

YU ISSN 0350-2457
UDK 619 (05)

VETERINARSKI GLASNIK

**naučni časopis
scientific journal**

Veterinarski glasnik je časopis Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
Veterinarski glasnik is published by Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade

VET. GLASNIK Vol. 59 Br. 5-6 str. 503 - 682 Beograd, 2005.



IZDAVAČ:
FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF BELGRADE
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ УНИВЕРСИТЕТА В БЕЛГРАДЕ

SUIZDAVAČ: **Veterinarska komora Srbije**
COPUBLISHER: **Veterinary Chamber of Serbia**

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK – EDITOR IN CHIEF: *Zlatan Sinovec*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD:
Mirjana Bojanić, Tatjana Božić, Vojin Ivetić, Vera Katić, Ranko Kljajić, Dejan Krnjajić, Milenko Stevančević, Horea Šamanc, Radoljub Tadić, Dragiša Trajlović

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Ljubinka Turubatović*

LEKTORI – LECTORS:
*Ljubinka Turubatović, za srpski jezik / for Serbian language
Danijela Gledić, za engleski jezik / for English language
Boško Bošković, za ruski jezik / for Russian language*

GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

Godišnja pretplata: za pravna lica 3 000 dinara
za individualne pretplatnike 1 000 dinara
za inostranstvo 200 USD
(The annual subscription outside Serbia and Montenegro is 200 US \$)

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:
Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije
Publication of this journal is financially supported by:
Ministry of Science and Environmental Protection of Republic Serbia

Štampa – Printers: SZR „Simić Zuhra”, Beograd, Vitanovačka 15

Adresa časopisa:
Veterinarska komora Srbije – Veterinarski glasnik, 11000 Beograd,
Bulevar oslobođenja 18, tel/faks 011/2684-597, 2687-475,
e-mail: vetks@eunet.yu; www.vetks.org.yu



VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 59

BROJ 5 - 6

STRANA 503 - 682

Beograd 2005.

5-6

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 59 Br. 5 - 6 str. 503 - 682 Beograd, 2005.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Jovanović M., Knežević Milijana: Paratuberkuloza (Johnova bolest) – osnovne karakteristike i stanje u našoj zemlji
Paratuberculosis (John's Disease) – Basic Characteristics and Current Situation Locally
Паратуберкулёз (болезнь Жохне) – основные характеристики и состояние у нас 507
- Pavlović I., Kulišić Z., Mišić Zorana.: *Lumbricidae* – prelazni domaćini metastrongilida svinja
Lumbricidae as Transitory Hosts in Metastrongylus Infection in Swine
Lumbricidae промежуточные хозяины метастронгилидов свиней 521
- Mitrović R., Kljajić R., Vićentijević M.: HACCP sistem u radijaciono-higijenskom nadzoru svinjarske proizvodnje
HACCP System in Radiation-hygiene Control of Pig Production
HACCP система в радиационно-гигиеническом надзоре свиноводческого производства 529

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI – ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ РАБОТЫ

- Kulić M., Stanimirović Z., Ristić S., Marković Biljana: *In vivo* ispitivanje klastogenog efekta Levamizol hydrochlorida na ćelijama kostne srži miševa BALB/c soja
In vivo Investigations of Clastogenic Effect of Levamisole Hydrochloride on Bone Marrow Cells of BALB/c Mice
In vivo испытание кластогенно эффекта левамизоль гидрохлорида на клетках костного мозга мышей BALB/c штамма 549
- Veličković M., Vuković D.: Koncentracija beta karotina i vitamina A u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu
Concentration of Beta-Carotene and Vitamin A in Blood Serum of Cows in Peripartal Period
Концентрация бета каротина и витамина А в кровяном сыворотке коров в дородовом периоде 557

- Blagojević M., Tešić M., Sinovec Z., Palić T.: Proizvodno-ekonomski rezultati u proizvodnji jaja za nasad kod nosilja *Arbor Acres* provenijence
Production-Economic Results in Hatching Eggs Production for *Arbor Acres* Laying Hens
Производственно-экономические результаты в производстве яиц (домашней птицы для высиживания) у несушек *Arbor Acres* провенијенце **569**

PRETHODNO SAOPŠTENJE – PREVIOUS PAPER – НАГЛЯДНОЕ СООБЩЕНИЕ

- Lazić S., Čobeljić M., Dimić B.: Verotoksična *Escherichia coli* – patogeni agens koji ugrožava zdravlje životinja i ljudi
Verotoxin-Producing *Escherichia coli* – An Emerging Pathogen which Endanger the Health of People and Animals
Веротоксическая *Escherichia coli* – патогенный агент причиняющие болезней людей и животных **581**
- Raukar Jelena: Ptičje anemije
Avian Anemias
Птичьи анемии **591**
- Pejčić Zorica, Jezdimirović Milanka, Pokrajac Milena: Određivanje rezidua diklofenaka u tkivima svinja posle intramuskularne primene
Determination of Diclofenac Residue in Swine Tissue Following Intramuscular Administration
Определение остатков диклофенака в тканях свиней после внутри-мышечного применения **603**

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Grgić Ž., Vidić Branka, Đuričić Bosiljka, Savić-Jevđenić Sara, Stojanov I.: Nalaz specifičnih antitela protiv *Leptospira interrogans* u krvnom serumu goveda
Findings of Specific Antibodies Against *Leptospira interrogans* in Cattle Blood Sera
Leptospira interrogans в кровяном сывоме крупного рогатого скота **611**
- Panayotova-Pencheva S. Mariana: Epidemiological Studies on Helminthoses in Goats and Sheep Caused by *Protostrongylidae Leiper*, 1926
Epidemiološka istraživanja helmintoza izazvanih sa *Protostrongylidae leiper*, 1926, kod koza i ovaca
Эпидемиологические исследования гельминтозов, вызванных с *Protostrongylidae leiper*, 1926, у коз и овец **619**
- Ščuka L.: Florfenicol – Pharmacodynamic, Pharmacokinetics and Clinical Efficacy of Oral Formulations in Domestic Animals – A Systematic Review
Florfenicol – farmakodinamika, farmakokinetika i klinička efikasnost oralnih formula kod domaćih životinja – sistematski prikaz
Хлорфеникол – фармакодинамика, фармакокинетика и клиническая эффективность оральных формул у домашних животных - систематический показ . . . **635**

KLINIČKI SLUČAJ – CLINICAL CASE – КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

■ Or E. M., Kayar A., Parkan Ç., Gönül R., Morkoç T., Dodurka T. H.: Clinical Approach to Discoloration in Body Hair in a Rottweiler Dog Klinički pristup gubitku boje dlake kod jednog rotvajlera Клинический доступ потере амсти у одного ротвейлера	655
PRIKAZ KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ	663
DOKTORI, MAGISTRI I SPECIJALIZANTI – DOCTORS OF SCIENCE, MAGISTERS OF SCIENCE AND SPECIALISTS – ДОКТОРЫ, МАГИСТРЫ И СПЕЦИАЛИЗАНТЫ	667
DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТИ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	671
KALENDAR – CALENDER – КАЛЕНДАР	681

PARATUBERKULOZA (JOHNOVA BOLEST) – OSNOVNE KARAKTERISTIKE I STANJE U NAŠOJ ZEMLJI*

PARATUBERCULOSIS (JOHNE'S DISEASE) – BASIC CHARACTERISTICS AND CURRENT SITUATION LOCALLY

M. Jovanović, Milijana Knežević**

Paratuberkuloza ili Johnneova bolest je oboljenje digestivnog trakta životinja, prouzrokovano Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (M.a. paratuberculosis). Paratuberkuloza je ustanovljena u mnogim zemljama i ona danas predstavlja jednu od najrasprostranjenijih bolesti bakterijske etiologije preživara koja uzrokuje velike ekonomske štete. U našoj zemlji paratuberkuloza nije opsežnije izučavana. U Srbiji je prvi put bolest otkrivena 1995. godine u jednom izolovanom stadu ovaca rase Il de France, a serološki pozitivna goveda 2001. godine.

Infekcija izazvana bakterijom M.a. paratuberculosis nastaje, uglavnom, kod mladih životinja koje su na infekciju i najosetljivije. Osnovni izvor infekcije je feces bolesnih životinja. Takođe, kolostrum i mleko obolelih životinja mogu da sadrže mikobakterije, a postoji mogućnost i intrauterine infekcije.

Duga inkubacija, hronični tok i ne baš uvek jasno ispoljena klinička slika, čine dijagnostiku paratuberkuloze veoma kompleksnom i pored postojanja velikog broja dijagnostičkih metoda. Postoji nekoliko seroloških testova pomoću kojih je moguće da se otkriju antitela protiv M. a. paratuberculosis kod inficiranih životinja. Najčešće se koriste reakcija vezivanja komplementa (RVK), agar-gel imunodifuzioni test (AGID) i imunoenzimski test (ELISA). Izolacija uzročnika ili delova njegovog genoma, predstavljaju važne metode u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Materijal za izolaciju mogu da budu delovi tkiva dobijeni obdukcijom ili biopsijom, feces i uzorci mleka. Dijagnoza paratuberkuloze na uginulim ili žrtvovanim životinjama postavlja se na osnovu patoanatomskog i patohistološkog nalaza.

* Rad primljen za štampu 2. 9. 2005. godine

** Dr Milijan Jovanović, profesor, dr Milijana Knežević, profesor, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Paratuberkuloza preživara u kliničkom, morfološkom i etiološkom aspektu ima izvesne sličnosti sa Crohnovom bolesti ljudi.

Ključne reči: paratuberkuloza, Johnneova bolest, goveda, ovce, promene, dijagnostika

Uvod / Introduction

Paratuberkuloza ili Johnneova bolest je oboljenje digestivnog trakta životinja, prouzrokovano bakterijom *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*). Pored preživara, koji najčešće obolevaju, paratuberkuloza se eksperimentalno može da izazove kod svinja, konja i magaraca, a od laboratorijskih životinja moguće je da se inficira kunić, hrčak, zamorac, miš i neke vrste majmuna [1, 43, 32]. Takođe, prouzrokovatelj paratuberkuloze pominje se kod nekih slučajeva Crohnove bolesti kod ljudi [3, 12]. Klinička i patoanatomska slika ove bolesti opisane su još tokom 19. veka. Engleski istraživači H. A. Johnne i L. Forthingham su 1895. godine dokazali vezu između enteritisa goveda i prisustva acido-rezistentnih (acid fast) bakterija u isečcima crevne sluznice, zbog čega je ovo oboljenje dobilo naziv *Johnes disease* [10].

Paratuberkuloza je ustanovljena u mnogim zemljama i ona danas predstavlja jednu od najrasprostranjenijih bakterijskih bolesti preživara koja izaziva velike ekonomske štete. Primera radi, procenjuje se da godišnji gubitak zbog ove bolesti u SAD prevazilazi 1,5 milijardi dolara [15].

Na području koje je „pokrivala” bivša Jugoslavija ima veoma malo podataka o pojavi paratuberkuloze. Prvi podatak čini izveštaj Vukovića [45] da je bolest opisana u Bosni, ali se ne navodi ni mesto ni vreme kada je bolest utvrđena. Takođe, u novijoj literaturi mogu da se nađu podaci o pojavljivanju ove bolesti kod ovaca u Sloveniji [30]. U Srbiji prvi put je dijagnostikovana paratuberkuloza 1995. godine u jednom izolovanom stadu ovaca rase *Il de France* [16, 17, 18, 19, 20]. Serološkim ispitivanjem goveda u južno-bačkom epizootičkom području ustanovljena je u 5,5 posto ispitivanih goveda [44].

Etiologija i epizootiologija / Etiology and epizootiology

Etiološki agens paratuberkuloze, od svog otkrića pa do danas, pretrpeo je nekoliko promena u nazivu. Prvobitno, naziv mu je bilo *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis johne*, zatim, *Mycobacterium johnei*, pa *Mycobacterium paratuberculosis* i najzad, *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*) [8]. To je acido-rezistentan, slabo gram-pozitivan bacil, veličine od 1,5 do 0,5 μm . Sporo raste na podlogama i za svoj rast zahteva organski izvor gvožđa, što se obezbeđuje dodavanjem faktora rasta poznatog kao mikobaktin. Po svojim kulturnim osobinama *M. a. paratuberculosis* sličan je *Mycobacterium avium silvaticum* koji je izolovan iz divljih go-

lubova, ali se ova dva prouzrokovaca genetski razlikuju. Analizom genoma *M. a. paratuberculosis* otkrivena je karakteristična sekvenca DNA označena kao IS 900 koja se ponavlja u 15 do 20 kopija po jednoj bakteriji. Izolovanjem fragmenta DNK omogućava egzaktno dijagnostikovanje ovog prouzrokovaca molekularnim metodama kao što je PCR metoda. Bakterije iz iste grupe (*M.a. avium* i *M.a. silvaticum*) sadrže sekvencu DNA označenu kao IS 901 [24]. *M. a. paratuberculosis* pokazuje i određene varijacije u sojevima. Najočiglednija razlika je u sojevima koji stvaraju i sojevima koji ne stvaraju pigment žutonarandžasti u promjenjenom tkivu i hranljivim medijumima. Takođe, postoje podaci o različitoj prijemčivosti pojedinih životinjskih vrsta za sojeve izolovane u različitim geografskim područjima [34]. Međutim, ove razlike u sojevima nisu još uvek dovoljno proučene, razvoj molekularne tehnike i metoda kao što su PCR, RFLP i druge sigurno će uneti više jasnoće u ovo područje. *M. a. paratuberculosis* je vrlo otporan mikroorganizam na dejstvo spoljašnjih činilaca tako da u zemljištu, vodi i fecesu može da izdrži mesecima [7].

Infekcija prouzrokovana *M. a. paratuberculosis* nastaje, uglavnom, kod mladih životinja koje su najosetljivije na infekciju. Najprijemčivije su životinje u uzrastu od prvih trideset dana, u kom periodu u najvećem broju slučajeva infekcija i nastaje, ali se bolest ispoljava, uglavnom, kod odraslih jedinki u uzrastu od dve do pet godina. Međutim, iako ređe, bolest može da se pojavi ako infekcija nastane i kod odraslih jedinki. Predisponirajući činioci kao što je slaba ishrana, intenzivna laktacija, porođaj, stres zbog transportovanja, zatim, imunosupresivni agensi kao što je virus bovine dijareje mogu da izazovu pojavljivanje bolesti.

Osnovni izvor infekcije je feces bolesnih životinja. Dug period inkubacije omogućuje izlučivanje mikobakterija u fecesu i 18 meseci pre nego što se pojave klinički simptomi. Količina bakterija koju izlučuju klinički obolele životinje može da bude i do $5 \cdot 10^{12}$ bakterija na dan [7]. Fekalna kontaminacija sisa, zagađena hrana i voda su najčešći putevi infekcije. Takođe, kolostrum i mleko obolelih životinja mogu da sadrže mikobakterije, a postoji mogućnost intrauterine infekcije [8]. Muški reproduktivni organi i seme mogu da sadrže *M. a. paratuberculosis*, ali prenošenje bolesti polnim putem nije dokazano [4, 21].

Klinička slika / Clinical picture

Kliničku sliku paratuberkuloze goveda i ovaca karakteriše hronično progresivno gubljenje telesne mase, što prati stalan ili povremeni proliv. Kod ovaca proliv je manje konstantan i manje upečatljiv simptom. Životinje su afebrilne, a proizvodnja mleka se smanjuje. Dlaka je nakostrešena, nastaje alopecija a ponekad depigmentacija dlake. Kod ovaca se zapaža ispadanje pramenova vune. U odmaklim slučajevima može da se uoči edem u submandibularnom području i drugim delovima tela. Pregledom krvi često se zapažaju anemija, smanjenje albumina i ukupnih proteina, dok je količina globulina nepromenjena.

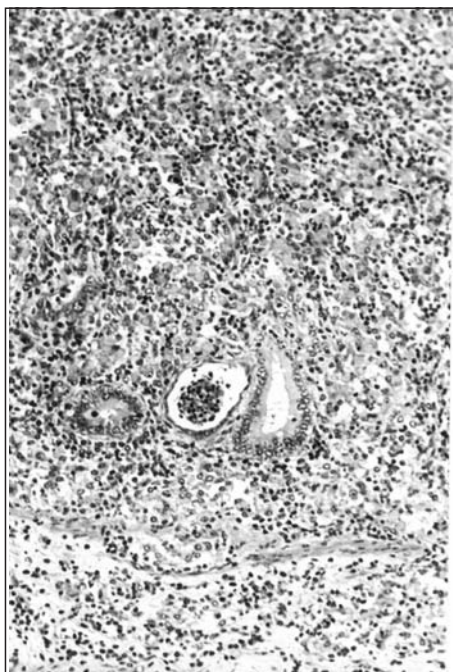
Patoanatomske promene / *Pathoanatomical changes*

Osnov makroskopskih promena kod paratuberkuloze preživara čine hronični granulomatozni enteritis, limfangitis i limfadenitis mezenterijalnih limfnih sudova i limfnih čvorova. Promene na crevima najuočljivije su na ileumu, naročito na njegovom završnom delu i ileocekalnoj valvuli. Ponekada promene mogu da zahvate debela creva i jejunum, retko duodenum. Ileum je zadebljao, cevastog izgleda koji ponekada podseća na jednjak. Sluznica creva je zadebljala, poprečno naborana ili granulisanog izgleda. U slučajevima infekcije izazvane sojevima koji stvaraju pigment sluznica creva je žutonarandžaste boje [9]. Na seroznoj površini promenjenih creva zapaža se proširenje i zadebljanje limfnih sudova koji postaju uočljivi i imaju izgled pruga mlečno bele boje. Mezenterijalni i ileocekalni limfni čvorovi su najčešće povećani, sivobeličaste boje i preseka vlažne površine. Pored ovih promena kod uginulih životinja uočava se atrofija skeletne muskulature i masnog tkiva, što prati nakupljanje povećane količine tečnosti u telesnim šuplinama. Makroskopske promene na crevima kod izvesnog broja životinja, naročito ovaca mogu da nedostaju [6]. Naši nalazi takođe ukazuju da kod jedne trećine ovaca koje su imale kliničke simptome, makroskopske promene na crevima nisu bile uočljive.

Patohistološke promene / *Pathohistological changes*

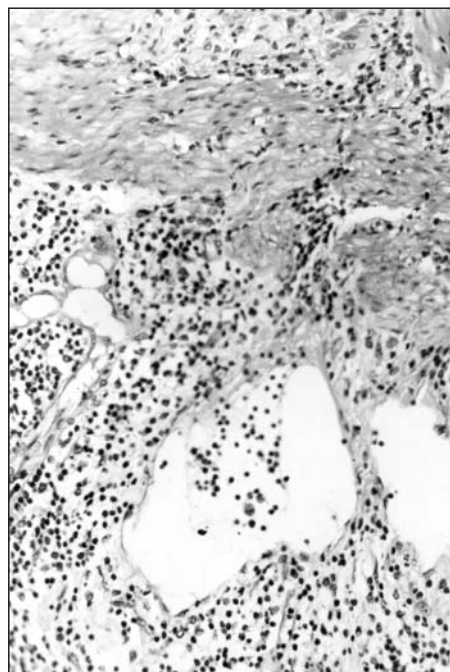
Najkonstantnije i najintenzivnije mikroskopske promene kod preživara takođe se uočavaju u crevima, naročito u ileumu. Ovakav nalaz je i razumljiv, jer se ileum, odnosno limfatično tkivo ovog dela creva smatra veoma važnim u patogenezi paratuberkuloze, zato što predstavlja ulazna vrata za prouzrokovaca [10, 26]. Promene karakteriše infiltracija zida creva ćelijama koje čine takozvano specifično granulaciono tkivo (slika 1). U zavisnosti od količine ćelija i njihove rasprostranjenosti (fokalno ili difuzno) promene su razvrstane u blage, srednje i intenzivne [8, 42]. U slučajevima dobro ispoljenih promena uočava se da je lamina propria mukoze zadebljala usled difuznog ćelijskog infiltrata koji u najvećem broju čine makrofage-epiteloidne ćelije karakteristične obilne slabo eozinofilne citoplazme i velikih vezikularnih jedara. Manji broj ćelija otpada na limfocite, eozinofile i neutrofilne granulocite. Multinuklearne Langerhansove ćelije mogu da budu prisutne u različitom broju, a mogu i potpuno da nedostaju. U slučaju veoma izraženih promena, crevni epitel pokazuje izraženu atrofiju i fuziju crevnih resica, što omugućava izravnavanje površine mukoze. Broj kripti je smanjen, a neke od njih su često proširene i ispunjene ćelijskim detritusom. Ćelijski infiltrat istog sastava, ali najčešće fokalne rasprostranjenosti, može da se uoči u lamini muskularis i u submukozi. U submukozi i serozi obično se zapaža dilatacija limfnih sudova praćena zadebljanjem njihovog zida, perilimfatičnim i perivaskularnim nakupljanjem limfocita (slika 2). Ostali delovi creva (jejunum, cekum i kolon) zavisno od rasprostranjenosti procesa pokazuju patohistološke promene slične onima u ileumu, ali slabijeg intenziteta.

Ileocekalni i mezenterijalni limfni čvorovi su hiperplastični sa uočljivom limfoidnom proliferacijom. Makrofage su prisutne u kortikalnom delu u vidu difuznog ili fokalnog infiltrata.



Slika 1. Markantna infiltracija lamine propriae ileuma ovce makrofagama i limfocitima (HE, x 200) /

Figure 1. Marked infiltration of ileum lamina propria in sheep with macrophages and lymphocytes (HE, x200)



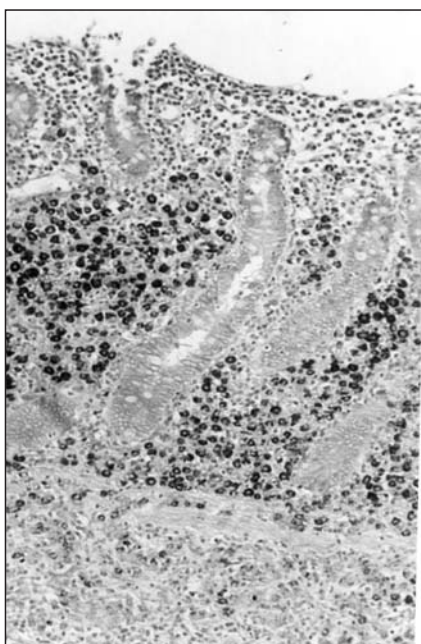
Slika 2. Proširenje limfnih sudova i infiltracija limfocitima u serozi creva ovce (HE, x 200)

Figure 2. Expanded lymph vessels and lymphocyte infiltration in serosis of sheep intestines (HE, x200)

Bojenjem histoloških preparata metodom po Ziehl Neelsenu (ZN) u promenjenim delovima creva uočava se da makrofage koje infiltruju laminu propriju mukoze sadrže acidorezistentne štapiće (slika 3). Bakterije u svakoj pojedinačnoj ćeliji mogu da budu mnogobrojne, naročito u ćelijama koje infiltruju crevne resice. Acidorezistentni štapići uočavaju se i u makrofagama koje infiltruju submukozu i limfne čvorove, ali je njihov broj u odnosu na propriju mukoze daleko manji.

U jetri i pripadajućim limfnim čvorovima, ređe slezini, bubrezima i plućima u pojedinim slučajevima mogu da se uoče granulomatozne promene istih mikroskopskih karakteristika kao i u crevima [8].

Kada je u pitanju paratuberkuloza ovaca Clarke [8] navodi da se mikroskopske promene mogu da svrstaju u dve kategorije: lepromatozni tip i tuberkuloidni tip promena. Osnovnu histološku karakteristiku lepromatoznog tipa promena čini intenzivna infiltracija proprije mukoze creva velikim brojem makrofaga u kojima se nalazi veliki broj acido rezistentnih bakterija. Ovakav nalaz odgovara promenama koje su Rajya and Singh [33] označili kao tip I, Perez *et al* [29] tip IIIb, a Clarke and Little [9] kao „multibacillary” tip. Promene tuberkuloidnog tipa, koje navedeni autori opisuju kao tip II, IIIc i „paucibacillary”, istim redom, karakteriše prisustvo većeg broja limfocita, dok je nalaz acidorezistentnih bakterija veoma oskudan ili potpuno izostaje. Kod lepromatoznog oblika paratuberkuloze broj



džinovskih ćelija je oskudan, dok je njihovo masovnije pojavljivanje vezano za drugi, tuberkuloidni tip paratuberkuloze. Lepromatozni tip promena, pored karakteristične patohistološke slike, karakteriše prisustvo velikog broja acido-resistentnih bakterija, snažan, ali neefikasan humoralni i slab celularni imunski odgovor, što govori o slaboj otpornosti životinje [9]. U patogenezi ovakve granulomatozne inflamacije značajnu ulogu imaju limfokini TNF alfa, IL-1 i IL-6 čije povećanje u promenjenom tkivu su ustanovili Alzuherri *et al* [2].

Slika 3. Veliki broj acidorezistentnih bakterija u citoplazmi makrofaga koji infiltruju laminu propriu (ZN, x 200) /

Figure 3. Numerous acidoresistent bacteria in cytoplasm of macrophages infiltrating lamina propria (ZN, x200)

Dijagnostika / *Diagnostics*

Dug inkubacioni period, hronični tok i ne baš uvek jasno ispoljena klinička slika čine dijagnostiku paratuberkuloze veoma kompleksnom i pored postojanja mnogobrojnih dijagnostičkih metoda. Progresivno mršavljenje životinje uz pojavljivanje proliva, kao i negativan odgovor na terapiju antibioticima i antihelminticima treba da pobude sumnju u paratuberkulozu. U sumnjivim zapatima može da se pristupi pregledu izmeta sumnjivih ili svih životinja. Uzorci izmeta posle obrade i bojenja metodom po Zeihl Neelsenu posmatraju se mikroskopski ili se zasejavanje obavlja na odgovarajuće podloge, što daje bolje rezultate u od-

nosu na mikroskopski pregled [10]. Uspeh mikroskopske metode zavisi od količine bakterija u fecesu i on je u početnim fazama bolesti slab, dok je u kasnijim fazama, koje prate i klinički simptomi, mnogo veći. Uzorci biopsije creva i mleko takođe mogu da se koriste za mikroskopski pregled i kultivaciju uzročnika.

Kutani test zasnovan na fenomenu kasne preosetljivosti, slično kao kod tuberkuloze, može da se primeni i u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Kao antigen koristi se ekstrakt *M. avium* (avijarni tuberkulin) ili ekstrakt *M. a. paratuberculosis* (johnin) koji se daju intradermalno. Test se primenjuje samo kod goveda, rezultat testa čita se posle 72 časa. Umesto u kožu odgovarajući antigeni mogu da se daju intravenski u količini od 2 do 4 ml i kod životinja se posle tri do sedam časova meri telesna temperatura. Povišenje temperature tela za 1 stepen označava pozitivnu reakciju. Intradermalni i intravenski test su niske specifičnosti i osetljivosti. Pokazuju veliki broj lažno pozitivnih i lažno negativnih slučajeva. Lažno negativni rezultat je posebno čest u odmaklom stadijumu bolesti [15].

Postoji nekoliko seroloških testova pomoću kojih je moguće da se otkriju antitela protiv *M. a. paratuberculosis* kod inficiranih životinja. Najčešće se koriste reakcija vezivanja komplementa (RVK), agar-gel imunodifuzioni test (AGID) i imunoenzimski test (ELISA). RVK je serološki test osrednje osetljivosti i specifičnosti. Koristi se za potvrđivanje kliničkih slučajeva paratuberkuloze, dok je u otkrivanju rane, supkliničke infekcije manje efikasna [15]. AGID predstavlja prikladan test za otkrivanje bolesnih životinja, jer je relativno brz i jeftin. Slično RVK, njegova osetljivost kada su u pitanju supklinički inficirane životinje je ograničenog dometa. Njegove karakteristike što se tiče specifičnosti i osetljivosti u SAD su poboljšane prečišćavanjem antigena. Komercijalnim AGID testom za goveda postignuti su dobri rezultati u ispitivanju i na ovcama. ELISA zbog svoje specifičnosti predstavlja metodu izbora u serološkom dokazivanju paratuberkuloze [28]. U poslednje vreme razvijen je ELISA test kojim se meri *in vitro* oslobađanje γ interferona iz limfocita inficirane životinje, što ga čini veoma osetljivim u otkrivanju supklinički inficiranih životinja [10, 39].

Dijagnoza paratuberkuloze na uginulim ili žrtvovanim životinjama postavlja se na osnovu patoanatomskog i patohistološkog nalaza. Patoanatomska slika nije uvek karakteristična i upečatljiva, kao što je prethodno rečeno. Kada su u pitanju ovce u oko 30 posto kliničkih slučajeva paratuberkuloze makroskopski nalaz može da bude negativan. Patohistološki nalaz, naročito u ileumu, veoma je karakterističan i on se dopunjava nalazom acidorezistentnih bakterija metodom bojenja po Ziehle Neelsenu. Iz radova pojedinih autora [9, 26] vidi se da ZN metodom kada je u pitanju „multibacilarni” tip promena kod ovaca, mogu da se dokažu mikobakterije u sto posto slučajeva. Kada je u pitanju drugi tip promena („paucibacilarni”) dokazivanje bakterija je daleko teže. Nešto bolji rezultati postignuti su imunohistohemijskim metodama, antitelima protiv *M. a. paratuberculosis* i markerima za makrofage.

Izolacija uzročnika predstavlja važnu metodu u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Materijal za izolaciju mogu da budu delovi tkiva dobijeni obdukcijom.

jom ili biopsijom, feces i uzorci mleka. Materijal se posle odgovarajuće obrade zasejava na selektivne hranljive podloge kao što su Heroldova agar-žumančana podloga, modifikovana Dubos podloga, Levenstajn-Jansenova podloga i druge. Nedostatak metoda kultivisanja uzročnika je taj što je to skup i spor način postavljanja dijagnoze. Kada je upitanju paratuberkuloza ovaca, o vrednost metode kultivisanja uzročnika postoje protivrečni podaci. Pojedini autori [6, 31] navode da se sojevi *M. a. paratuberculosis* koji izaziva paratuberkulozu ovaca teško kultivišu. Značajno bolje rezultate sa Levenstajn-Jansen podlogom imali su Perez *et al.* [26]. Ovakva diskrepancija može da bude uslovljena primenjenim postupkom, kao i sojem agensa. U novije vreme osetljivost izolacije uzročnika, uz istovremeno smanjenje utrošenog vremena i troškova koštanja postignuto je uvođenjem radiometrijske detekcije u kulturi *M. a. paratuberculosis* [10, 15]. Dokazivanje uzročnika u materijalu, naročito fecesu ispitivanih životinja, znatno je poboljšano primenom molekularnih metoda kao što je PCR putem kojih se u materijalu otkriva specifični fragment DNA *M. a. paratuberculosis* označen kao IS900.

Profilaksa i terapija / *Prophylaxis and therapy*

Paratuberkuloza je u svetu veoma rasprostranjena bolest. Računa se da je u SAD inficirano 18 posto goveda, dok u Engleskoj taj broj iznosi 15 posto. Paratuberkuloza predstavlja veliki problem u pojedinim zemljama nanoseći velike ekonomske štete koje se ispoljavaju u direktnim i indirektnim gubicima u stočarskoj proizvodnji. Najidealniji način zaštite od paratuberkuloze je da se ne dozvoli unošenje bolesti u zapat. S obzirom na prirodu bolesti i mogućnost izlučivanja uzročnika mnogo pre nego što se pojave klinički simptomi, kao i otežano otkrivanje životinja u toj fazi bolesti, apsolutna kontrola bolesti je skoro nemoguća. U zapatima, u kojima bolest postoji, primenom zoohigijenskih mera kao što je rano odvajanje mladunčadi od majke i napajanje kolostrumom i mlekom može da se smanji broj obolelih životinja. U pojedinim zemljama primenjuje se vakcinacija životinja. Vakcinišu se životinje u prvim mesecima života vakcinama koje sadrže žive ili inaktivisane uzročnike. Vakcine sa živim uzročnikom pružaju bolju zaštitu, ali su reakcije na mestu aplikacije jače izražene [10]. Vakcinisane životinje su serološki pozitivne i na tuberkulinski test tako da se vakcinacija može da primenjuje samo u stadima „slobodnim” od tuberkuloze.

