

PROBLEMATIKA KOKCIDIOSTATIKA U INTENZIVNOJ PERADARSKOJ PROIZVODNJI U SLOVENIJI

PROBLEM OF COCCIDIOSTATS IN INTENSIVE POULTRY PRODUCTION IN SLOVENIA

A. Vengušt, Olga Zorman-Rojs, J. Žust, Gabrijela Tavčar

Stručni članak
UDK: 636.5.: 636.087.8
Primljeno: 2. rujan 1997.

SAŽETAK

U radu su prikazani rezultati analiza uzoraka krmnih smjesa, premiksa i koncentrata na sadržaj monenzina, amprola, salinomicina, diklazurila, maduramicin-amoniuma, robenidina, lasalocida i halofuginona u Sloveniji. Uzorci su bili uzeti pod sumnjom, da je neadekvatna krma prouzročila nastanak zdravstvenih i proizvodnih poremećaja u industrijskoj peradarskoj proizvodnji. U razdoblju 1994.-1996. bila su pretražena ukupno 252 uzorka, od toga 168 potpunih krmnih smjesa za piliće, 57 premiksa i 27 koncentrata. Odstupanja od deklariranog sadržaja utvrđena su ukupno u 61 (24,2%) uzorku, najčešće kod potpunih krmnih smjesa, i to u 50 (29,8%) slučajeva. U 8 uzoraka kokcidiostatik nije bio dodan, a u 14 došlo je do zamjene odnosno do upotrebe nedeklariranog kokcidiostatika. Među pretraženim premiksima nije odgovaralo deklaraciji 9 (16,1%), a od koncentrata 2 (4,0%) uzorka. Na osnovi izloženog može se zaključiti, da u intenzivnoj peradarskoj proizvodnji u Sloveniji dolazi često do grešaka kod dodavanja kokcidiostatika u stočnu hranu i da su te greške najčešće subjektivne prirode.

UVOD

U Sloveniji uskos sistematskom radu na sprovođenju preventivnih programa suzbijanja kokcidioze, koji se temelje na izvođenju zoohigijenskih mjera i upotrebi kokcidiostatika bilježi se svake godine u svim vidovima peradarske proizvodnje pojava klinički manifestirane i naročito subkliničke kokcidioze, koja se u prvom redu očituje u smanjenom prirastu i slabijoj konverziji krme i dovodi do većih gospodarskih gubitaka. Pojavljivanje kokcidioze najčešće se povezuje neadekvatnim programima preventive. Za sada je istrebljenje ove bolesti u industrijskim prilikama

uzgoja peradi praktički nemoguća. Radi nedostatka preventivnih programa suzbijanja kokcidioze zoohigijenskim mjerama, i upotrebom kokcidiostatika, pokušava se naročito u matičnim jatima s dosta uspjeha primijeniti vakcinaciju iako i ova metoda ima svojih nedostataka. Mnogi autori smatraju, da će problem kokcidioze konačno biti riješen novim tehnologijama uzgoja svih kategorija peradi u kavezima (Austic i Nesheim, 1990.).

Dr. Anton Vengušt, viši znanstveni suradnik, Dr. Olga Zorman-Rojs, asistent, Prof. dr. Janko Žust, red. prof., Dr. Gabrijela Tavčar, dr. kem. znanosti, Veterinarski fakultet, Ljubljana, Gerbičeva 60, Slovenija.

Kod pilića u tovu zadnjih nekoliko godina najčešće su utvrđene kokcidije vrste *E. tenella*, *E. acervulina* i *E. mitis*. Među njima ipak je najčešće nađena kod 4 do 6 tjedana starih pilića *E. tenella*, koju je jednostavno dijagnosticirati zbog dobro uočljivih kliničkih i patoanatomskih promjena na cekumu. Manju invadiranost *E. acervulinom* i *E. mitis* često se nalazi laboratorijskim pretragama pilića prije klanja koji nisu dobivali kokcidiostatike u krmi u zadnjem razdoblju tova. Ove subkliničke forme mješovitih infekcija kokcidijama dovode do nešto slabije konverzije krme i prirasta, što je s gospodarskog gledišta vrlo značajno. Kod kokcidioze pilića ne primjećuju se veći gubici zbog uginuća, a u slučaju drugih infekcija probavnog sustava pojedine se oociste kokcidija skoro uvijek nađu u crijevima. Kod nesilica konzumnih jaja i u brojerskim matičnim jatima, u kojih se program preventive kokcidioze zasniva na dodavanju različitih koncentracija amprola do 14 tjedana starosti, obično dolazi do smanjene proizvodnje između 7. i 15. tjedna starosti. Kod oštećenja imunskog sustava zbog Marekove i drugih bolesti može se kokcidioza pojaviti i kasnije, čak na početku nesenja. I u tim slučajevima najčešće su izolirani *E. tenella*, *E. mitis* i *E. acervulina*. Najveće gospodarske štete zbog kokcidioze u matičnim jatima također nisu povezane s većim mortalitetom, već s manjim prirastom i ranijim izdvajanjem iz uzgoja.

