivní, které interagují s buněčnými membránami, lze je využít k ovlivňování životnosti mikroorganismů, v tomto případě k ovlivňování integrity stěny oocyst a tím k dalšímu vývoji oocyst a jejich virulenci. Nezdá se však (alespoň o tom neexistují zprávy), že by saponiny (sapogeniny) mohly přímo zasáhnout do reprodukčního procesu kokcidií.

Pro experimentální studium je vhodné využít zdrojů steroidních saponinů běžně dostupných a to zejména následujících:

Tab. 4 Přehled běžných a dostupných rostlinných taxonů s obsahem steroidních saponinů

I	Taxon	Rostl. část	Definované účin. na mikroorganizmy (izol. látky)	Lit.
	Aesculus <i>Aesculus hippocastanum</i>	semena	izolace β -escinu	227
	Allium <i>Allium sp.</i>	různé	koagulace krve	228
	<i>Allium aflatunense</i>	cibule	cytostatická aktivita	229
	<i>Allium albopilosum</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	230
	<i>Allium ampeloprasum</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	231
		cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	232
	<i>Allium fistulosum</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	233
	<i>Allium giganteum</i>	???	izolace, biol. aktivita nestanovena	234
		???	izolace, biol. aktivita nestanovena	235
		cibule	silná inhibice cAMP-fosfodiesterázy	236
	<i>Allium chinense</i>	???	inhibice cAMP fosfodiesterázy a Na^+/K^+ ATPasy	237
	<i>Allium karataviense</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	238
		cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	239
		cibule	cytostatická aktivita: HL-60	240
	<i>Allium macrostemon</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	241
		cibule	extrakt, ovlivnění krevních lipidů, arteriosklerózy, hypertenze, ztuhnutí jater, infarktu myokardu	242
		cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	243
	<i>Allium nutans</i>	cibule	izolace (4 %), biol. aktivita nestanovena	244
		cibule	deltosid; antitumorózní aktivita, antioxidační aktivita, vliv na virus tabákové mozaiky	245
	<i>Allium ostrowskianum</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	230
	<i>Allium porrum</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	246
	<i>Allium sativum</i>	cibule	erubosid B+jeho dva deriváty, vliv na trombocytární agregaci, krevní koagulaci a fibrinolýzu	247
	<i>Allium schubertii</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	248
	<i>Allium victorialis</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	249
	<i>Allium wallichii</i>	cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena	250
	Anemarrhena <i>A. asphodeloides</i>	oddenky	izolace, biol. aktivita nestanovena antioxidační a protizánětl. aktivita saponinů	251,252 253
	Asparagus <i>Asparagus sp.</i>	???	fytochemické a farmakol. studie druhů rodu chřest	254
	<i>Asparagus adscendens</i>	???	izolace, biol. aktivita nestanovena	255
	<i>Asparagus officinalis</i>	semena	2 (oligo)furostanosidy; inhibice růstu HL-60, ireversibilní inhibice syntézy DNA	256,257
	<i>Asparagus oligoclonos</i>	oddenky	2 spirostanové glykosidy; antibakteriální aktivita	258
	Avena <i>Avena sativa</i>	nadz. část	HPLC steroidních saponinů přítomnost v zelených listech	259 260,261
	Dioscorea <i>Dioscorea althaeoides</i>	hlízy	izolace; biol. aktivita nestanovena	262
	<i>D. colletii</i> var. <i>hypoglauca</i>	hlízy	izolace, biol. aktivita nestanovena	263
	<i>Dioscorea collettii</i>	hlízy	izolace; biol. aktivita nestanovena	264
	<i>Dioscorea nipponica</i>	hlízy	izolace; biol. aktivita nestanovena	265,266
	Liriope <i>Liriope spicata</i>	hlízy	izolace, biol. aktivita nestanovena	267
	Lycium <i>Lycium chinensis</i>	plody	izolace, biol. aktivita nestanovena	268
	Solanum <i>Solanum nigrum</i>	nař	izolace, biol. aktivita nestanovena	269
	Smilax <i>Smilax officinalis</i>	oddenek	izolace, biol. aktivita nestanovena	270

	Tribulus <i>Tribulus terrestris</i>	plody plody, nať	izolace, biol. aktivita nestanovena stimulační aktivita na sexuální funkce zvýšení fyzické výkonnosti, toxicita účinek glykosidů proti houbovým patogenům účinek glykosidů vůči linitím rakovinných buněk zvýšení imunity, protivirový, protizánětlivý účinek	271 272 273 274,275 274 276
	Trigonella <i>T. foenum-graecum</i>	semena	izolace, biol. aktivita nestanovena antihypercholesterolemický, spermicidní, antiandrogenní, antikancerogenní, antibakteriální, anthelmintický, anticholinergický, antiulcerózní účinek	277,278,279 280,281,282
	Yucca <i>Yucca sp.</i> <i>Yucca aloifolia</i> <i>Yucca gloriosa</i> <i>Yucca schidigera</i>	různé listy listy nadz. č.	izolace, biol. aktivita nestanovena izolace, biol. aktivita nestanovena izolace, biol. aktivita nestanovena izolace, biol. aktivita nestanovena účinek glykosidů proti kvasinkám vliv na ruminální mikroorganizmy (snížení počtu protozoí)	283 284 285 286 287 288,289
II	Agave <i>Agave americana</i> <i>Aloe ferox</i>	listy listy	protizánětlivý účinek vodných extr. se saponiny moluscicidní aktivita steroidních saponinů	290 291
	Astragalus <i>A. membranaceus</i> (*)	vlas. kořeny	izolace, biol. aktivita nestanovena	292
	Balanites <i>Balanites aegyptiaca</i>	plody	izolace, biol. aktivita nestanovena	293
	Camassia <i>Camassia cusickii</i> <i>Camassia leichtlinii</i>	cibule cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena izolace glykosidů, cytotoxická aktivita	294,295 296
	Capsicum <i>Capsicum frutescens</i> (*)	plody	saponin CAY-1 má výraznou antifungální aktivitu	297
	Costus <i>Costus speciosus</i>	semena	izolace, biol. aktivita nestanovena	298
	Liliaceae různé taxony	různé různé	různá biologická aktivita výrazná antitumorová aktivita steroidních saponinů	299 300
	Lilium <i>Lilium candidum</i> <i>Lilium regale</i> <i>Lilium henryi</i>	cibule cibule cibule cibule	izolace, biol. aktivita nestanovena inhibiční aktivita saponinů na Na ⁺ /K ⁺ ATPasy izolace, biol. aktivita nestanovena	301,302 303 304
	Paris <i>Paris polyphylla</i> <i>Paris axillaris</i>	podzem. č. podzem. č.	izolace, biol. aktivita nestanovena izolace, biol. aktivita nestanovena	305,306 307
	Polygonatum <i>Polygonatum odoratum</i> <i>Polygonatum sibiricum</i> <i>Polygonatum verticillatum</i>	oddenek oddenek oddenek oddenek	izolace, biol. aktivita nestanovena protizánětlivý účinek v GIT izolace, biol. aktivita nestanovena izolace, biol. aktivita nestanovena	308 309 310 311
	Rubia <i>Rubia cordifolia</i> (*)	oddenek	izolace, biol. aktivita nestanovena	312
	Ruscus <i>Ruscus aculeatus</i>	oddenek	izolace, biol. aktivita nestanovena	313
	Vernonia <i>Vernonia amygdalina</i>	???	izolace, biol. aktivita nestanovena	314

<i>Veronica</i> <i>Veronica gentianoides</i>	???	izolace, biol. aktivita nestanovena	315
---	-----	-------------------------------------	-----

Vysvětlivky: I – rostlinné části (drogy), příp. standardizované extrakty jsou snadno komerčně dostupné
 II – rostlinné části (drogy) je nutno získat speciálním dovozem, sběrem z přírody, příp. umělou introdukci, rostliny jsou však technicky dobře pěstovatelné; izolace některých saponinů však může být problémová (*).

Steroidní saponogeniny (nebo v řadě případů saponiny) mají významné biologické efekty, např. působí proti hypercholesterolemii³¹⁶, působí cytotoxicky a antitumorově^{317,318,319}, mají vliv na ruminální fermentaci a mléčnou produkci u krav³²⁰, působí proti zápachu³²¹ a mají řadu dalších účinků specifických pro saponiny (saponogeniny) konkrétních rostlinných druhů. Z našeho pohledu je zajímavá aktivita antivirová³¹⁷, antimikrobiální³¹⁸ a antifungální³²².

Ve výše uvedeném přehledu nejsou uvedeny všechny taxony s obsahem steroidních saponinů, protože jsou pro tyto potřeby pokládány za okrajové (např. rody *Convallaria*, *Helionopsis*, *Chionographis*, *Funkia*, *Alstroemeria*, *Trillium*, *Tritelleia* aj.) protože získání drogy v dostatečném množství je z řady důvodů problémové (CITES, obtížná introdukce aj.).

2. látky zvyšující imunitu střevní mukózy: jsou velmi důležité pro zachování (navození) integrity mukózy, která tak snáze odolává ataku invazivního agens. V úvahu přichází:

- *L-arginin*, viz kap. 3.5.3. vykazuje řadu efektů na imunitní funkce *in vitro* i *in vivo*, stimuluje činnost thymu a T-lymfocytů, snižuje počet T supresorů/cytotoxických buněk, zvyšuje počet a aktivitu NK buněk³²³,
- *L-glutamin* vykazuje rovněž imunomodulační aktivitu, hraje významnou roli v ochraně integrity GIT, tlumí katabolické procesy, zvyšuje fagocytózy (neutrofilů a monocytů), zvyšuje syntézu glutathionu v intestinální oblasti, což hraje významnou roli v integritě intestinální mukózy postižené např. oxidačním stresem^{324,325,326,327}; u obou aminokyselin je však nutné zajistit příslušnou technologickou úpravu, protože za normálních podmínek přípravy krmiva (teplota, přechodné kovy) by se mohly snáze rozkládat,
- *kvasinkové β-glukany* jsou nestravitelné polysacharidy, které se vyskytují také široce v jiných zdrojích (oves, ječmen); jsou přítomny také v buňkách kloboukatých hub (oddělení Eumycota), prakticky se však získávají extrakcí ze stěny buněk pivovarských kvasnic (*Saccharomyces cerevisiae*). Tyto látky mají imunomodulační aktivitu: mohou se vázat na řadu buněk, uplatňujících se v imunitní odpovědi

(makrofág, neutrofilů)^{328,329}. Na trhu se vyskytují produkty PCG-glucan, nebo Zymosan.

3. látky ovlivňující růst patologických mikroorganismů ve střevní flóře: při oslabení fyziologických funkcí GIT bývá střevo sekundárně osazeno patogenní mikroflórou různého charakteru. V tomto případě je vhodné přidávat látky, které mají bakteriostatický (baktericidní) účinek; jejich koncentrace musí být relativně nízká, protože mohou mít antinutriční efekt (zvláště, jedná-li se o látky fenolické s větším počtem volných hydroxylových skupin):

- silice z *Allium sativum* (česnek setý),
- vůči běžným patogenům jsou také účinné silice z rostlinných taxonů, např. z *Citrus aurantium* (pomeranč), *Coriandrum sativum* (koriandr), *Foeniculum vulgare* (fenykl), *Melaleuca alternifolia* („tea tree“), *Mentha spicata* (máta klasnatá), *Majorana hortensis* (majoránka), *Pimpinella anisum* (anýz), *Pogostemon patchouli* (pačuli), *Salvia officinalis* (šalvěj lékařská), *Syzygium aromaticum* (hřebíčkovec), zejména však *Cymbopogon martinii* (cymbopogon), *Origanum vulgare* (dobromysl), *Thymus vulgaris* (tymián) a nejvíce *Cymbopogon citratus*³³⁰.
- je možné uvažovat také o extraktech z léčivých drog, které obsahují antisepticky působící silice dohromady s dalšími látkami, především tříslovinami a flavonoidy, jako např. *Carum carvi* (kmín), *Hyssopus officinalis* (yzop), *Matricaria recutita* (heřmánek pravý), *Ocimum basilicum* (bazalka), *Satureja hortensis* (saturejka); většina těchto rostlin má zároveň účinky proti střevním parazitům,
- Při použití těchto silic je však nutné vzít v úvahu kromě antinutričních efektů nežádoucí účinky další: např. silice ze zástupců čeledi Cupressaceae (*Juniperus oxycedrus*, *Pinus mugo* aj.) mají určité derivační účinky na střevní mukózu, zvyšují její prokrvení a mohou tak dráždit, podobný účinek vykazují oleoresiny (*Capsicum annuum*) ad.