Terapija obolelih životinja uglavnom ne daje zadovoljavajuće rezultate. Ispitivani su razni antibiotici kao amino-glikozidi (gentamicin, kanamicin, neomicin, streptomycin) kapreomicin, rifabutin, rifampin i viomicin i zapažena je velika nepodudarnost između rezultata dobijenih *in vitro* i *in vivo*. Teškoće u terapiji svakako proističu i iz činjenice da je *M. a. paratuberculosis* intracelularna bakterija. Pojedini lekovi kao što su isoniazid, klofazamin, rifampin i gentamicin omogućavaju izvesna klinička poboljšanja, ali ne eliminišu prouzrokovaca i ne dovedu do potpunog izlečenja tretiranih životinja [28].

Paratuberkuloza i Crohnova bolesti ljudi / *Paratuberculosis and Crohn's disease in humans*

Paratuberkuloza preživara u kliničkom, morfološkom i etiološkom aspektu ima izvesne sličnosti sa Crohnovom bolesti ljudi (CB) [8,10]. Oba oboljenja jedinki se javljaju kod mlađih jedinki i manifestuju se stalnom ili povremenom dijarejom uz primetan gubitak telesne mase. Promene najčešće zahvataju ileum, mada i drugi delovi digestivnog trakta mogu da budu zahvaćeni, dok se u slučajevima CB govori i o sistemskom oboljenju [23]. Patohistološke nalaze u crevima kod obe bolesti karakterišu granulomatozne promene bez prisustva kazeozne nekroze, mada kod životinja uglavnom izostaju ulceracije i ne stvaraju se fistule kao što je to slučaj kod CB. Etiologija paratuberkuloze životinja je prilično jasna, dok se kao mogući uzroci CB pominju genetski, imunološki i mikrobiološki činioci i njihove različite kombinacije [40]. Za razliku od paratuberkuloze, acidorezistentne bakterije su retko bile dokazane u granulomima pacijenata obolelih od CB [22]. Međutim, produženom kultivacijom uzoraka biopsije pored drugih mikobakterija i mikroorganizama sličnih protoplastu, dobijene su i kolonije acidorezistentnih *M. paratuberculosis*. Raniji pokušaji da se inficiraju laboratorijske životinje tkivom obolelih od CB bili su neuspešni ili su se dobijale neodgovarajuće promene [8]. Međutim, jednim izolatom *M. a. paratuberculosis* dobijenim od kliničkog slučaja CB uspešno je inficirana koza i dobijene su karakteristične paratuberkulozne promene [41]. Takođe, *M.a paratuberculosis* može da izazove promene kod majmuna što govori o njegovoj patogenosti za primata [25]. U novije vreme identifikacija mikobakterija je znatno olakšana zahvaljujući određivanju specifične mikobakterijske DNA putem PCR metode. Ovom metodom, sekvenca DNA označena kao IS 900, specifična za *M. a. paratuberculosis*, otkrivena je u pojedinim istraživanjima i do 72 posto u tkivu creva pacijenata obolelih od CB [3, 11, 12, 13, 25, 35, 36]. Međutim, ova istraživanja još uvek ne daju odgovor na pitanje da li ova bakterija ima primarni etiološki značaj ili je njeno prisustvo sekundarno.

Zaključak / Conclusion

Mada je paratuberkuloza poznata više od jednog veka, ona je zbog svoje rasprostranjenosti, ekonomskih šteta koje izaziva i tvrdokornosti koju pokazuje pri suzbijanju, veoma aktuelna i u današnje vreme. U našoj zemlji se ova bolest nije opsežnije izučavala. S obzirom na značaj ove bolesti, potrebno je da se pristupiti njenom sistematskom praćenju, kako bi se otkrile obolele jedinke i zaražena stada i na vreme pristupilo sprečavanju širenja i iskorenjivanju ove bolesti. Posebna pažnja treba da se obrati na zapate ovaca i goveda u kojima se nalaze životinje iz uvoza.

Literatura / References

1. Angus K. W.: Intestinal lesion resembling paratuberculosis in a wild rabbit, *Journal of Comparative Pathology*, 1, 101-105, 1990. - 2. Alzuherri H. M., Woodall C. J., Clarke C. J.: Increased intestinal TNF- α , IL-1 β and IL-6 expression in ovine paratuberculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 49, 331-345, 1996. - 3. Autschbach F., Eisold S., Hinz U., Zinser S., Linnebacher M., Giese T., Löffler T., Büchler MW, Schmidt J.: High prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis IS900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease, *Gut*, 54, 7, 944-949, 2005. - 4. Ayele W. Y., Bartos M., Svastova P., Pavlik I.: Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet Microbiol.*, 103, 3-4, 209-217, 2004. - 5. Bendixen P. H.: Immunological reactions caused by infection with *Mycobacterium paratuberculosis*, *Nordisk Veterinær Medicin*, 30, 163-168, 1978. - 6. Carrigan M. J., Seaman J. T.: The pathology of Johne's disease in sheep. *Australian Veterinary Journal*, 67, 47-50, 1990. - 7. Chiodini R. J., Van Kruiningen H. J., Merkal R. S.: Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Veterinarian*, 74, 218-262, 1984. - 8. Clarke C. J.: The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species, *Journal of Comparative Pathology*, 116, 217-261, 1997. - 9. Clarke C. J., Little D.: The pathology of ovine paratuberculosis: Gross and histological changes in the intestine and other tissues. *Journal of Comparative Pathology*, 114, 419-437, 1996. - 10. Cocito C., Gilot Ph., Coene M., De Kesel M., Poupard P., Vannuffel P.: Paratuberculosis, *Clinical Microbiology Reviews*, 7, 328-345, 1994. - 11. Erasmus D. L., Victor T. C., Van Eeden P. J., Van Helden P.: *Mycobacterium paratuberculosis* and Crohn's disease, *Gut*, 36, 942, 1995. - 12. Fidler H. M., Thurrell W., Johnson N. M., Rook, G. A. W., McFadden J. J.: Specific detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA associated with granulomatous tissue in Crohn's disease, *Gut*, 35, 506-510, 1994. - 13. Gaya D., Black R., MacKenzie J.: Crohn's disease and MAP. *Lancet*, 31, 364, 9452, 2179, 2004. - 14. Huntely J. F. J., Whitlock R. H., Bannantine J. P., Stabel J. R.: Comparison of Diagnostic Detection Methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in North American Bison, *Vet Pathol.*, 42, 42-51, 2005. - 15. Johnson-Ifeorundu J. Y., Kaneene B. J.: Epidemiology and economic impact of subclinical Johne's disease: a review, *Veterinary Bulletin*, 67, 6, 437-447, 1997. - 16. Jovanović M., Knežević Milijana: Diagnosing sheep paratuberculosis - our experience, 3rd International conference of sheep and goat production, 80, Ohrid, Macedonia, 1995. - 17. Jovanović M., Knežević Milijana, Merčep D.: First diagnosis of sheep paratuberculosis in Serbia, *Acta veterinaria*, 49, 1, 51-61, 1999. - 18. Jovanović M.: Paratuberkuloza (John-ova bolest) domaćih životinja. Zbornik predavanja XXI seminara za inovacije znanja veterinara, 101-109, Beograd, 1998. - 19. Jovanović M., Knežević Milijana, Merčep D.: First diagnosis of sheep paratuberculosis in Serbia, *Acta veterinaria*, 49, 1, 51-61, 1999. - 20. Jovanović M., Knežević Milijana: Paratuberkuloza (John-ova bolest) – osnovne karakteristike i stanje kod nas. Zbornik kratkih sadržaja, Simpozijum VII epizootiološki dani, Jagodina, 2005. - 21. Larsen A. B., Kopecky K. E.: *Mycobacterium paratuberculosis* in reproductive organs and semen of bulls. *American Journal of Veterinary Research*, 31, 255-258, 1970. - 22. Kobayashi K., Blaser J. M., Brown R. W.: Immunohistochemical examination for mycobacteria in intestinal tissues from patients with Crohn's disease, *Gastroenterology*, 96, 1009-1015, 1989. - 23. Kumar V., Cotran S. R., Robbins L. S.: *Basic Pathology*, sixth edition, W.B. Saunders Company, 1997. - 24. Kunze Z. M., Portaels F., McFadden J. J.: Biologically distinct subtypes of *Mycobacterium avium* differ in possession of insertion sequence IS901.: *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 2366-2372, 1992. - 25. McClure H. M., Chiodini R. J., Anderson D. C., Swenson R. B., Thayer W. R., Couto J. A.: *Mycobacterium paratuberculosis* infection in colony of stump-tail macaques (*Macaca arctoides*), *Journal of Infectious Diseases*, 155, 1011-1019, 1987. - 26. Momotani E., Whipple E., Thiermann A.,

Cheville N.: Role of M cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer patches in calves. *Veterinary Pathology*, 25, 131-137, 1988. - 27. Moss M. T., Sanderson J. D., Tizard M. L. V., Herman-Taylor J., El-Zaatari F. A. K., Markesich D. C., Graham D. Y.: Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* in long term cultures from Crohn's disease and control tissues. *Gut*, 33, 1209-1213, 1992. - 28. Munjal S. K., Tripathi N. B., Paliwal P. O.: Progressive Immunopathological Changes during Early Stages of Experimental Infection of Goats with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, *Vet Pathol*, 42, 427-436, 2005. - 29. Perez V., Garcia Marin J. F., Badiola J. J.: Description and classification of different types of lesion associated with natural paratuberculosis infection in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 114, 107-122, 1996. - 30. Pogacnik M., Juntos P., Senk L.: Complement fixation test and excretion of *M. paratuberculosis* with feces in correlation to pathological lesions in subclinical and clinical form of ovine paratuberculosis. *Proceedings of 13th European Congress on Veterinary Pathology*, 27th-30th September, Edinburgh, U.K, 1995. - 31. Radostits M. O, Blood C. D., Gay C. C.: *Veterinary Medicine*, 841-850, Eighth edition, Saunders Company, 1997. - 32. Raizman E. A., Wells S. J., Jordan P. A., DelGiudice G. D., Bey R. R.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from free-ranging deer and rabbits surrounding Minnesota dairy herds. *Can J Vet Res*, 69, 1, 32-38, 2005. - 33. Rajya B. S., Singh C. M.: Studies on the pathology of Johne's disease in sheep. III. Pathologic changes in sheep with naturally occurring infections. *American Journal of Veterinary Research*, 22, 189-203, 1961. - 34. Roussel A. J., Libal M. C., Whitlock R. L., Hairgrove T. B., Barling K. S., Thompson J. A.: Prevalence of and risk factors for paratuberculosis in purebred beef cattle. *J Am Vet Med Assoc.*, 226, 5, 773-778, 2005. - 35. Sanderson J. D., Moss M. T., Tizard M. L., Hermon-Taylor J.: *Mycobacterium paratuberculosis* DNA in Crohn's disease tissue, *Gut*, 33, 890-896, 1992. - 36. Sartor B. R.: Does *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cause Crohn's disease, *Gut*, 54, 7, 896-898, 2005. - 37. Saxegard F.: Experimental infection of calves with an apparently specific goat pathogenic strain of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Comparative Pathology*, 102, 149-156, 1990. - 38. Shanahan F. M. D, O'Mahony J.: The *Mycobacteria* Story in Crohn's Disease, *Am. J. Gastroenterology*, 100, 7, 1537-1538, 2005. - 39. Storset A. K., Berg I., Dønne B.: Evaluation of the gamma interferon test for diagnosis of paratuberculosis in goats, *Vet Immunol Immunopathol.*, 107, 1-2, 87-94, 2005. - 40. Thompson D. E.: The role of mycobacteria in Crohn's disease. *Journal of medical Microbiology*, 41, 74-94, 1994. - 41. Van Kruiningen H. J., Chiodini R. J., Thayer W. R., Coutu J. A., Markel R. S., Runnels P. L.: Experimental disease in infant goats induced by a *Mycobacterium* isolated from a patient with crohn's disease, *Digestive Disease and Sciences*, 31, 1351-1360, 1986. - 42. Valheim M., Sigurdardottir G., Storset K. A., Aune G. L., Press McL. C.: Characterization of Macrophages and Occurrence of T cells in Intestinal Lesions of Subclinical Paratuberculosis in Goats. *J. Comp. Path.*, Vol. 131, 221-232, 2004. - 43. Veazey S. R. et al.: Histopathology of C57BL/6 mice inoculated orally with *Mycobacterium paratuberculosis*, *J. Comp. Path.*, 1, 75-80, 1995. - 44. Vidić Branka, Grgić Ž., Bjelajac B., Trkulja R.: Ispitivanje rasprostranjenosti paratuberkuloze kod goveda i ovaca, *Vet. glasnik*, 55, 1-2, 9-16, 2001. - 45. Vuković A.: Specijalna patološka anatomija domaćih životinja, 140, Naučna knjiga, Beograd, 1948.

ENGLISH

PARATUBERCULOSIS (JOHNE'S DISEASE) – BASIC CHARACTERISTICS AND CURRENT SITUATION LOCALLY

M. Jovanovic, Milijana Knezevic

Paratuberculosis or Johne's Disease, is a disease of the digestive tract of animals caused by *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*). Paratuberculosis has been registered in many countries and it today presents one of the most widely-spread bacterial diseases in ruminants that causes severe economic damages. In our country, paratuberculosis has not been studied extensively. The disease was registered for the first time in Serbia in 1995 in an isolated herd of sheep of the Il-de-France breed, and serologically positive cattle were determined in 2001.

Infection with *M.a. paratuberculosis* occurs mostly in young animals which are the most sensitive to infection. The main source of infection is the feces of diseased animals. Furthermore, colostrum and milk of diseased animals can contain microbacteria, and there is a possibility also of intra-uterine infection.

A long period of incubation, a chronic course, and not always clear clinical picture render diagnosis of paratuberculosis very complex, in spite of the existence of numerous diagnostic methods. There are a number of serological tests with which it is possible to detect antibodies against *M.a. paratuberculosis* in infected animals. The most frequently used are complement binding reaction (CBR), the agar gel immunodiffusion test (AGID), and the immunoenzyme test (ELISA). The isolation of causes or parts of their genome, present important methods in the diagnosis of paratuberculosis. Pieces of tissue obtained through autopsies or biopsies, feces or milk samples, can serve as material for isolation. A diagnosis of paratuberculosis for dead or sacrificed animals is made on the grounds of pathoanatomical or pathohistological findings.

Paratuberculosis of ruminants has certain similarities with Crohn's Disease in humans, from the clinical, morphological, and etiological aspects.

Key words: paratuberculosis (Johne's disease), cattle, sheep, changes, diagnostic

РУССКИЙ

ПАРАТУБЕРКУЛЁЗ (БОЛЕЗНЬ ЙОХНЕ) – ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И СОСТОЯНИЕ У НАС

М. Йованович, Милияна Кнежевич

Паратуберкулёз или болезнь Йохне заболевание пищеварительного тракта животных, пичинено *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. partuberculosis*). Паратуберкулёз записан в многих странах и он в настоящее время представляет собой одну из наиболее расширённых болезней жвачных, вызывающая большие экономические ущербь. В нашей стране паратуберкулёз на более объёмисто изучиван. В Сербии впервые болезнь открыта 1995 года в одном изолированном стаде овец породы *Il de France*, а серологически положительный крупный рогатый скот 2001 года.

Инфекция с *M. a. paratuberculosis* наступает главным образом у молодняка, который на инфекцию и наиболее чувствителен. Основным источником инфекции кал больных животных. Также, колострум и молоко заболевших животных могут содержать микобактерии, а существует возможность и внутриматочной инфекции.

Долгая инкубация, хроническое течение и не именно всегда ясно проявленная клиническая картина, составляют диагностику паратуберкулёза очень комплексной и возле существовании численных диагностических методов. Существует несколько серологических тестов с помощью, которых возможно окрыть антитела против *M. a. paratuberculosis* в инфицированных животных. Чаще всего пользуются реакцией связывания комплемента (РСК), агар гель иммунодиффузионный тест (АГИД) и иммуноэнзимный тест (ELISA). Изоляция возбудителя или частей его генома, представляют собой важные методы в диагностике паратуберкулёза. Материал для изоляции могут быть части тканей, полученные обдукцией или биопсией, кал и образчики молока. Диагноз паратуберкулёза на околённых или жёртвованных животных поставляется на основе патоанатомических и патогистологических результатов.

Паратуберкулёз жвачных в клиническом, морфологическом и этиологическом аспекте имеет известные подобия с болезнью Крохне людей.

Ключевые слова: паратуберкулёз (болезнь Йохне), крупны рогаты скот, овец, изменения, диагностика

LUMBRICIDAE – PRELAZNI DOMAĆINI METASTRONGYLIDA SVINJA*

LUMBRICIDAE AS TRANSITORY HOSTS IN METASTRONGYLUS INFECTION IN SWINE

I. Pavlović, Z. Kulišić, Zorana Mišić**

Metastrongilidoza ili plućna strongilidoza svinja je oboljenje uzrokovano sa više vrsta nematoda iz roda Metastrongylus. Metastrongilidae pripadaju biohelmintima čiji uzročnici za svoj razvoj i održavanje biološkog ciklusa koriste prelazne domaćine, u ovom slučaju mnogobrojne vrste lumbricida (kišnih glista). Zavisno od geografske sredine kao prelazni domaćini perzistira veliki broj predstavnika lumbricida. U našoj sredini to su dominantne vrste glista iz rodova Eisenia spp, Dandrebena spp, Allopbophora spp, Lubricus spp, Octolasion spp, Bimastus spp. a ređe i vrste iz roda Heledrillus spp. Infekcija svinja izazvana metastrongilidama nastaje peroralnim putem kada pojedju inficirane kišne gliste.

Ključne reči: svinje, kišne gliste, metastrongilide

Uvod / Introduction

Metastrongilidoza ili plućna strongilidoza svinja je oboljenje uzrokovano sa više vrsta nematoda iz roda *Metastrongylus*. Ustanovljeno je ukupno 6 vrsta nematoda u ovom rodu: *Metastrongylus elongatus* (sin. *Metastrongylus paradoxus*, *Metastrongylus apri*), *Metastrongylus pudendotectus* (sin. *Choerostongylus pudendotectus*, *Metastrongylus brevivaginatus*), *Metastrongylus salmi*, *Metastrongylus confusus*, *Metastrongylus madagascariensis* i *Metastrongylus tschiauricus* [2, 3, 4, 16, 20]. Većina njih je kosmopolitske distribucije, a u našoj sredini se nalaze *Metastrongylus elongatus* i *Metastrongylus pudendotectus* [14, 21, 27, 33, 37, 38]. Pojava infekcije je dominantna u sredinama u kojima se obavlja ekstenzivan način držanja životinja (čoporenje, ispustno držanje) i gde je higijena držanja loša [33, 34, 51]. Za infekciju su najprijemčivije mlađe svinje u uzrastu od dve do osam nedelja [15, 38].

* Rad primljen za štampu 27. 6. 2005. godine

** Dr sc vet. Ivan Pavlović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Zoran Kulišić, profesor, dr Zorana Mišić, asistent, Katedra za parazitologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Metastrongilide pripadaju biohelmintima čiji uzročnici za svoj razvoj i održavanje biološkog ciklusa koriste prelazne domaćine, u ovom slučaju veliki broj vrsta lumbricida – kišnih glista [1]. Biološki ciklus metastrongilida je razrešen još 1929. godine kada je ustanovljen migratorni tok larvi nakon što jaja parazita izmetom dospeju u spoljašnju sredinu [14]. Jaja su veoma otporna u spoljašnjoj sredini i u vlažnoj sredini mogu da ostanu vitalna do dve godine [1]. Pri relativnoj vlažnosti od 95 posto pojedina jaja ostanu vitalna do 20 meseci uz nesmanjenu vitalnost, dok se na niskim temperaturama od -5°C do -8°C vitalnost zadržava do tri nedelje. Zavisno od spoljašnjih uslova iz jaja se oslobađaju larve koje u spoljašnjoj sredini mogu da prežive do tri meseca, ali nisu infektivne za pravog domaćina [35, 36].

Prelazni domaćini metastrongilida / *Intermediate hosts of metastrongilids*

Larve infektivnost stiču tek kada kišne gliste – prelazni domaćini pojedu larve. Zavisno od geografske sredine kao prelazni domaćini perzistiraju mnogobrojni predstavnici lumbricida. U našoj sredini to su dominantne vrste glista: *Eisenia foetida*, *Eisenia rosea*, *Dandreobena rubida*, *Allopbophora caliginosa*, *Allopbophora jassyensis*, *Lubricus terrestris* i *Lubricus rubellus* [6, 27, 33, 37]. Takođe kao prelazni domaćini metastrongilida u obzir dolaze i *Eisenia veneta*, *Eisenella tetraedra*, *Allopbophora longa*, *Octolasion complanatum*, *Octolasion lacteum*, *Octolasion rebeli*, *Dendrobaena octaedra*, *Dendrobaena subrubicunda*, *Dendrobaena mariupoliensis*, *Bimastus tenius*, a ređe i vrste iz roda *Heledrillus* [5, 24, 31, 32].

Biološke karakteristike glista / *Biological characteristics of earth-worms*

Sve navedene vrste glista pripadaju klasi *Oligochaeta*. Ova klasa obuhvata većinom zemljišne gliste, mnoge vrste koje žive u slatkoj vodi i mali broj morskih vrsta. Spoljašnja i unutrašnja segmentacija su jasno izražene, ali bez izraženih spoljašnjih regionalnih specijalizacija koje nalazimo kod *Polychaeta* [11]. Veličina im se kreće, zavisno od vrsta, od 0,5 mm do dva metra. Za razliku od *Polychaeta* glava im je redukovana i na njoj nema očiju, tentakula ni palpusa [11, 20]. Prostomijum je mali zaobljeni režanj, jasno odvojen od peristomijuma, mada su kod nekih vrsta oni tako spojeni da čine nerazdvojnu celinu obrazujući glaveni region sa više segmenata. Kod njih takođe nema parapodija mada su zadržane hete koje su različitog oblika najčešće u obliku slova „S” sa zadebljanjem u sredini koje može da bude kraće ili duže. Kratke hete su karakteristične za suvozemne vrste i najčešće su raspoređene u četiri grupe na svakom segmentu ventralno, ventrolateralno i dorzolateralno. Kod vrsta iz familije *Lumbricidae* rodovi *Lubricus*, *Eisenia*, *Dandreobaena* i *Allopbophora* u svakom segmentu imaju po osam

heta raspoređenih po dve u četiri grupe tako da se to uzima kao jedan od parametara za determinaciju [12, 28].

Histološka građa celoma je slična kao kod *Polychaeta*. Na površini se nalazi jednoslojni epitel koji luči kutikulu koja sadrži fine pore kroz koje se izlučuje sekret jednoćelijskih žlezda rasutih u epitelu. Ispod epidermisa se nalazi vezivno tkivo i radijalno i poprečno raspoređeni slojevi mišića uz koje se prema celomu nalazi peritoneum. Septe koje dele celom imaju otvore kroz koje prolaze nervni lanci i krvni sudovi, a međusegmentalni protok tečnosti regulišu mišićni sfinkteri koji se nalaze između dva sloja septi-deseptimenta. Kod krupnijih vrsta deseptimenti glavenog segmenta izdužuju se unazad u vidu mišićnih džepova čijom se kontrakcijom povećava pritisak celomske tečnosti, što omogućava lakše prodiranje u zemlju. Celomske šupljine su otvorene prema spoljašnjoj sredini preko dorzalnih pora kroz koje izlazi celomska tečnost koja vlaži površinu tela, a čiji je protok regulisan mišićnim sfinkterima [11].

Razvoj larvi metastrongilida u glistama / *Development of lungworm larvae in earthworms*

Većina zarivajućih *Oligochaeta* se hrani detritusom i pri tome dolazi u dodir sa jajima i larvama metastrongilida. U glistama se larve lokalizuju u zidovima krvnih sudova ezofagusa i predželuca, a odatle nakon maturacije larve migriraju u krvne sudove. Ovo je omogućeno morfološkim odlikama glista iz familije *Lumbricidae*. Kod njih je kao i kod drugih *Oligochaeta* crevni trakt prava cev sa izraženom regionalnom diferencijacijom. Počinje usnim otvorom u segmentu iza prostomijuma i nastavlja se u usnu duplju, a ona u mišićni ezofagus koji kod *Lumbricidae* poseduje enzim proteazu [13, 19]. U jednjaku se nalaze i kalcijumske žlezde čija površina obrazuje džepove koji su kanalima povezani sa lumenom jednjaka. Zidovi kalcijumskih žlezdanih površina su jako vaskularizovani i predstavljaju mesto ulaska larvi metastrongilida [5, 37, 39].

Krvni sistem je zatvorenog tipa i građen je od dorzalnog suda koji je odvojen od intestinalnog sinusa i proteže se celom dužinom tela, zatim od bočnog subneuralnog krvnog suda i od dva krvna suda bočno od nervnog lanca. Dorzalni i ventralni krvni sudovi su povezani bočnim krvnim sudovima u svakom segmentu, pri čemu dorzalni krvni sud i bočni sudovi imaju ulogu pulzativnog organa (srca) [11, 18]. Pulzativni krvni sudovi imaju endotelijumske zaliske kojima se reguliše tok krvi tako da ona dorzalnim sudom teče od zadnjeg ka prednjem delu tela, a ventralnim obrnuto. Iz glavnih krvnih sudova krv se odvodi manjim sudovima u telesni zid i druge organe gde se razliva u kapilarnu mrežu. Ovaj tip vaskularizacije omogućava odličnu ravnomernu distribuciju larvi metastrongilida po celom telu glista.

U glistama se larve lokalizuju u zidovima krvnih sudova ezofagusa i predželuca. Ovde se dva puta presvlače i za 10 do 25 dana razvijaju u infektivnu formu. Brzina razvoja je u direktnoj zavisnosti od spoljašnje temperature tako da

najbržu maturaciju imaju na temperaturi od 22 do 23°C (do 15 dana), pri 15 do 16°C ona se odvija za 21 dan, a pri 10 do 11°C za 219 dana [6, 30, 37, 29]. Bioklimatski uslovi koji utiču na kišne gliste su u direktnoj vezi i sa razvojem larvi metastrongilida. Nakon maturacije larve migriraju u krvne sudove glista i u njima ostaju infektivne do 7 godina. Larve nikada ne napuštaju spontano gliste. Samo u slučaju oštećenja gliste (presecanje tokom obrade zemlje i slično) one izlaze iz glista, a odatle dospevaju u površinske slojeve zemlje, u kojim, zavisno od vlažnosti, mogu da žive do dve nedelje.

Prevalencija inficiranosti glista / *Prevalence of earthworm rate of infection*

Stepen inficiranosti glista je u direktnoj zavisnosti od vrste i njihovih bioloških osobenosti – mesto života pre svih. Naime, neke kišne gliste, kao, na primer, *Eisenia foetida*, žive u površinskim slojevima tla, pa je njihov kontakt sa jajima i larvama parazita mnogo češći od vrsta koje imaju vertikalnu migraciju. Po istraživanjima Tričkovića [37] vrste *Eisenia foetida*, *Eisenia rosea* i *Lubricus rubbelus* najčešće nalazimo lokalizovane oko đubrišta i obora a ostale vrste po voćnjacima, dvorištima i ispašama i one su najčešće inficirane manjim brojem larvi [27, 38]. Glista najviše ima u vlažnoj i rastresitoj zemlji koja obiluje humusom i životinjskim đubretom u kome se nalazi i više stotina glista po kvadratnom metru. Sezonska varijacija mikroklimatskih uslova u zemljištu ima velikog udela u životu kišnih glista i inhibitorni faktori u njihovoj sezonskoj dinamici su u direktnoj vezi sa širenjem metastrongilidoze [5].

Prosečan broj larvi kod inficiranih glista je od 33,7 u *Eisenia foetida* do 4,1 u *Allopbophora caliginosa* [37].

Infekcija svinja / Swine infection

Infekcija svinja nastaje peroralnim putem kada pojedu inficirane kišne gliste [36]. Iz digestivnog trakta svinja larve dospevaju u mezenterijalne limfne čvorove u kojima se presvlače i limfnim putem dospevaju u krvotok i pluća preko desnog srca. U bronhijama i bronhiolama larve posle 24 dana dostižu adalni stadijum [37]. Obolele životinje pokazuju znake dispnoje, učestalo vezikularno disanje, slab a kasnije hrapav kašalj koji je u vidu napada kada životinje imaju naprezanja [24]. Sluznice su blede, apetit je smanjen, prisutna je eozinofilija. Telesna temperatura je povišena samo kada su prisutne sekundarne infekcije [15, 24, 37, 38]. Predilekciono mesto parazita su zadnji delovi dijafragmatskog lobusa – *margo acutus* i *margo obtusus*, a kod jakih infekcija i ostali delovi pluća. Zapaža se bronhiolitis, bronhitis, difuzna pneumonija, alveolarni enfizem i razrastanje vezivnog tkiva i ćelijska infiltracija makrofaga, eozinofila, limfocita, olimforonuklearnih leukocita i džinovskih ćelija. Pojedine grupe lobula su voluminozne, sivobeke, prisutan je lobularni enfizem, a promene su klinastog izgleda na čijoj bazi se nalazi

bronhus ispunjen parazitima [9, 10, 34]. U bronhiolama i bronhijama parazite nalazimo u raznim razvojnim stadijumima bilo slobodne u sluzavom eksudatu ili opkoljene ćelijskim infiltratom [10, 27, 34].

Preventiva infekcije / *Prevention of infection*

Radi preventive poželjno je da se izbegavaju kontaminisani pašnjaci a s obzirom na dužinu života kišnih glista (žive dve do sedam godina), metoda pregonskog ispusta (slično kao kod ovaca) ima punog opravdanja. Takođe se preporučuje preventivna dehelmintizacija – jesenja koja se obavlja tri do četiri nedelje posle povlačenja sa pašnjaka i prolećna, dve nedelje pred izgon na pašu kada se tretiraju sve životinje [17, 25]. Posle tretmana se čisti i mehanički uklanja đubre iz objekta, njegovo pranje vodom temperature više od 60°C i obavlja se dezinfekcija, pri čemu se 2% rastvor NaOH pokazao najdelotvorniji [7, 8].

NAPOMENA:

Zahvaljujemo se Ministarstvu nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije na pomoći u realizaciji projektnog zadatka.