U radu će biti opisani rezultati analiza sadržaja kokcidiostatika u krmnim smjesama, premiksima i koncentratima koji su obavljani u okviru kontrole preventive kokcidioze u industrijskim uzgojima peradi.

MATERIJAL I METODE

U razdoblju od 1994. – 1996. je na Institutu za higijenu i patologiju hranidbe životinja Veterinarskog fakulteta u Ljubljani primljeno u analizu na kokcidiostatike 252 uzorka krmnih smjesa, premiksa i koncentrata. Uzorci su bili izabrani uglavnom kod pojavljivanja kokcidioze u

intenzivnim pogonima peradi pod sumnjom da je došlo do grešaka u upotrebi kokcidiostatika.

Za utvrđivanje sadržaja monenzina, salinomici- na i lasalocida upotrijebljena je metoda tankoslojne kromatografije (Owles, 1984.). Nakon ekstrakcije uzorka s mješavinom metanola i vode nanijet je ekstrakt na ploču sa silikagelom. Kromatografija je obavljena s mješavinom etilacetata i vode. Razvijena kromatografska ploča stavljena je u p-anisaldehyd (4-metoksibenzaldehid) koji oboji monenzin i salinomycin ružičasto. Kvantifikacija kokcidiostatika utvrđena je mjerjenjem apsorpcije i refleksije na denzitometru kod valne dužine 510 nm. Kod analize lasalocida upotrijebljena je metoda antibiografije. Razvijena kromatografska ploča je tretirana suspenzijom čiste kulture *B. subtilis*. Nakon inkubacije (24 sata) ploča je obrađena tetrazol kloridom. Dalji postupak detekcije i kvantifikacije lasalocida obavljen je mjerenjem površine inhibicijskih zona.

Za utvrđivanje amprola upotrijebljena je spektrofotometrijska metoda (2). Ekstrakcija krme obavljena je pomoću razrijeđenog metanola, ekstrakt očišćen na koloni aluminijskog oksida i nakon dodatka reagensa koncentracija amprola određena na spektrofotometru kod valne dužine 530 nm.

Diklazuril je analiziran HPLC metodom (De Kock i sur., 1992.). Standard diklazurila i interni standard dobiveni su od tvrtke Janssen. Uzorke krme zajedno s internim standardom ekstrahirani su kiselim metanolom, zatim je ekstrakt očišćen na koloni Mega Bond Elut (C 18). Detekcija je obavljena na tekućinskom kromatografu s upotrebom kolone Hypersil ODS (300x4,6 mm) i UV detektora kod valne dužine 280 nm.

Maduramicin-amonij je analiziran HPLC metodom kaju preporučuje proizvođač American Cyanamid Company (4). Maduramicin-amonij je ekstrahiran iz substrata pomoću acetonitrila i ekstrakt derivatiziran dodatkom dansylhidrazina i trikloroetene kiseline. Purifikacija je izvršena na koloni Florisil, a kvantifikacija na tekućinskom

kromatografu s kolonom Waters Spherical C 18 na UV detektoru kod valne dužine 220 nm.

Za analitiku robenidina je upotrijebljena HPLC metoda, koju propisuje American Cyanamid Company (5). Poslije ekstrakcije s kiselim metanolom i čišćenjem ekstrakta na koloni aluminijevog oksida koncentracija robenidina utvrđena je pomoću HPLC na koloni μ - Bondapak (300x3,9 mm) s UV detektorom kod valne dužine 317 nm.

Halofuginon određivan je pomoću tekuće kromatografije (Anderson i sur., 1981.). Uzorci su ekstrahirani mješavinom otopine natrijevog karbonata i etilacetata. Etilacetatni ekstrakt je očišćen na koloni amberlitom XAD-2 i aktivna tvar utvrđena je pomoću kolone μ - Bondapak C 18 na UV detektoru kod valne dužine 243 nm.