4. látky působící antidiarhoidálně: jsou v použití problémové. Snižují sice průjem, zároveň však mají jako polyfenoly poměrně výrazně antinutriční efekt a snižují tak využitelnost krmné dávky. Zdá se, že kompromis může být v tomto případě realizován použitím sloučenin na bázi flavan-3,4-olů (tzv. oligomerních procyanidinů), které jsou přítomny v různých léčivých drogách, zde použitelně např. v:

- *Agrimonia eupatoria* – řepík lékařský - (obsahové látky nati působí příznivě na játra, zvyšuje vylučování trávicích šťáv, tonizuje střevní peristaltiku, má adstringentní, mírně dezinfekční a protizánětlivé účinky a mírné účinky antiparazitární),
- *Camellia sinensis* – čajovník čínský - (komerčně dostupný dekofeinovaný extrakt obsahuje oligomerní procyanidiny s nízkým adstringentním účinkem, s výrazným účinkem antioxidačním),
- *Fragaria vesca* – jahodník obecný - (obsahové látky listů mají svíravý a bakteriostatický účinek),
- *Vitis vinifera* – réva vinná - (obsahové látky semen obsahují oligomerní procyanidiny podobného charakteru jako v případě *Camellia sinensis*),
- *a další.*

6 Závěr

Tato souhrnná práce poskytuje přehled výsledků za posledních ca 30 let v oblasti přírodních látek, které vykazují biologické účinky vůči různým druhům patogenních prvoků. Zdá se, že biologická aktivita těchto látek může být zkřížená; i když nebyly některé uvedené látky (extrakty) bezprostředně zkoušeny na kokcidiích, dá se předpokládat určitý účinek. Tato práce nerozebírá detailně všechny literární studie, protože by byla velmi rozsáhlá a pro prvotní orientaci velmi zatěžující, ale je určena jako směr dalšího studia.

Výzkum kokcidiostatik přírodního původu z hlediska praktické potřeby může být řešen následujícím postupem:

1. **zopakováním vybraných výsledků, uvedených v literatuře** v oblasti přírodních antikokcidik a případný výběr málo toxické antikokcidické (spíše kokcidiostatické) látky,
2. **vyzkoušením sumárních směsí steroidních saponinů a sapogeninů** (bez rozlišení, zda se jedná o látky typu spirostanu nebo furostanu) a to nejprve ve formě vyčištěných saponinových extraktů z komerčně dostupných drog a teprve následně z drog raritních; pokud se ukáže, že glykosidy (saponiny) jeví určitou toxicitu, je vhodné extrakty hydrolyzovat za účelem získání aglykonů, které jsou podstatně méně rozpustné a působí spíše lokálně ve střevě na produkci oocyst, aniž by se výrazně vstřebávaly. Základem krmného aditiva by měly být tyto saponinové látky,
3. **přidat látky, zvyšující imunitu střevní mukózy a zvyšující tak integritu střeva;** z uvedených látek se jako nejvhodnější jeví kvasinkové glukany, protože jsou chemicky

relativně stálé; ze jmenovaných aminokyselin je nejméně stálý glutamin, který je vhodný podávat ve formě oligopeptidů,

4. ***aplikovat dále do směsi látky ovlivňující růst patologických mikroorganismů ve střevní flóře***; výběr vhodných silic, zejména z *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* a *Cymbopogon citratus* může přinést velmi příznivé výsledky,
5. ***látky působící antidiarhoidálně etc.*** lze pokládat za alternativu k bodu 3. Jejich použití je teoreticky velmi žádoucí, skrývá v sobě však nebezpečí antinutričního efektu,
6. ***po zjištění vhodné kombinace přírodních látek je nutné vypracování optimální technologie zajišťující žádoucí biologickou dostupnost***, která je stejně důležitá jako zjištění přírodních kokcidostatik. Pokud nebudou látky vhodně distribuovány v krmivu, pak ve velkochovech nevyvolají potřebný efekt,
7. ***uplatnění produkčních postupů využívajících výše uvedených poznatků*** – např. sypké, adsorpční neprašné podestýlky s obsahem pilin ze smíšeného dřeva (dřevo jehličin obsahuje antimikrobiálně účinné terpeny, dřeva listnatých stromů, zejména dubu a buku kondenzované třísloviny).

Problém kokcidióz a histomoniáz je problémem komplikovaným, vyžadujícím konsekvenční spojení výzkumu z několika oblastí, protože bez tohoto postupu lze získat jen dílčí výsledky, platné maximálně v poloprovozech, nikoli na farmách, které se od sebe často mírně liší podmínkami produkční technologie.

- ¹ Holmberg, T. A., Vernau, W., Melli, A. C., Conrad, P. A.: Neospora caninum associated with septic peritonitis in an adult dog. *Am. Soc. Vet. Clin. Pathol.* 35(2), 235-238 (2006).
- ² Dubey, J. P., Buxton, D., Wouda, W.: Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Compar. Pathol.* 134(4), 267-289 (2006).
- ³ Kinnaird, J. H., Bumstead, J. M., Mann, D. J., Ryan, R., Shirley, M. W., Shiels, B. R., Tomley, F. M.: EtCRK2, a cycli-dependent kinase gene expressed during the sexual and asexual phases of the *Eimeria tenella* life cycle. *Int. J. Parasitol.* 34(6), 683-692 (2004).
- ⁴ De Gussem, M.: Kontrola a management protozoálních onemocnění krůt: Je černohlavost skutečnou hrozbou pro moderní produkci krůt? (překlad Limavský, M.); <http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=3278>.
- ⁵ Foure, N., Bennejean, G.: A new prophylactic coccidostat: stenorol. In: Proceedings and Abstracts of the 15th World's Poultry Congress and Exposition, New Orleans, August 11-16, 1974, pp. 92-94.
- ⁶ Klayman, D. L., Lin, A. J., Acton, N., Scovill, J. P., Hoch, J. M., Milhous, W. K., Theoharides, A. D., Dobek, A. S.: Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *J. Nat. Prod.* 47, 715-717 (1984).
- ⁷ Akhtar, M. S., Rifaat, S.: Anticoccidial screening of *Melia azedarach* Linn. (Bakain) in naturally infected chickens. *Pakistan J. Agric. Sci.* 24, 95-99 (1987).
- ⁸ Klavman, D. L.: Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science* 228, 1049-1055 (1985).
- ⁹ Jiang, J. B., Jacobs, G., Liang, D. S., Aikawa, M.: Qinghaosu-induced changes in the morphology of *Plasmodium inui*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34, 424-428 (1985).
- ¹⁰ Cooke, D. W., Lallinger, G. J., Durack, D. T.: In vitro sensitivity of *Naegleria fowleri* to qinghaosu and dihydroqinghaosu. *J. Parasitol.* 73, 411-413 (1987).
- ¹¹ Lin, A. J., Klayman, D. L., Milhous W. K.: Antimalarial activity of new water-soluble dihydroartemisinin derivatives. *J. Med. Chem.* 30, 2147-2150 (1987).
- ¹² Dutta, G. P., Bajpai, R., Vishwakarma, R. A.: Artemisinin (qinghaosu) – a new gametocytocidal drug for malaria. *Chemotherapy* 35, 200-207 (1989).
- ¹³ Dutta, G. P., Mohan, A., Tripathi, R.: Study of the gametocytocidal/sporontocidal action of qinghaosu (artemisinin) by electron microscopy. *J. Parasitol.* 76, 849-852 (1990).
- ¹⁴ He, J., Zhang, L.: Effect of sweet wormwood (*Artemisia annua*) essence on *Trypanosoma evansi*. *J. Trad. Chin. Vet. Med.* 2, 5-6 (1989).
- ¹⁵ Matsuda, K., Kimura, M., Komai, K., Hamada, M.: Nematicidal activities of (-)-N-methylcystisine and (-)-anagyrine from *Sophora flavescens* against pine wood nematodes. *Agric. Biol. Chem.* 53, 2287-2288 (1989).
- ¹⁶ Ou-Yang, K., Krug, E. C., Marr, J. J., Berens, R. L. Inhibition of growth of *Toxoplasma gondii* by qinghaosu and derivatives. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 34, 1961-1965 (1990).
- ¹⁷ Shuhua, X., Catto, B. A.: In vitro and in vivo studies of the artemether on *Schistosoma mansoni*. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 33, 1557-1562 (1989).
- ¹⁸ Quan, J.: Therapy of swine toxoplasmosis with *Artemisia annua*. *Chin. J. Trad. Vet. Sci.* 4, 4 (1990).

-
- ¹⁹ Anderson, D. M., Liu, L., Hsiao, H.-Y., Douglas, W.: Mannase and phospholipase enzyme tretment for digestive tract infection and improvement of growth rate and feed efficiency. PCT Int. Appl. WO 2001041785 (2001).
- ²⁰ Schmatz, D. M., Gurnett, A. M., Samaras, S. D.: Antiprotozoal histone acetyl transferase inhibitors. PCT Int. Appl. WO 2001027314 (2001).
- ²¹ Darkin-Ratray, S. J., Gurnett, A. M., Myers, R. W., Dulski, P. M., Crumley, T. M., Allocco, J. J., et al.: Apicidin: a novel antiprotozoal agent that inhibits parasite histone deacetylase. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93(23), 13143-13147 (1996)
- ²² Meinke, P. T., Liberator, P.: Histone deacetylase: a target for antiproliferative and antiprotozoal agents. Curr. Med. Chem. 8(2), 211-235 (2001).
- ²³ Colletti, S. L., Myers, R. W., Darkin-Ratray, S. J., et al: Bioorganic and Med. chem. Letters 11(2), 107-111 (2001).
- ²⁴ Kim, J.-S., Lee, S., Lee, T., Lee, Y.-W., Trepel, J. B.: Transcriptional activation of p21WAF1/CIP1 by Apicidin, a novel histone deacetylase inhibitor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 281(4), 866-871 (2001).
- ²⁵ Piper, J. R., Laseter, A. G., Montgomery, J. A.: Synthesis of potential inhibitors of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase for testing as antiprotozoal agents. 1. J. Med. Chem. 23(4), 357-364 (1980).
- ²⁶ Piper, J. R., Laseter, A. G., Johnston, T. P., Montgomery, J. A.: Synthesis of potential inhibitors of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase for testing as antiprotozoal agents. 2. J. Med. Chem. 23(10), 1136-1139 (1980).
- ²⁷ Remon, J. P., Vermeulen, B.: Antiprotozoal methods, compositions and feedstuffs. Eur. Pat. Appl. EP 1234508 (2002).
- ²⁸ Wright, C. W., Phillipson, J. D.: Natural products and the development of selective antiprotozoal drugs. Phytother. Res. 4(4), 127-139 (1990).
- ²⁹ Dou, J., McChesney, J. D., Sindelar, R. G., Goins, D. K., Walker, L. A.: A new quassinoid from *Castella texana*. J. Nat. Prod. 59(1), 73-76 (1996).
- ³⁰ Schmeda-Hirschmann, G., Razmilic, I., Sauvain, M., Moretti, C., Munoz, V., Ruiz, E., Balanza, E., Fournet, A.: Antiprotozoal activity of jatrogrossidione from *Jatropha grossidentata* and jatrophone from *Jatropha isabellii*. Phytother. Res. 10(5), 375-378 (1996).
- ³¹ Venugopalan, B., Bapat, Ch. P., Karnik, P. J., Lal, B., Deepak, K., Iyer, S. N., Rupp, R. H.: Eur. Pat. Appl. EP 362730 (1990).
- ³² Venugopalan, B., Bapat, Ch. P., Chintamani, P., Karnik, P. J., Lal, B., Chatterjee, D. K., Iyer, S. N., Rupp, R. H.: U.S. US 5225427 (1993).
- ³³ Marr, J. J., Krug, E. C., Berens, R. L., Ke, O. Y.: Method using alkyl derivatives of qinghaosu for treating toxoplasmosis. U.S. US 5486535 (1996).
- ³⁴ Meckes, M., Calzada, F., Tapia-Contreras, A., Cedillo-Rivera, R.: Antiprotozoal properties of *Helianthemum glomeratum*. Phytother. Res. 13(2), 102-105 (1999).
- ³⁵ Padayachee, T., Odhav, B.: Antiamebic activity of plant compounds from *Virgilia oroboides* and *Chlorophora excelsa*. J. Ethnopharmacol. 78(1), 59-66 (2001).
- ³⁶ Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Bye, R., Mata, R.: Chemical studies on Mexican plants used in traditional medicine. Part XLV. Geranins C and D, additional new antiprotozoal A-type proanthocyanidins from *Geranium niveum*. Planta Med. 67(7), 677-680 (2001).