Literatura / *References*

1. Barutzki D., Richter R.: *Zaitsch. Jagdwiss.* 36, 244-251, 1990. - 2. Breev K. A.: *Parasitol. Sbornik Leningrad*, 29, 5-13, 1980. - 3. Corwin R. M., Stewart T. B.: *Internal parasites*, U: A. D.L eman: *Disease of Swine*, Wolf Publishing, London, 718-734, 1992. - 4. Drozd J., Zalewska-Schonhaler N.: *Widam. Parasitol.* 33, 217-218, 1987. - 5. Goldova M., Breza M.: *Folia Venit.* 43, 3, 154-157, 1999. - 6. Hata H., Fujita J., Yasuraoka K.: *Jap. J. Exp. Med.* 50, 365-374, 1980. - 7. Hudina V., Rosić G., Kulišić Z., Pavlović I., Nešić D.: *Zbornik radova I simpozijuma uzgoj i zaštita zdravlja svinja*, Vršac, 11-12, 1994. - 8. Hudina V., Pavlović I., Kulišić Z., Nešić D.: *Zbornik radova VI simpozijuma DDD u zaštiti životne sredine*, Donji Milanovac, 268-270, 1995. - 9. Ivetić V., Lončarević A., Žutić M., Valter D., Krnić J., Romanić S., Pavlović I.: *Zbornik radova 4.savetovanja veterinara Republike Srpske sa međunarodnim učešćem*, Teslić, Republika Srpska, 208-210, 1997. - 10. Ivetić V., Žutić M., Valter D., Pavlović I., Savić B.: *Atlas patomorfoloških promena bolesti svinja*, izd. Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, 1-148, 2000. - 11. Krnić M.: *Zoologija invertebra*, Naučna knjiga Beograd, 1981. - 12. Kruse G. O. W.: *Proc.Nebraska Academy of Science* 88, 15, 1987. - 13. Kruse G. O. W., Ferguson D. L.: *Vet. Med. Rev.* 2, 113-130, 1980. - 14. Kulišić Z.: *Helmintologija, Veterinarska komora Srbije*, Beograd, 2002. - 15. Kvachadze G. A.: *Gruzinskog Zootech.Vet.Ucheno Issled. Inst.* 39, 320-322, 1975. - 16. Lidndquist W. D.: *Nematodes, Acantocephalides, Trematodes, and Cestodes*, U: A.H.Dunn i A.D.Leman: *Disease of Swine*, The Iowa State University Press, Ames, 780-815, 1978. - 17. Lončarević A., Maričić Z., Tosevski J., Pavlović I.: *Osnove sistematskog zdravstvenog nadzora i programiranje zdravstvene zaštite svinja u intenzivnom odgoju*, U: A. Lončarević i sar.: *Zdravstvena zaštita svinja u intenzivnom odgoju*, Izd.: Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, 517-523, 1997. - 18. Loskot V. I., Voronov A. N., Semenov L. D.: *Zbornik Nauchnykh Trudov, Leningradski Veterinarny Institut* 94, 45-48, 1988. - 19. Nakauchi K., Nakajima H., Okabe M., Nakajima M.: *J. Jap. Vet. Med. Assoc.* 44, 248-251, 1991. - 20. Pattison H. D., Thomas R. J., Smith W. C.: *Vet. Rec.* 107, 415-418, 1980. - 21. Pavlović I., Lončarević A., Kulišić Z., Nešić Dragica, Romanić S., Ivetić V., Valter Drezga Jadranka, Bogdanović Zorica,

- Rosić G.: Zbornik radova I simpozijuma uzgoj i zaštita zdravlja svinja, Vršac, 9-11, 1994. - 22. Pavlović I., Lončarević A., Ivetić V., Kulišić Z., Markić Z., Tosevski J.: Mac. Vet. Rev. 24, 1-2, 69-72, 1995. - 23. Pavlović I., Lončarević A., Nešić D., Valter D.: Sinopsisi referata savetovanja agronoma Republike Srpske, Banja Luka, Republika Srpska, 146-147, 1996. - 24. Pavlović I., Kulišić Z., Vujić B.: Parazitske bolesti, U: A. Lončarević: Zdravstvena zaštita svinja u intenzivnom odgoju, Izd.: Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, 157-202, 1997. - 25. Pavlović I., Lazarević M., Trifunović Mirjana, Cvetković A., Čukić M., Žutić M., Brankov A.: Vet. glasnik 56, 3-4, 211-219, 2002. - 26. Pavlović I., Hudina V., Minić S., Rikson M., Pupovac Snježana, Vujanović Jelena, Živković Slavica, Savić B.: Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 10, 2, 87-94, 2004. - 27. Pavlović I., Hudin V., Pupovac Snježana, Stevanović Đ., Kulišić Z., Stevanović Snežana: Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 11, 3-4, 133-142, 2005. - 28. Salifu D. A., Manga T. B., Onyali I. O.: Rev. Elevage Med. Vet. Pays Tropic. 43, 193-196, 1990. - 29. Sasaki O., Katsuno M.: Jap. J. Vet. Sci. 45, 807-809, 1983. - 30. Schiessl W.: Wiener Tierarztl. Monatsch. 77, 172-173, 1990. - 31. Singh B. B., Kazadi L., Welu M., Muhigirwa S. S.: Rev. Med. Vet. 140, 611-615, 1989. - 32. Serra Freire N. M., Siqueira L. F. G., Consorte L. B. S.: Brazil, Arq. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro 5, 111-114, 1982. - 33. Stewart T. B., Hale O. M.: J. Animl. Sci. 66, 1548-1554, 1989. - 34. Šabec D.: Barvani atlas o bolesti prašičev/A color atlas of swine diseases, Littera picta doo, Ljubljana, 2002. - 35. Šibalić S., Cvetković Lj.: Osnovi dijagnostike parazitskih bolesti domaćih životinja, OZID Beograd., 83-90, 1986 - 36. Šibalić S., Cvetković Lj.: Parazitske bolesti domaćih životinja, OZID Beograd, 430-435, 1990. - 37. Tričković D.: Prilog poznavanju metastrongilozе u svinja na terenu opštine Knjaževac, specijalistički rad, Veterinarski fakultet u Beogradu. - 38. Vujić B.: Izveštaj NIVS-a po temi RMNT: Ispitivanja parazitske faune svinja u Srbiji i borba protiv najznačajnijih vrsta, 1976. - 39. Yoshihara S., Nakagawa M., Suda H., Taira N.: Jap. J. Parasitol. 39, 365-368, 1990.

ENGLISH

LUMBRICIDAE AS TRANSITORY HOSTS IN METASTRONGYLUS INFECTION IN SWINE

I. Pavlovic, Z. Kulisic, Zorana Misic

Metastrongylidosis or lungworm disease in swine is a disease caused by several types of nematodes of the genus *Metastrongylus*. *Metastrongylidae* are biohelminths whose causes use transitory hosts for their development and maintaining their biological cycle, and in this case they are numerous species of *Lumbricidae* (earthworms). Depending on the geographic environment, numerous representatives of *Lumbricidae* persist as transitory hosts. In our environment, these are dominant earthworm species of the genus *Eisenia spp*, *Dandereobena spp*, *Allopobophora spp*, *Lubricus spp*, *Octolasion spp*, *Bimastus spp*, and rarely those from the genus *Heledrillus spp*. Swine are infected perorally with *Metastrongylidae* when they ingest infected earthworms.

Key words: swine, earthworms, *Metastrongylidae*

LUMBRICIDAE ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ ХОЗЯИНЫ МЕТАСТРОНГИЛИДОВ СВИНЕЙ

И. Павлович, З. Кулишич, Зорана Мишич

Метастронгилидоз или лёгочный стронгилидоз свиней заболевание, обусловлено с больше видов нематод из рода *Metastrongylus*. Метастролиды принадлежат биогельминтам чьи возбудители для своего развития и содержание биологического цикла пользуют промежуточных хозяинов, в этом случае численные виды лумбрицидов (дождевых червей). Зависимо от географической среды как промежуточные хозяины персистируют численные представители лубрицидов. В нашей среде это доминантные виды червей из родов *Eisenia spp*, *Dandreobena spp*, *Allopbophora spp*, *Lubricus spp*, *Octolasion spp*, *Bimastus spp*, а реже и виды из рода *Heledrillus spp*. Инфекция свиней метастронгилидами наступает пероральным путём, когда поедают инфицированных червей.

Ключевые слова: свиньи, дождевые черви, метастронгилиды

HACCP SISTEM U RADIJACIONO-HIGIJENSKOM NADZORU SVINJARSKE PROIZVODNJE*

HACCP SYSTEM IN RADIATION-HYGIENE CONTROL OF PIG PRODUCTION

R. Mitrović, R. Kljajić, M. Vićentijević**

U radu je izložena instruktivna metodologija uvođenja i sprovođenja HACCP sistema u svinjarskoj proizvodnji, kao tipičnog predstavnika intenzivnog uzgoja, radi uspostavljanja radijaciono-higijenskog nadzora. Pažnja je fokusirana na način ishrane svinja kao ključne karike u proizvodnom lancu, odnosno izbor sirovina – komponenata neophodnih u proizvodnji koncentrovane hrane za svinje u intenzivnom uzgoju i uspostavljanje određenog radijaciono-higijenskog balansa preko prognostičko-selektivne metodologije, kao garanta radijacione bezbednosti.

Ključne reči: radioaktivnost, HACCP sistem, svinjarska proizvodnja

Uvod / Introduction

Koncept poznat pod nazivom **Sistem analize opasnosti i kritičnih kontrolnih tačaka**, razvijen je još 1959. godine za potrebe svemirskih istraživanja, a u praktičnu primenu kao integrisani sistem u procesu proizvodnje namirnica od „**polja i farme do trpeze**” u većini zapadnih zemalja uvodi se od 1991. godine. U novije vreme i u našoj zemlji započete su aktivnosti na ovom planu [21, 22, 23].

Studija praćenja efekata radioaktivnih agenasa u svinjarskoj proizvodnji je koncept projekata u kontinuitetu – sa neprekidnim trajanjem. S toga, neke od preporuka i postupaka o kojima se govori u ovom radu možda će biti izmenjene u budućnosti u svetlu rezultata novih radijaciono-higijenskih ispitivanja i radijacione zaštite. Ali, bez obzira na postojanje takve mogućnosti, u ovom trenutku sadržaj ovoga rada je koncipiran na postulatima visoko edukativnog pristupa sa kratkoročnim i dugoročnim ciljevima, o čemu je već bilo reči u velikom broju radova [5, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25].

* Rad primljen za štampu 13. 10. 2005. godine

** Dr Radosav Mitrović, naučni savetnik, mr Mihajlo Vićentijević, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Ranko Kljajić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Studijske postavke / *Study models*

Pristupna projekcija studije izvodljivosti sprovedena je na modelu svinjarske farme koja u okviru stočarstva sa intenzivnim uzgojem svinja predstavlja ne samo značajan deo, već se ističe po svojoj složenosti i potrebi da u svim fazama bude podjednako uspešno rešena [1, 2, 3, 7, 8, 14].

Pažnja je fokusirana na način ishrane svinja kao ključne karike u proizvodnom lancu, odnosno izboru sirovina-komponentata neophodnih u proizvodnji koncentrovane hrane za svinje u intenzivnom uzgoju i uspostavljanje određenog radijaciono-higijenskog balansa preko prognostičko-selektivne metodologije, kao garanta radijacione bezbednosti.

Za upravljanje totalnim kvalitetom proizvedenog svinjskog mesa sa radijaciono-higijenskog aspekta, preko metodologije *HACCP*-sistema, postavljeni su navedeni zadaci:

- Određivanje najznačajnijih parametara radijacione sigurnosti uzoraka iz lanca ishrane svinja u intenzivnom uzgoju;

- Postavljanje modela prognoze nivoa aktivnosti ispitivanih visokotoksično i biološki značajnih radionuklida.

Odgovor na postavljene zadatke dat je iz istraživanja koja su sprovedena kroz faze:

- **Postupak** izvođenja radijaciono-higijenskog nadzora intenzivne svinjarske proizvodnje primenom *HACCP*-sistema,

- **Procedura** izvođenja radijaciono-higijenskog nadzora intenzivne svinjarske proizvodnje primenom *HACCP*-sistema.

Obe faze istraživanja, postupak i procedure izvođenja, definisane su i postavljene na osnovama radijacionih *HACCP*-definicija [4, 6, 9, 10, 12, 21, 22, 23].

U radijaciono-higijenskoj kontroli uzoraka iz intenzivne svinjarske proizvodnje korišćeni su poluprovodnički HPGe detektori-gamaspektrometri: *Tip GEM-25185/1* i *Tip GEM-25195-P* proizvođača Egg ORTEC, USA, visokog stepena rezolucije, sa efikasnošću od 25 posto.

Sopstveni rad / *Own work - results*

Postupak izvođenja studije / *Study procedure*

Studiju **radijaciono-higijenskog nadzora** (v.) intenzivne svinjarske proizvodnje primenom *HACCP*-sistema obavio je **radijacioni HACCP-tim** (v.) koji je edukovan za metodologiju izvođenja *HACCP*-studije. Sastav i veličina ovog tima bila je takva da se stručno diskutovalo o svim relevantnim pitanjima radijaciono-higijenskog nadzora intenzivne svinjarske proizvodnje i dat je odgovor na njih. Stoga, radijacioni *HACCP*-tim je potvrdio kvalifikovanost za **upravljanje radijacionim rizikom** (v).

Pre sastavljanja radijacionog HACCP tima, **analize radijacione opasnosti** (v) u postojećem procesu intenzivne svinjarske proizvodnje, planiranja projekta, i tako dalje, obavljene su odgovarajuće pripreme koje su se odnosile na [21, 22, 23]:

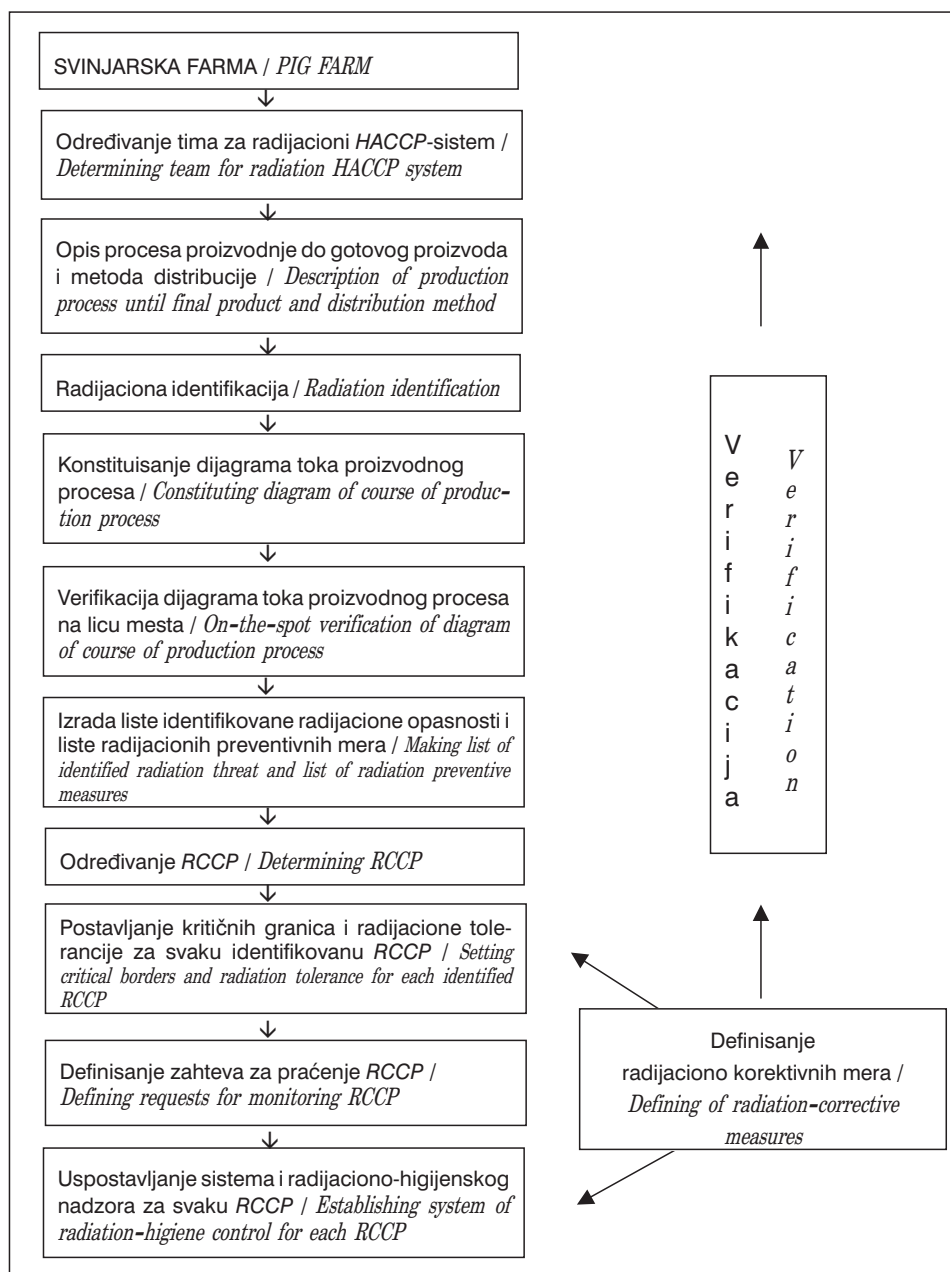
- analizu toka i prepoznavanje potencijalne **radijacione opasnosti** (v);
- identifikaciju **radijaciono kritičnih kontrolnih tačaka** /RCCPs/ (v);
- utvrđivanje uslova upravljanja za RCCPs;
- obrazovanje sistema radijaciono-higijenskog nadzora i **radijaciono-higijenske kontrole** (v);
- utvrđivanje interventnih **radijaciono preventivnih mera** (v) zaštite prilikom gubljenja radijaciono-higijenske kontrole, odnosno radijaciono-higijenskog nadzora;
- sastavljanje sistema **radijacione verifikacije** (v);
- obrazovanje dokumentacionog sistema, odnosno sistema čuvanja **radijacionog zapisa** (v).

Odlučeno je da se studija **radijacionog HACCP-sistema** (v) u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji izvede u dvanaest „koraka”, i to:

1. sastavljanje i konstituisanje radijacionog HACCP-tima;
2. opis proizvodnje sa svim proizvodno-tehnološkim fazama i distributivnim uvidom od zapata do proizvoda, odnosno od početka uzgoja/tova do gotovog proizvoda (mesa);
3. izrada dijagrama toka procesa odvijanja proizvodnje;
4. verifikacija dijagrama toka procesa odvijanja proizvodnje;
5. **analiza radijacione opasnosti** (v), odnosno **radijacionog rizika** (v);
6. definisanje **radijaciono preventivnih mera** (v) u proizvodnji;
7. identifikovanje **radijaciono kontrolnih tačaka** /RCP/ (v) u proizvodnji;
8. uspostavljanje **radijaciono kritičnih granica** (v) za radijaciono preventivne mere za svaku identifikovanu RCP u proizvodnji;
9. definisanje zahteva za praćenje **radijaciono kritičnih kontrolnih tačaka** /RCCP/ (v) u proizvodnji;
10. definisanje **radijaciono korektivnih mera** (v.) u proizvodnji;
11. definisanje efektivnih sistema za čuvanje radijacionih zapisa u proizvodnji; i
12. uvođenje postupka za radijacionu verifikaciju funkcionisanja radijacionog HACCP-sistema u proizvodnji.

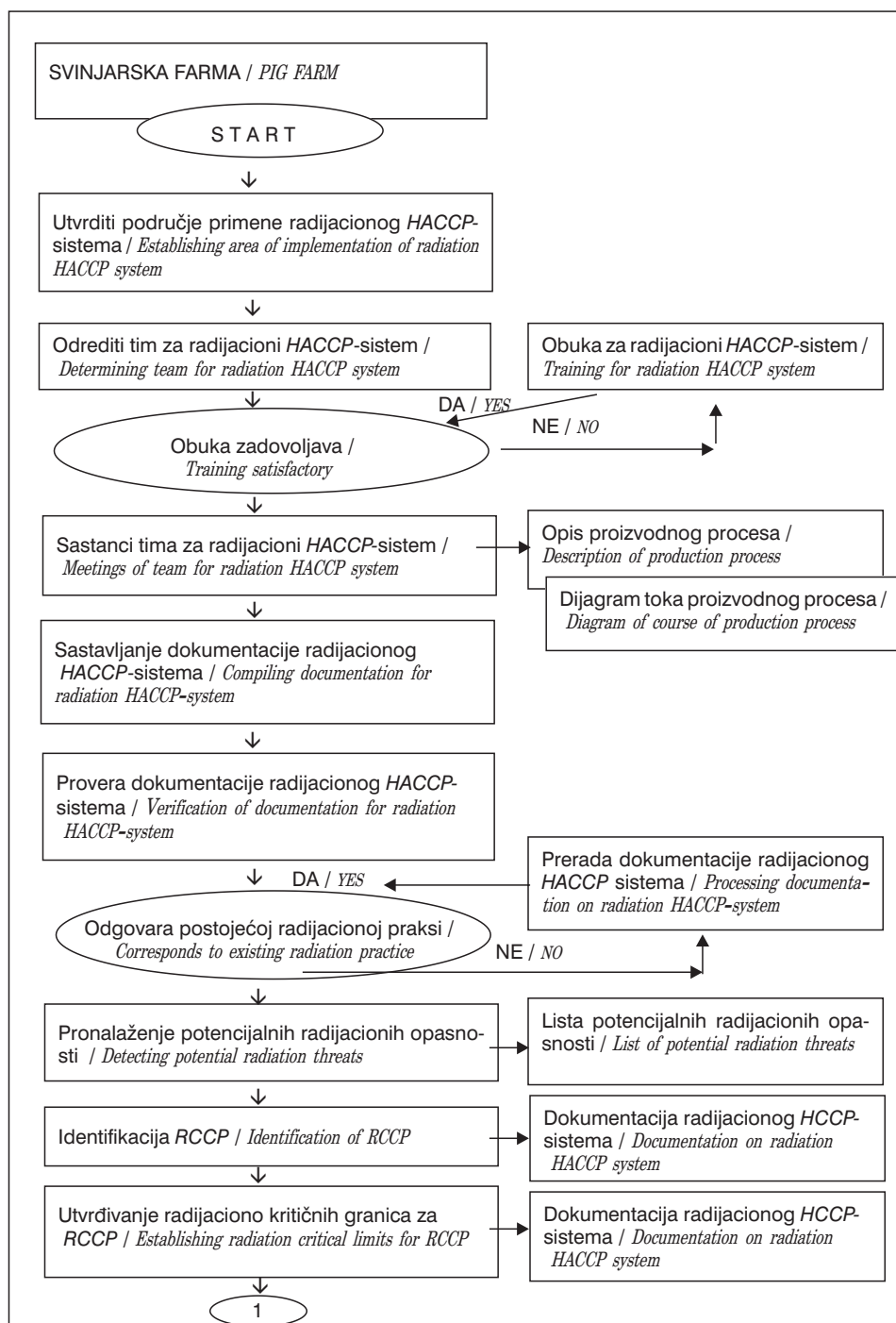
Procedura izvođenja studije / Study follow-up procedure

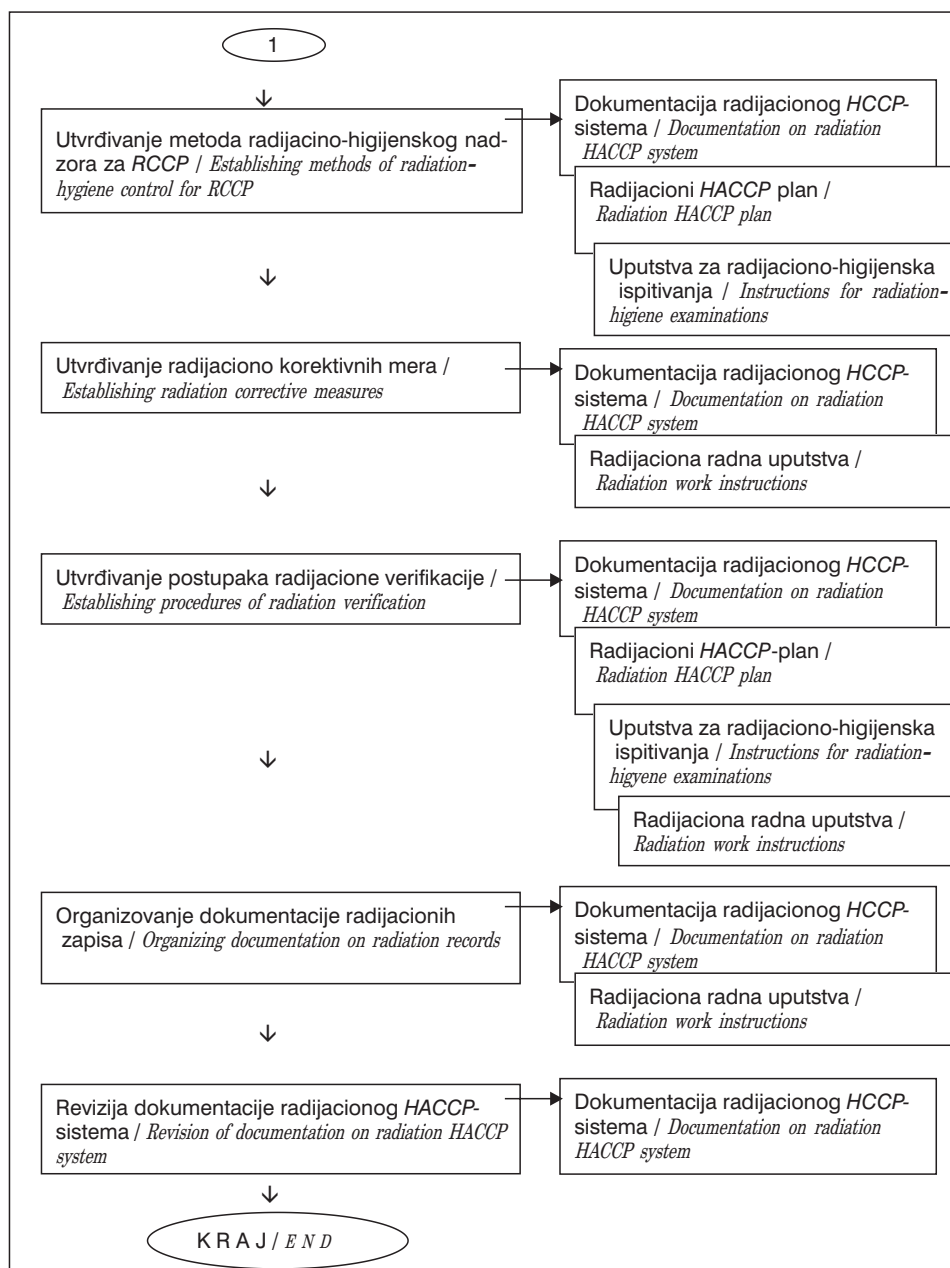
Ova procedura u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji je u načelu slična u svim proizvodnim procesima i ona je obuhvatila sve do sada navedene postupke prikazane na slici 1.



Slika 1. Faze uspostavljanja HACCP-sistema u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji sa radijaciono-higijenskog aspekta

Figure 1. Stages of setting up HACCP-system in intensive pig production from radiation-hygiene system





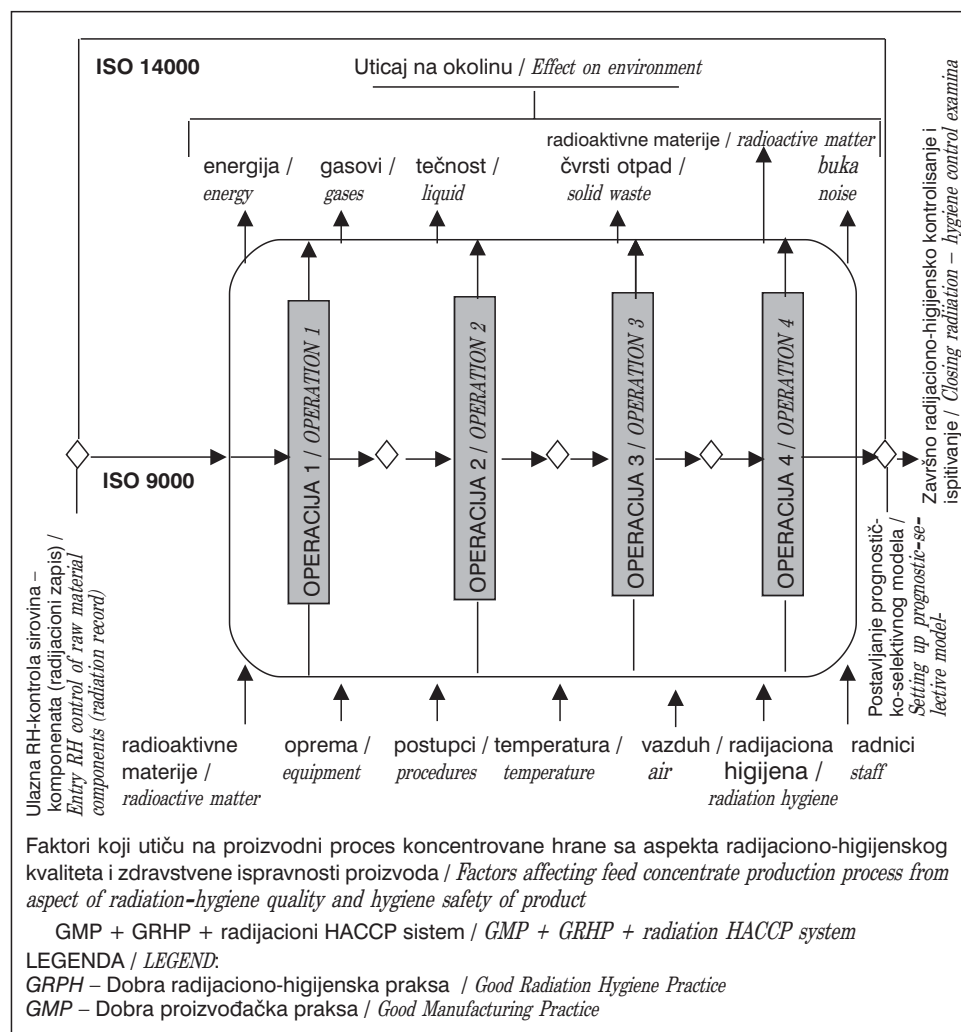
Slika 2. Tok studije HACCP sistema u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji sa radijaciono-higijenskog aspekta /

Figure 2. Course of study of HACCP system in intensive pig production from radiation-hygiene aspect

Na slici 2 dat je dijagram toka takve procedure, bez utvrđenih odgovornosti i ovlašćenja, koje su posebno utvrđene na svinjarskoj farmi shodno ukazanim potrebama.

Izbor hraniva / Choice of feeds

U intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji ishrana se zasniva na životnom ciklusu svinja, pri čemu se hrana i hranljive materije planirano obezbeđuju kako bi



Slika 3. Primer radijaciono-higijenskog nadzora procesa proizvodnje koncentrovane hrane za svinje u intenzivnom uzgoju /

Figure 3. Example of radiation-hygiene monitoring of the production process of feed concentrates for pig in intensive breeding conditions

se obezbedile sve životne funkcije svinja, odnosno postigli željeni proizvodni rezultati. Zbog toga se sastav smeše koncentrovanog hraniva razlikuje po sastavu u odnosu na namenu, tj. prema kategoriji svinja koje će da je koriste. Pored toga, na sastav smeše koncentrovanog hraniva utiču lokalni uslovi i raspoloživost sa pojedinim sirovinama-komponentama – sopstvenim, nabavljenim, pa i uvoznim. Konačnom, na sastav smeša koncentrovanog hraniva utiče i cena pojedinih sirovina-komponentata, koje u našim uslovima znatno variraju.

Iz navedenih razloga pravi se veliki broj kombinacija u sastavljanju receptura za smešu koncentrovanih hraniva, čak i za jednu istu kategoriju svinja. U tu svrhu najčešće se koriste navedene sirovine-komponente: kukuruz, ječam, mekinje, lucerkino brašno, obrano mleko u prahu, mast, zatim mineralni sastojci – dikalcijumfosfat, stočna kreda i so, i konačno premiks, koji sadrži vitamine, mikro-minerale i aditive (antibiotici i drugi). Povremeno se koriste i neke druge sirovine-komponente kao što su: ovas, brašno od pšenice i pšeničnih otpadaka, sporedni proizvodi pri preradi kukuruza-glutein, sačma kukuruznih klica, zatim arašidova sačma (uvoz), mesno, krvno i mesno-koštano brašno, stočni kvasac i druge.

U intenzivnom uzgoju svinja u ishrani se uglavnom i najčešće koriste sledeće smeše koncentrovanih hraniva: prestarter, starter, grover, za tov do 60 kg („ST-1”), za tov od 60 do 100 kg („ST-2”), za suprasne i za dojne krmače i nerastove.

Upravljanje radijacionim rizikom / Managing radiation risk

Po definiciji podrazumeva sistematsku primenu politike upravljanja, procedura i prakse za analizu, evaluaciju, kontrolu i izveštavanje o *radijacionom riziku* u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji.

Jedan od mnogobrojnih prioritetnih zadataka u preciziranju preventivnih mera radijacione zaštite, odnosno upravljanja radijacionim rizikom u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji, usmerena je aktivnost na formiranju *RH-tablica* važnijih sirovina-komponentata koje su neophodne u ishrani svinja. Ove tablice, takođe, treba da obuhvate sve vrste koncentrovanih hraniva po kategorijama svinja sa jasno definisanim numeričkim parametrima *biološki značajnih radionuklida* (BZR) u intervalnim rasponima od „min” do „max”.

Broj parametara BZR u radijaciono-higijenskoj kontroli diktira opšta radijaciona situacija u kojoj se jedno uže ili šire ekološko područje, odnosno farma svinja, nalazi, tj. da li je reč o akutnoj ili hroničnoj radioaktivnoj kontaminaciji. Ovi parametri se uglavnom terminološki svode pod zajednički naziv *osnovne radijacione veličine* (ORV), koje se bliže preciziraju i definišu prema vremenu trajanja radioaktivne kontaminacije.