Kod presuđivanja rezultata analiza primijenjene su tolerance, koje su dozvoljene zakonskim propisima u nekim zemljama (Entel i sur., 1989.) i tolerance povezane s analitičkim radom, koje su postavljene na osnovi široke međulaboratorijske kontrole (Bassler i sur., 1987.). Na temelju tih kriterija među neadekvatne uzorke ubrojani su oni koncentri i premiksi s visokim postotkom djelatnih tvari, kod kojih su odstupanja od deklariranih količina iznosila manje od 10%. Kod premiksa s nižom koncentracijom djelatnih tvari (diklazuril, maduramicin-amonij) tolerirano je 20%, kod krmnih smjesa s dodatkom monenzina, amprola, salinomicina i robenidina 30% i kod krmnih smjesa s diklazurilom i maduramicinom 40% odstupanja od deklariranih koncentracija.

REZULTATI I DISKUSIJA

Kao što se može vidjeti iz tablice 1, pretraženo je 86 uzoraka na monenzin, 62 na amprol, 34 na salinomicin, 29 na diklazuril, 24 na maduramicin, 12 na robenidin, 3 na lasalocid-Na i 2 uzorka na halofuginon. Kod 61 (24,2%) uzorka utvrđena su veća odstupanja od deklariranih koncentracija. Iz toga se može zaključiti, da je neadekvatna koncentracija kokcidostatika u krmi dosta često

uzrok pojavljivanja kokcidioze u intenzivnoj peradarskoj proizvodnji u Sloveniji.

Odstupanja od deklariranih koncentracija, najčešće su utvrđena u krmnim smjesama i to u 29,8% pretraženih uzoraka (tablica 2). Najviše grešaka utvrđeno je kod dodavanja maduramicina, monenzina i salinomicina. Kokcidostatik monenzin i maduramicin nisu bili dodani u 8 uzoraka, a kod 14 uzoraka došlo je do zamjene, odnosno upotrebe nedeklariranog kokcidostatika.

Tablica 1. Broj pretraženih i neispravnih uzoraka krmnih smjesa, premiksa i koncentrata na kokcidostatike

Table 1. Number of samples analysed for coccidiostatics and faulty, feed mixtures, premixes and concentrates

Kokcidostatik Coccidiostatic	Broj pretraženih uzoraka Number of analysed samples	Broj neispravnih uzoraka Number of faulty samples	%
Monensin natrium	86	22	25.6
Amprol plus	62	13	21.0
Salinomycin natrium	34	15	44.1
Diklazuril	29	4	13.8
Maduramicin amonium	24	6	25.0
Robenidin	12	-	-
Lasalocid natriur	3	1	33.3
Halofuginone	2	-	-
Ukupno – Total	252	61	24.2

U istom razdoblju pretraženo je na sadržaj kokcidostatika 57 uzoraka premiksa. Rezultati su prikazani na tablici 3. Veća odstupanja od deklaracije utvrđena su kod 7 odnosno 12,2% uzoraka. U jednom uzorku salinomycin nije bio dodan, a u jednom uzorku došlo je do upotrebe nedeklariranog kokcidostatika.

Tablica 2. Rezultati pretraga krmnih smjesa za perad
Table 2. Results of analyses of feed mixtures for poultry

Kokcidiostatik Coccidiostatic	Broj pretraženih uzoraka Number of analysed samples	Dozvoljen sadržaj u mg/kg Permitted contents mg/kg	Postotak neispravnih uzoraka Percentage of faulty samples	Zamjena kokcidiostatika Substitution of coccidiostatics	Kokcidiostatik nije bio dodan Coccidiostatic was not added	Odstupanje od deklariranog sadržaja Aberration from declared contents
Monensin natrium	50	90.0 - 123.0	34.0		12.0	22.0
Amprol plus	48	66.5 - 133.0	25.0	12.5		12.5
Salinomycin natrium	25	50.0 - 70.0	48.0	32.0		16.0
Diklazuril	23	1.0	13.0			13.3
Maduramycin amonium	15	5.0	40.0		13.3	26.7
Robenidin	7	30.0 - 36.0	-			
Ukupno - Total	168		29.8	8.3	4.8	17.9

Tablica 3. Rezultati pretraga premiksa za perad
Table 3. Results of analysis of premix for poultry