-
- ³⁷ Calzada, F., Cerda-Garcia-Rojas, C. M., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye, R., Mata, R.: Geranins A and B, New antiprotozoal A-type proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *J. Nat. Prod.* 62(5), 705-709 (1999).
- ³⁸ Calzada, B. F., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R.: Antiamebic and anti-giardial activity of plant flavonoids. *Planta Med.* 65(1), 78-80 (1999).
- ³⁹ Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Mata, R.: Antiprotozoal activity of the constituents of *Conyza filaginoides*. *J. Nat. Prod.* 64(5), 671-673 (2001).
- ⁴⁰ Khan, I. A., Avery, M. A., Burandt, C. L., Goins, D. K., Mikell, J. R., Nash, T. E., Azadegan, A., Walker, L. A.: Anti-giardial activity of isoflavones from *Dalbergia frutescens* Bark. *J. Nat. Prod.* 63(10), 1414-1416 (2000).
- ⁴¹ Demetzos, C., Dimas, K. S.: Labdane-type diterpenes: Chemistry and biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry*, 25(Bioactive natural Products (Part F)), 235-292, 2001.
- ⁴² Fournet, A., Barrios, A. A., Munoz, V., Hocquemiller, R., Roblot, F., Cave, A., Richomme, P., Bruneton, J.: Antiprotozoal activity of quinoline alkaloids isolated from *Galipea longiflora*, a Bolivian plant used as a treatment for cutaneous leishmaniasis. *Phytother. Res.* 8(3), 174-178 (1994).
- ⁴³ Delorenzi, J. C., Freire-De-Lima, L., Gattass, C. R., Costa, D. De A., He, L., Kuehne, M., Saraiva, E., M. B.: *In vitro* activities of iboga alkaloid congeners coronaridine and 18-methoxycoronaridine against *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 46(7), 2111-2115 (2002).
- ⁴⁴ Moretti, C., Sauvain, M., Lavaud, C., Massiot, G., Bravo, J.-A., Munoz, V.: A novel antiprotozoal aminosteroid from *Sarach punctata*. *J. Nat. Prod.* 61(11), 1390-1393 (1998).
- ⁴⁵ Camacho, M. del R., Phillipson, J. D., Croft, S. L., Rock, P., Marshall, S. J., Sarah, J., Schiff, P. L. Jr.: *In vitro* activity of *Triclisia patens* and some bisbenzylisoquinoline alkaloids against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma brucei brucei*. *Phytotherapy Res.* 16(5), 432-436 (2002).
- ⁴⁶ Cubukcu, B., Delmas, F., Favel, A., Mericli, A. H., Elias, R., Balansard, G.: Evaluation of antiprotozoal and antifungal activities of Turkish *Artemisia santonicum* L. *J. Fac. Pharm. Istanbul Univ.* 32, 19-22 (1998). *Chem. Abstr.* 131, 348944.
- ⁴⁷ Hazra, B., Banerjee, A., Roy, D. K.: Inhibitory activity of diospyrin towards *Leishmania donovani* promastigotes *in vitro*. *IRCS Med.* 14(6), 593-594 (1986).
- ⁴⁸ Hazra, B., Saha, A. K., Ray, R., Roy, D. K., Sur, P., Banerjee, A.: Antiprotozoal activity of diospyrin towards *Leishmania donovani* promastigotes *in vitro*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81(5), 738-741 (1987).
- ⁴⁹ Kayser, O., Kiderlen, A. F.: *In vitro* leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones. *Phytother. Res.* 15(2), 148-152 (2001).
- ⁵⁰ Villaescusa-Castillo, L., Diaz-Lanza, A. M., Gasquet, M., Delmas, F., Ollivier, E., Bernabe, M., Faure, R., Elias, R., Balansard, G.: Antiprotozoal activity of sesquiterpenes from *Jasonia glutinosa*. *Pharm. Biol.* 38(3), 176-180 (2000).
- ⁵¹ Del Rayo Camacho, M., Kirby, G. C., Warhurst, D. C., Croft, S. L., Phillipson, J. D.: Oxoaporphine alkaloids and quinone from *Stephania dinklagei* and evaluation of their antiprotozoal activities. *Planta Med.* 66(5), 478-480 (2000).
- ⁵² Camacho, M. del R., Mata, R., Castaneda, P., Kirby, G. C., Warhurst, D. C., Croft, S. L., Phillipson, J. d.: Bioactive compounds from *Celaedendron mexicanum*. *Planta Med.* 66(5), 463-468 (2000).

-
- ⁵³ Akendengue, B., Roblot, F., Loiseau, P. M., Bories, C., Ngou-Milama, E., Laurens, A., Hocquemiller, R.: Klaivanolide, an antiprotozoal lactone from *Uvaria klaineana*. *Phytochemistry* 59(8), 885-888 (2002).
- ⁵⁴ Mshvildadze, V., Elias, R., Delmas, F., Decanosidze, G., Kemrtelidze, E., Academician, E., Balansard, G.: Antiprotozoal activity of triterpene glycosides from *Hedera L.* *Bull. Georgian Acad. Sci.*, 158(2), 276-278 (1998).
- ⁵⁵ Mshvildadze, V., Favel, A., Delmas, F., Elias, R., Faure, R., Decanosidze, G., Kemrtelidze, E., Balansard, G.: Antifungal and antiprotozoal activities of saponins from *Hedera colchica*. *Pharmazie* 55(4), 325-326 (2000).
- ⁵⁶ Satake, M., Fuchino, H., Koide, T., Takahashi, M., Sekita, S.: Sesquiterpenoids and their derivatives as antileishmanial agents. *PCT Int. Appl. WO 2001058888* (2001).
- ⁵⁷ Waechter, A.-I., Cave, A., Hocquimiller, R., Bories, C., Munoz, V., Fournet, A.: Antiprotozoal activity of aporphine alkaloids isolated from *Unonopsis buchtienii* (Annonaceae). *Phytother. Res.* 13(2), 175-177 (1999).
- ⁵⁸ Oketch-Rabah, H. A., Dossaji, S. F., Christensen, S., Brogger, Frydenvang, K., Lemmich, E., Cornett, C., Olsen, C. E., Chen, M., Kharazmi, A., Theander, T.: Antiprotozoal compounds from *Asparagus africanus*. *J. Nat. Prod.* 60(10), 1017-1022 (1997).
- ⁵⁹ Oketch-Rabah, H. A., Lemmich, E., Dossaji, S. F., Theander, T. G., Olsen, C. E., Cornett, C., Kharazmi, A., Christensen, S. B.: Two new antiprotozoal 5-methylcoumarins from *Vernonia brachycalyx*. *J. Nat. Prod.* 60(5), 458-461 (1997).
- ⁶⁰ Oketch-Rabah, H. A., Christensen, S. B., Frydenvang, K., Dossaji, S. F., Theander, T. G., Cornett, C., Watkins, W. M., Kharazmi, A., Lemmich, E.: Antiprotozoal properties of 16,17-dihydrobrachycalixolide from *Vernonia brachycalyx*. *Planta Med.* 64(6), 559-562 (1998).
- ⁶¹ Berger, I., Passreiter, C. M., Caceras, A., Kubelka, W.: Antiprotozoal activity of *Neurolaena lobata*. *Phytother. Res.* 15(4), 327-330 (2001).
- ⁶² Fevrier, A., Ferreira, M. E., Fournet, A., Yaluff, G., Inchausti, A., Rojas de A. A., Hocquemiller, R., Waechter, A. I.: *Planta Med.* 65(1), 47-49 (1999).
- ⁶³ Kharazmi, A., Christensen, S. B., Nielsen, S. F.: Preparation of biologically active chalcones, dihydrochalcones, and analogs thereof. *PCT Int. Appl. WO 9900114* (1999).
- ⁶⁴ Anisimov, N. N., Strigina, L. I., Gorovoj, P. G., Aminin, D. L., Agafonova, I. G.: Chemical composition and medical biological properties of triterpene glycosides of the far eastern plant *Caulophyllum robustum* Maxim. *Rastit. Resur.* 36(1), 107-129 (2000).
- ⁶⁵ Kim, J.-T., Park, J.-Y., Seo, H.-S., Oh, H.-G., Noh, J.-W., Kim, J.-H., Kim, D.-Y., Youn, H.-J.: In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. *Veter. Parasitol.* 103(1-2), 53-63 (2002).
- ⁶⁶ Bringamann, G., Messer, K., Schwobel, B., Brun, R., Ake, A., L.: Habropetaline A, an antimalarial naphthylisoquinoline alkaloid from *Triphyophyllum peltatum*. *Phytochemistry* 62(3), 345-349 (2003).
- ⁶⁷ Khambay, B. P. S., Simmonds, M. S. J.: Use of naphthoquinone compounds as antiprotozoal agents. *PCT Int. Appl. WO 9718800* (1997).
- ⁶⁸ Camacho, M. del R., Phillipson, J. D., Croft, S. L., Marley, D., Kirby, G. C., Warhurst, D. C.: Assessment of the antiprotozoal activity of *Galphimia glauca* and the isolation of new nor-secofriedelanes and nor-friedelanes. *J. Nat. Prod.* 65(10), 1457-1461 (2002).

-
- ⁶⁹ Heilmann, J., Brun, R., Mayr, S., Rali, T., Sticher, O.: Minor cytotoxic and antibacterial compounds from the rhizomes of *Amomum aculeatum*. *Phytochemistry* 57(8), 1281-1285 (2001).
- ⁷⁰ Asres, K., Bucar, F., Knauder, E., Yardley, V., Kendrick, H., Croft, S. L.: In vitro antiprotozoal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Combretum molle*. *Phytother. Res.* 15(7), 613-617 (2001).
- ⁷¹ Rasmussen, H. B., Christensen, S. B., Kvist, L. P., Karazmi, A.: A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*. *Planta Med.* 66(4), 396-398 (2000).
- ⁷² Traore, F., Faure, R., Ollivier, E., Gasquet, M., Azas, N., Debrauwer, L., Keita, A., Timon-David, P., Balansard, G.: Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. *Planta Med.*, 66(4), 368-371 (2000).
- ⁷³ Barvo, B. J. A., Sauvain, M., Alberto, G. T., Victoria, M. O., Callapa, J., Le Men-Olivier, L., Massiot, G., Lavaud, C.: Bioactive phenolic glycosides from *Aburana cearensis*. *Phytochemistry* 50(1), 71-74 (1999).
- ⁷⁴ Rasmussen, H. B., Christensen, S. B., Kvist, L. P., Kharasmi, A., Huansi, A. G.: Absolute configuration and antiprotozoal activity of minquartynoic acid. *J. Nat. Prod.* 63(9), 1295-1296 (2000).
- ⁷⁵ Scafetta, N., Tinti, M. O., De Angelis, F., Gramiccioli, G. C.: Preparation of bis alkanoyl esters of carnitine having bactericidal, fungicidal and antiprotozoal activities. *Eur. Pat. Appl.* EP 796841 (1997) EP 7-830118 (1997).
- ⁷⁶ OjoAmaize, E. A., Okogun, J. I., Nchekwube, E. J.: Hypoestoxides, derivatives and agonists for use as antiparasitic agents. *PCT Int. Appl.* WO 2001001975, (2001); *Appl. WO* 2000-US18596 (2000).
- ⁷⁷ Tomassini, T. C. B., Dos Santos, R. R., Soares, M. B. P., Xavier, D. C. D., Barbi, N. S., Ribeiro, I. M. Soares, R. O. De A., Fernandez,-Ferreira, E.: Isolation of physalins from plants and pharmaceutical compositions and antiprotozoal activity of physalins. *U. S. Par. Appl. Publ.* US 2002103386 (2002).
- ⁷⁸ Ingoldsdottir, K.: Usnic acid. *Phytochemistry* 61, 729-736 (2002).
- ⁷⁹ Tabatadze, N., Zviadadze, L., Favel, A., Delmas, F., Di Giorgio, C., Balansard, G., Kemertelidze, E.: Biologically active triterpene saponins from *Cephalaria gigantea*. *Bull. Georg. Acad. Sci.* 165(2), 318-320 (2002).
- ⁸⁰ Fournet, A., Munoz, V., Roblot, F., Hocquemiller, R., Cave, A., Gantier, J. C.: Antiprotozoal activity of dehydrozaluzani C, a sesquiterpene lactone isolated from *Munnozia maronii* (Asteraceae). *Phytother. Res.* 7(2), 111-115 (1993).
- ⁸¹ Thompson, M., Gaertner, F. H.: *Bacillus thuringiensis* isolate having anti-protozoan activity. *Eur. Pat. Appl.* EP 461799, 1991. *Appl.* EP 91305048 (1991).
- ⁸² Khalid, S. A., Friedrichsen, G. M., Kharasmi, A., Theander, T. G., Olsen, C. E., Christensen, S. B.: Limonoids from *Khaya senegalensis*. *Phytochemistry* 49(6), 1769-1772 (1998).
- ⁸³ Najera, C., Yous, M.: Natural products with polyene amide structures. *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 21(Bioactive Natural Products (Part B)), 373-455, Elsevier 2002.
- ⁸⁴ Dimmock, J. R., Elias, D. W., Beazely, M. A., Kandepu, N. M.: *Curr. Med. Chem.* 6(12), 1125-1149 (1999)
- ⁸⁵ Phillipson, J. D., Wright, C. W.: Antiprotozoal agents from plant sources. *Planta Med.* 57(Suppl.), S53-S59 (1991).