U sistemu priprema preventivnih mera radijacione zaštite u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji sve ovo mora da se ima u vidu, što znači da se unapred dogovorenim i prihvaćenom metodologijom rada efikasno i brzo mogu da definišu ORV, i to:

– u *akutnoj radijacionoj fazi* obavlja se identifikacija svih radionuklida koji su uzrokovali akcident i utvrđuje starost radioaktivne smeše, a posebna pažnja se poklanja „kratkoživećim” BZR, kao što su: ^{131}I , ^{140}Ba i drugi;

– u *hroničnoj radijacionoj fazi* izvodi se identifikacija „dugoživećih” BZR, kao što su: ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{106}Ru , ^{90}Sr i drugi.

Paralelno sa identifikacijom ORV utvrđuje se nivo aktivnosti BZR (A_{RN}), kao i totalna-ukupna aktivnost /alfa-gama/ (TA_{A} ili TA_{G}). A_{RN} se iskazuje u bekerecima po kilogramu (Bq/kg), a ustanovljene vrednosti se unose u odgovarajuće kolone *RH-tablica* za svaki analizirani uzorak – važnije sirovine-komponente. Dakle, broj *RH-tablica* biće srazmeran broju važnijih sirovina-komponentata, a zbir svih *RH-tablica* čini *RH-katalog* (datoteku) važnijih sirovina-komponentata neophodnih u ishrani svinja, koja zapravo predstavlja **radijacioni zapis** (tabela 1).

Tabela 1. Karton evidencije parametara radijaciono-higijenske kontrole koncentrovanih hraniva za ishranu svinja u intenzivnom uzgoju za akutnu i hroničnu radijacionu situaciju / Table 1. Evidence sheet for parameters of radiation-hygiene control of feed concentrate for pigs in intensive breeding conditions for acute and chronic radiation situation

RH – EKSPERTIZA / RH – EXPERTISE				
FAZA „RAK” / „RAK” STAGE	O R V			
	Bq/kg svežeg uzorka / Bq/kg fresh sample			
	RN	$A_{\text{RN/A}}$ od - do / from - to	$A_{\text{RN/B}}$ od - do / from - to	$A_{\text{RN/C}}$
AKUTNA / AKUTE	RN-1	x_1-x_1'	y_1-y_1'	z_1-z_1'
	RN-2	x_2-x_2'	y_2-y_2'	z_2-z_2'
	RN-3	x_3-x_3'	y_3-y_3'	z_3-z_3'
	↓	↓	↓	↓
	Rn-n	x_n-x_n'	y_n-y_n'	z_n-z_n'
		TA_{A}	TA_{B}	TA_{G}
HRONIČNA / CHRONIC	RN-1	x_1-x_1'	y_1-y_1'	z_1-z_1'
	RN-2	x_2-x_2'	y_2-y_2'	z_2-z_2'
	RN-3	x_3-x_3'	y_3-y_3'	z_3-z_3'
	↓	↓	↓	↓
	Rn-n	x_n-x_n'	y_n-y_n'	z_n-z_n'
		TA_{A}	TA_{B}	TA_{G}

Terminološke odrednice:

„RAK” - radioaktivna kontaminacija; ORV - osnovne radijacione veličine; RN - radionuklid; $A_{\text{RN/A}}$ - aktivnost radionuklida alfa emitera; $A_{\text{RN/B}}$ - aktivnost radionuklida beta emitera; $A_{\text{RN/G}}$ - aktivnost radionuklida gama emitera; x, y, z - ustanovljeni nivoi aktivnosti RN; TA_{A} - ukupna alfa aktivnost; TA_{B} - ukupna beta aktivnost; TA_{G} - ukupna gama aktivnost /

Terminological determinants:

„RAK” - radioactive contamination; ORV - basic radiation values; RN - radionuclide; $A_{\text{RN/A}}$ - activity of radionuclide alpha emitter; $A_{\text{RN/B}}$ - activity of radionuclide beta emitter; $A_{\text{RN/G}}$ - activity of radionuclide gamma emitter; X, y, z - established levels of RN activity; TA_{A} - total alpha activity; TA_{B} - total beta activity; TA_{G} - total gamma activity

Procesi određivanja parametara radijacione sigurnosti u ishrani svinja / Processes of determining parameters of radiation safety in pig feed

Na osnovu **radijacionog zapisa**, koji po definiciji podrazumeva dokument kojim se iskazuju dobijeni radijacioni rezultati ili daju dokazi o obavljenim radijaciono-higijenskim aktivnostima u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji, preduzimaju se određene preventivne mere radijacione zaštite, i to u delu koji se odnosi na izradu koncentrovanih hraniva za ishranu svinja po kategorijama. U tom smislu određuju se *parametri radijacione sigurnosti* (PRS) pomoću odgovarajućih procesa i matematičkih relacija, čime se stiče uslov da se postavi *prognostičko-selektivni model* koji daje mogućnost da se unapred planira nivo radioaktivnosti proizvedenih koncentrovanih hraniva za ishranu svinja po odgovarajućim kategorijama, što je od bitnog značaja u radijacionoj preventivi u odnosu na krajnje proizvode svinjarstva - meso i proizvode od mesa.

Prvi korak prema *prognostičko-selektivnom modelu* je definisan radijacionim zapisom u odnosu na proizvodne recepture, korišćenjem opšteg obrasca:

$$M_{\text{kom}} = (P_{\text{z.kom.}} \times M_{\text{mp}}) / 100 \quad /1/$$

gde je,

M_{kom} = masa sirovine-komponente po kilogramu proizvedenog koncentrovanog hraniva, kg;

$P_{\text{z.kom.}}$ = Procenat zastupljenosti sirovine-komponente u proizvedenom koncentrovanom hranivu, %;

M_{mp} = masa proizvedenog koncentrovanog hraniva – uvek je jednaka 1 kilogramu.

Koristeći vrednosti za M_{kom} i obrazac /2/ utvrđuje se nivo A_{RN} prema $P_{\text{z.kom.}}$.

$$A_{\text{RN}\%z.komp.} = (M_{\text{kom.}} \times A_{\text{RNmp}}) / M_{\text{mp}} \quad /2/$$

gde je,

$A_{\text{RN}\%z.komp.}$ = nivo aktivnosti RN sirovine-komponente prema $P_{\text{z.kom.}}$, Bq/kg po procentu zastupljenosti;

A_{RNmp} = nivo aktivnosti RN u 1 kg proizvedenog koncentrovanog hraniva, Bq/kg.

Pomoću dobijenih vrednosti za sve odabrane važnije sirovine-komponente i obrasca /3/, izračunava se procenat zastupljenosti zbirne vrednosti nivoa aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu, što omogućava komparaciju *sirovine-komponente – koncentrovana hraniva*.

$$P_{\text{z.RN.}} = (\sum A_{\text{RN}\%z.komp.} \times 100) / A_{\text{RNmp}} \quad /3/$$

gde je,

Pz_{RN} = procenat zastupljenost zbirne vrednosti aktivnosti RN svih sirovina-komponentata u odnosu na A_{RNmp} , %.

Izračunate vrednosti sistematizuju se u odgovarajućoj tabeli, na način kako je to prikazano u tabeli 2, a iste se dalje koriste za određivanje potrebnih PRS.

Tabela 2. Način evidentiranja nivoa aktivnosti biološki značajnih radionuklida prema procentu zastupljenosti sirovina-komponentata u koncentrovanom hranivu za svinje u intenzivnom uzgoju /

Table 2. Manner of recording level of activity of biologically significant radionuclides according to % representation of raw material components in feed concentrate for pigs in intensive breeding conditions

Komponente / Components od - do / from - to	Procenat zastupljenosti u krvnoj smeši % representation in feed mix od - do / from - to	Masa kompo- nente po 1 kg krmne smeše / Component mass per 1kg feed mix od - do / from - to	A _{RN} u Bq/kg prema procentu zastupljenosti / A _{RN} in Bq/kg according to % representation		
			RN		
			A _{RN} / A od - do / from - to	A _{RN} / B od - do / from - to	A _{RN} / G od - do / from - to
K ₁	x - y	M - M ₁	A - A ₁	B - B ₁	
K ₂	x ₁ - y ₁ '	M ₂ - M ₃	A ₂ - A ₃	B ₂ - B ₃	
K ₃	x ₂ - y ₂ '	M ₄ - M ₅	A ₄ - A ₅	B ₄ - B ₅	
↓	↓	↓	↓	↓	↓
K _n	X _n - Y _n '	M _n - M _n '	A _n - A _n '	B _n - B _n '	
			A _p - A _n	B _p - B _n	
			A _p % - A _n %	B _p % - B _n %	
			100	100	100

Za određivanje posmatranog odnosa RN (PO_{RN}) u tehnološko proizvodnom procesu sirovine-komponente - koncentrovana hraniva koristi se obrazac /4/:

$$PO_{(kom/Mmp)RN} = A_{RN\%z.komp.} / A_{RNmp} \quad /4/$$

gde je,

$PO_{(kom/Mmp)RN}$ = posmatrani odnos nivoa aktivnosti RN sirovina – komponentata u odnosu na koncentrovana hraniva.

Dobijene vrednosti $PO_{(kom/Mmp)RN}$ iskazuju se procentualno (%) preko doprinosa aktivnosti RN ($DA_{RN}\%$), pri čemu se koristi obrazac /5/:

$$DA_{RN}\% = PO_{(kom/Mmp)RN} \times 100 \quad /5/$$

gde je,

$DA_{RN}\%$ = doprinosa aktivnosti RN iz *sirovine-komponente* u *koncentrovana hraniva*

U tehnološko proizvodnom procesu koncentrovanih hraniva od *sirovina-komponentata* koriste se odgovarajuće recepture za krmne smeše, što uslovljava različito učešće određenih *sirovina-komponentata*, a time i nivoa aktivnosti RN. Zbirne vrednosti nivoa aktivnosti RN *sirovina-komponentata* prema procentu zastupljenosti ($\Sigma A_{RN\%z.komp}$) uvek su nešto više od nivoa aktivnosti RN koncentrovanog hraniva (A_{RNmp}). Ova razlika je uslovljena *tehnološkim kalom* (gubitkom) u toku proizvodnje koncentrovanog hraniva i može da se predstavi izrazom:

$$A_{RNmp} < \Sigma A_{RN\%z.komp.} \quad /6/$$

Posmatrani odnosi nivoa aktivnosti RN *sirovina-komponentata* u odnosu na *koncentrovano hranivo*, izračunavaju se prema obrascu /4/, pri čemu se koristi numerička vrednost iz *RH-tablica*, odnosno *RH-kataloga* (datoteka). Sve izračunate vrednosti posmatranih odnosa *uvek su manje od jedan*, pa mogu da se iskažu opštim izrazom:

$$PO_{(kom/Mmp)RN} < 1 \quad /7/$$

$PO_{(kom/Mmp)RN}$ mogu da se iskažu u procentualnim vrednostima preko doprinosa aktivnosti $DA_{RN(kom/Mmp)\%}$, a izračunavaju se prema obrascu /5/, pri čemu se koriste numeričke vrednosti izračunatog $PO_{(kom/Mmp)RN}$. Sve izračunate vrednosti $DA_{RN(kom/Mmp)\%}$ uvek su veće od jedan, pa mogu da se izraze opštim izrazom:

$$DA_{RN(kom/Mmp)\%} > 1 \quad /8/$$

Izračunate vrednosti za $DA_{RN(kom/Mmp)\%}$ imaju istu tendenciju porasta, odnosno dinamiku, kao i vrednosti $PO_{(kom/Mmp)RN}$. Međutim, kako je $PO_{(kom/Mmp)RN} < 1$, a $DA_{RN(kom/Mmp)\%} > 1$, to su ove vrednosti međusobno različite pa se stoga mogu da se stave u relaciju opšteg izraza:

$$PO_{(kom/Mmp)RN} < 1 < DA_{RN(kom/Mmp)\%} \quad /9/$$

Ako se izračunati $DA_{RN}\%$ svedu na zbirnu vrednost ($\Sigma DA_{RN(kom/Mmp)\%}$) i stave u relaciju sa zbirnim vrednostima nivoa aktivnosti RN *sirovina-komponentata* prema procentualnoj zastupljenosti ($\Sigma A_{RN\%z.komp.}$), koje su iskazane procentualno obrascem /3/, tabela 2, izvodi se navedeni opšti izraz:

$$\Sigma A_{RN\%z.komp.} = \Sigma DA_{RN(kom/Mmp)\%} \quad /10/$$

Znači, ukupni nivo aktivnosti RN sirovina-komponentata koje ulaze u sastav koncentrovanog hraniva iskazan procentualno, jednak je zbirnoj vrednosti doprinosa aktivnosti RN svih sirovina-komponentata. Ovo je od značaja pri tabelarnoj komparaciji izračunatih vrednosti za posmatrane odnose, odnosno doprinose aktivnosti i vrednosti nivoa aktivnosti RN prema procentnoj zastupljenosti sirovina-komponentata u koncentrovanom hranivu. Svako odstupanje od ovih pravilnosti ukazuje na grešku, a time i na mogućnost daljeg sprovođenja RH-ekspertize primenjenog tehnološkog postupka izrade koncentrovane hrane za svinje.

Ukupno unošenje (UU) nivoa aktivnosti RN u koncentrovana hraniva preko važnijih sirovina-komponentata može da se izračuna preko obrasca:

$$UU_{RN} = A_{kom} \times M_{kom} \quad /11/$$

gde je,

UU_{RN} = ukupno unošenje RN u koncentrovano hranivo preko važnijih sirovina-komponentata, Bq;

A_{kom} = nivo aktivnosti RN u sirovini-komponenti koja ulazi u sastav 1 kg koncentrovanog hraniva, Bq/kg;

M_{kom} = masa sirovine-komponente (kg) koja ulazi u 1 kg koncentrovanog hraniva.

UU_{RN} u koncentrovano hranivo preko važnijih sirovina-komponentata je identično nivou aktivnosti RN prema procentualnoj zastupljenosti sirovina-komponentata po propisanoj recepturi. Dakle, na osnovu izračunatih vrednosti može da se zaključi da je UU_{RN} u direktnoj vezi sa vrstom sirovina-komponentata i njihovom procentualnoj zastupljenošću.

Međutim, kada se govori o delu prenetog i zadržanog nivoa aktivnosti RN iz sirovina-komponentata u koncentrovano hranivo u proizvodnom procesu, koristi se *faktor prelaza* (F_A). Ovaj PRS po načinu izražavanja odgovara *posmatranom odnosu* (PO) i ima isti smisao, ali se razlikuje po načinu izračunavanja. Naime, faktor prelaza (F_A) obračunava se po 1 kg koncentrovanog hraniva, pa je dobijena vrednost *uvek veća od jedan*. Faktor prelaza (F_A) izračunava se na osnovu obrasca:

$$F_A = A_{RNmp} / UU_{RN} \quad /12/$$

Na osnovu vrednosti nivoa aktivnosti RN po ukupnoj masi važnijih sirovina-komponentata potrebnih za 1 kg koncentrovanog hraniva, izračunavaju se koeficijenti prelaza ($K_{pp}\%$), pri čemu se koristi obrazac:

$$K_{pp(RN)}\% = A_{RNmp} / \Sigma A_{RN(sir-kom)} \quad /13/$$

gde je,

$Kpp_{(RN)}\%$ = koeficijent prelaza nivoa aktivnosti RN prema potrebnoj masi važnijih sirovina-komponentata za 1 kg koncentrovanog hraniva, %;

$\Sigma A_{RN(sir-kom)}$ = zbirni nivo aktivnosti RN po masi važnijih sirovina-komponentata potrebnih za 1 kg koncentrovanog hraniva, Bq/kg.

Izračunate vrednosti $Kpp_{(RN)}\%$ predstavljaju procenutalnu zastupljenosti nivoa aktivnosti u koncentrovanom hranivu iz sirovina-komponentata koje ulaze u njen sastav prema odgovarajućoj recepturi. Iz ovog proizilazi da je moguće izračunati gubitke nivoa aktivnosti RN prouzrokovane tehnološkim kalom. U tu svrhu koriste se obrasci /14/ i /15/:

$$A_{TK} = \Sigma A_{RN(sir-kom)} - A_{RNmp} \quad /14/$$

$$A_{TK}\% = 100 - Kpp_{(RN)}\% \quad /15/$$

gde je,

A_{TK} = gubitak nivoa aktivnosti RN prouzrokovan tehnološkim kalom, Bq/kg;

$A_{TK}\%$ = procentualni gubitak nivoa aktivnosti RN prouzrokovan tehnološkim kalom, %.

Izračunavanje vrednosti za A_{TK} uslovljeno je tačnom recepturom po kojoj je proizvedeno koncentrovano hranivo.

Diskusija / Discussion

Za objašnjenje procesa translokacije radionuklida, prema podacima iz literature većeg broja naših autora [4, 6, 9, 10, 11, 12, 16, 26, 27] neprekidno se čine pokušaji i razmatraju mogućnosti stvaranja specifičnih programa, odnosno modela zaštitnih mera kojima se štite pojedine faze životne sredine. U tu svrhu se, pored determinacije veličina koje karakterišu procese radiokontaminacije, koristi jedan broj značajnih parametara radijacione sigurnosti kao što su: koeficijent nakupljanja, faktor diskriminacije, koeficijent zaštite i koeficijent prelaza. Međutim, u proizvodno-tehnološkim procesima ovi parametri ne mogu u potpunosti da se koriste, pa se uvode novi, o kojima je bilo reči u ovom radu, čiji je osnovni cilj bio objašnjenje procesa tehnološke translokacije radionuklida u proizvodno tehnološkim fazama, a time i stvaranje modela zaštitnih mera i kontrolisane proizvodnje sa radijaciono-higijenskog aspekta.

Modeli prognoze nivoa aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu / Models for predicting RN activity levels in feed concentrate conclusion

Izračunati i utvrđeni PRS ukazuju na postojanost takozvane *tehnološke translokacije* nivoa aktivnosti RN. Ovi parametri su konstantne vrednosti i

moгу da se obeleže sa K_A , kada je reč o nivou aktivnosti RN. Međutim, koji će PRS da se koristi kao konstanta zavisi od toga šta se očekuje rešavanjem postavljenog izraza [13].

Dakle, u vreme akcidentalnih uslova ovi PRS se koriste kao konstantne vrednosti za odgovarajuće izraze-obrasce, čime se zapravo definišu modeli prognoze nivoa aktivnosti RN [11, 15, 16, 18, 26, 27, 28]. U ishrani svinja posebna pažnja treba da se posveti delu koji se odnosi na proizvodno-tehnološke faze koncentrovanih hraniva. Naime, kada je reč o mogućnosti smanjenja nivoa aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu posebno je interesantan model prognoze koji omogućava da se unapred sagleda nivo aktivnosti RN u:

- a) koncentrovanom hranivu u odnosu na vrstu sirovine-komponente, i
- b) koncentrovanom hranivu u odnosu na ukupnu masu i vrstu potrebnih sirovina-komponentata.

Za postavljanje modela prognoze nivoa aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu u odnosu na vrstu sirovine-komponente koristi se opšti izraz:

$$A_{RNmp} = (A_{RN\%z.komp.} \times 100) / DA_{RN(kom/Mmp)} \% \quad /16/$$

gde je,

A_{RNmp} = nivo aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu u odnosu na sirovinu-komponentu, Bq/kg.

Pomoću izraza /16/ stvorena je mogućnost da se ima uvid koliko će svaka sirovina-komponenta, predviđena proizvodno-tehnološkom recepturom, radijaciono da opteretiti koncentrovano hranivo koje treba da se proizvede. Pri utvrđivanju radijacionog opterećenja koncentrovanog hraniva posebna pažnja mora da se da propisanim i zakonom verifikovanim normama, odnosno MDG_{RN} (maksimalno dozvoljenim granicama radionuklida). Naravno, do konačne odluke o eventualnoj selektivnosti sirovina-komponentata potrebno je da se raspolaze i podatkom o ukupnom nivou aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu koje će da se proizvede. Ovaj podatak o nivou aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu u odnosu na ukupnu masu potrebnih sirovina-komponentata obezbeđuje model prognoze koji je postavljen opštim izrazom:

$$A_{RNmp} = F_A \times A_{RN\%z.komp.} \quad /17/$$

gde je,

A_{RNmp} = nivo aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu u odnosu na ukupnu masu potrebnih sirovina-komponentata, Bq/kg.

Ukoliko se za koncentrovano hranivo koje treba da se proizvede utvrdi nivo aktivnosti RN iznad MDG, neophodno je da se pristupi procesu selekcije sirovina-komponentata. U tu svrhu se koriste postavljeni modeli prognoze, a sam postupak se naziva *prognostičko-selektivna metodologija*. Osnovni cilj ove metodologije je pravilan izbor sirovina-komponentata, iz formiranog RH-kataloga (RH-datoteka) sa radijaciono-higijenskog aspekta i uklapanje u MDG. Pri tome se

posebno vodi računa da se zadovolje svi nutritivni elementi kvaliteta koncentrovanog hraniva koje treba da se proizvede.

Prvi korak u pravcu selekcije započinje sistematizacijom ustanovljenih nivoa aktivnosti RN sadržanih u RH-tablicama i statističkih pokazatelja dobijenih *t-testom*. Dakle, pomoću ovih podataka formira se *niz unošenja radionuklida* od „max” do „min”, po značajnosti u odnosu na hipotetičnu vrednost – zadatu MDG_{RN} (nivo aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu koje treba proizvesti).

Niz unošenja radionuklida ima opšti izraz:

$$KOM_1 \rightarrow KOM_2 \rightarrow KOM_3 \rightarrow KOM_4 \rightarrow \dots \rightarrow KOM_x \quad /18/$$

„max” → „min”

Definisanje *niza unošenja radionuklida*, u slučaju nemogućnosti izvođenja statističkog *t*-testa, moguće je preko *koeficijenta značajnosti* (*Kznač*), koji se izračunava prema relaciji:

$$Kznač = Hv/Ak_{RN} \quad /19/$$

gde je,

Kznač = koeficijent značajnosti;

Hv = hipotetična vrednost - zadata *MDG* (nivo aktivnosti RN u koncentrovanom hranivu koje treba proizvesti), Bq/kg;

Ak_{RN} = aktivnost kritičnog radionuklida, Bq/kg.

Koeficijent značajnosti ima informativni karakter u definisanju značajnosti učešća nekog RN u hipotetičnoj vrednosti. Pri tome treba da se ima u vidu sledeća pravilnost: *ukoliko je Kznač. bliži nuli, značajnost učešća u hipotetičnoj vrednosti je izražajnije, i obrnuto*. Ovaj momenat definisanja *niza unošenja* od posebne je informativne važnosti u RH-ekspertizi koncentrovanih hraniva, jer omogućava izbor najpovoljnijih sirovina-komponentata u formiranju receptura za proizvodnju odgovarajućih koncentrovanih hraniva za ishranu svinja. Međutim, definitivna selekcija je uslovljena *prognostičkim modelom*.

Osim *Kznač.* u procesu selektivnosti sirovina-komponentata mogu uspešno da se koriste i PRS, pomoću kojih se definišu takozvani *selektivni nizovi*. Tako, na primer, posmatrani odnosi (PO) različiti su za različite sirovine-komponente i radionuklide. Ukoliko se sirovine-komponente, koje treba da čine sastav koncentrovanog hraniva koje će da se proizvede, svrstaju po ustanovljenim vrednostima PO nivoa aktivnosti RN od „max” do „min”, dobija se *selektivni niz* koji može da se predstavi opštim izrazom /18/.

Zaključak / Conclusion

Opasnost od radioaktivnih agenasa u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji dolazi putem lanca ishrane, gde na različite i mnogostruke načine postoji

moгуćnost radioaktivne kontaminacije koja moųe da se prenese i na gotov proizvod, svinjsko meso i proizvode od njega. Očigledno je da se radijacioni rizik u ovoj proizvodnji moųe najefikasnije da smanji ako su tačke radijacione opasnosti identifikovane i ako je radijacioni rizik u svakoj od njih smanjen primenom adekvatnih mera radijaciono-higijenske kontrole i radijacione zaštite.

Nova filozofija u inspekcijском nadzoru hrane za životinje, koja se razvija u Evropskoj uniji, zasniva se na samokontroli – primenom HACCP sistema. Zato treba da se prihvati stav da je u najboljem interesu proizvođača koncentrovane hrane za intenzivni uzgoj svinja da sami preduzmu i primene sve neophodne preventivne mere radijacione higijene i zaštite radi obezbeđenja odgovarajuće zdravstvene ispravnosti i kvaliteta. Takođe, očekuje se i od samih farmara da obrate posebnu pažnju na problem *radijacione higijene i zaštite* i da koristeći proaktivnu, u ovom radu izloženu, sistematsku metodologiju, na primeru intenzivnog uzgoja svinja, obezbede da gotov proizvod (svinjsko meso i proizvodi od njega) bude pouzdanog, prethodno utvrđenog, kvaliteta sa radijaciono-higijenskog aspekta, a samim tim i nivoa zdravstvene ispravnosti.

Primenom HACCP-sistema u intenzivnoj svinjarskoj proizvodnji, uz puno i dominantno korišćenje prognostičko-selektivne metodologije sa aspekta radijaciono-higijenskog nadzora, obezbediće se da se u proizvodnom sistemu svinjarskih farmi sve akcije odvijaju na transparentno jasan i dokumentovan način, čime se obezbeđuje sticanje poverenja potrošača, i ono što je posebno i najvažnije – mogućnost dobijanja zvaničnog sertifikata o radijaciono-higijenskim uslovima proizvodnje i radijacionom opterećenju gotovih proizvoda - svinjskog mesa i proizvoda od svinjskog mesa.

Literatura / References

1. Aćamović N., Kljajić R.: Razvoj sistema analize opasnosti i kritične kontrolne tačke (HACCP) u proizvodnji hrane. Monografija, 1-209. Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad, 2003. - 2. Food Safety Issues: HACCP - Introducing the Hazard Analysis and Critical Control Point System. Food Safety Unit - Programme of Food Safety and Food Aid, WHO/FSF/FOS/97.2, World Health Organization, 1997. - 3. Kaiser Thomas-Christian: Methods of organization of national institutions for standardization-foreign experience - the din example. Total quality management, 30, 2, 22-27, Yugoslav Union for Standards and Quality, Belgrade, 2002. - 4. Kljajić R., Mašić Z., Katić V., Stojanović L: Primena analize rizika u kontroli namirnica životinjskog porekla. 12. Savetovanje veterinarara Srbije, Vrnjačka Banja. Zbornik radova i kratkih sadržaja, 169-178, Srpsko veterinarsko društvo, Beograd, 2000. - 5. Kljajić R., Mašić Z., Kovačević M., Mitrović R.: Međunarodni standardi u oblasti zaštite od jonizujućih zračenja. XXI simpozijum JDZZ, Zbornik radova, 15-24, Kladovo, 2001. - 6. Kljajić R.: Međunarodni standardi i bezbednost hrane. Zdrastveno bezbedna hrana, Ekokonferencija 2002, 25-28 septembar, Zbornik kratkih sadržaja, 301- Novi Sad, Ekološki pokret Grada Novog Sada, 2002. - 7. Kljajić R., Ušćebrka G., Žikić D.: Regulativa EU u oblasti zdravstvene zaštite stočarske proizvodnje. Savremena poljoprivreda, 51, 3-4, 257-260, Novi Sad, 2002. - 8. Kljajić R., Ušćebrka G.: Standardization and Quality in the Production of the Health-Safe Foodstuffs of Animal Origin. IV International Congress, May 29-31, 2002, Total Quality Management, 30, 3-4, 127-130, (CD-ROM), Yugoslav Union for Stan-

dards and Quality, Belgrade, 2002. - 9. Kljajić R., Nedić D., Aćamović, Vidić B., Petrović J.: Integrirani sistemi za bezbednost hrane, 9. savetovanje veterinara Republike Srpske, Teslić, 2003., Veterinarski žurnal Republike Srpske, III, 1-2, 50-57, 2003. - 10. Kljajić R., Vidić B., Petrović J.: Standardi za bezbednost hrane. Savremeni trendovi u mlekarstvu, Simpozijum mlekarske industrije Srbije i Crne Gore, 07-11.maj, Zlatibor, Zbornik radova, 6-10, Beograd, Zajednica stočarstva, 2003a. - 11. Kljajić R., Mitrović R.: Jonizujuća zračenja i međunarodni standardi bezbednosti. Zbornik radova Clinica veterinaria 2003, 244-246, Budva, 2003. - 12. Kljajić R., Živkov-Baloš J. Petrović O. Rackov: HACCP sistem i bezbednost hrane za životinje. Bezbednost i kvalitet, X simpozijum tehnologije stočne hrane sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, 56-64, Vrnjačka banja, 2003b. - 13. Mitrović R.: A study of ^{40}K and ^{137}Cs radionuclide migration during intensive pig breeding in the Podrinjekolubara region of Serbia. Acta veterinaria, 35, 1-2, 87-104, Beograd, 1985. - 14. Mitrović R.: Osnove preventivne radijacione zaštite u vanrednom događaju i preporuke Međunarodne agencije za atomsku energiju. Monografija, 1-137, Izd. Veterinarska komora Srbije, Beograd, 1995. - 15. Mitrović R.: Upravljanje radijaciono-higijenskim kvalitetom u biotehnologiji. Kvalitet, VI, 1-2, Beograd, 1996. - 16. Mitrović R., Kljajić R., Petrović R.: Sistem radijacione kontrole u biotehnologiji – vodeća knjiga. Monografija, 1-386, Izd. Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, 1996. - 17. Mitrović R.: Upravljanje radijaciono-higijenskim kvalitetom u živinarskoj proizvodnji. Nauka u živinarstvu, 1-2, 93-105, Beograd, 1997a. - 18. Mitrović R.: Radioaktivnost u funkciji poboljšanja kvaliteta hrane sa zdravstvenog aspekta. Kvalitet, 5-6, 63-70, Beograd, 1997b. - 19. Mitrović R.: Radioaktivnost u životnoj sredini - ugroženost, zaštita, preventiva, radioaktivna dekontaminacija. Monografija, 1-238, Izd. „Vrelo”, Zemun, 2001. - 20. Mitrović R.: Terorizam u poljoprivredi preko biološke sabotaže. Glas veterinara, 1, 3, 8-9, NIVS-Beograd, 2003. - 21. Mitrović R., Kljajić R., Vićentijević M.: HACCP sistem garant kvaliteta i nosilac preventivne zdravstvene zaštite od RHB agenasa preko terorizma i sabotaža u poljoprivredi. Biotechnology in animal husbandry, 20, 3-4, 133-150, Belgrade, 2004a. - 22. Mitrović R., Vićentijević M., Kljajić R.: Primena HACCP sistema u radijaciono-higijenskom nadzoru biotehničke proizvodnje. Veterinarski glasnik, 58, Dodatak 1-2, 265-279, Beograd, 2004b. - 23. Mitrović R., Kljajić R., Vićentijević M., Bogojević Suzana: Postupak uspostavljanja radijaciono-higijenskog nadzora biotehnologije primenom HACCP sistema. Tehnologija mesa, 45, N 3-4, 136-148, Beograd, 2004c. - 24. Morrison R. M., Buzby J. C., Lin C.-T.J.: Irradiating ground beef to enhance food safety. Food Review, 20, 33-35, 1997. - 25. Pczola D. E.: Irradiated produce reaches Midwest market. Food Technologies, 45, 5, 89-92, 1992. - 26. Petrović B., Mitrović R.: Radijaciona higijena u biotehnologiji. Monografija, 1-333, Izd. „Naučna knjiga”, Beograd, 1991. - 27. Petrović B., Mitrović R.: Radijaciona zaštita u biotehnologiji. Monografija, 1-206, Izd. „DP Institut za mlekarstvo”, Beograd, 1994. - 28. WHO: „Safety and Nutritional Adequacy of Irradiated Food”. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1994.

ENGLISH

HACCP SYSTEM IN RADIATION-HYGIENE CONTROL OF PIG PRODUCTION

R. Mitrovic, R. Kljajic, M. Vicentijevic

The paper presents instructive methodology for introducing and realizing the HACCP system in pig production, as a typical representative of intensive breeding, with the objective of establishing radiation-hygiene supervision. Attention was focused on the type of pig diet as the key link in the production chain, in fact the selection of the raw material components necessary in the production of pig feed concentrates for intense breeding

conditions, and on the establishment of a certain radiation-hygiene balance through prognostic-selective methodology, as a guarantee of radiation safety.