Kokcidiostatik Coccidiostatic	Broj pretraženih uzoraka Number of analysed samples	Sadržaj u 0.5% premixu (mg/kg) Contents in 0.5% of premix (mg/kg)	Postotak neispravnih uzoraka Percentage of faulty samples	Zamjena kokcidiostatika Substitution of coccidiostatics	Kokcidiostatik nije bio dodan Coccidiostatic was not added	Odstupanje od deklariranog sadržaja Aberration from declared contents
Monensin natrium	28	20.000	14.3	3.6		10.7
Amprol plus	11	25.000	9.1			9.1
Salinomycin natrium	9	12.000	33.3		11.1	22.2
Diklazuril	6	200	16.7			16.7
Maduramycin amonium	2	1.000				
Robenidine	1	6.600				
Ukupno - Total	57		15.8	1.8	1.8	12.2

Nadalje je pretraženo 27 koncentrata različitih kokcidiostatika. Od toga 8 uzoraka na monenzin, 3 na amprol, 7 na maduramicin, 4 robenidin, 3 na lasalocid i 2 na halofuginon.

Kod jednog uzorka s monenzinom utvrđena je zamjena kokcidiostatika, a kod uzorka lasalocida nađena su prevelika odstupanja od deklariranih količina.

ZAKLJUČAK

Na temelju obavljenih kemijskih analiza krmnih smjesa, premiksa i koncentrata za perad na sadržaj različitih kokcidiostatika može se zaključiti, da u intenzivnoj peradarskoj proizvodnji u Sloveniji vrlo često dolazi do neadekvatnog dodavanja ili zamjene kokcidiostatika u krmnim smjesama i premiksima. To je jedan od bitnih razloga za pojavljivanje klinički manifestne i subkliničke kokcidioze u intenzivnim uzgojima peradi u Sloveniji.

LITERATURA

1. Owles, P. J. (1984): Identification of monensin, narasin, salinomycin and lasalocid in premixes and feeds by thin-layer chromatography. *Analyst* 109, 1331-1333.
2. Amprolium in feeds. Spectrophotometric method. Official Method of Analysis of AOAC International, 15th Edition, 1990, Volume 1.
3. De Kock, J., M. De Smet, R. Sneyers (1992): Determination of diclazuril in animal feed by liquid chromatography. *J. of Chromatography* 606, 141-146.
4. Tentative method of analysis of CYGRO in broiler feeds by high performance liquid chromatography with UV detection. Product Research and Development Laboratories Medical/Agricultural Research Divisions Cyanamid of Great Britain Limited, Gosport, RLA 11312.
5. Tentative method of analysis of robenidine in broiler and rabbit feeds by high performance liquid chromatography. Product Research and Development Laboratories Medical/Agricultural Research Divisions Cyanamid of Great Britain Limited, Gosport, RLA 11268.
6. Anderson, A. et al., (1981): Analysis of the anti-coccidial drug, halofuginone, in chicken tissue and chicken feed using high-performance liquid chromatography: *J. of Chromatography*, 212, 347-355.
7. Austic, R. E., M. C. Nesheim (1990): Poultry production, Lea & Febiger, Philadelphia, London.
8. Futtermittelgesetz (1993): Bundesgesetzblatt für die Republik Oesterreich, Verlagspostamt Wien.
9. Entel, H. J., U. Petersen, E. Tegge (1989): Futtermittelrecht Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg.
10. Bassler R., K. Ranfft, R. Seibold (1987): Analysenspielräume bei der Untersuchung von Futtermitteln. *Krafftutter* 3, 84 - 86 .

SUMMARY

Examination of feed samples on monensin, amprolium, salinomycin, diclazuril, maduramycin ammonium, robenidine, lasalocid and halofuginone content in Slovenia is presented. Samples were mainly taken in connection with outbreaks of coccidiosis on commercial poultry farms. In the period from 1994 to 1996, altogether 252 samples were analyzed; among them 168 samples of complete feeding stuffs, 57 samples of premixes and 27 samples of medicinal products. The discrepancy between the results of the analyses and declared content of certain coccidiostats was proved in 61 samples altogether (24.2%), but most frequently in complete feeding stuffs, where 50 (29.8%) samples were inadequate, in 8 samples a coccidiostat was not added at all and 14 samples contained a coccidiostat different from that one which was declared. In the case of premixes and medicinal products, 9 and 2 of the samples did not correspond to specification. It can be concluded, that inaccuracies in the use of coccidiostats in intensive poultry production in Slovenia occur rather often and that they are mainly caused by subjective errors.