-
- ⁸⁶ Takahashi Toyozoh: Antimicrobial activities and chemical composition of tea. *Bio Ind.*, 14(9), 42-52 (1997); *Chem. Abstr.* 127, 275064 (1997).
- ⁸⁷ Croft, S. L., Weiss, C. R.: Natural products with antiprotozoal activity. *Proc. Phytochem. Soc. Eur.*, 43(Bioassay Methods in Natural Product Research and Drug Development), 81-99, 1999.
- ⁸⁸ Wang, X.-W., Xie, H.: Annonaceous acetogenins: potent mitochondrial inhibitors. *Drugs. Fut.* 24(2), 159-165 (1999).
- ⁸⁹ Cioli, D., Pica-Mattocchia, L., Archer, S.: Antischistosomal drugs: past, present and future? *Pharmacol. Ther.* 68(1), 35-85 (1995).
- ⁹⁰ Huang, Z.: Antischistosomal agents: the mode of action. A Review. *Arch. Pharm. Chm., Sci. Ed.* 12(2), 55-66 (1984); *Chem. Abstr.* 101, 122426.
- ⁹¹ Corona, M. del R. Camacho, Croft, S. L., Phillipson, J. D.: Natural products as sources of antiprotozoal drugs. *Curr. Opin. Anti-Infect. Invest. Drugs* 2(1), 47-62 (2000).
- ⁹² Mata, R., Rivero-Cruz, J.-F., Chavez, D.: Bioactive secondary metabolites from selected Mexican medicinal plants: Recent progress. *Bioactive Compounds from Natural Sources*, 129-158 (Tringalli, Corrado, ed.), Taylor and Francis, London 2001.
- ⁹³ Phillipson, J. D., Wright, C. W., Kirby, G. C., Warhurst, D. C.: Tropical plants as sources of antiprotozoal agents. *Recent Adv. Phytochem.*, 27(Phytochemical Potential of Tropical Agents), 1-40, 1993.
- ⁹⁴ Yao, R., Ma, R., Chen, Y., Huang, L.: Synthesis of analogs of agrimorphol, an antischistosomal agent. *Yaoyue Xuebao*, 19(3), 228-231 (1984); *Chem. Abstr.* 103, 123103.
- ⁹⁵ Jisaka, M., Kawanaka, M., Sugiyama, H., Takegawa, K., Huffman, M. A., Ohigashi, H., Koshimizu, K.: Antischistosomal activities of sesquiterpene lactones and steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*. *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 56(5), 845-846 (1992).
- ⁹⁶ Chen, G. Z., Foster, L., Bennett, J. L.: Antischistosomal action of mevinolin: evidence that 3-hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase activity in *Schistosoma mansoni* is vital for parasite survival. *Nauny-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 342 (4), 477-482 (1990).
- ⁹⁷ Zhang, Y., Xu, M., Zhang, L., Chen, P., Zhong, J., Yan, Ch., Ye, D., Lei, X.: Synthesis of derivatives of 12-dihydroartemisinin and their antischistosomal effects. *Yiyao Gongye* 16(6), 254-257 (1985); *Chem. Abstr.* 103, 189255.
- ⁹⁸ Sheng, J.-F., Liu, P.-Q., Huang, L.-S.: Isolation and identification of the antischistosomal constituent from *Dryopteris crassirhizoma* Nakai. *Yao Hsueh T'ung Pao* 16(2), 15-16 (1981); *Chem. Abstr.* 95, 138456.
- ⁹⁹ Gaballah, M., El-Gilany, A., El-Shazly, A., Motawea, S.: Control of schistomoniasis in a rural area using a new safe effective herbal treatment. *J. Environ. Sci.* 21, 63-84 (2001).
- ¹⁰⁰ Adewunmi, C. O., Oguntimein, B. O., Furu, P.: Molluscicidal and antischistosomal activities of *Zingiber officinale*. *Planta Med.* 56(4), 374-376 (1990).
- ¹⁰¹ Lyddiard, J. R. A., Whitfield, P. J., Bartlett, A.: Antischistosomal dioactivity of isoflavonoids from *Millettia thonningii* (Leguminosae). *J. Parasitol.* 88(1), 163-170 (2002).
- ¹⁰² Perrett, S., Whitfield, P. J., Janderson, L., Bartlett, A.: *J. Ethnopharmacol.* 47(1), 49-54 (1995).

-
- ¹⁰³ Jiwajinda, R., Kawanaka, H., Gasquet, M., Eilas, R., Balansard, G., Ohigashi, H.: In vitro anti-tumor promoting and anti-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma longifolia*, a medicinal plant in Southeast Asia. *J. Ethnopharmacol.* 82(1), 55-58 (2002).
- ¹⁰⁴ del Rayo Camacho, M., Phillipson, J. D., Croft, S. L., Kirby, G. C., Warhurst, D. C., Solis, P. N.: Terpenoids from *Guarea rhopalocarpa*. *Phytochemistry* 56(2), 203-210 (2001).
- ¹⁰⁵ D´Silva, C., Daunes, S., Rock, P., Yardley, V., Croft, S. L.: Structure-Activity Study on the in Vitro antiprotozoal activity of glutathione derivatives. *J. Med. chem.* 43(10), 2072-2078 (2000).
- ¹⁰⁶ Seki, R., Kamimura, R., Mitsubayashi, S.: Synergic sterilizing agents for preventing coccidiosis in animals. U.S. US 5585403 (1996).
- ¹⁰⁷ Yoshizawa, S., Nito, S., Ishihara, F.: Oocyst-killing agents containing hydrogen peroxide and basic compounds. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 08268817* (1996).
- ¹⁰⁸ Daloul, R. A., Lillehoj, H. S.: Poultry coccidiosis: recent advancement in control measures and vaccine development. *Expert Rev. Vaccin.* 5(1), 143-163 (2006); *Chem. Abstr.* 145, 208312.
- ¹⁰⁹ McDougald, L. R., Fuller, A. L.: Coccidial vaccine and methods of preparation and uses thereof. *PCT Int. Appl. WO 2004052393*; *Chem. Astr.* 141, 52851.
- ¹¹⁰ Li, X., Xu, Q., Yan, R., Xu, L.: Immunoregulating DNA vaccine for preventing and treating chicken coccidiosis. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai CN 1803194 A* (2006).
- ¹¹¹ Li, X., Xie, K., Yan, R., Xu, L.: DNA vaccine as immunoregulator for treating chicken *Eimeria tenella*. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai CN 1803195 A* (2006).
- ¹¹² Miller, T. J., Fanton, M. J.: *Escherichia coli*-derived heat-labile toxin as adjuvant in vaccine against infection in birds and poultry. *PCT Int. Appl.* 2004020585 (2004).
- ¹¹³ Evans, N. A., Findly, R. C., Weber, F. H. : In ovo vaccination against coccidiosis. *PCT Pat. Appl. WO-96-40234*, 1995.
- ¹¹⁴ Rose, M. E., Hesketh, P., Wakelin, D.: Oral vaccination against coccidiosis: responses in strains of mice that differ susceptibility to infection with *Eimeria vermiformis*. *Infect. Immun.* 65(5), 1808-1813 (1997).
- ¹¹⁵ Binger, M.-H., Chizzonite, R. A., Kramer, R. A., Lomedico, P. T., McAndrew, S. J., Altenburger, W.: Surface antigens of *Eimeria* and the genes encoding them and their use in vaccines against coccidiosis. U.S. US 5661015 (1997).
- ¹¹⁶ Allen, P. C., Danforth, H. D.: Effects of combined treatment with recombinant bovine somatotropin and immunization with live oocysts on performance of broiler chicks raised in coccidia-seeded floor pens. *Poult. Sci.* 76(10), 1349-1354 (1997).
- ¹¹⁷ Allen, P. C., Danforth, H. D., Gregory, S. A., Comens-Keller, P.: Assessment of recombinant bovine somatotropin as an immunomodulator during avian coccidiosis: immunization with living oocysts. *Poultry Sci.* 76(8), 1150-1155 (1997).
- ¹¹⁸ Brandon, M., Martinod, S. R.: Sustained release pharmaceutical and nutritional compositions for animals and humans. U.S. Pat. Appl. Publ. US 2005025806 (2005).
- ¹¹⁹ Leef, J. L., Carlson, P. S.: Herbicides as parasiticides against Apicomplexa. *PCT Int. Appl. WO 9848808* (1998).
- ¹²⁰ Coombs, G. H., Muller, S.: Recent advances in the search for new anti-coccidial drugs. *Int. J. Parasitol.* 32(5), 497-508 (2002).
- ¹²¹ He, J.-Y., Jae, W.-N.: Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veter. Parasitol.* 96, 257-263 (2001).