Key words: Radioactivity, HACCP system, pig production

РУССКИЙ

**НАССР СИСТЕМА В РАДИАЦИОННО-ГИГИЕНИЧЕСКОМ НАДЗОРЕ
СВИНОВОДЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА**

М. Митрович, Р. Кляич, М. Вичентиевич

В работе изложена инструктивная методология введения и проведения *НАССР* системы в свиноводческом производстве, как типического представителя интенсивного выращивания, с целью установления радиационно-гигиенического надзора. Внимание фокусировано на способ кормления свиней как ключевые звена в производственной цепи, то есть выбор сырья-компонентов необходимых в производстве концентрированного корма для свиней в интенсивном выращивании и установление определённого радиационно-гигиенического баланса через прогностическо-селективную методологию, как гаранта радиационной безопасности.

Ключевые слова: радиоактивность, *НАССР* система, свиноводческое производство

**IN VIVO ISPITIVANJE KLASTOGENOG EFEKTA LEVAMIZOL
HIDROHLORIDA NA ČELIJAMA KOSTNE SRŽI MIŠEVA
BALB/c SOJA*****IN VIVO INVESTIGATIONS OF CLASTOGENIC EFFECT OF
LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE ON BONE MARROW CELLS OF
BALB/c MICE****M. Kulić, Z. Stanimirović, S. Ristić, Biljana Marković****

Obavljena su citotoksična i genotoksična ispitivanja levamizol hidrohlorida (2.2 mg/kg, t.m., 4,4 mg/kg t.m, LD₅₀-25% mg/kg t.m. i LD₅₀-75% mg/kg t.m) na ćelijama kostne srži miša BALB/c soja. Praćen je uticaj levamizol hidrohlorida na kinetiku ćelijskog ciklusa i pojavu strukturnih i numeričkih promena na hromozomima u ćelijama kostne srži. Terapijska doza levamizola od 2,2 mg/kg t.m. pokazala je sposobnost povećanja mitotske aktivnosti posmatranih ćelija, tako potkrepljujući saznanja o imunostimulativnom efektu ove doze leka u in vivo uslovima. Ostale testirane doze levamizola u ovom eksperimentu, posmatrano u odnosu na kontrolnu grupu, imale su suprotan efekat, tj. usloville su smanjenje mitotske aktivnosti ćelija kostne srži. Sve ispitivane doze in vivo pokazuju sposobnost indukcije numeričkih (aneuploidije i poliploidije) i strukturnih (lezije, prekidi i insercije) aberacija hromozoma. Na osnovu toga može da se zaključi da ispitivane doze imaju genotoksični efekat.

Ključne reči: citotoksičnost, genotoksičnost, mitotski indeks, strukturne aberacije, numeričke aberacije

Uvod / Introduction

Levamizol hidrohlorid je dejstvena supstancija većeg broja preparata koji se primenjuju u lečenju nematodoza životinja i čoveka. Naročito je efikasan u lečenju infekcija gastrointestinalnog i respiratornog trakta izazvanih predstavi-

* Rad primljen za štampu 24. 10. 2005. godine

** Mr Milan Kulić, Katedra za humanu genetiku, Medicinski fakultet, Foča; dr Zoran Stanimirović, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Siniša Ristić, Katedra za fiziologiju, Medicinski fakultet, Foča; dr Biljana Marković, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

cima klase *Nematoda*. Pored ove primarne funkcije, poznato je i njegovo imuno stimulativno dejstvo [1, 2], kao i sposobnost smanjenja učestalosti pojavljivanja tumora i metastaza kod tretiranih životinja [3, 4, 5]. Levamizol hidrohlorid poseduje i toksični efekat izazivajući kod pasa hemolitičku anemiju i leziju CNS [6], kod ptica slabiju inkoordinaciju pokreta i regurgitaciju hrane, pa čak i uginuće [7]. Kod ljudi, kao neželjeni efekti terapije ovim lekom javljaju se agranulocitopenija, leukoreja, anoreksija i nauzeja [8], fotosenzibilna kožna reakcija [9] i kutani nekrotični vaskulitis [10]. Pored ovih prolaznih i relativno benignih poremećaja, ustanovljeni su i slučajevi oštećenja bubrega [11].

Grupa autora [12, 13] je ispitivala genotoksičnost levamizol hidrohlorida i ustanovili su da primenjene doze u *in vivo* i *in vitro* eksperimentu povećavaju učestalost nastajanja SCE (Sister Chromatid Exchange – razmena sestrinskih hromatida), hromozomskih i hromatidnih prekida.

Materijal i metode / *Materials and methods*

U eksperimentu je korišćen laboratorijski beli miš BALB/c soja vrste *Mus musculus*, muškog pola, uzrasta od 45 do 50 dana i telesne mase od 18 do 20 grama. Formirano je pet eksperimentalnih grupa: kontrola (dobijala je fiziološki rastvor), I eksperimentalna grupa tretirana je terepijskom dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m, II eksperimentalna grupa tretirana je dozom levamizol hidrohlorida od 4,4 mg/kg t.m, III eksperimentalna grupa tretirana je dozom levamizol hidrohlorida od LD₅₀-25 posto mg/kg t.m i IV eksperimentalna grupa tretirana je dozom levamizol hidrohlorida od LD₅₀ do 75 posto mg/kg t.m. Izvedeno je osam eksperimentalnih ciklusa sa intragastričnom sedmodnevnom aplikacijom ispitivanih doza leka.

Nakon sedmodnevnog tretmana, životinje su žrtvovane, a materijal za citogenetičke analize dobijen je u skladu sa procedurom Hsu i Pattona [14], modifikovano po Zimonjiću *et al.* [15]. G-banding hromozoma je obavljen po metodi Seabrighta *et al.* [16], modifikovano po Zimonjiću *et al.* [15]. Procena citogenetičkih efekata, kao i sposobnost levamizol hidrohlorida da indukuje transformacije kriotipa, obavljena je na ćelijama kostne srži. U tu svrhu analizirano je 100 metafaznih figura po životinji. Statistička obrada podataka urađena je primenom Studentovog *t*-testa.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Praćena je mitotička aktivnost ćelija kostne srži ispitivanih životinja za svaku primenjenu dozu. Rezultati ispitivanja uticaja odgovarajućih doza levamizol hidrohlorida na vrednosti mitotskog indeksa, kao mere proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži miša prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Srednje vrednosti mitotske aktivnosti ćelija kostne srži miševa BALB/c soja kontrolne grupe i eksperimentalnih grupa pri tretmanu rastućim dozama levamizol hidrohlorida /

Table 1. Mean values of mitotic activity of bone marrow cells in BALB/c mice of control group and experimental groups treated with increasing doses of levamisole hydrochloride

Ponavljanja / Repetitions	Negativna kontrola / Negative control	2,2 mg/kg t.m.	4,4 mg/kg t.m.	LD ₅₀ -25% mg/kg t.m.	LD ₅₀ -75% mg/kg t.m.
1	6,25	8,50	4,32	3,41	3,15
2	6,15	8,28	3,60	3,68	3,00
3	5,57	7,75	4,00	3,52	3,10
4	5,40	7,15	4,40	3,78	2,80
5	5,90	7,32	3,10	2,81	2,60
6	6,30	8,62	4,20	3,89	3,20
7	6,00	7,82	3,81	2,91	2,30
8	6,05	8,20	4,10	2,99	2,40
X	5,95	7,95	3,94	3,37	2,82

Iz navedene tabele uočava se da doza levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. povećava proliferativnu aktivnost ćelija kostne srži, dok ostale doze smanjuju proliferativnu aktivnost ćelija kostne srži. U kontrolnoj grupi životinja, srednja vrednost mitotičke aktivnosti (mitotski index=MI) bila je 5.95. Kod životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. srednja vrednost MI bila je 7.95. U grupi životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 4,4 mg/kg t.m. srednja vrednost MI je 3.94. Kod životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od LD₅₀-25 posto mg/kg t.m. srednja vrednost MI bila je 3.37, dok je kod doze levamizol hidrohlorida od LD₅₀-75 posto mg/kg t.m. srednja vrednost MI bila 2.82.

T-testom smo utvrdili visoko statistički značajne razlike ($p < 0,001$) u povećanju vrednosti mitotskog indeksa između kontrolne grupe životinja koje su primale fiziološki rastvor i grupe miševa tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. Takođe, primenom t-testa utvrđene su visoko statistički značajne razlike u smanjenju vrednosti mitotskog indeksa kod svih eksperimentalnih grupa miševa u odnosu na kontrolu, kao i između samih eksperimentalnih grupa miševa.

Ovakvo dobijeni rezultati ispitivanja proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži, u zavisnosti od doze, mogu da se tumače trojako:

1. Dobijeni rezultati ukazuju na imunostimulativni efekat levamizol hidrohlorida, jer on podstiče umnožavanje ćelija kostne srži, što se manifestuje povećanjem vrednosti mitotskog indeksa. Ovakvo shvatanje je ujedno u saglasnosti sa nalazima Symoentsa [1], i Al-Ibrahima [2], mada smatramo da za ovakvo tvrđenje treba da se obave uporedna fiziološko-imunološka, toksikološka i geno-

toksikološka istraživanja primenom širokog spektra priznatih naučno-istraživačkih metoda.

2. Dobijeni rezultati ukazuju da je levamizol hidrohlorid ciklus-specifični agens koji na ćeliju deluje u tačno određenoj fazi ćelijskog ciklusa, ostvarujući svoj citotoksični ili citostatski efekat na najosetljivijim ćelijama, tako da u prvo vreme u životu ostaju samo one ćelije koje su najmanje osetljive ili neosetljive na datu dozu u određenoj fazi ćelijskog ciklusa. Manje osetljive ćelije uvećavaju svoju ćelijsku populaciju, jer nesmetano prolaze kroz ćelijsku deobu, sve dok se tokom vremena (produžavanjem vremena uticaja agensa) i povećavanjem doze ne ostvari potpun citostatički ili citotoksični efekat. Ovakvo shvatanje je u saglasnosti sa nalazima više autora [17, 18, 19, 20, 21, 22] i ono daje vrlo prihvatljivo objašnjenje povećanja proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži miša tretiranih ispitivanim dozama levamizol hidrohlorida.

3. Dobijeni rezultati, odnosno povećan broj ćelija u mitozu, može da ukaže na sposobnost levamizol hidrohlorida da ubrza ćelijski ciklus, tj. smanji vreme njegovog trajanja, što utiče na smanjenje vrednosti replikacije, a smanjena vrednost replikacije ima kao posledicu mutabilnost [23], što je u saglasnosti sa našim nalazima o povećanju učestalosti prekida na hromozomima i pojavljivanje specifičnih strukturnih aberacija.

Pored uticaja na mitotsku aktivnost ćelija kostne srži ispitivane doze levamizol hidrohlorida pokazale su sposobnost da indukuju kako numeričke promene tipa aneuploidija i poliploidija, tako i strukturnih aberacija hromozoma tipa lezija, prekida i insercija (tabela 2).

Kod životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. procentne vrednosti numeričkih aberacija tipa aneuploidija iznose 0.87 posto i poliploidija 0.00 posto, dok za strukturne hromozomske aberacije tipa lezija 0.71 posto, prekida 0.41 posto i insercija 0.00 posto. Kod životinja tretiranih levamizolom od 4,4 mg/kg t.m. vrednost ovih parametara su: numeričke aberacije tipa aneuploidija 11.18 posto, poliploidija 1.75 posto, dok za strukturne hromozomske aberacije tipa lezija 0.92 posto, prekida 1.77 posto i insercija 1.50 posto. Prilikom tretmana životinja sa dozom levamizola od LD₅₀-25 posto mg/kg t.m. vrednost ovih parametara su bile, za numeričke aberacije tipa aneuploidija 18.54 posto, poliploidija 1.73 posto, strukturne aberacije tipa lezija 1.06 posto, prekida 1.08 posto i insercija 6.40 posto. Konačno, kod životinja tretiranih levamizolom od LD₅₀-75 posto mg/kg t.m. procentne vrijednosti ispitivanih promena su bile, za numeričke aberacije tipa aneuploidija 21.69 posto, poliploidija 3.00 posto, strukturne aberacije tipa lezija 5.50 posto, prekida 1.85 posto i insercija 6.58 posto.

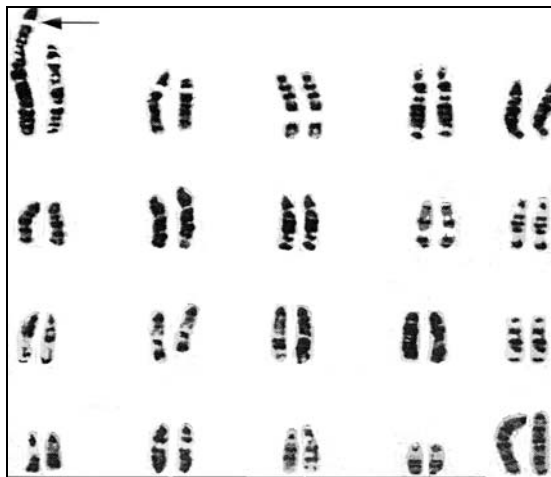
Citogenetičkom analizom je utvrđeno da intragastrični sedmodnevni tretman rastućim dozama levamizol hidrohlorida uzrokuje visoko statistički signifikantno povećanje ($p < 0,001$) pojavljivanja numeričkih i strukturnih promena na hromozomima u ćelijama kostne srži u odnosu na kontrolu. Takođe, zapazili smo da što su doze leka veće, to je i njihov efekat na naslednu osnovu veći. Posebno je značajno da se istakne pojavljivanje insercija na hromozomu prvog para auto-

Tabela 2. Citogenetički parametri ćelija kostne srži kod kontrolne i eksperimentalnih grupa miševa /
Table 2. Cytogenetic parameters of bone marrow cells in control and experimental groups of mice

Citogenetički parametri / Cytogenetic parameters	GRUPE MIŠEVA / GROUP OF MICE									
	Kontrola / Control		2,2 mg/kg t.m.		4,4 mg/kg t.m.		LD ₅₀ - 25 % mg/kg t.m.		LD ₅₀ -75 % mg/kg t.m.	
	X±SD	i %	X±SD	i %	X±SD	i %	X±SD	i %	X±SD	%
Aneuploidije / Aneuploid	4,50±1,07	0,75	5,25±1,04	0,87	67,13±3,31	11,18	111,25±6,37	18,54	130,13±4,02	21,69
Poliploidije / Polyploid	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	10,50±1,31	1,75	10,38±1,77	1,73	18,00±1,51	3,00
Lezije / Lesions	3,25±0,71	0,54	4,25±0,71	0,71	5,50±0,93	0,92	6,37±1,06	1,06	33,00±2,07	5,50
Prekidi / Breaks	1,38±0,74	0,23	2,50±0,71	0,41	10,63±1,06	1,77	6,50±0,76	1,08	11,13±1,64	1,85
Insertije / Insertions	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	9,00±1,60	1,50	38,38±1,69	6,40	39,50±6,72	6,58
Ukupan broj ćelija sa promenama / Total number of cells with changes	9,12±1,89	1,52	12,00±1,98	2,00	102,75±4,06	17,12	172,88±7,73	28,81	231,76±16,23	38,62

zoma, nastalu kao posledica indukovane amplifikacije segmenta između traka q 21 i q 22, što predstavlja specifičnu citogenetičku promenu nastalu pod uticajem levamizol hidrohlorida [21, 22, 24].

Na osnovu dobijenih rezultata, došli smo do navedenih zaključaka:



Slika 1. Aberantni kariotip miša BALB/c soja tretiran dozom levamizol hidrohlorida od 4,4 mg/mg t.m. sa dve insercije na prvom paru autozoma /

Figure 1. Aberrant karyotype of BALB/c mouse treated with a dose of levamisole hydrochloride of 4.4 mg/kg bm, with two insertions in the first pair of autosomes

Zaključak / Conclusion

1. Terapijska doza levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. pokazala je sposobnost povećanja mitotske aktivnosti posmatranih ćelija, tako potkrepljujući saznanja o imunostimulativnom efektu ove doze leka u *in vivo* uslovima.

2. Ostale ispitivane doze levamizola korišćene u ovom eksperimentu posmatrano u odnosu na kontrolnu grupu, imale su suprotan efekat, tj. uslovile su smanjenje mitotske aktivnosti ćelija kostne srži.

3. Sve ispitivane doze *in vivo* pokazuju sposobnost indukcije numeričkih (aneuploidije i poliploidije) i strukturnih (lezije, prekidi i insercije) aberacija hromozoma.

Na osnovu toga može da se zaključi da ispitivane doze imaju genotoksični efekat. Ovakav zaključak je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim na osnovu rezultata *in vitro* ispitivanja genotoksičnog efekta levamizol hidrohlorida na humanim limfocitima iz kulture ćelija primenom SCE i mikronukleus testa [12, 13, 25].

Literatura / References

1. Symoens J., Rosenthal M.: Levamisole in the modulation of the immune response. The current experimental and clinical state. *Journal Of The reticuloendothelial Society*, 21, 175-221, 1977. - 2. Al-Ibrahim M. S., Chirigos M. A.: Immune modulation and control of neoplasia by adjuvant therapy. *In vitro* effects of levamisole on human mononuclear cells. *Progress In Cancer Res. And Therapy*, 7, 39-47, 1978. - 3. Renoux G., Renoux M.: Levamisole inhibits and cures a solid malignant tumor and its pulmonary metastases in mice. *Nature*, 240-217, 1972. - 4. Sadowsky J. M., Rapp F.: Inhibition by levamisole of metastases by cells transformed by Herpes simplex virus type I (33776). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 149- 219, 1975. - 5. Aleksić S., Dmodovski F., Bloom A., *et al.*: Effect of levamisole on malignant experimental neuroma grown subcutaneously in a young rat: Brief communication. *Journal Of National Cancer Institute*, 59, 1565, 1977. - 6. Atwel R. B., Johnson I., Read R. *et al.*: Haemolytic anemia in two dogs suspected to have been induced by levamisole. *Aust. Vet. J.*, 55, 292-294, 1979. - 7. Buys S. B., Van der Made H. N.: The toxicity of levamisole as a parenteral treatment for birds. *Journal Of South African Veterinary Association*, 48- 284, 1977. - 8. Veys E. M., Mielants H., Verbruggen G.: Levamisole-induced adverse reactions in HLA B27-positive rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1- 148, 1978. - 9. Ferguson M. M., Macdonald DG. Photosensitive skin reaction to levamisole. *Br. Dent. J.*, 144, 29, 1978. - 10. MacFarlane D. G., Bacon P. A.: Levamisole-induced vasculitis due to circulating immune complexes. *Br. Med. J.*, 1, 407-408, 1978. - 11. Hansen T. M., Petersen J., Halberg P. *et al.*: Levamisole-induced nephropathy. *Lancet*, 2, 737, 1978. - 12. Berger R., Bernheim A., Feingold J. *et al.*: The effects of levamisole on human chromosomes. *Pathol. Biol.*, 28, 323-324, 1980. - 13. Aleksić N.: Genotoksikološka *in vitro* karakterizacija nekih savremenih antiparazitika. Doktorska disertacija, Beograd, 1993. - 14. Hsu T. C., Patton J. I.: Bone marrow preparations for chromosome studies. In Benirschke, V. (ed) *Comparative mammalian cytogenetics*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York., 454-460, 1969. - 15. Zimonjić D., Savković B., Anđelković M.: Genotoksični agensi: efekti, principi i metodologija detekcije. Naučna knjiga, Beograd, 1990. - 16. Seabright M.: A rapid banding technique for human chromosomes, *Lancet* II, 971, 1971. - 17. Madoc-Jones H, Mauro F. Site of action of cytotoxic agents in the cell life cycle. *Antineoplastic and Immunosuppressive 1*, Edited by A.C. Sartorellia and CD. G. Johns, Springer-Verlag New York., 205-219, 1974. - 18. Beutler E.: *Chemical toxicology of the erythrocyte. Toxicology of the Blood and Bone Marrow*. Edited by R. D. Irons. Raven press-New York, 39-50.S, 1985. - 19. Vučinić Marijana: Komparativno izučavanje površinski aktivnih dezinfekcionih sredstava na citogenetičke promene limfocita čoveka i svinja "*in vitro*". Magistarska teza, Beograd, 1992. - 20. Vučinić Marijana, Soldatović B., Stanimirović Z.: Novi citogenetički efekti „Rosola”. U zborniku radova V simpozijum DDD o zaštiti životne sredine, Subotica, Palić, 1994. - 21. Stanimirović Z., Soldatović B., Dimitrijević S., Vučinić Marijana, Đokić D.: Aberantni kariotip laboratorijskog kunića (*Oryctolagus cuniculus*, Linnaeus, 1758) sa heterozigotnim prvim parom autozoma. *Acta Veterinaria*, 43, 55-60, 1994. - 22. Stanimirović Z., Vučinić Marijana, Soldatović B., Vučicević M.: Veliki akrocentrični hromozom iz prvog para autozoma prirodnih populacija vrste *Mus musculus*, Linnaeus 1758. *Acta Veterinaria*, 45, 155-160, 1995. - 23. Mihajlović A.: Ispitivanja genotoksicnog uticaja levamizol hidroklorida na ćelije kostne srži u *in vivo* uslovima kod Rattus norvegicus, Wistar soja. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, 1996. - 24. Stanimirović Z., Marijana Vučinić, Soldatović B.: Cytogenetic changes in bone marrow cells of Wistar rats induced by levamisole hydrochloride. *Acta Veterinaria*, 48, 255-262, 1998. - 25. Bakrač T.: Ispitivanje genotoksičnosti nekih savremenih antihelminatika mikronukleus testom *in vitro*. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, 1996.

ENGLISH

IN VIVO INVESTIGATIONS OF CLASTOGENIC EFFECT OF LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE ON BONE MARROW CELLS OF BALB/c MICE

M. Kulic, Z. Stanimirovic, S. Ristic, Biljana Markovic

Cytotoxic and genotoxic examinations were performed of the effect of levamisole hydrochloride (2.2 mg/kg bm, 4.4 mg/kg bm, LD₅₀-25% mg/kg bm and LD₅₀-75% mg/kg bm) on bone marrow cells of mice of the BALB/c strain. The effect of levamisole hydrochloride on kinetics of the cellular cycle and the appearance of structural and numerical changes in chromosomes of bone marrow cells were followed. The therapeutic dose of levamisole of 2.2 mg/kg bm showed the ability to increase the mitotic activity of the observed cells, thus confirming knowledge of the immunostimulative effect of this dose of the medicine under *in vivo* conditions. The other tested doses of levamisole in this experiment, observed in comparison with the control group, had an opposite effect, i.e. they caused a reduction in the mitotic activity of bone marrow cells. All the examined doses *in vivo* showed the ability of inducing numeric (aneuloid and polyploid) and structural (lesions, breaks and insertions) chromosomal aberrations. On this basis, it can be concluded that the examined doses have a genotoxic effect.

Key words: Cytotoxicity, genotoxicity, mitotic index, structural aberrations, numerical aberrations

РУССКИЙ

IN VIVO ИСПЫТАНИЕ КЛАСТОГЕННО ЭФФЕКТА ЛЕВАМИЗОЛЬ ГИДРОХЛОРИДА НА КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ BALB/c ШТАММА

М. Кулич, З. Станимирович, С. Ристич, Биляна Маркович

Сделаны цитотоксические и генотоксические испытания левамизоль гидрохлорида (2.2 мг/кг, м.т., 4,4 мг/кг м.т., LD₅₀-25% мг/кг м.т. и LD₅₀-75% мг/кг м.т.) на клетках костного мозга мыши BalB/c штамма. Слежено влияние левамизоль гидрохлорида на кинетику клеточного цикла и явление структурных и нумерических изменений на хромосомах в клетках костного мозга. Терапевтическая доза левамизоля от 2,2 мг/кг м.т. показала способность увеличения митотической активности наблюдаемых клеток так, подкрепляя сознания о иммуностимулирующем эффекте этой дозы лекарства в *in vivo* условиях. Остальные тестируемые дозы левамизоля в этом эксперименте нами наблюдали в отношении контрольной группы, имели противоположный эффект т.е. обусловили уменьшение митотической активности клеток костного мозга. Все испытанные дозы *in vivo* показывают способность индукции нумерических (анеуплоидии и полиплоидии) и структурных (повреждения, разрывы и инсерции) aberrаций хромосом. На основе этого можно сделать вывод, что испытанные дозы имеют генотоксический эффект.

Ключевые слова: цитотоксичность, генотоксичность, митотический индекс, структурные aberrации, нумерические aberrации

**KONCENTRACIJA BETA-KAROTINA I VITAMINA A U
KRVNOM SERUMU KRAVA U PERIPARTALNOM PERIODU***
*CONCENTRATION OF BETA-CAROTENE AND VITAMIN A IN BLOOD
SERUM OF COWS IN PERIPARTAL PERIOD*

M. Veličković, D. Vuković**

U zapatu visoko-mlečnih krava holštajn rase odabrano je 40 krava za izvođenje oglada. Životinje su odabrane u periodu visokog graviditeta. Podaci o srednjim vrednostima koncentracije beta-karotina u krvnom serumu krava pokazuju da su značajno veće vrednosti ($p < 0.01$) utvrđene u visokom graviditetu ($\bar{x} = 9.53 \pm 3.49 \mu\text{mol/l}$) u poređenju sa vrednostima na dan teljenja ($\bar{x} = 5.69 \pm 3.14 \mu\text{mol/l}$) i u ranom puerperijumu ($\bar{x} = 2.25 \pm 1.00 \mu\text{mol/l}$).

Prosečna koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava varira približno isto kao i koncentracija beta-karotina. Najveća prosečna koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava je utvrđena u visokom graviditetu ($\bar{x} = 1.856 \pm 0.52 \mu\text{mol/l}$), a najniža u ranom puerperijumu ($\bar{x} = 0.988 \pm 0.31 \mu\text{mol/l}$) ($p < 0.05$). Na osnovu rezultata dobijenih u radu može da se zaključi da je prosečna koncentracija beta-karotina i vitamina A u krvnom serumu krava u visokom graviditetu i na dan teljenja u granicama fizioloških vrednosti i u skladu sa vrednostima koje su citirane u literaturi, kao i da je dve nedelje posle teljenja koncentracija beta-karotina i vitamina A u krvnom serumu krava značajno niža od vrednosti dobijenih u visokom graviditetu i na dan teljenja i niža je od fizioloških vrednosti koje se najčešće navode u literaturi za ovu vrstu životinja.

Ključne reči: beta-karotin, vitamin A, krave

Uvod / Introduction

Dugo je β -karotinu pripisivana jedino uloga provitamina A. Međutim, u novije vreme, utvrđena je njegova specifična uloga, nezavisno od uloge provi-

* Rad primljen za štampu 5. 11. 2005. godine

** Mr Miljan Veličković, Veterinarska stanica, Knjaževac; dr Dragan Vuković, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

tamina, posebno u reprodukciji domaćih životinja. Deficit β -karotina dovodi do „tihog” estrusa, povećanog broja cističnih jajnika i, samim tim, loših rezultata osemenjavanja krava. Neadekvatno snabdevanje krava β -karotinom i vitaminom A u našim uslovima držanja, pored drugih hranljivih materija, prisutno je u mnogim zapatima, što ima kao posledicu narušavanje opšteg zdravstvenog stanja krava i smanjenje reproduktivnih sposobnosti.

Beta-karotin pripada grupi karotenoida, u koju se ubraja više od 600 obojenih pigmenata pronađenih u prirodi [2]. Beta-karotin, kao i ostali karotenoidi, široko su rasprostranjeni u prirodi. Njih stvaraju sve biljke sa fotosintetskom aktivnošću. Danas je prihvaćeno gledište da je koncentracija β -karotina u krvnom serumu pouzdan pokazatelj snabdevenosti organizma iz alimentarnih izvora. Friessecke [3] navodi da su vrednosti koncentracije niže od 3000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina deficitarne, tj. nedovoljne, odnosno, vrednosti koncentracije niže od 1000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina su znak ozbiljnog deficita, a od 1000 do 3000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina su u kritičnim granicama. Lotthammer [11] smatra da su vrednosti koncentracije za β -karotin više od 1000 $\mu\text{g/l}$ tri nedelje *ante partum* do tri nedelje *post partum* dovoljne. Vrednosti koncentracije β -karotina izvan navedenog perioda treba da su više od 2000 $\mu\text{g/l}$. Koncentracija β -karotina u serumu u peripartalnom periodu pokazuje značajna variranja. Ona je najveća u sedmom do osmog meseca graviditeta, zatim postepeno opada do dve do četiri nedelje pre partusa. Onda sledi izrazit pad koncentracije neposredno pre porođaja, dostižući najniži nivo prvog dana nakon teljenja [4, 8, 13, 20]. Pad koncentracije može da bude 20 do 30 posto. Od 5. do 7. dana postpartum koncentracija karotina u krvnom serumu ponovo raste.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ispitivanje je obavljano na farmi visoko-mlečnih krava rase crveni holštajn. Ogled je obuhvatao 40 krava i to 15 primiparnih i 25 multiparnih (između 3. i 6. laktacije). Četrdeset klinički zdravih, visokosteonih krava su odabrane metodom slučajnog izbora. Odabrane životinje su bile smeštene u zatvorene staje i bile su vezane. Prosečna mlečnost kod krava na farmi obračunata na 305 dana je bila 5380 kg mleka. Obrok se sastojao od sena lucerke, silaže kukuruzne biljke i potpune krmne smeše za krave muzare.

Uzorci krvi krava uključenih u ogled su uzimani punkcijom vene jugularis u jutarnjim časovima i to:

1. put – dve nedelje pre očekivanog partusa;
2. put – na dan partusa (neposredno posle partusa);
3. put – dve nedelje posle partusa;

Krv u vakutainerima, izvan domašaja svetla, odmah je transportovana do Veterinarskog specijalističkog instituta u Zrenjaninu, u kome su centrifugovani na 3000 obrtaja/min. 10 minuta, izdvojeni serumi koji su čuvani u zamrzivaču na temperaturi od -20°C . Potom su transportovani u Naučni institut za veterinar-

stvo Srbije u Beogradu, u kome se određivala koncentracija β -karotina i vitamina A u serumu.

Koncentracija β -karotina i vitamina A u krvnom serumu je određivana po principima metode Carr Pricceu (metoda modifikovana po Cvetkoviću, 1964).

Radi analize rezultata prikupljenih istraživanjem, primenjene su navedene statističke metode: tabeliranje i grafičko prikazivanje, metode deskriptivne statistike (aritmetička sredina, standardna devijacija, medijana, minimum i maksimum), Studentov t-test za nezavisne uzorke, Studentov t-test za vezane uzorke, Mann-Whitney test, Kolmogorov-Smirnov test normalnosti i Hi-Kvadrat test.

Rezultati ispitivanja / Results

Koncentracija β -karotina u krvnom serumu krava / Concentration of beta-carotene in blood serum of cows

Rezultati ispitivanja koncentracije β -karotina u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu (dve nedelje pre teljenja, na dan teljenja i dve nedelje posle teljenja) prikazani su u tabelama 1 i 2.

Tabela 1. Koncentracija β -karotina ($\mu\text{mol/l}$) u krvnom serumu krava dve nedelje pre porođaja, na porođaju i dve nedelje posle porođaja /
Table 1. Beta-carotene concentration ($\mu\text{mol/l}$) in blood serum of cows two weeks before calving, at calving, and two weeks after calving

Statistički pokazatelji / Statistical indicators	Karotin kod krava 2 nedelje pre porođaja / Carotene in cows 2 weeks before calving	Karotin kod krava na porođaju / Carotene in cows at calving	Karotin kod krava 2 nedelje posle porođaja / Carotene in cows 2 weeks after calving
Broj	n=40	n=40	n=40
$\bar{x}$	9.53	5.69	2.25
SD	3.49	3.14	1.00
Medijana / Median	9.24	6.52	1.86
Minimum / Minimum	2.61	.00	1.16
Maksimum / Maximum	14.16	9.84	4.62

Iz prikazanih rezultata u tabeli 1 može da se vidi da je prosečna koncentracija β -karotina u krvnom serumu krava u visokom graviditetu $\bar{x} = 9.53 \pm 3.49 \mu\text{mol/l}$.

Dobijene prosečne vrednosti koncentracije β -karotina u ovom periodu ispitivanja su na gornjoj granici fizioloških vrednosti. Međutim, analizom pojedinačnih vrednosti se vidi da one značajno variraju i da su kod pojedinih životinja one na donjoj ili manjoj od fiziološke vrednosti. Najniža utvrđena vrednost za

koncentraciju β -karotina je bila 2.61 $\mu\text{mol/l}$. Pored toga, kod nekih životinja su utvrđene koncentracije β -karotina veće od fizioloških vrednosti, a najveća dobijena vrednost je bila 14.16 $\mu\text{mol/l}$.

Prosečna vrednost β -karotina kod krava na dan teljenja iznosi $\bar{x}=5.69 \pm 3.14 \mu\text{mol/l}$. I u ovom periodu ispitivanja postoje individualne varijacije između životinja, ali se uočava da su prosečne vrednosti koncentracije β -karotina u krvnom serumu krava u okviru fizioloških vrednosti.

Prosečna koncentracija β -karotina u krvnom serumu krava u puerperijumu je $\bar{x}=2.25 \pm 1.00 \mu\text{mol/l}$. Dobijene prosečne vrednosti koncentracije β -karotina u ovom periodu ispitivanja bile su niže od fizioloških vrednosti. Međutim, analizom pojedinačnih vrednosti se vidi da koncentracije β -karotina značajno variraju i da kod pojedinih životinja su one ispod merljive osetljivosti metode kojom je određivana koncentracija β -karotina u krvnom serumu ispitivanih životinja. Isto tako, kod nekih životinja u obe grupe utvrđene su vrednosti u okviru fizioloških granica.

Tabela 2. Statistička značajnost razlika prosečnih vrednosti koncentracija β -karotina ($\mu\text{mol/l}$) u krvnom serumu krava pre teljenja, na dan teljenja i posle teljenja /
Table 2. Statistical significance of differences in average values of beta-carotene concentration ($\mu\text{mol/l}$) in blood serum of cows before calving, at calving, and after calving

		Prosečna razlika / Average difference	t	df	Statistička značajnost / Statistical significance
1	Karotin kod krava dve nedelje pre porođaja – Karotin kod krava na porođaju / <i>Carotene in cows 2 weeks before calving – Carotene in cows at calving</i>	2.8446	2.494	12	.028
2	Karotin kod krava dve nedelje pre porođaja – Karotin kod krava dve nedelje posle porođaja / <i>Carotene in cows 2 weeks before calving – Carotene in cows 2 weeks after calving</i>	6.2175	6.350	11	.000
3	Karotin kod krava na porođaju – Karotin kod krava dve nedelje posle porođaja / <i>Carotene in cows at calving – Carotene in cows 2 weeks after calving</i>	4.1650	4.384	9	.002

Upoređujući prosečne vrednosti koncentracija β -karotina kod krava u ispitivanim periodima, može da se vidi da je prosečna koncentracija β -karotina u krvnom serumu krava dve nedelje pre porođaja veća za 2.8446 $\mu\text{mol/l}$ u odnosu na prosečnu koncentraciju β -karotina u krvnom serumu krava na porođaju, odnosno veća u odnosu na prosečnu vrednost kod krava dve nedelje posle teljenja za 6.2175 $\mu\text{mol/l}$. Ustanovljena razlika u oba slučaja je statistički značajna ($t=2.494$; $p<0.01$, odnosno $t=6.350$; $p<0.01$).

Iz dobijenih podataka je utvrđeno da je prosečna koncentracija β -karotina u krvnom serumu krava na porođaju značajno viša, prosečno za 4.1650 $\mu\text{mol/l}$, nego kod krava dve nedelje posle porođaja. I ova razlika je statistički značajna ($t=4.384$; $p<0.01$).

*Koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava /
Concentration of vitamin A in blood serum of cows*

Rezultati ispitivanja koncentracije vitamina A u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu (dve nedelje pre teljenja, na dan teljenja i dve nedelje posle teljenja) prikazani su u tabelama 3 i 4.

Tabela 3. Koncentracija vitamina A ($\mu\text{mol/l}$) u krvnom serumu krava dve nedelje pre porođaja, na porođaju i dve nedelje posle porođaja /
Table 3. Concentration of vitamin A ($\mu\text{mol/l}$) in blood serum of cows two weeks before calving, at calving and two weeks after calving

Statistički pokazatelji / <i>Statistical indicators</i>	Vitamin A kod krava 2 nedelje pre porođaja / <i>Vitamin A in cows 2 weeks before calving</i>	Vitamin A kod krava na porođaju / <i>Vitamin A in cows at calving</i>	Vitamin A kod krava 2 nedelje posle porođaja / <i>Vitamin A in cows 2 weeks after calving</i>
Broj / <i>Number</i>	n=40	n=40	n=40
$\bar{x}$	1.8563	1.2433	.9876
SD	.5233	.4092	.3066
Medijana / <i>Median</i>	1.7013	1.3087	.9161
Minimum / <i>Minimum</i>	.9946	.5496	.5496
Maksimum / <i>Maximum</i>	2.7012	1.8846	1.5443

Iz prikazanih rezultata u tabeli 3 može da se uoči da je prosečna koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava u visokom graviditetu $\bar{x}=1.8563 \pm 0.5233$ $\mu\text{mol/l}$. Dobijene prosečne vrednosti koncentracije vitamina A u ovom periodu ispitivanja su na gornjoj granici fizioloških vrednosti. Međutim, analizom pojedinačnih vrednosti se vidi da koncentracije vitamina A značajno variraju i da su kod pojedinih životinja one na donjoj ili niže od fiziološke vrednosti. Najniža utvrđena vrednost za koncentraciju vitamina A je bila 0.9946 $\mu\text{mol/l}$. Pored toga, kod nekih životinja su utvrđene koncentracije vitamina A veće od fizioloških vrednosti, a najveća dobijena vrednost je bila 2.7012 $\mu\text{mol/l}$.

Prosečna koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava na porođaju iznosi $\bar{x}=1.2433 \pm 0.4092$ $\mu\text{mol/l}$. Dobijene prosečne vrednosti koncentracije vitamina A u ovom periodu ispitivanja su u okviru fizioloških vrednosti. Analizom pojedinačnih vrednosti se vidi da koncentracije vitamina A značajno variraju i da su kod pojedinih životinja one na donjoj ili nže od fiziološke vrednosti. Najniža utvrđena vrednost za koncentraciju vitamina A je bila 0.5496 $\mu\text{mol/l}$. Pored toga,

kod nekih životinja su utvrđene koncentracije vitamina A više od fizioloških vrednosti, a najveća dobijena vrednost je iznosila 1.8846 $\mu\text{mol/l}$.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 4 uočava se da je prosečna koncentracija vitamina A kod krava dve nedelje posle teljenja bila $\bar{x}=0.9876 \pm 0.3066 \mu\text{mol/l}$. Dobijene prosečne vrednosti koncentracija vitamina A u krvnom serumu u ovom periodu ispitivanja pokazuju da su vrednosti koncentracije vitamina A nešto ispod fizioloških vrednosti. Pored toga, uočava se da u ovom periodu ispitivanja postoje značajna variranja koncentracije vitamina A u krvnom serumu, a kreću se od najniže koncentracije od 0.5496 $\mu\text{mol/l}$, do najviše vrednosti koja iznosi 1.5443 $\mu\text{mol/l}$.

Tabela 4. Statistička značajnost razlika prosečnih vrednosti koncentracija vitamina A ($\mu\text{mol/l}$) u krvnom serumu krava pre teljenja, na dan teljenja i posle teljenja
Table 4. Statistical significance of differences in average values of concentrations of vitamin A ($\mu\text{mol/l}$) in blood serum of cows before calving, at calving, and after calving

		Prosečna razlika / Average difference	t	df	Statistička značajnost / Statistical significance
1	Vitamin A kod krava 2 nedelje pre porođaja – Vitamin A kod krava na porođaju / <i>Vitamin A in cows 2 weeks before calving – Vitamin A in cows at calving</i>	.552664	3.109	13	.008
2	Vitamin A kod krava 2 nedelje pre porođaja – Vitamin A kod krava 2 nedelje posle porođaja / <i>Vitamin A in cows 2 weeks before calving – Vitamin A in cows 2 weeks after calving</i>	.868653	6.513	14	.000
3	Vitamin A kod krava na porođaju – Vitamin A kod krava 2 nedelje posle porođaja / <i>Vitamin A in cows at calving – Vitamin A in cows 2 weeks after calving</i>	.250529	1.526	13	.151

Upoređujući vrednosti koncentracije vitamina A kod krava dve nedelje pre porođaja, na porođaju i dve nedelje posle porođaja može da se vidi da je prosečna vrednost vitamina A na porođaju krava bila niža za 0.552664 $\mu\text{mol/l}$ u odnosu na prosečnu vrednost koncentracije vitamina A dve nedelje pre porođaja. Ova razlika je visoko statistički značajna ($t=3.109$; $p<0.01$).

Takođe iz rezultata prikazanih u tabeli 4 se uočava da dolazi do daljeg sniženja vrednosti koncentracije vitamina A za 0.250529 $\mu\text{mol/l}$ u proseku, dve nedelje posle porođaja u odnosu na koncentraciju vitamina A na porođaju. U ovom slučaju vidimo da razlika u koncentraciji vitamina A kod krava na porođaju i dve nedelje posle porođaja nema statističku značajnost ($t=1.526$; $p<0.01$).

Pri upoređivanju vrednosti koncentracije vitamina A dve nedelje pre porođaja i dve nedelje posle porođaja nastao je statistički značajan pad vrednosti za 0.868 $\mu\text{mol/l}$ ($t=6.513$; $p<0.01$).

Diskusija / Discussion

Friesecke [3] je dokazao da je najvažniji depo β -karotina u organizmu krvna plazma. Schweigert i sar [15] utvrdili su da se najveće vrednosti β -karotina u serumu mogu da nađu u jesen, a najniže u proleće, što zavisi od njegove količine u hranivima kojima se hrane krave. Lotthammer i sar [9] takođe dovode u vezu stepen resorpcije β -karotina i funkciju tireoidne žlezde. Lotthammer [11] smatra da je koncentracija od 1000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina tri nedelje ante i tri nedelje post partum dovoljna, dok Friesecke [3] navodi da su vrednosti niže od 3000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina deficitarne, tj. nedovoljne, odnosno, vrednosti niže od 1000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina su znak ozbiljnog deficita, a od 1000 do 3000 $\mu\text{g/l}$ β -karotina su u kritičnim granicama. U ovom ispitivanju ogled je započet u letnjem periodu kada je i unošenje β -karotina putem hrane bilo zadovoljavajuće. Do istih rezultata, koji se odnose na unošenje β -karotina putem hrane u letnjem periodu, došli su i Tekpetey i sar [19]. Oni su ustanovili najveće zabeležene vrednosti koncentracije β -karotina u serumu u junu i julu mesecu (više od 6000 $\mu\text{g/l}$), kada je prisutan najveći unos sveže zelene hrane koja je, inače, bogata β -karotinom. Sigurno je da postoji pozitivna korelacija između sadržaja β -karotina u hranivima i njegove koncentracije u krvnoj plazmi [12]. S obzirom da su u našem ogledu sve životinje u zasušenju, osim dve plotkinje, imale vrednosti koncentracije β -karotina više od fizioloških, a uzimajući u obzir referentne vrednosti koje navodi Lotthammer [10], može da se smatra da su životinje putem hrane bile dobro snabdevene β -karotinom. U literaturi ne postoji jedinstveno mišljenje o potrebama krava za β -karotinom. Tako Kolb [5] navodi da se u ishrani krava hranivima bogatim β -karotinom nalaze vrednosti od 3000 do 5000 $\mu\text{g/l}$ u krvnom serumu, dok je Lotthammer [11] našao korelaciju između stadijuma laktacije, odnosno graviditeta. On smatra da su vrednosti za β -karotin veće od 1000 mg/l tri nedelje *ante partum* do 3 nedelje *post partum* dovoljne. Vrednosti koncentracije β -karotina izvan navedenog perioda treba da su veće od 2000 $\mu\text{g/l}$. Ukoliko se dnevni obrok koji krave dobijaju u zimskim mesecima pretežno sastoji od kukuruzne silaže i sena slabog kvaliteta, trebalo bi dodavati barem 300 mg β -karotina dnevno, kako bi se održale prosečne koncentracije β -karotina u krvnoj plazmi od 3000 $\mu\text{g/l}$, a što se smatra dovoljnim za reprodukciju [3,10,18]. Rosenberger [14] navodi da postoje dva kriterijuma za procenjivanje koncentracije β -karotina u krvnom serumu: minimalna fiziološka koncentracija (2.79 $\mu\text{mol/l}$) i optimalna donja koncentracija (7.45 $\mu\text{mol/l}$).

U ovom ispitivanju prosečne vrednosti koncentracije β -karotina u krvnom serumu u zasušenju i na porođaju krava su bile više od fizioloških vrednosti, što je u saglasnosti sa podacima koje navodi Kolb [5]. Isto tako, u ogledu je utvrđeno da postoji pad koncentracije β -karotina u krvnom serumu krava na porođaju u odnosu na period zasušenja i to u proseku za oko 30 posto, što je u saglasnosti sa rezultatima koje navodi Lotthammer [10], a koje su se kretale od 20 do 30 posto. Srednje vrednosti koncentracije β -karotina ogledne i kontrolne

grupe na dan teljenja bile su $5.69 \pm 3.14 \mu\text{mol/l}$ ($3054.90 \pm 1685.83 \mu\text{g/l}$) i više su od onih koje navodi kao referentne Lotthammer [11]. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima koje navode Lotthammer [8], Haraszti i sar [4] i Vuković i sar [20].

Trend opadanja koncentracije β -karotina se nastavlja i nakon porođaja. Za oko 2.5 puta dolazi do sniženja koncentracije β -karotina dve nedelje posle porođaja u odnosu na koncentraciju β -karotina na porođaju, odnosno za oko 3.8 puta u odnosu na koncentraciju β -karotina u zasušenju, što je statistički značajna razlika ($p < 0.01$). Burgstaller i sar [1] pokazali su da koncentracija β -karotina naglo opada ante partum i potrebne su nedelje dok ponovo ne dostigne bazalne vrednosti. Schweigert [15] navodi da koncentracija β -karotina u krvi naglo opada tri nedelje pre i jednu nedelju posle teljenja. Kao mogući razlog za smanjenje koncentracije β -karotina u krvnom serumu krava postpartum pored njegovog izlučivanja putem kolostruma, može da se pojača mobilizacija masti. Schweigert [16] ustanovio je da postoji drastičan pad koncentracije triglicerida u krvnoj plazmi krava nakon porođaja. Visoke potrebe za energijom u peripartalnom periodu se obezbeđuju povećanom mobilizacijom masti iz telesnih depoa, što se manifestuje povećanim nivoom neesterifikovanih masnih kiselina istovremeno povezanih sa smanjenjem nivoa triglicerida, ukupnog holesterola i β -karotina. Takođe je utvrđeno da stepen smanjenja koncentracije β -karotina zavisi od stepena mobilizacije masti i promena u koncentracijama frakcija lipoproteina u krvnoj plazmi. Pozitivna korelacija i sličan metabolički put između β -karotina i holesterola može da bude zbog sličnosti koja postoji u njihovom transportovanju uz pomoć HDL frakcija lipoproteina. Niska koncentracija β -karotina i holesterola koja je utvrđena u folikularnoj tečnosti krava sa poremećajem fertiliteta može da zavisi od niske koncentracije HDL frakcije lipoproteina za vreme pojačane mobilizacije masti. Haraszti i sar [4] navode da poremećaji metabolizma masti i funkcija jetre u peripartalnom periodu mogu znatno da ometaju transportovanje β -karotina, što kao posledicu ima nagli pad koncentracije β -karotina neposredno pre i posle teljenja i da jedino kod onih krava kod kojih je mobilizacija masti nakon porođaja niska, stepen smanjenja koncentracije β -karotina retko prelazi 20 posto, a za 30 do 45 dana postpartum koncentracija β -karotina dostiže bazalni nivo. Kod krava sa povećanom mobilizacijom masti pre ili neposredno nakon teljenja, drastično se povećava koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina, a opada koncentracija ukupnog holesterola i triglicerida sa istovremenim smanjenjem koncentracije β -karotina i za više od 50 posto u odnosu na početne vrednosti u periodu zasušenja. Kod ovih krava vrednosti koncentracije β -karotina ne dostižu bazalni nivo 30 do 45 dana posle teljenja kao kod krava kod kojih nije postojala povećana mobilizacija masti.

Koncentracije vitamina A u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu variraju približno isto kao i koncentracije β -karotina. U ovom istraživanju najveće zabeležene vrednosti koncentracije vitamina A u serumu krava su bile u zasušenju. Na dan teljenja i na kraju ranog puerperijuma te vrednosti opadaju u

proseku za oko 26 posto na dan teljenja, tj. za oko 87 posto na kraju ranog puerperijuma u odnosu na period zasušenja. Ustanovljena razlika između prosečnih koncentracija vitamina A u krvnom serumu krava pre i posle teljenja statistički je visoko značajna ($p < 0.01$). Ovi rezultati ukazuju da između vitamina A i β -karotina postoji uzajamna metabolička povezanost.

Uzimajući u obzir da su fiziološke vrednosti za vitamin A 400-700 $\mu\text{g/l}$, odnosno da vrednosti manje od 150 $\mu\text{g/l}$ predstavljaju jasan deficit vitamina A, iz ovog istraživanja može da se vidi da je 95 posto životinja u ogledu bilo dobro snabdeveno vitaminom A. Jedino je utvrđeno da je kod nekoliko životinja na kraju ranog puerperijuma prisutna niža koncentracija vitamina A u krvnom serumu od fiziološke. Jedno od mogućih objašnjenja za ovu pojavu može da bude i činjenica da se pri većem unošenju β -karotina putem hrane smanjuje stepen konverzije β -karotina u vitamin A. Isto tako, postoje značajne individualne oscilacije koncentracija vitamina A u serumu. Kume i sar [6] ustanovili su da su kod prvotelkinja više koncentracije β -karotina i vitamina A u krvnoj plazmi u vreme teljenja nego kod krava koje su se više puta telile.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata dobijenih u radu mogu da se izvedu zaključci:

1. Prosečna koncentracija beta-karotina i vitamina A u krvnom serumu krava u visokom graviditetu i na dan teljenja je u granicama fizioloških vrednosti i u skladu sa vrednostima koje su citirane u literaturi.
2. Dve nedelje posle teljenja koncentracija beta-karotina i vitamina A u krvnom serumu krava uključenih u ogled je značajno niža od vrednosti dobijenih u visokom graviditetu i na dan teljenja i niža je od fizioloških vrednosti koje se najčešće navode u literaturi za ovu vrstu životinja.

Literatura / References

1. Burgstaller G., Matzke P., Hollwich W., Kögel J., Kreutzberg O., Zucker H.: Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und Vitamin A. 1. Mitteilung : Einfluß auf den Blutspiegel Zbl. Vet. Med. A 27, 485-494, 1980. - 2. Chew B.: Role of Carotenoids in the Immune Response. J Dairy Sci 76, 2804-2811, 1993. - 3. Friesecke H.: Beta Carotin und die Fruchtbarkeit des Rindes. Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, 1978. - 4. Haraszi J., Huszenicza Gy., Molnár L., Blaskovits A.: Effect of periparturient lipid mobilization on serum total Carotene and Vitamin A Concentrations in cattle. Acta Veterinaria Hungarica 32, 193-203, 1984. - 5. Kolb E., Seehawer J.: Die Bedeutung der carotine und des Vitamins A für die Fortpflanzung bei Rindern, Pferden und Schweinen – eine Übersicht. Der praktische Tierarzt 78, 9, 783-789, 1997. - 6. Kume S., Tanabe S.: Effect of Parity of Holstein Cows on Vitamin A and β -carotene Concentrations of Colostrum and Calf Serum. Anim. Sci. Technol. (Jpn) 64, 10, 987-991, 1993. - 7. Lotthammer K. H.: Carotin-Einsatz in der Winterfütterung von Milchkühen. Kraftfutter 2, 40-44, 1985. - 8. Lotthammer K. H.: Ursachen und Massnahmen beim primär nicht infektiösen genitalkatarrh des Rindes. Prakt. Tierarzt. 66, 79-84, 1985. - 9. Lotthammer K. H.: Klinisch-chemische Untersuchungen bei

bestandweise auftretenden Fruchtbarkeitsstörungen. In : E. Grunert u. A. De Kruif (Hrsg.): Fruchtbarkeitsstörungen beim weiblichen Rind. Parey Buchverlag, Berlin, 1999. - 10. Lotthammer K. H.: Zur Bedeutung des β -Carotins für die Fruchtbarkeit des Milchrindes. Sonderdruck aus „Der Tierzüchter“ Heft Nr. 12, 1978. - 11. Lotthammer K. H., Wittkowski G.: Fruchtbarkeit und Gesundheit des Rindes. Verlag Eule, 1994. - 12. Mayer H., Ahlswede L., Lotthammer K. H.: Untersuchungen über eine spezifische Vitamin A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 1. Mitteilung: Versuchsantellung, Körperentwicklung und Eierstocksfunktion. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 82, 444-449, 1975. - 13. Rakes A. H., Owens M. P., Britt J. H., Whiltow L. W.: Effects of Adding Beta-Carotene to rations of Lactating Cows Consuming Different Forages. J Dairy Sci 68, 1732-1737, 1985. - 14. Rosenberger G.: Krankheiten des Rindes. Verlag Paul Parey, Berlin, 1978. - 15. Schweigert F. J., Rambeck W. A., Zucker H.: Transport of β -carotene by the serum lipoproteins in cattle. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 57, 162-167, 1987. - 16. Schweigert F. J.: β -Carotin-Stoffwechsel des Rindes und Bedeutung für die Fruchtbarkeit. Übers. Tierärzthg. 16, 223-246, 1988. - 17. Schweigert F. J., Eisele W.: Parenteral β -carotene administration to cows: effect on plasma levels, lipoprotein distribution and secretion in the milk. Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, Band 29, Heft 3, 184-191, 1990. - 18. Spann B., Moosmeyer M.: Beta-Carotin im Auge behalten. Der Tierzüchter 7, 40-44, 1994. - 19. Tekpetey F. R., Palmer W. M., Ingalls J. R.: Seasonal Variation in Serum β -Carotene and Vitamin A and Their Association with Postpartum Reproductive Performance of Holstein Cows. Can. J. Anim. Sci. 67, 491-500, 1987. - 20. Vuković D., Šamanc H., Damjanović Z., Perković S., Ignjić Đ.: Koncentracija Ca, P, karotina i vitamina A u krvnom serumu krava simentalke rase sa osvrtnom na poremećaje plodnosti. Vet. glasnik 41, 11-12, 927-930, 1987.

ENGLISH

CONCENTRATION OF BETA-CAROTENE AND VITAMIN A IN BLOOD SERUM OF COWS IN PERIPARTAL PERIOD

M. Velickovic, D. Vukovic

In a herd of high-productive dairy cows of the Holstein breed, 40 cows were selected for an experiment. The animals were chosen at the period of advanced gravidity. Data on mean values of beta-carotene concentrations in blood serum of the cows show that significantly higher values ($p < 0.01$) were established in advanced gravidity ($\bar{x} = 9.53 \pm 3.49 \mu\text{mol/l}$) in comparison with the values on calving day ($\bar{x} = 5.69 \pm 3.14 \mu\text{mol/l}$) and in early puerperium ($\bar{x} = 2.25 \pm 1.00 \mu\text{mol/l}$).

The average concentration of vitamin A in blood serum of cows varied approximately the same as the concentration of beta-carotene. The highest average concentration of vitamin A in blood serum of cows was determined in advanced gravidity ($\bar{x} = 1.856 \pm 0.52 \mu\text{mol/l}$), and the lowest in early puerperium ($\bar{x} = 0.988 \pm 0.31 \mu\text{mol/l}$) ($p < 0.05$). It can be concluded on the grounds of the results obtained in this work that the average concentration of beta-carotene and vitamin A in blood serum of cows in advanced gravidity and on the day of calving is within the limits of physiological values and in keeping with the values cited in literature, and that concentrations of beta-carotene and vitamin A in blood serum of cows two weeks after calving are significantly lower than the values obtained in advanced gravidity and on the day of calving and are lower than the physiological values most often reported in literature for this animal specie.

Key words: Beta-carotene, vitamin A, cows

КОНЦЕНТРАЦИЯ БЕТА КАРОТИНА И ВИТАМИНА А В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ КОРОВ В ДОРОДОВОМ ПЕРИОДЕ

М. Величкович, Д. Вукович

В племенном приплоде високо-дойных коров холштайн породы отобрано 40 коров для выполнения опыта. Животные отобраны в периоде высокой беременности. Данные о средних стоимостях концентрации бета-каротина в кровяном серуме коров показывают, что значительно большие стоимости ($p < 0.01$), утверждённые в высокой беременности ($\bar{x} = 9.53 \pm 3.49$ $\mu\text{мол/л}$) в сравнении с стоимостями на день отёла ($\bar{x} = 5.69 \pm 3.14$ $\mu\text{мол/л}$) и в раннем пуерперии ($\bar{x} = 2.25 \pm 1.00$ $\mu\text{мол/л}$).

Средняя концентрация витамина А в кровяном серуме коров варьирует приблизительно подобно тому как и концентрация бета-каротина. Наибольшая средняя концентрация витамина А в кровяном серуме коров утверждена в высокой беременности ($\bar{x} = 1.856 \pm 0.52$ $\mu\text{мол/л}$), а наименьшая в раннем пуерперии ($\bar{x} = 0.988 \pm 0.31$ $\mu\text{мол/л}$) ($p < 0.05$). На основе результатов, полученных в работе можно сделать вывод, что средняя концентрация бета-каротина и витамина А в кровяном серуме коров в высокой беременности и на день отёла в ганицах физиологических стоимостей и в соответствии с стоимостями, цитированных литературе, словно и что две недели после отёла концентрация бета-каротина и витамина А в кровяном серуме коров значительно ниже стоимостей, полученных в высокой беременности и на день отёла и ниже физиологических стоимостей, которые чаще всего приводятся в литературе для этого вида животных.

Ключевые слова: бета-каротин, витамин А, коровы

**PROIZVODNO-EKONOMSKI REZULTATI U PROIZVODNJI
JAJA ZA NASAD KOD NOSILJA *ARBOR ACRES*
PROVENIJENCE***

***PRODUCTION-ECONOMIC RESULTS IN HATCHING EGGS
PRODUCTION FOR ARBOR ACRES LAYING HENS***

M. Blagojević, M. Tešić, Z. Sinovec, T. Palić**

Sprovedena ispitivanja obavljena su na nosiljama Arbor Acres provenijence sa dve ogledne grupe, od kojih je I grupa imala početnu masu od 2,70 kg, a II grupa 2,15 kg. Nosilje pri ulazu u eksploataciju bile su u uzrastu 22 nedelje, ogled je trajao 43 nedelje, a proizvodni rezultati su praćeni i analizirani po periodima eksploatacije: prvi period od 23 do 44 nedelje, drugi period od 45 do 52 nedelje i treći period od 53 do 65 nedelje. Procenat nosivosti i proizvodnja jaja za nasad su statistički značajni kod I grupe u prvom periodu ($p < 0,05$), dok ukupno i u drugom i trećem periodu, kao i kod utroška hrane po nosilji i uginuća nosilja nije bilo značajnosti između grupa ($p > 0,05$). Na osnovu analitičkih kalkulacija utvrđena je veća dobit po jajetu za 6,30 posto kod nosilja I grupe, a pri projekciji proizvodnje jaja za nasad sa težim nosiljama pri ulasku u eksploataciju utvrđena je prelomna tačka rentabilnosti proizvodnje u 2,38 mesecu eksploatacije pri obimu proizvodnje od 68.132 jajeta za nasad.

Ključne reči: nosilje Arbor Acres, početna masa, proizvodni i ekonomski rezultati, prelomna tačka rentabilnosti

Uvod / Introduction

Teška linija u živinarstvu koristi se za proizvodnju živinskog mesa, a proizvodnja priplodnih kokica i jaja za nasad ima veoma važno mesto u daljoj intenzifikaciji živinarske proizvodnje. Samo kvalitetno odgajene kokice mogu da ispunje proizvodni zadatak koji se traži od njih, a to je ukupna proizvodnja jaja po

* Rad primljen za štampu 12. 10. 2005. godine

** Mr Miroslav Blagojević, PP „Živinarstvo“, Topola; dr Milan Tešić, red. profesor, dr Zlatan Sinovec, red. profesor, dr Todor Palić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

useljenoj nosilji 174,4 jaja od čega 165 jaja za nasad, mortalitet kokošaka nosilja na mesečnom nivou bio je 0,8 posto, dok je utrošak hrane po useljenoj nosilji bio do 48 kg ili 286 g po jajetu za nasad. Veoma važan momenat u odgajivanju priplodnih kokica je njihova priprema i polno sazrevanje prilikom ulaska u eksploataciju. Pored određenog broja fizioloških činilaca na polno sazrevanje priplodnih kokica utiče i veliki broj tehnoloških činilaca, od kojih su najznačajniji režim ishrane i dužina trajanja fotoperioda [5, 6, 14]. Menadžment tehnologije proizvodnje priplodnih kokica ogleda se, pre svega, u restriktivnoj kontroli ishrane, kako bi na kraju dvadesete nedelje kokice imale telesnu masu od 2.150 g, a petlići 2.765 grama. Međutim, mnogi stručnjaci u proizvodnji jaja za nasad uočili su pozitivan uticaj telesne mase priplodnih nosilja na proizvodne performanse u toku eksploatacije. Ukoliko se posle desete nedelje povećava količina hrane u odgoju kokica za 5 do 7 g dnevno nastaje povećanje njihove mase za jednu petinu, a uz povećanje fotoperioda intenzivira se i polno sazrevanje [19, 16, 7]. U uslovima nestabilnog tržišta, kakvo je u našoj zemlji, ovaj momenat može da koristi kao jedna od mogućnosti za ublažavanje sezonske proizvodnje i iskoristi pozitivna konjunktura jednodnevnih pilića u prolećnom periodu godine [1, 15, 3]. Cilj ovog rada je da se ukaže na pozitivan uticaj mase kokica na proizvodno-ekonomske rezultate u proizvodnji jaja za nasad.

Materijal i metod / *Materials and methods*

Za predviđena istraživanja organizovan je ogled sa dve grupe nosilja *Arbor Acres*, od kojih su u oglednoj grupi (I) bile nosilje sa većom masom (2,70 kg), a u kontrolnoj grupi (II) sa nižom masom (2,15 kg). Ulazni broj nosilja pri otpočinjanju ogleda bio je 1.188 u I i 990 u II grupi. Odnos polova u I grupi na početku ogleda bio je 9,13, a u II grupi 9,08. Ogled je otpočeo sa navršenim uzrastom nosilja od 22 nedelje, i trajao je do uzrasta od 65 nedelja. Tokom ogleda vođena je evidencija i praćeni su relevantni podaci za obračun proizvodnih rezultata. Kod obe grupe praćenje i analiza podataka obavljani su u tri faze, odnosno perioda:

- prvi period od 23. do 44. nedelje,
- drugi period od 45. do 52. nedelje,
- treći period od 53. do 65. nedelje.