-
- ¹²² Xie, H., Xie, M., Wu, H., Peng, X., Wen, L., Zhang, J.: Effect of media and their components on cell culture of *Eimeria tenella*. *Dongwu Xuebao* 42(3), 316-323 (1996).
- ¹²³ Conkle, H. N., Blonigen, S. J., Werner, T. M., Shultz, J. E., Kilonowski, D. R., Tewskbury, R. L., Monzyk, B., Cucksey, C. M., Chad, M., Weber, F. H., McArthur, H. A. I.: Method for the purification, recovery, and sporulation of coccidial cysts and oocysts. PCT Int. Appl. WO 2000050072 (2000).
- ¹²⁴ Liberator, P., Schmatz, D., Gurnett, A., Diaz, C.: Sequences of cyclic GMP dependent protein kinases from *Eimeria maxima* and *Plasmodium falciparum* for use as chemotherapeutic targets for antiprotozoal agents. PCT Int. Appl. WO 2003054157 (2003).
- ¹²⁵ Gurnett, A., Liberator, P. A., Donald, R., Schmatz, D., Harris, G., Rattray, S. J.: Cyclic GMP-dependent protein kinase as a chemotherapeutic target for antiprotozoal agents. PCT Int. Appl. WO 2000061781 (2000).
- ¹²⁶ Wiersma, H. I., Galuska, S. E., Tomley, F. M., Sibley, L. D., Liberator, P. A., Donald, R. G. K.: A role for coccidian cGMP-dependent protein kinase in motility and invasion. *Int. J. Parasitol.* 34(3), 369-380 (2004).
- ¹²⁷ Qian, X., Liang, G.-B., Feng, D., Fisher, M., Crumley, T., Rattray, S., Dulski, P. M., Gurnett, A., Leavitt, P. S., Liberator, P. A., Misura, A. S., Samaras, S., Tama, T., Schmatz, D. M., Wyvratte, M., Biftu, T.: Synthesis and SAR studies of diarylpyrrole anticoccidial agents. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 16(10), 2717-2821 (2006).
- ¹²⁸ Zhang, Ch., Ondeyka, J. G., Herath, K. B., Guan, Z., Collado, J., Platas, G., Pelaez, F., Leavitt, P. S., Gurnett, A., Nare, B., Liberator, P., Singh, S. B.: Tenellones A and B from a *Diporthe* sp.: two highly substituted benzophenone inhibitors of parasite cGMP-dependent protein kinase activity. *J. Nat. Prod.* 68(4), 611-613 (2005).
- ¹²⁹ Zhang, Ch., Ondeyka, J. G., Herath, K. B., Guan, Z., Collado, J., Pelaez, F., Leavitt, P. S., Gurnett, A., Nare, B., Liberator, P., Singh, S. B.: Highly substituted terphenyl as inhibitors of parasite cGMP-dependent protein kinase activity. *J. Nat. Prod.* 69(4), 710-712 (2006).
- ¹³⁰ Kamphues, J.: Performance enhancers. Four are left. Part 2. *Kraftfutter* (9), 312-314, 316, 318, 320-321 (1999).
- ¹³¹ Khanagwal, P., Ghosh, J. D., Mandal, A. B.: Interaction of dietary calcium and zinc with coccidiosis in relation to broiler performance. *Indian J. Anim. Sci.* 70(6), 619-622 (2000).
- ¹³² Koinarski, V. Z., Georgieva, N., Gabrashanska, M.: *Rev. De Med. Veterin. (Toulouse)* 157(5), 251-256 (2006).
- ¹³³ Koinarski, V. Z., Galvez-Morroz, M. M., Gabrashanska, M. P., Petkov, P. I., Martos, J. S. G.: Antioxidant parameters in *Eimeria acervulina* experimentally infected chicks after treatment with double copper-zinc basic salt. *Exper. Pathol. Parasitol.* 7(3), 80-84 (2004).
- ¹³⁴ Zhao, J., Guo, Y., Suo, X., Yuan Ji.: Effect of dietary zinc level on serum carotenoid levels, body and hank pigmentation of chickens after experimental infection with coccidia. *Arch. Anim. Nutr.* 60(3), 218-228 (2006).
- ¹³⁵ Hooge, D. M., Cummings, K. R., McNaughton, J. L., Quarles, C. L., George, B. A.: Dietary sodium bicarbonate, coccidial challenge, and ionophore coccidiostats in broiler chicken. *J. Appl. Poult. Res.* 8(1), 89-99 (1999).
- ¹³⁶ Hooge, D. M., Cummings, K. R., McNaughton, J. L.: Dietary sodium bicarbonate, monensin, or coccidial inoculation and productive performance of market turkeys on built-up litter. *J. Appl. Poultry Res.* 9(3), 343-351 (2000).

-
- ¹³⁷ Liu, Z., Shen, X., Weng, Y.: Anticoccidial preparation. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1233467 (1999).
- ¹³⁸ Hooge, D. M., Cummings, K. R., McNaughton, J. L.: Coccidiostats and sodium sources for broilers. *Feed Mix* 9(1), 14-17 (2001).
- ¹³⁹ Kolb, E., Seehawer, J.: Significance and application of ascorbic acid in poultry. *Arch. Gefluegelkunde* 65(3), 106-113 (2001).
- ¹⁴⁰ Chapman, H. D.: Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to eimeria infections in poultry. *Avian Pathol.* 28(6),521-535 (1999).
- ¹⁴¹ Awadalla, S. F., E-Shishtawy, E. A., Hohamed, S. Y.: Efectivity of some anticoccidial drugs on immunity and performance index in broiler chickens. *Egypt. J. Vet. Sci.* 32, 53-66 (1998).
- ¹⁴² McDonald, v.: Gut intraepithelial lymphocytes and immunity to coccidia. *Parasitol. Today* 15(12), 483-487 (1999).
- ¹⁴³ Lillehoj, L. S.: Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. *Int. J. Parasitol.* 28(7), 1071-1081 (1998).
- ¹⁴⁴ Allen, P. C., Fetterer, R. H.: Effect of *Eimeria acervulina* infections on plasma L-arginine. *Poultry Sci.* 79(10),1414-1417 (2000).
- ¹⁴⁵ Allen, P. C.: Effects of daily oral doses of L-arginine on coccidiosis infections in chicken. *Poultry Sci.* 78(11), 1506-1509 (1999).
- ¹⁴⁶ Fu, X., Li, Y., Shen, Y., Yang, T., Chen, W.: Effect of nitric oxide during *Eimeria tenella* infection in chickens. *Nanjing Nongye Daxue Xuebao* 24(3), 77-80 (2001); *Chem. Abstr.* 136, 131878 (2002).
- ¹⁴⁷ Gradl, T., Maurer, S.: Macro and trace elements as central cations in phase transfer catalysts and their biological meaning. *Mengen- und Spurenelemente, Arbeitstagung, 20th, Jena, Dec. 1-2, 2000, 99-106* (Anke, M., ed.), Schubert Verlag, Leipzig, 2000.
- ¹⁴⁸ Guo, F. C., Kwakkel, R. P., Williams, B. A., Parmentier, H. K., Li, W. K., Yang, Z. Q., Verstegen, M. W. A.: Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella*-infected chickens. *Poultry Sci.* 83(7), 1124-1132 (2004).
- ¹⁴⁹ Guo, F. C., Kwakkel, R. P., Williams, C. B. A., Suo, X., Li, W. K., Verstegen, M. W. A.: Coccidiosis immunization: effects of mushroom and herb polysaccharides on immune responses of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Avian Dis.* 49(1), 70-73 (2005).
- ¹⁵⁰ Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Lee, J.-S., Lee, S.-H., Chung, K.-S.: Immunopotentiating effect of a *Fomitella fraxinea*-derived lectin on chicken immunity and resistance to coccidiosis. *Poultry Sci.* 85(3), 446-451 (2006).
- ¹⁵¹ Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Tamim, N. M., Shellem, T. A., Doerr, J. A.: Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. *Compar. Immunol., Microbiol., Infect. Dis.* 28(5-6), 351-361 (2005).
- ¹⁵² Kodama, Y., Yokoyama, H., Nguyen, S. V.: Compositions against chicken coccidiosis. *PCT Int. Appl. WO* 2004002527 (2004).
- ¹⁵³ Lucio Decanini, E., Morales Garzon, J. A.: Use of egg yowl immunoglobulins for the treatment of infections caused by parasites in both humans and animals. *PCT Int. Appl. WO* 2004082713 (2004).
- ¹⁵⁴ Morales Garzon, J. A., Lucio Decanini, E.: Compositions for prevention and treatment of infections caused by parasites in animals. *U. S. Pat. Appl. Publ. US* 2006024294 (2006).

-
- ¹⁵⁵ Takebe, M.: Manufacture of secretory IgA antibodies and eggs containing them. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004008002 (2004); Chem. Abstr. 140, 76322.
- ¹⁵⁶ Wieland, W. H., Lammers, A., Schots, A., Orzaez, D. V.: Plant expression of chicken secretory antibodies derived from combinatorial libraries. *Neth. J. Biotechnol.* 122(3), 382-391 (2006).
- ¹⁵⁷ Sajid, M. S., Iqbal, Z., Muhammad, G., Iqbal, M. U.: Immunomodulatory effect of various anti-parasitics: a review. *Pakistan Parasitol.* 132(3), 301-313 (2006).
- ¹⁵⁸ Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., Mosenthin, R.: Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutr. Res. Rev.* 18(1), 31-48 (2005).
- ¹⁵⁹ Kettunen, H., Tiihonen, K., Peuranen, S., Saarinen, M. T., Remus, J. C.: Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidia-infected broiler chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 130A(4), 759-769, Elsevier 2001.
- ¹⁶⁰ Augustine, P. C., McNaughton, J. L., Virtanen, E., Rosi, L.: Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. *Poultry Sci.* 76(6), 802-809 (1997).
- ¹⁶¹ Waldenstedt, L., Elwinger, K., Thebo, P., Uggla, A.: Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. *Poultry Sci.* 78(2), 182-189 (1999).
- ¹⁶² Hatano, Kazuhiro; Azuma, Ryuichi; Arai, Nobuyuki: Feed for prevention and/or treatment of coccidiosis. *Eur. Pat. Appl. EP 1103190* (2001); Chem. Abstr. 135, 4961 (2001).
- ¹⁶³ Matthews, J. O., Southern, L. L.: The effect of dietary betaine in *Eimeria acervulina*-infected chicks. *Poultry Sci.* 79(1), 60-65 (2000).
- ¹⁶⁴ Esteve-Garcia, E., Mack, S.: The effect of dl-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics in broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87(1-2), 85-93 (2000).
- ¹⁶⁵ Klasing, K., Adler, K. L., Remus, J. C., Calvert, C. C.: Dietary betaine increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidia-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. *J. Nutr.* 132(8), 2274-2282 (2002).
- ¹⁶⁶ Beretich, G. R., Srov., Beretich, L. D.: Method using lysine analogs for preventing and treating coccidiosis or other parasitic diseases and as vaccine adjuvant parasitic disease. *PCT Int. Appl. WO 9712582* (1997).
- ¹⁶⁷ Nikolajskaja, E. B., Jagodina, O., V., Chovanskich, A. E.: Combined inhibition of monoamine oxidase. *Dokl. Akad. Nauk* 365(6), 829-831 (1999).
- ¹⁶⁸ Allen, P., Danforth, H. D.: Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acid ethyl esters on coccidiosis in chickens. *Poultry Sci.* 77(11)1631-1635(1998).
- ¹⁶⁹ Sato, H., Nitani, A., Kurasawa, T., Oikawa, S.: Anticoccidial efficacy of medium-chain triglycerides (MCT) in calves. *J. Veter. Med. Sci.* 66(12), 1583-1585 (2004). Chem. Abstr. 142, 328988.
- ¹⁷⁰ Kiy, T., Wullbrandt, D., Muellner, S., Klein, U.: *Ger. Offen DE 19629433* (1998).
- ¹⁷¹ Van Doesum, J. H., Kies, A. K.: Polyunsatd. fatty acid in prepn. of coccidiostats. *PCT Int. Appl. WO 2003009700* (2003).