Dobijeni podaci obrađeni su primenom odgovarajućih statističkih metoda, a ocena značajnosti razlika između grupa obavljena je na osnovu t-testa [21]. Tendencija kretanja procenta nosivosti obavljena je primenom linearne i kvadratne funkcije trenda. Primenom analitičkih kalkulacija izračunati su ekonomski pokazatelji (ekonomičnost, rentabilnost, cena koštanja i dobit), a upotrebom metoda granične tačke rentabilnosti i ostvarenih rezultata I grupe urađena je projekcija proizvodnje za farmu kapaciteta od 1500 nosilja.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Proizvodnja jaja i nosivost / Egg production and performance

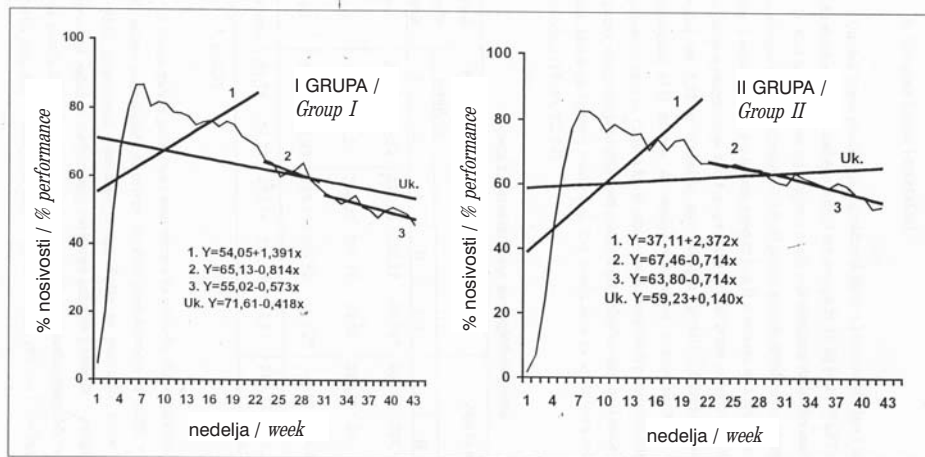
Proizvodnja jaja po useljenoj nosilji, kao proizvod ukupne proizvodnje po periodima ispitivanja, predstavlja kvalitativan pokazatelj koji može međusobno da se poredi između grupa, i na osnovu razlike da se donesu merodavne ocene o uticaju mase na proizvodne performanse. Ukupna proizvodnja jaja po useljenoj nosilji u toku perioda eksploatacije od 43 nedelje kod nosilja I grupe bila je 187,70 jaja, a kod nosilja II grupe 183,71, dok kod jaja za nasad iznosi 178,89 i 174,40 jaja respektivno (tabela 1). Značajna razlika ukupne proizvodnje i proizvodnje jaja za nasad ostvarena je u prvom periodu kod nosilja I grupe i trećem periodu kod nosilja II grupe ($p < 0,05$), dok u drugom periodu i u toku ukupnog perioda eksploatacije nije bilo značajnosti između grupa ($p > 0,05$). Slične rezultate u broju i masi jaja u svojim istraživanjima navode i drugi autori [10, 11, 17].

Tabela 1. Proizvodnja jaja po nosilji
Table 1. Egg production per laying hen

Period ekspanzije / Period of expansion	Ukupna proizvodnja / Total production				Jaja za nasad / Hatching eggs			
	I grupa / Group I		II grupa / Group II		I grupa / Group I		II grupa / Group II	
	Σ	SD	Σ	SD	Σ	SD	Σ	SD
Prvi / First	107,52*	8,01	94,64	8,89	100,24*	8,57	88,92	9,02
Drugi / Second	34,36	0,31	36,52	0,38	33,76	0,46	35,00	0,53
Treći / Third	45,82	5,49	53,55	6,48	44,89	6,11	50,68	6,87
Ukupno / Total	187,70	6,86	183,71	7,10	178,89	7,05	174,40	7,34

* $p < 0,05$

Intenzitet nosivosti kod nosilja I grupe u toku eksploatacionog perioda neznatno je veći (63,18%) u odnosu na nosilje II grupe (62,69%), s tim što tendencija kretanja nosivosti kod I grupe ima nedeljnu stopu pada od 0,42 posto, a II grupa stopu rasta od 0,14 posto (grafikon 1). Maksimalan nivo nosivosti kod I grupe dostignut je u petoj nedelji eksploatacije (86,62%), za razliku od II grupe koja dostiže maksimum u devetoj nedelji (82,51%). Kod obe grupe nosilja u prvom periodu proizvodnja ima tendenciju rasta, a u drugom i trećem periodu proizvodnja ima pad. Prosečna nosivost kod nosilja I grupe u prvom periodu (72,30%) statistički je značajna u odnosu na grupni prosek ($p < 0,05$), za razliku od nosilja II grupe (64,08%) gde nema značajnosti ($p > 0,05$). Veći intenzitet nosivosti kod težih nosilja za oko 6 posto navode autori u radu [17], a drugi autori u svome radu [12, 13] ustanovili su pozitivnu korelaciju između ulazne mase i procenta nosivosti, odnosno mase jaja ($p < 0,05$).



Grafikon 1. Kretanje procenta nosivosti po nedeljama eksploatacije
 Graph 1. Percent egg production per week of exploitation

Utrošak hrane i mortalitet / Feed utilization and mortality

Utrošak hrane predstavlja najznačajniji input u proizvodnji jaja i tokom ukupnog perioda eksploatacije po useljenoj nosilji utrošeno je 51,76 kg kod I i 51,37 kg kod II grupe (tabela 2). Kod utroška hrane po useljenoj nosilji nije utvrđena statistička značajnost između grupa ukupno i po periodima ($p>0,05$). U prvom periodu utvrđena je značajna razlika kod I grupe u odnosu na II, a u trećem periodu kod II u odnosu na I grupu ($p<0,05$), dok na nivou ukupne eksploatacije kod I grupe manji utrošak hrane ukupno od 3,87 g i po jajatu oplođenom za nasad od 5,22 g statistički nije značajan ($p>0,05$). Određeni autori u svojim istraživanjima [12] navode da nosilje veće mase u proseku troše više hrane po hranidbenom danu za 12 g, a što je zahtev za većim energetske potrebama za održavanje života. Međutim, zbog veće produktivnosti nosilja u toku eksploatacije neki autori dokazuju da je utrošak hrane po jajčanoj masi manji kod nosilja koje su imale veću masu pri ulazu u proizvodnju [19, 20, 22, 23].

Stalna pažnja genetičara i selekcionara da pronađu što produktivnije provenijencije, kao i zahtev proizvođača da ostvare što veću produktivnost po nosilji, vrlo često dovodi do pada zdravstvene otpornosti živine. Pošto se patologija živine u industrijskoj proizvodnji nalazi u međusobnoj zavisnosti između genetskih i paragenetskih faktora, otuda pitanje kontrole zdravlja jata postaje sve više aktuelizovano. Menadžment kontrole zdravlja jata, kao i tehnološki činioci (način držanja, ishrana i zoohigijenski uslovi na farmi) bitno utiču na pojavljivanje bolesti i smanjenje uginuća živine na farmi. Stoga, održavanje tolerantnog nivoa

uginuća roditelja na nivou tehnološkog standarda omogućava veću profitabilnosti na farmi, o čemu govore i istraživanja mnogih autora [5, 2, 10, 8]. U našim istraživanjima uginuće nosilja i petlova u I grupi bilo je 7,66 posto, a u II grupi 8,82 posto (tabela 3). Veći procenat uginuća u II grupi za 1,16 posto statistički nije značajan ($p>0,05$). U prvom i drugom periodu manje je uginuće nosilja kod I grupe, a u trećem periodu kod nosilja II grupe, i te razlike statistički nisu značajne ($p>0,05$). Varijabilnost uginuća veća je kod I grupe. Najčešći uzrok uginuća nosilja kod obe grupe izazvan je pojavljivanjem *prolapsus cloacae* i *egg peritonitis-a*. Međutim, neki autori [18] u svojim istraživanjima navode da masa nosilja pri ulasku u proizvodnju ne utiče na mortalitet ($p<0,05$), dok drugi autori [9] konstatuju veći mortalitet kod lakših nosilja (7,5%) u odnosu na teže (6,9%), ali razlika između grupa statistički nije značajna ($p>0,05$).

Tabela 2. *Utrošak hrane kod oglednih grupa*
Table 2. *Feed utilization in experimental groups*

Period eksploatacije / Period of exploitation	Po useljenoj nosilji / Per new laying hen, kg		Ukupno jaja / Total eggs, g			Jaja za nasad / Hatching eggs, g		
	I	II	I	II	I-II	I	II	I-II
Prvi / First	26,57	26,52	247,12	280,22	-33,10*	265,06	298,92	-33,86*
Drugi / Second	9,63	9,56	280,27	261,77	18,50	285,25	261,77	23,48
Treći / Third	15,56	15,45	339,59	288,52	51,07*	346,62	304,85	41,77*
Ukupno / Total	51,76	51,37	275,76	279,63	-3,87	289,33	294,55	-5,22

* $p<0,05$

Tabela 3. *Procenat uginuća po periodima ispitivanja* /
Table 3. *Percent mortality per investigation period*

Period / Period	I grupa / Group I				II grupa / Group II			
	n	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	SD	CV	n	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	SD	CV
Prvi / First	15	$3,72 \pm 0,18$	2,08	72,04	17	$4,19 \pm 0,09$	1,45	34,60
Drugi / Second	6	$1,29 \pm 0,21$	1,25	96,77	7	$2,36 \pm 0,28$	1,98	83,89
Treći / Third	12	$2,73 \pm 0,11$	1,29	47,25	8	$2,27 \pm 0,13$	1,55	17,57
Ukupno / Total	33	$7,66 \pm 0,06$	2,05	26,96	32	$8,82 \pm 0,05$	1,55	17,57

Ekonomičnost proizvodnje / Economic efficiency of production

Osnovni cilj svakog farmera je da ostvari što veći obim proizvodnje, odnosno jaja za nasad uz raspoložive troškove proizvodnje [15, 4]. Za utvrđivanje ekonomskog efekta proizvodnje sastavljene su analitičke kalkulacije na osnovu stvarnog utroška kod I i II grupe (tabela 4). Kod I grupe ostvareni su povoljniji ekonomski rezultati i dobit po jajetu veća je za 6,30 posto.

Tabela 4. Kalkulacija proizvodnje jaja po useljenoj nosilji
Table 4. Calculated egg production per new laying hen

Red. broj / Number	Elementi / Elements	I grupa / Group I		II grupa / Group II	
		EUR	%	EUR	%
1.	Vrsta troškova / <i>Expenses</i>				
	– kokice / <i>hens</i>	8,250	40,00	8,250	40,30
	– hrana / <i>feed</i>	9,258	44,88	9,223	45,06
	– vet. usluge / <i>veterinary services</i>	0,232	1,12	0,226	1,10
	– energija / <i>energy</i>	0,120	0,58	0,116	0,57
	– ambalaža / <i>packaging</i>	1,872	9,07	1,763	8,61
	– amortizacija / <i>amortization</i>	0,328	1,60	0,325	1,59
	– rad / <i>labor</i>	0,568	2,75	0,568	2,77
	Ukupno / <i>Total</i>	20,628	100,00	20,471	100,00
2.	Vrednost proizvodnje / <i>Production value</i>				
	– jaja za nasad / <i>hatching eggs</i>	30,997	96,99	30,254	97,44
	– jaja za potrošnju / <i>eggs for consumption</i>	0,963	3,01	0,794	2,56
	Ukupno / <i>Total</i>	31,960	100,00	31,048	100,00
3.	Finansijski rezultat / <i>Financial results</i>	11,332	–	10,577	–
4.	Ekonomičnost proizvodnje / <i>Economic efficiency of production</i>	1,549		1,517	
5.	Rentabilnost proizvodnje / <i>Profitability of production</i>	35,46		31,05	
6.	Dobit po jajetu / <i>Profit per egg</i>	0,0641		0,0603	

Živinarstvo Srbije karakteriše sezonska proizvodnja, odnosno potražnja za jednodnevnim pilićima najveća je u početnom delu godine, zatim opada i u letnjem periodu godine je najniža i iznosi oko 45 posto, potom raste u jesenjem delu do 90 posto i onda opada u toku zime na oko 50 posto. Ovakva kriva potražnje jednodnevnih pilića konstruisana je na osnovu petnaestogodišnjeg ispitivanja tržišta koje je obavila Poslovna zajednica živinara Srbije. Imajući u vidu činjenicu da je tržište jednodnevnih pilića jedini i najbolji indikator za otpočinjanje i bavljenje proizvodnjom jaja za nasad, s toga je sasvim normalno da svaki farmer planira i organizuje proizvodnju jaja za nasad u zavisnosti od potražnje na tržištu, i na taj način da pokuša da uskladi najveću moguću produkciju jata sa aktuelnom potražnjom. Vodeći računa o ovim momentima farmeri u našim uslovima mogu da očekuju znatno višu cenu jaja za nasad, pa samim tim i povoljniji finansijski efekat

u proizvodnji. Takođe, u periodu nekonjunktne jednodnevnih pilića, prestrukturiranjem proizvodnje mogu da poboljšaju proizvodni portfolio i na taj način poboljšaju efikasnost korišćenja osnovnih sredstava.

Uvažavajući stanje u živinarstvu Srbije, kao i konjunkturu jednodnevnih pilića u početnom delu godine, na osnovu pozitivnih rezultata ostvarenih u I grupi uradili smo model proizvodnje jaja za nasad na osnovu navedenih elemenata:

- kapacitet farme je 1 500 nosilja,
- eksploatacija nosilja je 24 nedelje u periodu januar-juli tekuće godine,
- prosečan procenat nosivosti je 72,30 posto,
- proizvodnja je planirana na osnovu T-koeficijenta,
- mortalitet kokošaka je 3,72 posto,
- otkupna cena jaja za nasad je 0,20 eura,
- varijabilni troškovi po jajetu su 0,0627 eura.

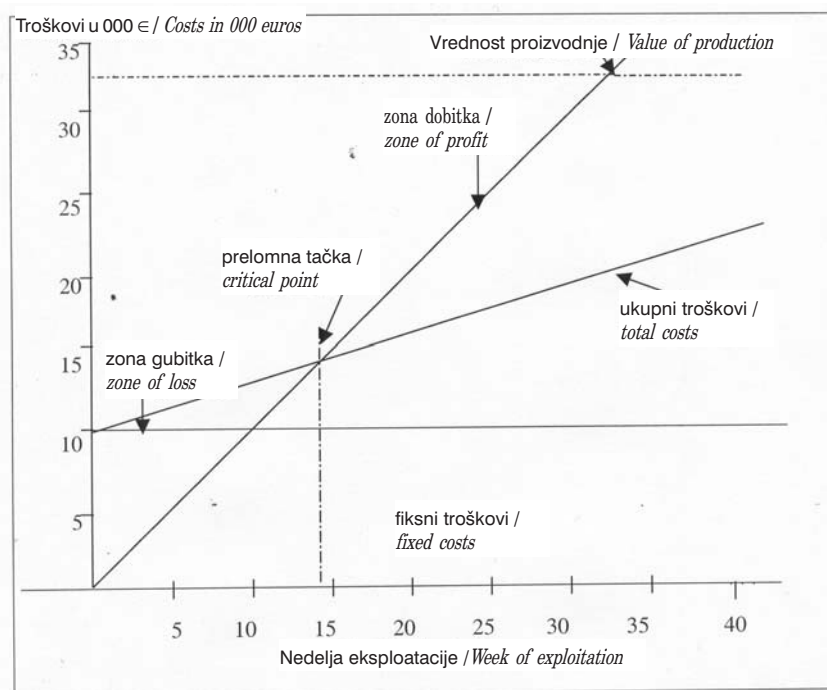
Primenom metoda marginalnih troškova uz korišćenje navedenih naturalnih i vrednosnih elemenata, izračunata je planirana vrednost proizvodnje za farmu kapaciteta 1 500 nosilja (tabela 5). Ukupna vrednost proizvodnje od prodaje jaja za nasad i jaja za potrošnju planirana je u iznosu od 33.326,56 eura, a marginalna i poslovna dobit u iznosu od 22.646,63 i 13.483,23 eura.

Tabela 5. Projekcija proizvodnje jaja za nasad za farmu kapaciteta 1.500 nosilja
Table 5. Projected hatching egg production for farm with capacity of 1,500 laying hens

Red. broj / Number	Elementi / Elements	Broj jaja / Number of eggs	Vrednost, eura / Value, euros	Struktura, % / Structure, %
1.	Vrednost proizvodnje / <i>Production value</i>			
	– jaja za nasad / <i>hatching eggs</i>	162.936,67	32.587,33	97,78
	– jaja za potrošnju / <i>eggs for consumption</i>	7.392,28	739,23	2,22
	Ukupno / <i>Total</i>	170.328,95	33.326,56	100,00
2.	Varijabilni troškovi / <i>Variable costs</i>		10.679,63	32,05
3.	Marginalna dobit / <i>Marginal profit</i>		22.646,63	67,95
4.	Fiksni troškovi / <i>Fixed costs</i>		9.163,70	27,50
5.	Poslovna dobit / <i>Business profit</i>		3.483,23	40,45
6.	Prelomna tačka proizvodnje jaja / <i>Critical point of egg production</i>		8.131,53	–
7.	Prelomna tačka rentabilnosti / <i>Critical point of profitability</i>		3.630,67	–

8.	Margina sigurnosti, % / <i>Safety margin, %</i>		62,09	–
----	--	--	-------	---

Prelomna tačka rentabilnosti pokazuje momenat kada farma izlazi iz zone gubitaka i ulazi u zonu dobiti, odnosno da bi farma bila solventna mora ostvariti prihod od 13.630,67 EUR-a ili proizvodnju jaja za nasad od 68.131,53 komada (grafikon 2). Na osnovu date projekcije vidi se da kritičnu tačku rentabilnosti farma dostiže za 2,38 meseci eksploatacije. Margina sigurnosti pokazuje visoku bezbednost za proizvođača, tako da farma neće da uđe u zonu gubitaka pod uslovom da nastane smanjenje planiranog obima proizvodnje jaja i vrednosti proizvodnje do 62,09 posto. U svojim istraživanjima [1, 4] autori ukazuju na značaj in-



Grafikon 2. Kretanje rentabilnosti projektovane proizvodnje jaja za nasad
Graph 2. Feasibility of projected hatching egg production

Zaključak / Conclusion

vesticionih ulaganja u odnosu na planiranu dinamiku proizvodnje i konstatuju da uzimanje u obzir sezone proizvodnje predstavlja neophodan uslov za obezbeđivanje ekonomski optimalne proizvodnje.

Nosilje sa većom početnom masom pri uzlazu u proizvodnju (I grupa) ostvarile su značajno veću ukupnu proizvodnju jaja za nasad po ulaznoj nosilji u prvom periodu eksploatacije od 23. do 44. nedelje u odnosu na lakše nosilje ($p < 0,05$), dok razlike u ukupnom broju i broju jaja za nasad u toku perioda eksploatacije između grupa statistički nisu bile značajne ($p > 0,05$). Procenat nosivosti u toku eksploatacionog perioda između grupa nije se značajno razlikovao ($p > 0,05$), s tim što su nosilje sa većom ulaznom masom ostvarile značajnu razliku u procentu nosivosti u prvom periodu od 23. do 44. nedelje ($p < 0,05$). Utrošak hrane po useljenoj nosilji i mortalitet nosilja između grupa statistički nisu značajni tokom ukupnog perioda eksploatacije ($p > 0,05$), a razlika u broju utroška hrane po jedinici proizvoda je znatno manja kod težih nosilja u periodu od 23. do 44. nedelje ($p < 0,05$). Analitičkim kalkulacijama utvrđen je pozitivan efekat kod obe grupe, s tim što je ostvarena dobit po jajetu veća za 6,30 posto kod nosilja I grupe. Prelomna tačka rentabilnosti proizvodnje jaja za nasad za farmu kapaciteta 1 500 nosilja sa

Literatura / References

ulaznom masom od 2,70 kg dostiže se za 2,38 meseci, odnosno projektovana proizvodnja od 13 630,07 eura dostiže se pri fizičkom obimu proizvodnje od 68 132 jajeta za nasad.

1. Adić M.: Ekonomska efikasnost investicija u zavisnosti od tehničko-tehnoloških rešenja projekta. *Peradarstvo* 11, 3-11, 1976. - 2 Asaj A.: Higijensko sanitarne mere u peradarstvu. Zbornik radova peradarsko-živinarski dani, Ljubljana, 325-327, 1985. - 3. Blagojević M. Uticaj početne telesne mase priplodnih kokošaka nosilja ARBOR ACRES na proizvodne i ekonomske rezultate. Magistarska teza, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2003. - 4. Botsford H.: The economics of poultry management. John Wiley et Sons, Inc., New York, 1952. - 5. Kraljevski P.: Prilog poznavanju zdravstvene problematike u gajenju komercijalnih nosilja SSL i HISEX. Zbornik radova peradarski dani, Opatija, 283-287, 1978. - 6. Lewis P. D., Morris T. R.: Acomparasion of the effects of age at photostimulation on sexual maturity and egg production. *W. Poult. Sci. J.* 6, 119-128, 1998. - 7. Lewis P. D., Perry C. G., Morris T. R.: Light intensity and age at first egg in pullets. *Poult. Sci.* 78, 1227-1231, 1999. - 8. Nikolovski J., Krečov M., Blažin Vesna, B. Bošković: Zdravstvena zaštita živine reprodukcioni centara na teritoriji SR Srbije van pokrajina. Zbornik referata i priopćenja, Supetar, 35-37, 1986. - 9. Norskog A.W. et D.M. Briggs: The body weight egg production correlations between egg paradox. *Poult. Sci.* 47, 498-504, 1968. - 10. Palić T., Matejić Milanka, Nikolovski J., Krečov M.: Oboljevanje živine koja su registrovana na teritoriji Srbije van pokrajina od 1975. do 1985. godine. Zbornik radova VI savetovanja živinara Srbije, Novi Sad, 145-147, 1985. - 11. Petrović V., Apostolov N.: Uticaj nekih fenotipskih osobina na proizvodna svojstva hibridnih nosilja WARREN-SSL. *Peradarstvo* 4, 67-69, 1976. - 12. Reinhart S. S., Jerome F. M.: The effect of seection for body weihgt and rate of production in feed efficiency of egg production. *Poult. Sci.* 49, 1178-1183, 1997. - 13. Shivaprasad H. L., Jaap R. G.: Egg and yolk production as infenenced by liver weight liver lipid and plasma lipid in three strains of small bodyed shichens. *Poult. Sci.* 5, 1384-1390, 1979. - 14. Sinovec Z., Ševković N.: Praktikum iz ishrane. Veterinarski fakultet, Beograd, 1995. - 15. Tešić M.: Ekonomika i organizacija stočne proizvodnje i zdravstvene zaštite. Veterinarski fakultet, Beograd, 1995. - 16. Tešić M., Ignjatović P., Petrović M., Mirilović M., Miletić-Žugić Gordana: Control and management of a light regime is isabrown lens raising and its influence on production results and the eggs quality. *Proceedings 99 Inter. Conf. and Exhib. on*

Vet. Poult., Beijing, China, 319-321, 1998. - 17. Tolomir Nataša, Anokić H., Pupovac Snježana, Mitrović S., Mašić B.: Fenotipska korelacija između telesne mase kokoški teškog tipa i dinamike nošenja. Nauka u živinarstvu 3-4, 141-146, 1997. - 18. Tuller R: Influence of housing according to body weight on laying performance. Arch. für Geflügelk 38, 109-115, 1974. - 19. Filev K., Šokarovski J.: Živa masa kokica na 18 nedelja kao faktor za proizvodna svojstva u prvoj fazi nosivosti. Zbornik radova peradarsko-živinarski dani, Ljubljana, 309-311, 1985. - 20. Štajber L., Žigić Ljubica, Pavlovski Zlatica, Marinković V., Mašić B.: Uticaj ujednačavanja jata po telesnoj težini na produktivnost kokoški teških rasa. Peradarstvo 3, 62-64, 1976. - 21. Hadživuković S.: Statistički metodi s primenom u poljoprivrednim istraživanjima. Univerzitet Novi Sad, Novi Sad, 1969. - 22. Hurnik J.F., Sammers J. D., Walker J. R., Szkotinicki W.: Production traits influencing the individual feed conversion ratio. Poult. Sci. 56, 912-917, 1977. - 23. Chrappa V.: The relation between egg production, body weight and feed consumption in lens of various breeds. Živoč, Vyroba 12, 889-894,

ENGLISH

PRODUCTION-ECONOMIC RESULTS IN HATCHING EGGS PRODUCTION FOR *ARBOR ACRES* LAYING HENS

M. Blagojevic, M. Tesic, Z. Sinovec, T. Palic

Investigations were carried out on *Arbor Acres* laying hens divided into two experimental groups, with group I having an initial mass of 2.70 kg, and group II of 2.15 kg. On entering exploitation, the laying hens were 22 weeks old and the experiment lasted 43 weeks. The production results were followed and analyzed according to the periods of exploitation: the first period was from 23-44 weeks, the second period from 45-52 weeks, and the third period from 53-65 weeks. The percent egg-laying ability and hatching egg production were statistically important in group I in the first period ($p < 0.05$), while there were no statistically significant differences between groups ($p > 0.05$) totally in the second and in the third periods, or in feed utilization per laying hen or mortality of laying hens. Based on analytical calculations, a 6.30% higher profit was established per egg for laying hens of group I, and a critical point of production feasibility was determined in a projection of hatching egg production with laying hens of bigger initial mass in the 2.38th month of exploitation, at a production scale of 68,132 hatching eggs.

Key words: *Arbor Acres* laying hens, initial mass, production and economic results, critical

РУССКИЙ

ПРОИЗВОДСТВЕННО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЯИЦ (ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ ДЛЯ ВЫСИЖИВАНИЯ) У НЕСУШЕК *ARBOR ACRES* ПРОВЕНИЕНЦЕ

М. Благоевич, М. Тешич, З. Синовец, Т. Палич

Проведённые испытания совершены на несушках *Arbor Acres* провен-
иенце с двумя опытными группами, из которых I группа имела начальную массу от
2,70 кг, а вторая группа 2,15 кг. Несушки при входе в эксплуатацию имели 22
недели, опыт продолжался 43 недели, а производственные результаты слезены и
анализированы по периодам эксплуатации: первый период от 23 до 44 недели,
второй период от 45 до 52 недели и третий период от 53-65 недель. Процент но-
скости и производство яиц (домешней птицы для высиживания) статистически
значительны у I группы в первом периоде ($p < 0,05$), пока совокупно и во втором и
третьем периоде, словно и у затраты корма по несушке и околениа несушек не было
значительности между группами ($p > 0,05$). На основе аналитических калькуляций
утверждена бóльшая прибыль по яйцу за 6,30% у несушек I группы, а при проекции
производства яиц (домешней птицы для высиживания) с более тяжёлым несушками
при входе в эксплуатацию утверждена переломная точка рентабельности произ-
водства в 2,38 месяце эксплуатации при объёме производства от 68.132 яйца
(домашней птицы для высиживания).

Ключевые слова: несушки *Arbor Acres*, начальная масса, производственные и
экономические результаты, переломная точка рентабельности

**VEROTOKSIČNA *ESCHERICHIA COLI* – PATOGENI AGENS
KOJI UGROŽAVA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA I LJUDI***
***VEROTOXIN-PRODUCING ESCHERICHIA COLI – AN EMERGING
PATHOGEN WHICH ENDANGER THE HEALTH OF PEOPLE AND
ANIMALS***

S. Lazić, M. Čobeljić, B. Dimić**

Poslednjih dvadeset godina pojavila se nova grupa patogenih agensa-verotoksične Escherichiae coli (VTEC), koji uzrokuju sve veći broj crevnih zaraznih bolesti ljudi i životinja. Rezervoar VTEC je intestinalni trakt domaćih životinja, pre svega preživara. Smatra se pritom da su goveda glavni rezervoar VTEC jer je najveći broj epidemija izazvanih ovim bakterijama nastao preko mlevenog goveđeg mesa (hamburgeri). Svinje su takođe značajan rezervoar VTEC infekcija ljudi, pri čemu se ovi patogeni agensi češće izoluju iz obolelih životinja u odnosu na zdrave jedinke, a najčešće iz svinja sa kliničkom slikom edemske bolesti. Istraživanja na našem geografskom području takođe su pokazala da su domaće životinje značajan rezervoar VTEC. Uprkos tome, sporadična oboljenja ljudi izazvana ovim agensima su retka, a epidemijske pojave još nisu ustanovljene. Ovakva osobenost VTEC infekcija u našoj zemlji nameće potrebu daljih epidemioloških i epizootičkih istraživanja.

Ključne reči: verotoksin, Escherichia coli, VTEC, domaće životinje, rezervoar

Uvod / Introduction

Verotoksična *Escherichia coli* (VTEC) jedna je od šest grupa patogenih bakterija ove vrste, uzročnika crevnih zaraznih bolesti ljudi i životinja. Ova grupa *E. coli* je identifikovana 1977. godine, kada su Konowalchuk i sar. otkrili da

* Rad primljen za štampu 19. 9. 2005. godine

** Major mr sc med. dr Srđan Lazić; pukovnik dr sc med. Miloje Čobeljić, profesor, Institut za epidemiologiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd; dr vet. med. Bane Dimić, Veterinarska stanica „Beograd“, Beograd

toksin filtrata kultura nekih sojeva *E. coli* ispoljava citotoksično dejstvo na ćelije Vero kulture tkiva [1]. Novootkriveni toksin je dobio ime verotoksin, a sojevi *E. coli* koji ga stvaraju označeni su kao VTEC. Verotoksin je poznat i pod nazivom shiga-toksin (ST) jer ga, pored *E. coli*, stvara i *Shigella dysenteriae* 1 (*Sh. shiga*), pa je alternativni naziv za VTEC – „shiga-toksin produkujuće *E. coli*” (STEC). Na osnovu dosadašnjih ispitivanja uočeno je da sojevi VTEC, izolovani iz fecesa obolelih ljudi, pored stvaranja VT, ispoljavaju, i neke osobine koje se retko nalaze kod ostalih VTEC sojeva: svojstvo destrukcije mikrovilusa enterocita (*attaching and effacing lesion* - A/E lesion), stvaranje enterohemolizina, posedovanje plazmida veličine 60 megadaltona (MDa) i pripadnost karakterističnim serološkim grupama (O26, O55, O103, O111, O113, O128, O157 i druge). Sojevi sa ovakvim osobinama označeni su terminom enterohemoragijske *E. coli* (EHEC). U grupi EHEC najpoznatije su one koje pripadaju serograpi O157 (posebno serotipu O157:H7), jer su najčešći uzročnici sporadičnih i epidemijskih enterokolitisa zbog izrazitih virulentnih svojstava [2]. U poslednje vreme sve veći značaj pridaje se i VTEC sojevima koji ne pripadaju serograpi O157 (takozvani non-O157) [3]. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO), postoji više od 100 non-O157 serotipova VTEC, koji mogu da izazovu infekciju ljudi [4].

Patogeneza oboljenja izazvanih bakterijom VTEC / *Pathogenesis of diseases caused by VTEC*

Verotoksin (VT) je glavni činilac virulencije ovih *E. coli*. Familija VT (ST) obuhvata dve strukturne i antigenske varijante toksina VT1(ST1) i VT2 (ST2). U okviru VT2 do danas je otkriveno i nekoliko podvarijanti (VT2v, VT2c, VT2d, VT2e, VT2f), od kojih su neke češće prisutne kod sojeva izolovanih iz ljudi, a neke u sojevima izolovanim iz životinja. VT je citotoksin koji uzrokuje smrt epitelnih ćelija creva, kao i endotelnih ćelija sitnih krvnih sudova creva, bubrega, mozga i drugih organa. Ovaj efekat nastaje zbog blokade sinteze proteina na nivou ribozoma, kao i zbog indukcije programirane ćelijske smrti – apoptoze. Nakon dospevanja u intestinalni trakt VTEC prijanjaju za apikalni deo enterocita po mehanizmu koji je sličan onome kod infekcija izazvanih klasičnim enteropatogenim *E. coli* (EPEC): adherencija se ostvaruje pomoću proteina spoljašnje membrane – intimina koji omogućuje pripajanje bakterijske ćelije za proteinski receptor označen kao *Tir* (translocirani intiminski receptor) na površini enterocita, koji potiče iz bakterije koja ga prethodno ugrađuje u enterocit. Na mestu pripoja bakterije dolazi do iščezavanja mikrovilusa (A/E lesions), sa reorganizacijom i nakupljanjem aktinskih filamenata u enterocitu ispod mesta pripoja bakterije. Posle toga, izlučeni VT se vezuje za određene receptore (globotriaolilceramid, globotetraolilceramid - Gb3, Gb4) na površini epitelnih ćelija i nakon internalizacije uzrokuje smrt ćelija po napred navedenom mehanizmu. Dok je Gb3 glavni receptor za VT, podvarijanta VT2e se vezuje za Gb4. VT2e je uglavnom udružen sa edemskom bolešću svinja češće nego sa bolešću ljudi, mada su sojevi koji ispoljavaju samo ovu pod-

varijantu izolovani i iz pacijenata sa hemolitičko-uremijskim sindromom (HUS) ili dijarejom [5, 6]. Nakon što dospe u unutrašnje organe putem sistemske cirkulacije VT ispoljava citotoksični efekat i na endotelnim ćelijama tih organa, pre svega bubrega, kada nastaju komplikacije infekcija izazvanih verotoksičnom *E. coli* kao što su HUS i trombotična trombocitopenijska purpura (TTP) kod ljudi ili edemska bolest kod prasadi. Infekcije izazvane VTEC mogu različito da protiču kao asimptomatske, zatim kao nespecifične dijareje ili tipični hemoragijski enterokolitis sa ili bez naknadnog razvoja već navedenih komplikacija. Letalitet kod hemoragijskog enterokolitisa najčešće je 1 do 10 posto, kod HUS-a 3 do 5 posto [7], a u slučaju edemske bolesti prasadi izuzetno je visok (najčešće više od 50 posto).