-
- ¹⁷² Korver, D. R., Wakenell, P., Klasing, K. S.: Dietary fish oil or lofrin, a 5-lipoxygenase inhibitor, decrease the growth-suppressing effects of coccidiosis in broiler chicks. *Poultry Sci.* 76(10), 1355-1363 (1997).
- ¹⁷³ Meinke, P. T., Rattray, S. J., Schmatz, D. M.: Cyclic tetrapeptides having antiprotozoal activity. *Brit. UK Pat. Appl. GB 2309696* (1997).
- ¹⁷⁴ Singh, S. B., Zink, D. L., Liesch, J. M., Mosley, R. T., Dpombrowski, A. W., Bills, G. G., Darkin-Rattray, S. J., Schmatz, D. M., Goetz, M. A.: *J. Org. Chem.* 67(3), 815-825 (2002).
- ¹⁷⁵ Fukuhara, H., Nagasaki, H., Yamane, T.: Nutrition-enriched composition for feed. *U.S. US 6153251* (2000).
- ¹⁷⁶ Cannova, C. L., Goetz, M. A., Dombrowski, A. W., Rattray, S. J., Singh, S. B., Bills, G. F., Polishook, J., Greene, J. A., Darland, G. K.: Antiprotozoal cyclic tetrapeptides. *U.S. US 5620953* (1997).
- ¹⁷⁷ Omata, Y., Satake, M., Maeda, R., Saito, A., Shimazaki, K., Yamauchi, K., Uzuka, Y., Tanabe, S., Sarashina, T., Mikami, R.: Lactoferricin. *J. Veter. Med. Sci.* 63(2), 187-190 (2001)
- ¹⁷⁸ Yun, Ch.-H., Estrada, A., Van Kessel, A., Gajadhar, A. A., Redmond, M. J., Laarveld, B.: b-(1→3, 1→4) Oat glucan enhances resistance to *Eimeria vermiformis* infection in immunosuppressed mice. *Int. J. Parasitol.* 27(3), 329-337 (1997).
- ¹⁷⁹ Yun, ch.-H., Estrada, A., Van Kessel, A., Gajadhar, A., Redmond, M., Laarveld, B.: Immunomodulatory effects of oat b-glucan administered intragastrically or parenterally on mice infected with *Eimeria vermiformis*. *Microbiol. Immunol.* 42(6), 457-465 (1998).
- ¹⁸⁰ Yun, Ch.-H., Estrada, A., Van Kessel, A., Park, B.-Ch., Laarveld, B.: b-Glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 35(1), 67-75 (2003).
- ¹⁸¹ Dawson, K. A., Sefton, A. E.: Methods and compositions for control of coccidiosis. *PCT Int. appl. WO 2003011310* (2003).
- ¹⁸² ---: All-natural bird claim. *Turkeys* 44(1), 18 (1996).
- ¹⁸³ Waldenstedt, L., Elwinger, K., Lunden, A., Thebo, P., Ugglå, A.: Broiler performance in response to a low protein or a vitamin supplemented diet during experimental coccidial infection. *Arch. Gefluegelkd.* 64(1), 34-39 (2000).
- ¹⁸⁴ Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Shellem, T. A., Doerr, J. A.: Effect of vitamin A deficiency on host intestinal immune response to *Eimeria acervulina* in broiler chickens. *Poultry Sci.* 81(10), 1509-1515 (2002).
- ¹⁸⁵ Allen, P. C.: Production of free radical species during *eimeria maxima* infections in chickens. *Poultry Sci.* 76(6), 814-821 (1997).
- ¹⁸⁶ Imazaki, H., Fujikawa, M., Hayase, Y., Kawaguchi, H.: Organoboron compounds exhibiting anticoccidial activities. *PCT Int. Appl. WO 2000044387* (2000).
- ¹⁸⁷ Porubcan, R. S.: Administering *Bacillus laterosporus* to increase poultry feed conversion and wight gain. *U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003099624* (2003).
- ¹⁸⁸ Tabata, N., Suzumura, Y., Tomoda, H., Masuma, R., Haneda, K., Kishi, M., Iwai, Y., Omura, S.: Xanthoquinodins, new anticoccidial agents produced by *Humicola* sp.: production, isolation and physico-chemical and biological properties. *J. Antibiot.* 46(5), 749-755 (1993).

-
- ¹⁸⁹ Racek, N. N., Ter Meer, H.-U.: Sorbic acid as an anti-infective agent against coccidia. PCT Int. Appl. WO 2004043450 (2004).
- ¹⁹⁰ Hausmanns, S., Ter Meer, H.-U.: Use of sorbic acid and w-fatty acids for the prophylaxis and treatment of coccidiosis. Ger. Offen. DE 10326347 (2004).
- ¹⁹¹ Ondeyka, J. G., Giacobbe, R. A., Bills, G. F., Cuadrillero, C., Schmatz, D., Goetz, M. A., Zink, D. L., Singh, S. B.: Coprophillin: an anticoccidial agent produced by a dung inhabiting fungus. Bioorg. Med. Chem. Lett. 8(24), 3439-3442 (1998).
- ¹⁹² Allen, P. C., Anderson, M., Danforth, H. D.: Use of Echinacea as a feed additive to enhance protection of chicks against coccidiosis. U.S. US 6767546 (2001).
- ¹⁹³ Oviedo-Rondon, E. O., Hume, M. E., Hernandez, C., Clemente-Hernandez, S. S. F.: Intestinal microbial ecology of roilers vaccinated and challenged with mixed Eimeria species, and supplemented with essential oil blends. Poultry Sci. 85(5), 854-860 (2006).
- ¹⁹⁴ Ninkov, D.: Pharmaceutical compositions based on volatile oils obtained from plants. Taiwan TW 561048 (2003); Chem. Abstr. 141, 337670.
- ¹⁹⁵ Haynes, R. K., Chan, H.-W., Lam, W.-L., Tsang, H.-W.: Synthesis and antiparasitic activity of artemisinin derivatives (endoperoxides). PCT Int. Appl. WO 2000004025 (2000)
- ¹⁹⁶ Haynes, R., K., Lam, W.-L.: Preparation of artemisinin derivatives as antiparasitic agents. Eur. Pat. Appl. EP 974593 (2000).
- ¹⁹⁷ Haynes, R. K., Lam, W.-L., Chan, H.-W., Tsang, H.-W.: Preparation of artemisinin derivatives as antiinfective agents. Eur. Pat. Appl. EP 974594 (2000).
- ¹⁹⁸ Haynes, R. K., Lam, W.-L., Chan, H.-W., Tsang, H.-W.: Preparation of artemisinin derivatives for treating malaria, neosporosis and coccidiosis. Eur. Pat. Appl. EP 974354 (2000).
- ¹⁹⁹ Haynes, R. K., Chan, H.-W., Lam, W.-L., Tsang, H.-W., Cheung, M.-K.: Synthesis and antiparasitic activity of artemisinin derivatives (endoperoxides). PCT Int. Appl. WO 2000004024 (2000).
- ²⁰⁰ Kato, M., Inaba, M., Itahana, H., Ohara, E., Nakamura, K., Uesato, S., Inouye, H., Fujita, T.: Shoyakukagaku Zasshi 44(4), 288-292 (1990); Chem. Abstr. 115, 64012.
- ²⁰¹ Rossi, J.: Composition for controlling sporulation of coccidia oocysts in poultry litter. PCT Int. Appl. WO 9714298 (1997).
- ²⁰² Rossi J., Crina, S. A.: Poultry feed additive composition. PCT Pat. Appl. WO 9613175 (1995).
- ²⁰³ Ogino, G., Aisaka, M: Propolis secondary extract for animal feed. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004321145 (2004); Chem. Abstr. 141, 410220.
- ²⁰⁴ Ishiguro, T., Naruse, Y., Kobayashi, T.: condensed tannins extracted from plants for the control of diseases caused by protozoa in domestic animals. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 63196514 (1988).
- ²⁰⁵ Tierny, J.-B.: Food additive composition for preventive treatment of coccidiosis. PCT Int. Appl. WO 2000072858 (2000).
- ²⁰⁶ Cha, J. O., Hur, S. N., Molan, A. A.: Remedy for livestock parasite by supplying forage containing tannin. Repub. Korean Kongkae Taebo Kongbo KB 2002077613 (2002); Chem. Abstr. 143, 379788.

-
- ²⁰⁷ Nguyen, T. M., Binh, D. V., Orskov, E. R.: Effect of foliages containing condensed tannins and on gastrointestinal parasites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121(1-2), 77-87 (2005).
- ²⁰⁸ Tierny, J.-B.: Food additive composition for preventive treatment of coccidiosis. PCT Int. Appl. WO 2000072858 (2000).
- ²⁰⁹ Hayase, Y., Kobayashi, S., Ueda, K., Hidaka, S.: Preparation of micacocidin derivatives as antibacterials, antifungals, coccidiostats and immunosuppressants. PCT Int. Appl. WO 9729096 (1997).
- ²¹⁰ Walker, R.: Steroidal sapogenins for the control of coccidiosis in animals. Eur. Pat. Appl. EP 1082909 (2001).
- ²¹¹ Du, A., Hu, S.: Effects of a herbal complex against *Eimeria tenella* infection in chickens. *J. Veter. Med. B.* 51(4), 194-197 (2004).
- ²¹² Julien, W. E.: Antiprotozoal compositions for ruminants. PCT Int. Appl. WO 9804283 (1998); *Chem. Abstr.* 128, 153493 (1998).
- ²¹³ Hatano, Kazuhiro; Azuma, Ryuichi; Arai, Nobuyuki: Feed for prevention and/or treatment of coccidiosis. Eur. Pat. Appl. EP 1103190 (2001).
- ²¹⁴ Stanley, V. G., Gray, C., Daley, M., Krueger, W. F., Sefton, A. E.: An alternative to antibiotic-based drugs in feed for enhancing performance of broilers grown on *Eimeria* spp.-infected litter. *Poultry Sci* 83(1), 39-44 (2004).
- ²¹⁵ Persia, M. E., Young, E. L., Utterback, P. L., Parsons, C. M.: Effects of dietary ingredients and *Eimeria acervulina* infection on chick performance, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. *Poultry Sci.* 85(1), 48-55 (2006).
- ²¹⁶ Christaki, E., Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Papazahariadou, M., Botsoglou, N. A., Spais, A. B.: Effect of a mixture of herba extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Anim. Res.* 53(2), 137-144 (2004).
- ²¹⁷ Duffy, C. F., Mathis, G. F., Power, R. F.: Effects of Natustat supplementation on performance, feed efficiency, and intestinal lesion scores in broiler chickens challenged with *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella*. *Vet. Parasitol.* 130(3-4), 185-190 (2005); *Chem. Abstr.* 143, 259547.
- ²¹⁸ Girdhar, S. R., Barta, J. R., Santoyo, F. A., Smith, T. R.: Dietary putrescine (1,4-diaminobutane) influences recovery of Turkey poult challenged with a mixed coccidial infection. *J. Nutr.* 136(9), 2319-2324 (2006).
- ²¹⁹ Singh, S. S., Agarwal, S. K., Verma, S., Siddiqui, M. S., Kumar, S.: Chemistry of garlic (*Allium sativum*) with special reference to alliin and allicin – a review. *J. Med. Aromat. Plant Sci.* 20(1), 93-100 (1998).
- ²²⁰ Harris, J. C., Cottrell, S. L., Plummer, S., Lloyd, D.: Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57(3), 282-286 (2001).
- ²²¹ Bennett, N. J., Josling, P. D.: Allicin and allicin metabolites for antimicrobial use. PCT Int. Appl. WO 2003024437 (2003).
- ²²² Branton, S. L., Lott, B. D., Deaton, J. W., Maslin, W. R., Austin, F. W., Pote, L. M., Keirs, R. W., Latour, M. A., Day, E. J.: The effect of added complex carbohydrates or added dietary fiber on necrotic enteritis lesions in broiler chickens. *Poultry Sci.* 76(1), 24-28 (1997).
- ²²³ Tona, L., Kambu, K., Ngimbi, N., Mesia, K., Penge, O., Lusakibanza, M., Cimanga, K., De Bruyne, T., Apers, S., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J.: Antiamoebic and

-
- spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo. *Phytomedicine* 7(1), 31-38 (2000).
- ²²⁴ Bennett, J.: A review of antidiarrhoeal compounds. *R. Soc. Med. Int. Congr. Symp. Ser.*, 5(Control Diarrhoea Clin. Pract.), 1-8, 1978; *Chem. Abstr.* 91, 101634.
- ²²⁵ Zavala-Sanchez, M. A., Miguel, A., Perez-Gutierrez, S., Perez-Gonzales, C., Sanchez-Saldivar, D., Arias-Garcia, L.: Antidiarrhoeal activity of nonanal, an aldehyde isolated from *Artemisia ludoviciana*. *Pharm. Biol.* 40(4), 263-268 (2002).
- ²²⁶ McDevitt, J. T.: Berberine alkaloids as a treatment for chronic, protozoally-induced diarrhea. *PCT Int. Appl. WO 9800018* (1998).
- ²²⁷ Yoshikawa, M., Murakami, T., Otuki, K., Yamahara, J., Matsuda, H.: Bioactive saponins and glycosides. XIII. Horse chesnut. (3): Quantitative analysis of escins Ia, Ib, IIa, and IIb by means of high performance liquid chromatography. *Yakugaku Zasshi* 119(1), 81-87 (1999).
- ²²⁸ Peng, J.-P., Yao, X.-S.: 19 New steroidal saponins from *Allium* plants: isolation, structural elucidation and effect on blood coagulability. *Adv. Exp. Med. Biol.* 404(Saponins used in traditional and modern medicine), 511-526, 1996, Plenum Press.
- ²²⁹ Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y.: Steroidal saponins from the bulb of *Allium aflatunense*. *Nat. Med. (Tokyo)* 53(2), 88-93 (1999).
- ²³⁰ Mimaki, Y., Kawashima, K., Kanmoto, T., Sashida, Y.: Steroidal glycosides from *Allium albopilosum* and *A. ostrowskianum*. *Phytochemistry* 34(3), 799-805 (1993).
- ²³¹ Morita, T., Ushiroguchi, T., Hayashi, N., Matsuura, H., Itakura, Y., Fuwa, T.: Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of *Allium ampeloprasum* L. *Chem. Pharm. Bull.* 36(9), 3480-3486 (1988).
- ²³² Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y.: Steroidal saponins from the bulbs of *Allium ampeloprasum*. *Nat. Med. (Tokyo)*, 53(3), 134-137 (1999).
- ²³³ Do, J.-Ch., Jung, K.-Y., Son, K.-H.: Steroidal saponins from the subterranean part of *Allium fistulosum*. *J. Nat. Prod.* 55(2), 168-173 (1992).
- ²³⁴ Sashida, Y., Kawashima, K., Mimaki, Y.: Novel polyhydroxylated steroidal saponins from *Allium gignateum*. *Chem. Pharm. Bull.* 39(3), 698-703 (1991).
- ²³⁵ Kawashima, K., Mimaki, Y., Sashida, Y.: Steroidal saponins from *Allium giganteum* and *A. aflatunense*. *Phytochemistry* 30(9), 3063-3067 (1991).
- ²³⁶ Mimaki, Y., Nikaido, T., Matsumoto, K., Sashida, Y., Ohmoto, T.: New steroidal saponins from the bulbs of *Allium giganteum* exhibiting potent inhibition of cAMP phosphodiesterase activity. *Chem. Pharm. Bull.* 42(3), 710-714 (1994).
- ²³⁷ Kuroda, M., imaki, Y., Kameyama, A., Sashida, Y., Nikaido, T.: Steroidal saponins from *Allium chinense* and their inhibitory activities on cyclic AMP phosphodiesterase and Na^+/K^+ ATPase. *Phytochemistry* 40(4), 1071-1076 (1995).
- ²³⁸ Vollerner, J. S., Abdullajev, N. D., Gorovic, M. B., Abubakirov, N. K.: Steroidal saponins and sapogenins of *Allium*. XVIII. Structure of karatavioside B. *Chim. Prirod. Sojedin.* (2), 197-201 (1983).
- ²³⁹ Vollerner, J. S., Abdullajev, N. D., Gorovic, M. B., Abubakirov, N. K.: Steroidal saponins and sapogenins of *Allium*. XVIII. Structure of karatavigenin C. *Chim. Prirod. Sojedin.* (6), 734-740 (1983).
- ²⁴⁰ Mimaki, Y., Kuroda, M., Fukasawa, T., Sashida, Y.: Steroidal saponins from the bulbs of *Allium karataviense*. *Chem. Pharm. Bull.* 47(6), 738-743 (1999).

-
- ²⁴¹ Peng, J., Wu, Y., Yao, X., Okuyama, T., Narui, T.: Two new steroidal saponins from the bulbs of *Allium macrostemon* Bunge. *Chem. Lett.* 3(4), 285-286 (1992).
- ²⁴² Yao, X., Wang, N., Qu, G., Tanaka, T., Yang, Z.: *Allium macrostemon* extract for therapeutic use. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* CN 1237432 (1999).
- ²⁴³ He, X., Qiu, F., Shoyama, Y., Tanaka, H., Yao, X.: Two new steroidal saponins from „Gualou-xiebai-baijiu-tang“ consisting of *Fructus trichosanthis* and *Bulbus allii macrostemi*. *Chem. Pharm. bull.* 50(5), 653-655 (2002).
- ²⁴⁴ Achov, L. S., Musienko, M. M., Piacente, S., Pizza, G., Oleszek, W.: Structure of steroidal saponins from underground parts of *Allium nutans* L. *J. Agric. Food Chem.* 47(8), 3193-3196 (1999).
- ²⁴⁵ Achov, L. S., Musienko, M. M., Piacente, S., Pizza, G., Oleszek, W.: Biological activity of deltoside from *Allium nutans* L. *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 45(Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants), 227-231, 2000.
- ²⁴⁶ Smoczkiwiczova, A., Wieladek, H., Bielawny, J.: Composition of the sugar moiety of the steroid saponine isolated from *Allium porrum* L. Part III. *Zez. Nauk.-Akad. Ekon. Poznaniu, Ser. 1*, 88, 26-29 (1981).
- ²⁴⁷ Peng, J., Chen, H., Qiao, Y., Ma, L., Narui, T., Suzuki, H., Okuyama, T., Kobayashi, H.: Two new steroidal saponins from *Allium sativum* and their inhibitory effects on blood coagulation activity. *Yaouxue Xuebao* 31(8), 607-612 (1996); *Chem. Bastr.* 126, 142047.
- ²⁴⁸ Kawashima, K., Mimaki, Y., Sashida, Y.: Steroidal saponins from the bulbs of *Allium schubertii*. *Phytochemistry* 32(5), 1267-1272 (1993).
- ²⁴⁹ Lim, S.-Ch., Park, H.-J., Yun, S.-Y., Lee, M.-S., Kim, W.-B., Jung, W.-T.: Structures of flavonoids and furostanol glycoside isolated from the bulbs of *Allium victorialis* L. *Han'guk Wonye Hakhoechi* 37(5), 675-679 (1996); *Chem. Abstr.* 126, 4620.
- ²⁵⁰ Kamal, R., Sharma, G. L.: Steroidal saponins from bulbs of *Allium wallichii* Kunth. *Pharmazie* 39(10), 707-708 (1984).
- ²⁵¹ Nagumo, S., Kishi, S., Inoue, T., Nagai, M.: Saponins from *Anemarrhena rhizoma*. *Yakugaku Zasshi* 111(6), 306-310 (1991).
- ²⁵² Saito, S., Nagase, S., Ichinose, K.: New steroidal saponins from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge (Liliaceae). *Chem. Pharm. bull.* 42(11), 2342-2345 (1994).
- ²⁵³ Kodama, H., Chou, T., Kobayashi, M.: Active oxygen formation inhibitors and antiinflammatory agents containing steroidal saponins from *Anemarrhena rhizoma*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000204043* (2000).
- ²⁵⁴ Ilarionov, I., Panova, D., Nikolov, S., Spasova, M., Despotov, P.: Pharmacological and phytochemical investigations of *Asparagus* L. species, cultivated in Bulgaria. *Farmatsija (Sofija)* 33(1), 18-24 (1983); *Chem. Abstr.* 99, 19632.
- ²⁵⁵ Sharma, S. C., Chand, R., Sati, O. P.: Steroidal saponins of *Asparagus adscendens*. *Phytochemistry* 21(8), 2075-2078 (1982).
- ²⁵⁶ Shao, Y., Poobrasert, O., Kennelly, E. J., Chin, Ch. K., Ho, Ch. T., Huang, M. T., Garrison, S. A., Cordell, G. A.: Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity. *Planta Med.* 63(3), 258-262 (1997).
- ²⁵⁷ Shao, Y., Poobrasert, O., Kennelly, E. J., Chin, Ch. K., Ho, Ch. T., Huang, M. T., Garrison, S. A., Cordell, G. A.: Cytotoxic activity of steroidal saponins from *Asparagus officinalis*. *Acta Hort.*, 479(IXth Int. Asparagus Sympo. 1997), 177-182 (1999).

-
- ²⁵⁸ Kim, G. S., Seong, J. D., Park, S. Y., Oh, S. R., Kwack, Y. H.: Steroidal saponins from the rhizomes of *Asparagus oligoclonus* and their antibacterial activity. *han'guk Nonghwa Hakhoechi* 43(2), 136-140 (2000); Chem. Abstr. 134, 144547.
- ²⁵⁹ Kesselmeier, J., Strack, D.: High performance liquid chromatographic analysis of steroidal saponins from *Avena sativa* L. *Z. Naturforsch. C.: Biosci.* 36C(11-12), 1072-1074 (1981).
- ²⁶⁰ Kesselmeister, J.: Steroidal saponins in isolated, greening and green leaves and in isolated etioplasts and chloroplasts of *Avena sativa*. *Protoplasma* 112(2), 127-132 (1982).
- ²⁶¹ Kesselmeister, J., Eichenberger, W., Urban, B.: Sterols and sterylglucosides of oats (*Avena sativa*). distribution in the leaf tissue and medium-induced glycosylation of sterols during protoplast isolation. *Physiol. Plant.* 70(4), 610-616 (1987).
- ²⁶² Liu, Ch., Chen, Y.: Studies on chemical constituents of *Dioscorea* plants. X. Isolation and identification of steroidal saponins and sapogenins from *Dioscorea althaeoides* Kunth. *Yaoxue Xuebao* 19(10), 799-801 (1984); Chem. Abstr. 102, 42948.
- ²⁶³ Lou, W., Yang, Y., Chen, Y.: Isolation and identification of steroidal sapogenins from rhizome of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*. *Yunnan Zhiwu Yanjiu* 6(4), 461-462 (1984); Chem. Abstr. 102, 75714.
- ²⁶⁴ Minghe, Y., Yanyong, Ch.: Steroidal sapogenins in *Dioscorea collettii*. *Planta Med.* 49(1), 38-42 (1983).
- ²⁶⁵ Du, S., Liu, W., Fu, T., Li, B., Xia, Ch.: Isolation and identification of steroidal saponins in total saponin from *Dioscorea nipponica* Makino. *Yoxue Xuebao* 37(4), 267-270 (2002); Chem. Abstr. 138, 166617.
- ²⁶⁶ Du, S., Liu, W., Fu, T., Li, B., Xia, Ch.: Isolation and identification of steroidal sapogenins from total sapogenin from *Dioscorea nipponica* Makino. *J. Chin. Pharm. Sci.* 11(3), 59-63 (2002); Chem. Abstr. 138, 183950.
- ²⁶⁷ Lee, D. Y., Son, K. H., Do, J. ch., Kang, S. S.: Two new steroidal saponins from the tubers of *Liriope spicata*. *Arch. Pharmacol Res.* 12(4), 295-299 (1989).
- ²⁶⁸ Muravjev, M. A., Vasilenko, J. K., Chyok, Ch. D., Lisevitskaja, L. Il., Frolova, L. M., Postnikova, N. V.: Some evidence for the curative properties of Vietnamese plant *Lycium chinensis* Mill. *Farmacija (Moskva)* 32(1), 17-19 (1983).
- ²⁶⁹ Ikeda, T., Tsumagari, H., Nohara, T.: Steroidal oligoglycosides from *Solanum nigrum*. *Chem. Pharm. bull.* 48(7), 1062-1064 (2000).
- ²⁷⁰ Bernardo, R. R., Pinto, A. V., Parente, J. P.: Steroidal saponins from *Smilax officinalis*. *Phytochemistry* 43(2), 465-469 (1996).
- ²⁷¹ Wang, Y., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K.: Steroidal saponins from fruits of *Tribulus terrestris*. *Phytochemistry* 45(4), 811-817(1997).
- ²⁷² Tomova, M., Gjulemetova, R., Zarkova, S., Pejeva, S., Pangarova, T., Simova, M.: Steroidal saponins from *Tribulus terrestris* with a stimulating action on the sexual function. *Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Act. Nat. Prod. (Proc.) Ist, Vol. 3, Issue 1, 298-302 (1981).*
- ²⁷³ Frohne, D. von: A new doping substance? Performance enhancement by *Tribulus terrestris* is dubious. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 139(49), 60-62 (1999).
- ²⁷⁴ Bedir, E., Khan, I. A., Walker, L. A.: Biologically active steroidal glycosides from *Tribulus terrestris*. *Pharmazie* 57(7), 491-493 (2002).

-
- ²⁷⁵ Alexis, B.: Natural, anti-bacterial, anti-inflammatory, anti-virus, anti-Herpes cream containing Tribulus extract. PCT Int. Appl. WO 2001011971 (2001).
- ²⁷⁶ Alexijev, B. P.: Pharmacological composition based on steroidal saponins obtained from Tribulus terrestris. PCT Int. Appl. WO 2003070262 (2003).
- ²⁷⁷ Gupta, R. K., Jain, D. C., Thakur, R. S.: Minor Steroidal sapogenins from fenugreek seed, Trigonella foenum-graecum. J. Nat. Prod. 49(6), 1153 (1986).
- ²⁷⁸ Brenac, P., Sauvaire, Y.: Chemotaxonomic value of sterols and steroidal saponins in the genus Trigonella. Biochem. Syst. Ecol. 24(2), 157-164 (1996).
- ²⁷⁹ Yoshikawa, M., Murakami, T., Komatsu, H., Yamahar, J., Matsuda, H.: Medicinal Foodstuffs. VIII. Fenugreek seed. (2): structures of six new furostanol saponins, trigoneosides Iva, Va, Vb, VIIb, and VIIIb, from the seeds of indian Trigonella foenum-graecum L. Heterocycles 47(1), 397-405 (1998).
- ²⁸⁰ Sauvaire, Y., Ribes, G., Gerard, B. J. C., Loubatieres-Marina, M. M.: Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. Lipids 26(3), 191-197 (1991).
- ²⁸¹ Sauvaire, Y., Baissac, Y., Leconte, O., Petit, R., Ribes, G.: Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties. Adv. Exp. Med. Biol. 405(Saponins used in food and agriculture), 37-46, 1996, Plenum Press.
- ²⁸² Al-Habori, M., Raman, A.: Pharmacological properties of fenugreek. Med. Arom. Plants Industr. Profiles 11(Fenugreek), 162-182, 2002, Taylor and Francis.
- ²⁸³ Haladová, M., Eisenreichová, E.: Saponins- the main constituents of genus Yucca L. Farm. Obzor 67(4), 90-92 (1998).
- ²⁸⁴ Benidze, M. M., Džikija, O. D., Vugaltër, M. M., Pchejidze, T. A., Kemertelidze, E. P.: Chim. Prir. Sojedin. (6), 744-747 (1984).
- ²⁸⁵ Pchejidze, T. A., Kikoladze, V. S., Kemertelidze, E. P.: Chim. Prir. Sojedin. (6), 805 (1981).
- ²⁸⁶ Oleszek, W., Sitek, M., Stochmal, A., Piacente, S., Pizza, C., Cheeke, P.: Steroidal saponins of Yucca schidigera Roetzl. J. Agric. Food Chem. 49(9), 4392-4396 (2001).
- ²⁸⁷ Miyakoshi, M., Tamura, Y., Masuda, H., Mizutani, K., Tanaka, O., Ikeda, T., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K.: Antiyeast steroidal saponins from Yucca schidigera (Mohave Yucca), a new anti-food-deteriorating agent. J. Nat. Prod. 63(3), 332-338 (2000).
- ²⁸⁸ Wang, Y., McAllister, T. A., Newbold, C. J., Rode, L. M., Cheeke, P. R., Cheng, K.-J.: Effects of Yucca schidigera extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (Rusitec). Anim. Feed Sci. Technol. 74(2), 143-153 (1998).
- ²⁸⁹ Wang, Y., McAllister, T. A., Yanke, L. J., Cheeke, P. R.: Effect of steroidal saponin from Yucca schidigera extract on ruminal microbes. J. Appl. Microbiol. 88(5), 887-896 (2000).
- ²⁹⁰ Pena, A. T., Moretti, M. D. L., Manconi, V., Desole, G., Pippia, P.: Anti-inflammatory activity of aqueous extracts and steroidal sapogenins of Agave americana. Planta Med. 63(3), 199-202 (1997).
- ²⁹¹ El-Sayed, M. M.: Molluscicidal steroidal saponins from Agave ferox. Zagazig. J. Pharm. Sci. 7(1), 73-79 (1998); Chem. Abstr. 132, 76013.
- ²⁹² Hirotani, M.: Saponin production of hairy root cultures of Astragalus membranaceus Bunge. Rec. Res. Develop. Phytochem. 3, 41-50 (1999).

-
- ²⁹³ Kamel, M. S.: A furostanol saponin from fruits of *Balanites aegyptiaca*. *Phytochemistry* 48(4), 755-757 (1998).
- ²⁹⁴ Mimaki, Y., Sashida, Y., Kawashima, K.: Steroidal saponins from the bulbs of *Camassia cusickii*. *Phytochemistry* 30(11), 3721-3727 (1991).
- ²⁹⁵ Mimaki, Y., Sashida, Y., Nikaido, T., Ohmoto, T.: Tigogenin hexasaccharides from *Camassia cusickii*. *Bull. chem. soc. Jpn.* 65(2), 458-462 (1992).
- ²⁹⁶ Kuroda, M., Mimaki, Y., Hasegawa, F., Yokosuka, A., Sashida, Y., Sakagami, H.: Steroidal glycosides from the bulbs of *Camassia leichtlinii* and their cytotoxic activities. *Chem. Pharm. bull.* 49(6), 726-731 (2001).
- ²⁹⁷ DeLucca, A. J., Bland, J. M., Vigo, C. B., Selitrennikoff, C. P.: Fungicidal saponin, CAY-1, and isolation thereof from *Capsicum* species fruit. U.S. US 6310091 (2001).
- ²⁹⁸ Singh, S. B., Thakur, R. S.: Plant saponins. II. Saponins from the seeds of *Costus speciosus*. *J. Nat. Prod.* 45(6), 667-671 (1982).
- ²⁹⁹ Mimaki, Y., Sashida, Y.: Steroidal saponins from the Liliaceae plants and their biological activities. *Adv. Exp. Med. Biol.* 404(Saponins used in traditional and modern medicine), 101-110, 1996, Plenum Press.
- ³⁰⁰ Mimaki, Y.: Structure and physiological activity of saponin. The strongest antitumor substance from Liliaceae. *Farumashia* 32(10), 1208-1213 (1996); *Chem. Abstr.* 126, 260.
- ³⁰¹ Haladová, M., Mučaji, P., Buděšínský, M., Ubik, K.: Steroidal saponins from *Lilium candidum* L. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 63(2), 205-210 (1998).
- ³⁰² Haladová, M., Mučaji, P., Buděšínský, M., Ubik, K.: A new steroidal saponin from the bulbs of *Lilium candidum* L. *Pharmazie* 55(7), 549-550 (2000).
- ³⁰³ Mimaki, Y., Satou, T., Kuroda, M., Sashida, Y., Hatakeyama, Y.: Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium candidum*. *Phytochemistry* 51(4), 567-573 (1999).
- ³⁰⁴ Mimaki, Y., Sashida, Y., Nakamura, O., Nikaido, T., Ohmoto, T.: Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium regale* and *L. henryi*. *Phytochemistry* 33(3), 675-682 (1993).
- ³⁰⁵ Miyamura, M., Nakono, K., Nohara, T., Tomimatsu, T., Kawasaki, T.: Steroid saponins from *Paris polyphylla* Sm. – supplement. *Chem. Pharm. Bull.* 30(2), 712-718 (1982).
- ³⁰⁶ Singh, S. B., Thakur, R. S., Shulten, H. R.: Plant saponins. Part V. Furostanol saponins from *Paris polyphylla*: structures of polyphyllin G and H. *Phytochemistry* 21(8), 2079-2082 (1982).
- ³⁰⁷ Chen, Ch., Zhou, J.: Studies on the saponin components of plants in Yunnan (China). X. Two new steroidal saponins of *Paris axillaris* H. Li. (I). *Yunnan Zhiwu Yanjiu* 6(1), 111-117 (1984); *Chem. Abstr.* 101, 3899.
- ³⁰⁸ Janeczko, Z., Jansson, P. E., Sendra, J.: A new steroidal saponin from *Polygonatum officinale*. *Planta Med.* 53(1), 52-54 (1987).
- ³⁰⁹ Mogosan, C., Oniga, Il, Parvu, A., Tamas, M., Dobrescu, D.: The action of tincture and steroidal saponins from *Polygonatum odoratum* rhizoma on the gastrointestinal tract. *Farmacie (Bucharest)* 48(1), 39-44 (2000).
- ³¹⁰ Son, K. H., Do, J. ch.: Steroidal saponins from the rhizomes of *Polygonatum sibiricum*. *J. Nat. Prod.* 53(2), 333-339 (1990).
- ³¹¹ Janeczko, Z., Sibiga, A.: Steroidal saponosides in *Polygonatum verticillatum* All. *Herba Pol.* 28(3-4), 115-122 (1982).

-
- ³¹² Ibraheim, Z. Z.: Saponins, naphthohydroquinone and anthraquinone glycosides from *Rubia cordifolia* L. Bull. Pharm. Sci. Assiut Univ. 25(1), 85-94 (2002); Chem. Abstr. 137, 366372.
- ³¹³ Horikawa, T., Mimaki, Y., Kameyama, A., Sashida, Y., Nikaido, T., Ohmoto, R.: Aculeoside, a novel steroidal saponin containing a deoxyaldoketose from *Ruscus aculeatus*. Chem. Lett. (12), 2303-2306 (1994).
- ³¹⁴ Schmittmann, T., Rotscheidt, K., Breitmaier, E.: Three new steroid saponins from *Vernonia amygdalina* (Compositae). J. Prakt. Chem./Chem.-Ztg. 336(3), 225-232 (1994).
- ³¹⁵ Gvazava, L. N., Pcheidze, T. A.: Steroidal saponins of *Veronica gentianoides*. Chim. Prir. Sojedin. (5), 761-762 (1988).
- ³¹⁶ Sauvaire, Y., Ribes, G., Baissac, Y., Petit, P.: Saponins extracted from vegetables for treatment of hypercholesterolemia. Fr. Demande FR 2722690 (1996).
- ³¹⁷ Marks, W.: Treatment of viral, viroidal, or oncogenic diseases with steroidal saponins or their aglycons. Ger. Offen. DE 4303214 (1994).
- ³¹⁸ Ochi, M., Tsuburaya, E.: Novel steroidal saponin and antimicrobial agents and antitumor agents containing it. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10158295 (1998).
- ³¹⁹ Mimaki, Y., Yokosuka, A., Kuroda, M., Sashida, Y.: Cytotoxic activities and structure-cytotoxic relationships of steroidal saponins. Biol. & Pharm. Bull. 24(11), 1286-1289 (2001).
- ³²⁰ Valdez, F. R., Bush, L. J., Goetsch, A. L., Owens, F. N.: Effect of steroidal saponins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 69(6), 1568-1575 (1986).
- ³²¹ ---: Steroid saponin and (or) steroid saponin as antifouling agents. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 57188509 (1982).
- ³²² Magota, H., Okubo, K., Shomoyamada, M., Suzuki, M., Maruyama, M.: Isolation of steroidal saponin as antifungal agent. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 03048694 (1991).
- ³²³ Park, K. G. M., Hayes, P. D., Garlick, P. J. et al.: Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine. Lancet 337, 645-646 (1991).
- ³²⁴ Abcouwer, S. F., Souba, W. W.: Glutamine and arginine. In: Shils M. E., Olson, J. A., Shike, M., Ross, A. C. (eds.) Modern Nutrition in Health and Disease. 9th Ed., Baltimore MD, Williams and Wilkins, 1999, pp. 559-569.
- ³²⁵ Bulus, N., Cersosimo, E., Ghishan, F., Abumrad, N. N.: Physiologic importance of glutamine. Metabolism 38(Suppl.), 1-5 (1989).
- ³²⁶ Huang, E. Y., Leung, S. W., Wang, C. J. et al.: Oral glutamine to alleviate radiation-induced oral mucositis: a pilot randomized trial. Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. 46, 535-539 (2000).
- ³²⁷ Rohde, T., MacLean D. A., Klarlund P. D.: Glutamine, lymphocyte proliferation and cytokine production. Scand. J. Immunol. 44, 648-650 (1996).
- ³²⁸ Babineau, T. J., Hackford, A., Kenler, A. et al.: A phase II multicenter, double-blind randomized, placebo-controlled study of three dosages of an immunomodulator (PGG-glucan) in high-risk surgical patients. Arch. Surg. 129, 1204-1210 (1994).
- ³²⁹ Babineau, T. J., Marcello, P., Swails, W. et al.: Randomized phase I/II trial of a macrophage-specific immunomodulator (PGG-glucan) in high risk surgical patients. Ann. Surg. 220, 601-609 (1994).

³³⁰ Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V.: Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86, 985-990 (1999).