Epidemiološke i epizootiološke karakteristike VTEC infekcija / *Epidemiological and epizootiological features of VTEC infections*

Oboljenja izazvana ovim agensima spadaju u takozvane „novonastale zarazne bolesti” (*emerging infections*), jer se za njih nije znalo do 1983. godine. Kada se neki mikroorganizam označi kao „novi patogen” postavlja se pitanje da li je on odavno prisutan, ali postojećim metodama nije mogao da se dijagnostikuje, ili se iznenada pojavio. Infekcije izazvane ovim agensom dešavale su se, verovatno, i ranije ali su bile retke. To sigurno važi za epidemijske pojave, jer one nisu mogle da protiču nezapaženo, s obzirom na upadljivu kliničku sliku sa HC i HUS-om kao pratećom manifestacijom. U prilog ovome govore i rezultati istraživanja koja su sprovedena u Velikoj Britaniji, Kanadi i SAD. Naime, nakon što je *E. coli* O157:H7 identifikovana kao uzročnik HC u Centru za kontrolu bolesti (CDC, Atlanta, SAD), testirano je više od 3 000 sojeva *E. coli* iz perioda 1973. do 1983. godine i samo jedan izolat pripadao je serotipu O157:H7 [8]. U Kanadi od 2000 sojeva ove bakterije iz perioda 1978. do 1982. godine, serotip O157:H7 izolovan je iz fecesa svega šest pacijenata, od kojih je dvoje imalo hemoragijski kolitis. U istom periodu, u Velikoj Britaniji je Centralna laboratorija (Public Health Laboratory) prikupila 15 000 izolata *E. coli*, od kojih je samo jedan bio O157:H7, dok ni u jednoj od 161 epidemije enterokolitisa nije izolovan ovaj serotip [8, 9]. Sve ovo je ukazivalo na činjenicu da je osamdesetih godina prošloga veka došlo do „invalazije” sojeva serotipa O157:H7. Do sada nije razjašnjeno šta je doprinelo naglom pojavljivanju sporadičnih i epidemijskih formi oboljenja izazvanih VTEC, uglavnom serološkom grupom O157 (pre svega, serotipom O157:H7), najpre na severnoameričkom kontinentu, a zatim u Zapadnoj Evropi (naročito u Velikoj Britaniji), Australiji i Japanu. Najmasovnija epidemija izazvana VTEC sojem serotipa O157:H7, izbila je jula 1996. godine u japanskom gradu Sakai, kada je obolelo oko 6 500 osoba, uglavnom dece školskog uzrasta [10]. Ustanovljeno da je zaražavanje nastalo preko jedne vrste salate („radish sprout”) koja je bila kontaminisana ovim serotipom. Procenjuje se da *E. coli* O157:H7 godišnje uzrokuje više od 73 000 slučajeva oboljenja kod ljudi sa oko 60 smrtnih slučajeva u SAD. VTEC su najčešći uzročnik hemoragijskog enterokolitisa u ovoj zemlji sa zas-

tupljenošću od 15 do 18 posto. Ovaj agens se ubraja u tri vodeća uzročnika bakterijskih enterokolitisa u SAD, Kanadi, Velikoj Britaniji, Australiji, Belgiji, Nemačkoj i Japanu. Upadljiva je dominacija infekcija izazvanih verotoksičnom *E. coli* u ovim razvijenim državama, gde se beleži incidencija od 2,1 do 8 na 100 000 stanovnika u Severnoj Americi [8], 0,83 na 100 000 u Engleskoj i Velsu [11], da bi u nekim delovima Škotske dostigla maksimum od 4,2 do 9,1 na 100 000 stanovnika u 1990. godini [12]. I u Velikoj Britaniji VTEC su najčešći uzročnici hemoragijskog kolitisa, budući da su u etiologiji ovog oboljenja zastupljene sa 30 do 74 posto [8]. Od svih izolovanih VTEC u pomenutim zemljama, najčešće je identifikovan serotip O157:H7, koji zahvata, prema nekim podacima, više od 90 posto svih izolata. On se, takođe, mada ređe, izoluje i u drugim zemljama (Belgija, Nemačka, Italija, Japan, Kina i drugim).

Za sada su infekcije izazvane verotoksičnom *E. coli* znatno ređi uzročnici sporadičnih i epidemijskih oboljenja u zemljama u razvoju. U Brazilu, Indiji, Čileu, Koreji i Tajlandu postotak izolacije ovih patogena je najčešće niži od 1 posto [8]. U našem istraživanju 1993. godine u Beogradu od 2683 akutne dijareje, VTEC smo izolovali u svega 8 (0,3%) [13], a prva infekcija izazvana serogrupom O 157 registrovana je 2001. godine [14].

Na osnovu postojećih podataka mogu da se istaknu neke osobenosti VTEC infekcija ljudi. Infektivna doza, potrebna za nastanak oboljenja je, slično šigelama, mala (10-100 bakterija) [15, 16]. Na to posredno ukazuju i podaci o kontaktnom prenošenju infekcije [8, 17], kao i o hidričnim VTEC infekcijama, odnosno epidemijama [18], kada je infektivna doza manja nego kada je u pitanju hrana kao put prenošenja. U većini epidemija izazvanih ovim uzročnicima put prenošenja bilo je goveđe meso, najčešće mleveno u vidu hamburgera. Ono je verovatno, kontaminisano u toku obrade, i potom sa neuništenim bakterijama, jer je poznata navika anglosaksonskog stanovništva da koristi meso nedovoljno tretirano termički (engl. „rare“). Verovatno je to jedan od razloga zašto su VTEC infekcije najveći zdravstveni problem upravo u ovim zemljama. Pored hrane životinjskog porekla, nekada je i povrće put prenošenja zaraze [19]. Ljudi se, dakle, najčešće inficiraju kontaminisanom hranom, vodom [20] ili kontaktom sa inficiranim životinjama, ljudima i/ili njihovim izlučevinama [21, 22]. Opisana je i epidemija povezana sa boravkom ljudi u prirodi, na terenu koji je bio kontaminisan izlučevinama životinja [23]. Pominje se i mogućnost inficiranja ljudi VTEC O157 vazdušnim putem [24].

Dosadašnja istraživanja su ukazivala da je osnovni rezervoar VTEC intestinalni trakt domaćih životinja, pre svega preživala [8]. Pri tome se smatra da je intestinalni trakt goveda glavni rezervoar VTEC jer je, kako je već naglašeno, najveći broj epidemija izazvanih ovim bakterijama nastao preko mlevenog goveđeg mesa (hamburgeri) [8, 25]. Učestalost izolacije ovih agenasa iz fecesa goveda iznosi od 7,8 posto do 23 posto, s tim da je nalaz češći kod junadi i teladi [8, 26]. Prema rezultatima jedne naše studije učestalost izolacije VTEC kod goveda bila je 15,3 posto i pri tome je veći procenat izolacije bio među starijim ži-

votinjama (junad i goveda starija od 12 meseci) nego kod teladi [27], što odgovara rezultatima nemačkih [28] i japanskih istraživača [29]. Podaci iz ovog istraživanja o učestalosti izolacije VTEC kod teladi u uzrastu od jednog dana (6,1%), kao i podaci iz istraživanja u Španiji [30] o infekciji izazvanoj ovim agensima kod jedinki u uzrastu od jednog do sedam dana, ukazuju da do infekcija izazvanih verotoksičnom *E. coli* goveda može da nastane neposredno posle rođenja. Pri tome, infekcija se najčešće ispoljava kao enterokolitis kod najmlađe teladi, dok je kod starijih životinja ona najčešće asimptomatska. Smatra se da je smanjeni broj receptora za verotoksin kod starijih goveda razlog ove pojave [31]. Česta je asimptomatska infekcija ovaca i koza, dok se kod živine ona retko registruje [32]. S druge strane, ove infekcije su, po pravilu, manifestne kod prasadi i ispoljavaju se kao dijareja sa ili bez edemske bolesti.

Na našim prostorima verotoksične *E. coli* često su prisutne u intestinalnom traktu domaćih životinja. U pomenutoj domaćoj studiji VTEC [27] izolovane su na 116 (28,8%) od 402 farme uključene u istraživanje, kao i iz 431 (16,2%) domaće životinje od 2 660 ispitanih jedinki. VTEC su pri tome najčešće izolovane iz koza i ovaca. Uzorci fecesa i rektalnih briseva iz ovaca poticali su sa šest različitih farmi i na svim farmama su nađeni ovi agensi, dok je procenat izolacije VTEC kod ovih životinja bio 66,8 posto [27]. Ovi rezultati se poklapaju sa rezultatima studija iz Nemačke [33, 34, 35] i Španije [36] i potkrepljuju tvrdnju [37] da su VTEC bolje prilagođene uslovima sredine u alimentarnom traktu ovaca od drugih patogenih *E. coli*. Prisustvo VTEC, u navedenom domaćem istraživanju, potvrđeno je i u jednom stadu koza, u kojem su ovi agensi nađeni u uzorcima fecesa 31 (73,8%) od ukupno 42 životinje, što je izuzetno visok procenat, na koji u stručnoj literaturi nismo naišli [27].

Postoje podaci o tome da su svinje takođe značajan rezervoar infekcija izazvanih verotoksičnom *E. coli* ljudi [38]. Učestalost izolacije VTEC kod ovih životinja varira između 7,5 posto [34] i 14 posto [39]. Ovi patogeni agensi se češće izoluju iz obolelih životinja u poređenju sa zdravim jedinkama [39], i to najčešće iz svinja sa kliničkom slikom edemske bolesti, jer je poznat značaj ovih agenasa u patogenezi pomenutog oboljenja [40].

Epidemiološka istraživanja u Severnoj Americi ukazuju da 1,5 do 5,3 posto sojeva verotoksičnih *E. coli* izolovanih iz goveda pripada serotipu O157:H7. Manji procenat (0,5%) izolacije ovog serotipa u Francuskoj, Španiji i Nemačkoj ukazuje da bi serotip O157:H7 mogao da bude manje zastupljen u kontinentalnoj Evropi u odnosu na Veliku Britaniju i SAD [41]. Iz goveda je dosad izolovano više od 200 različitih serotipova VTEC [42]. Iz ovih životinja su izolovane i serogrupe koje su inače karakteristične za *EHEC* (O26, O103, O111, O113, O157) [41]. Prema rezultatima jednog istraživanja na farmama u okolini Beograda [43] od 112 VTEC sojeva izolovanih iz fecesa zdravih goveda, 5 sojeva (4,5%) pripadalo je serogrupama karakterističnim za humane *EHEC* sojeve; 4 (3,6%) soja pripadala su serograpi O157, dok je jedan od njih aglutinirao sa antiserumom za serogrupu O26. Rezultati druge domaće studije [27] potvrdili su da su serogrupe karakteri-

stične za *EHEC* sojeve kod nas zastupljeni u malom procentu (3,2% VTEC sojeva izolovanih iz domaćih životinja), a još ređe se radilo o sojevima O157 (1,2%) serogrupe, što je u skladu sa do sada objavljenim podacima u mnogobrojnim istraživanjima širom sveta [26, 27, 41, 44, 45].

Prevenција VTEC infekcija / *Prevention of VTEC infections*

U prevenciji VTEC infekcija treba da se koriste sve one opšte mere koje važe i za ostale crevne zarazne bolesti, a posebno one koje se odnose na higijenske postupke pri obradi i čuvanju namirnica. Kada god je to moguće hrana, naročito životinjskog porekla, treba termički pravilno da se obradi što podrazumeva dostizanje temperature od 70°C u svim delovima pripremanog jela u trajanju od 30 minuta. Radi sprečavanja kontaktnog prenošenja infekcije posebna pažnja treba da se obrati na održavanje lične higijene.

Za sada ne postoji vakcina kojom bi se obezbedila zaštita od ovih patogenih agenasa. Neke od njih su u eksperimentalnoj fazi, pre svega na životinjama, a zasnivaju se uglavnom na kombinaciji lipopolisaharidnog antigena VTEC O157 i atenuiranog VT (toksoid) [46]. Obećavajuća su i istraživanja vakcine koje sadrže EspA i Tir proteine, koji omogućuju VTEC kolonizaciju creva domaćina. Ove vakcine namenjene su imunizaciji goveda, radi smanjenog izlučivanja ovih uzročnika putem fecesa, što je glavni put prenošenja VTEC među životinjama. Na taj način smanjio bi se broj rezervoara pomenutih patogenih agenasa, a time i incidencija oboljenja izazvanih VTEC u ljudskoj populaciji [47].

Zaključak / *Conclusion*

Razlozi pojavljivanja i tendencija stalnog porasta VTEC infekcija za sada nisu sasvim jasni. Iako ovi uzročnici, posebno sojevi serogrupe O 157, dominiraju samo u nekim delovima sveta, postoji realna mogućnost njihovog daljeg širenja pogotovo u uslovima globalizacije i intenzivne međunarodne trgovine. Pored toga, evidentan je i sve veći značaj i ostalih VTEC u izazivanju oboljenja ljudi i životinja. Zbog toga, u utvrđivanju etiologije crevnih zaraza, naročito u epidemijama i epizootijama ovih oboljenja, treba imati na umu i ove, „novootkrivene” patogene agense. Epidemiološka osobenost koja se na našem geografskom području ističe retkim sporadičnim oboljenjima i odsustvom epidemija izazvanih verocitotoksičnim *Escherichia coli*, a znatnom zastupljenošću domaćih životinja kao rezervoara ovih patogenih agenasa, nameće potrebu daljih ispitivanja u ovoj oblasti.

Literatura / References

1. Konowalchuk J., Speirs J. I., Stavric S.: Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun*; 18, 775-779, 1977. - 2. Ryan C. A., Tauxe R. V.: *Escherichia coli* O157: H7: Diarrhea in a Nursing Home: Clinical, Epidemiological and Pathological Findings. *J Infect Dis*, 154, 631-39, 1986. - 3. Gerber A., Karch H. *et al.*: Clinical Course and the Role of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection in the Hemolytic-Uremic-Syndrome in Pediatric Patients, 1997-2000, in Germany and Austria: A Prospective Study. *J Infect Dis*; 186, 493-500, 2002. - 4. WHO. Report of a WHO Scientific Working Group Meeting: Zoonotic Non- O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC). WHO Scientific Working Group Meeting, Berlin, Germany, 23-26 June 1998. <http://www.who.int/wer> - 5. Pierard D., Huyghenes L. *et al.*: Diarrhoea associated with *Escherichia coli* producing porcine oedema disease verotoxin. *Lancet*, 338, 762, 1991. - 6. Thomas A., Cheasty T. *et al.*: Isolation of verocytotoxin - producing *Escherichia coli* serotypes O9ab:H- and O101: H-carrying VT2 variant gene sequences from a patient with haemolytic uraemic syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 13, 1074-1116, 1994. - 7. Nataro J. P., Kaper J. B.: Diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 11, 1, 142-201, 1998. - 8. Griffin P., Tauxe R.: The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uraemic syndrome. *Epidemiol Rev*; 13, 60-96, 1991. - 9. Day N. P., Scotland S. M. *et al.*: *Escherichia coli* O157:H7 associated with human infections in the United Kingdom. *Lancet*; i: 825, 1983. - 10. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection - Japan [editorial]. *Can Commun Dis Rep*, 22, 23, 199-200, 1996. - 11. Cheasty T., Frost J. *et al.*: Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, particularly serogroup O 157, associated with human infections in England and Wales: 1992-4, *Epidemiol Infect*, 117, 1-10, 1996. - 12. MacDonald I., Gould I., Curnow J.: Epidemiology of infection due to *Escherichia coli* O157: a 3-year study. *Epidemiol Infect*; 116, 279-84, 1996. - 13. Čobeljić M., Lepšanović Z., Velimirović S.: Infrequent finding of verotoxin-producing *Escherichia coli* in diarrhoeal stools in Belgrade, Serbia. *Scand J Infect Dis*, 27, 4, 427-428, 1995. - 14. Čobeljić M., Bojić I. *et al.*: Prvi dokazani slučaj enterokolitisa u Jugoslaviji uzrokovan enterohemoragijskom ešerihijom *coli* O157. *Vojnosanit Pregl*, 60, 4, 493-496, 2003. - 15. Griffin P., Mead P., Sivapalasingam S.: *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. In *Infection of the Gastrointestinal Tract*. Blaser M., Smith P., Greenenberg H., *et al*, eds.: Philadelphia: Lippincot Williams&Wilkins, 627-642, 2002. - 16. Lewis M., Nataro J.: Diarrhea caused by *Escherichia coli*. In Strickland GT., ed. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders, 334-338, 2000. - 17. Spika S., Smith H. *et al.*: Hemolytic-uremic syndrome and diarrhea associated with *Escherichia coli* serotype O157:H7 in a day care center. *J Pediatr*; 109, 287-291, 1986. - 18. Swerdlow D., Woodroff B. *et al.* A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death, *Epidemiol Infect*; 117, 812-819, 1992. - 19. Morgan G., Newman C., Palmer S.: First recognized community outbreak of hemorrhagic colitis due to verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the UK. *Epidemiol Infect*; 101, 83-91, 1988. - 20. Bopp D. J., Saunders B. D. *et al.*: Detection, Isolation and Molecular Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* Associated with a Large Waterborne Outbreak. *J Clin Microbiol*, 41, 1, 174-180, 2003. - 21. Locking M. E., O'Brien S. J., Reilly W. J.: Risk factors for sporadic cases of *Escherichia coli* O 157 infection. *Epidemiol Infect.*, 127, 215-220, 2001. - 22. O'Brien S. J., Adak G. K., Gilham C.: Contact with farming environment as a major risk factor for Shiga toxin (Vero cytotoxin)- producing *Escherichia coli* O 157 infection in humans. *Emerg Infect Dis.*; 7, 1049-1051, 2001. - 23. Ogden I. D., Hepburn N. F., MacRae M.: Long term survival of *Escherichia coli* O 157 on pasture following an outbreak associated with sheep at a scout camp. *Lett Appl Microbiol*, 34, 100-104, 2002. - 24. Varma K. J., Greene K. D. *et al.* An Outbreak of *Escherichia coli* O157 Infection Following Expo-

sure to a Contaminated Building. JAMA, 290, 2709-2712, 2003. - 25. Banatvala N., Mangano A. *et al.*: Meat grinders and molecular epidemiology: two supermarket outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection. J Infect Dis; 173, 480-483, 1996. - 26. Blanco M., Blanco J. *et al.*: Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other verotoxin-producing *Escherichia coli* in healthy cattle. Epidemiol Infect, 117, 251-257, 1996. - 27. Lazić S.: Epidemiološki značaj ljudi i životinja kao rezervoara verocitotoksičnih *Escherichia coli*, (magistarski rad), 2005. - 28. Beutin L., Geier D. *et al.*: Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin) - producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol, 31, 2483-2488, 1993. - 29. Kobayashi H., Shimada J. *et al.*: Prevalence and characteristics of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle in Japan. Appl Environ Microbiol, 67, 484-489, 2001. - 30. Orden J. A., Ruiz-Santa-Quiteria J. A. *et al.*: Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *eae*-positive non-VTEC in 1-30-days-old diarrhoeic dairy calves. Vet Microbiol 1998, 63, 239-248. - 31. Moake J.: Thrombotic microangiopathies. N Engl J Med, 347, 589-600, 2002. - 31. Beutin L., Geier *et al.*: Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)- producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol; 32, 2483-2488, 1993. - 33. Zschock M., Hamman H. P., Wolter W.: Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties. Lett Appl Microbiol; 31, 203-208, 2000. - 34. Beutin L., Geier D. *et al.*: Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)- producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol, 31, 2483-2488, 1993. - 35. Beutin L., Geier D. *et al.*: Epidemiological relatedness and clonal types of natural populations of *Escherichia coli* strains producing Shiga toxins in separate populations of cattle and sheep. Appl Environ Microbiol, 63, 2175-2180, 1997. - 36. Blanco M, Blanco J. E. *et al.*: Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain. J Clin Microbiol 2003, 41, 1351-1356, 2003. - 37. Cornick N. A., Booher S. L. *et al.*: Persistent colonization of sheep by *Escherichia coli* O157: H7 and other *E. coli* pathotypes. Appl Environ Microbiol; 66, 4926-4934, 2000. - 38. Rios M., Prado V. *et al.*: Clonal diversity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* from patients with hemolytic-uremic syndrome, asymptomatic subjects, animal reservoir, and food. J Clin Microbiol; 37, 778-781, 1999. - 39. Gannon V. P., Gyles C. L., Friendship R. W.: Characteristics of verotoxigenic *Escherichia coli* from pigs. Can J Vet Res, 52, 331-337, 1988. - 40. Lingood M. A., Thompson J. M.: Verotoxin production among porcine strains of *Escherichia coli* and its association with oedema disease. J Med Microbiol, 24, 359-362, 1987. - 41. Pradel N., Livrelli V. *et al.*: Prevalence and characterization of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food and children during one-year prospective study in France. J Clin Microbiol, 38, 1023-1031, 2000. - 42. Gyles C., Johnson R. *et al.*: Association of enterohemorrhagic *E. coli* hemolysin with serotypes of Shiga like toxin producing *E. coli* of human and bovine origins. Appl Environ Microbiol. 4134-4141, 1998. - 43. Čobeljić M., Dimić B.: Properties of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from feces of healthy bovines. Mikrobiologija; 35, 93-101, 1998. - 44. Wells J. G., Shipman L. D. *et al.*: Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. J Clin Microbiol, 29, 985-989, 1991. - 45. Kahn *et al.*: Emerg Inf Dis; 8, 54-62, 2002. - 46. Konady E. Y., Parke J. C. *et al.*: Investigational vaccine for *Escherichia coli* O157: phase 1 study of O 157 specific polysaccharide-Pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A conjugates in adults. J Infect Dis, 177, 383-387, 1998. - 47. Potter A. A., Klashinsky S. *et al.*: Decreased shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. Vaccine, 22, 362-369, 2004.

ENGLISH

VEROTOXIN-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI* – AN EMERGING PATHOGEN WHICH ENDANGER THE HEALTH OF PEOPLE AND ANIMALS

S. Lazić, M. Cobeljic, B. Dimic

A new group of pathogenic agents has appeared in the last 20 years – verotoxin-producing *Escherichiae coli* (VTEC), which cause increasing numbers of intestinal diseases in humans and animals. The reservoir for VTEC is the intestinal tract of domestic animals, primarily ruminants. It is believed that cattle are the principal reservoir for VTEC, because the biggest number of epidemics caused by these bacteria occurred through ground beef (hamburgers). Swine are also a significant factor of VTEC infections in humans, but these pathogenic agents are more frequently isolated from diseased animals than healthy ones, and most often from swine with a clinical picture of an endemic disease. Investigations in our geographic region have also demonstrated that domestic animals are a significant VTEC reservoir. In spite of this, sporadic diseases in humans caused by these agents are rare, and no epidemics have been registered so far. Such a characteristic of VTEC infections in our country imposes the need for further epidemiological and epizootiological research.

Key words: Verotoxin, *Escherichia coli*, VTEC, domestic animals, reservoir

РУССКИЙ

ВЕРОТОКСИЧЕСКАЯ *ESCHERICHIA COLI* – ПАТОГЕННЫЙ АГЕНТ ПРИЧИНЯЮЩИЕ БОЛЕЗНЕЙ ЛЮДЕЙ И ЖИВОТНЫХ

С. Лазич, М. Чобелич, Б. Димич

Последних 20 лет появилась новая группа патогенных агентов-веротоксической *Escherichia coli* (ВТЕС), причиняющие всё большее число кишечных заболеваний людей и животных. Резервуар ВТЕС кишечных тракт домашних животных, прежде всего жвачных. Считается при этом, что крупный рогатый скот главный резервуар ВТЕС ибо наибольшее число эпидемий, вызванных этими бактериями стало через фаршированное говяжье мясо (гамбургеры). Свины также значительный резервуар ВТЕС инфекций людей, при чём эти патогенные агенты чаще изолируются из заблევших животных в отношении здоровых отдельных животных, а чаще всего из свиней с клинической картиной эдемической болезни. Исследования на нашем географическом районе также показали, что домашние животные значительный резервуар ВТЕС. Вопреки этому, спорадические заболевания людей, вызванные этими агентами редкие, а эпидемические явления ещё не зарегистрированы. Такая особенность ВТЕС инфекций у нас накладывает нужду дальнейших эпидемиологических и эпизоотологических исследований.

Ключевые слова: веротоксин, *Escherichia coli*, ВТЕС, домашние животные, резервуар

PTIČJE ANEMIJE*
AVIAN ANEMIAS**Jelena Raukar****

U radu je prikazana klasifikacija ptičje anemije na temelju MCHC/MCV i vrste anemija. Potrebna su daljnja hematološka i imunološka istraživanja, jer nedostaju informacije o hematološkim pokazateljima različitih vrsta ptica najmlađe dobi. Anemija se često javlja kod ptica zbog skraćenog života ptičjih eritrocita. Zbog toga je potrebno što ranije dijagnosticirati anemiju. U istraživanjima bi trebalo odrediti hematološke referentne vrijednosti za pojedinu ptičju vrstu.

Ključne reči: ptice, anemije

Uvod / Introduction

Anemija je često prisutna u ptica kućnih ljubimaca kao i pilića i može biti jedini značajniji hematološki nalaz u bolesnih ptica i peradi. Prema definiciji anemija je snižena količina eritrocita ili hemoglobina u volumnoj jedinici krvi. Može biti istodobno snižena količina eritrocita ili hemoglobina sa hematokritom. U anemiji je hematokrit snižen manje od 35 posto. Vrijednosti za hemoglobin su slične u mnogih ptica kućnih ljubimaca. Ptice u kojih je vrijednost za hemoglobin niža od 12 g/dL smatraju se anemičnima. Nivo hemoglobina, hematokrita i ukupnih proteina u plazmi su vrijedni dijagnostički pokazatelji za procjenu anemije. U ptica se anemija javlja kao posljedica gubitka krvi, povećanja destrukcije eritrocita ili smanjivanja produkcije eritrocita.

Život ptičjih eritrocita je mnogo kraći nego kod čovjeka. Tako eritrociti ptica žive 25 do 35 dana u krvi, dok eritrociti čovjeka žive u krvi 110 do 120 dana. Zbog kraćeg života ptičjih eritrocita neregenerativne anemije u ptica brzo napreduju.

Kliničar mora prvi ustanoviti da je ptica anemična. Klinički simptomi anemije su blijede noge, šum na srcu, izražena slabost, te zamor pri letenju.

* Rad primljen za štampu 23. 9. 2005. godine

** Mr sc. Jelena Raukar, dipl. ing med. biokemije, Zavod za ornitologiju, HAZU, Zagreb, Republika Hrvatska

Laboratorijska analiza crvene krvne slike /

Laboratory analysis of red blood count

Laboratorijske pretrage uz iscrpnu anamnezu pomažu pri postavljanju dijagnoze anemije, ali valja istaknuti da su laboratorijske pretrage, s jedne strane, skupe, a s druge da izazivaju stres u ptica. Zbog toga korištenje laboratorijskih pretraga mora biti racionalno, pri čemu je od velike važnosti kvalificirano laboratorijsko osoblje. Zbog toga je potrebna tijesna suradnja između veterinara i medicinskih biokemičara.

Testovi za procjenu eritrocita uključuju: hematokrit, ukupan broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, eritrocitne konstante; prosječan volumen eritrocita (MCV), prosječan sadržaj hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosječnu koncentraciju hemoglobina u 1 litri eritrocita (MCHC), broj retikulocita i morfologiju eritrocita.

Maksimalni ukupni volumen izvađene krvi za analizu koji neće ugroziti zdravlje mora biti približno jedan posto tjelesne mase ptice. Međutim, ukupan volumen krvi treba biti manji u slučaju da je ptica teško bolesna [1]. Način uzimanja krvi ovisi o vrsti ptice. Uzimanje krvi iz desne jugularne vene prikladan je način vađenja krvi za sve vrste ptica uključujući i male vrste. Kod malih ili srednje velikih ptica krv se uzima iz brahijalne vene. U malih vrsta ptica krv se uzima iz srednje metatarzalne vene [12, 1, 20, 6].

Pravilan izbor antikoagulansa je važan da bi se dobili što realniji i točniji hematološki rezultati. Ptičja krv pomiješana u antikoagulansu *EDTA* je posebno osjetljiva na osmotske promjene. Eritrociti su posebno pogođeni u antikoagulansu *EDTA*. Dolazi do bubrenja eritrocita, što rezultira pogrešnim rezultatom za prosječni volumen eritrocita (MCV) koji ima snižen iznos kada je mjereno u automatskom hematološkom brojaču [7, 17]. U nekih vrsta ptica (nojevi) eritrociti su skloni brzom liziranju u antikoagulansu *EDTA* što sprečava identifikaciju stanica, pa su dobijeni rezultati nevažeci. Također, u nojeva dolazi do povećane prosječne koncentracije hemoglobina (MCHC) zbog razaranja stanica ako se upotrebljava antikoagulans *EDTA* [10, 3, 16, 6].

S vremenom krvne stanice gube na vrijednosti, jer normalne stanice počinju mijenjati svoj izgled, što može uzrokovati pogrešno dijagnosticiranje [4]. Ptičja krv pomiješana sa antikoagulansom citratom i analizirana u laserskom protočnom citometru rezultira najdosljednijim rezultatima u hematološkim pretragama. Upotreba laserskog protočnog citometra poboljšava maksimalnu staničnu postojanost i reproducibilnost [8].

Wright ili Wright / Giemsa te Natt i Herrick otopine mogu se upotrebljavati za razmaz periferne krvi [12, 15, 16, 20]. Kod ovih otopina treba paziti na pH, jer pogrešni pH može utjecati na boju stanica. U slučaju da je pH previše kiseo dolazi do previše intenzivnog crvenog obojenja, a u slučaju da je pH previše alkalni nastaje prejak plavo obojenje. Najbolji rezultati se postižu ako je pH vrijednost između 7 i 7.5 [16, 5].

Mikroskopska analiza eritrocita može biti pokazatelj patološkog stanja. Tako morfološke promjene eritrocita poput polikromazije i anizocitoze ukazuju na vrstu anemije [1, 3, 16, 7, 8]. Sa pojačanjem objektiva 100x izvodi se mikroskopski pregled morfologije eritrocita [3].

Crvena krvna slika se rijetko određuje na automatskom hematološkom brojaču. U ptica se crvena krvna slika rijetko određuje u svakodnevnoj praksi, jer je za ručno određivanje potrebno mnogo vremena.

Nažalost, iako je potrebno što ranije dijagnosticirati anemiju u ptica vrlo se rijetko u svakodnevnoj veterinarskoj praksi određuje crvena krvna slika zbog prethodno navedenih razloga. Zbog toga ima malo objavljenih istraživanja o crvenoj krvnoj slici u ptica.

Klasifikacija ptičjih anemija / *Classification of avian anemias*

Klasifikacija ptičjih anemija obavlja se na temelju eritrocitnih konstanti; prosječnog volumena eritrocita (MCV) i prosječne koncentracije hemoglobina u jednoj litri eritrocita (MCHC) (tabela 1). Za ovu klasifikaciju ptičjih anemija potrebno je odrediti broj eritrocita, količinu hemoglobina i vrijednost hematokrita. Kod dijagnosticiranja vrste anemije pomažu i morfološke promjene eritrocita poput polikromazije i anizocitoze [1, 7, 8]. Ovakva klasifikacija anemija razlikuje hipokromnu mikrocitnu, hipokromnu makrocitnu i normokromnu normocitnu anemiju.

Snižene vrijednosti eritrocitnih konstanti (MCHC i MCV) karakteriziraju hipokromnu mikrocitnu anemiju. Kao i kod sisavaca, promjene u broju eritrocita mogu biti povezane s deficitom željeza. Gubitak željeza zbog krvarenja uzrokuje mikrocitnu anemiju. Ektoparaziti koji sišu krv mogu uzrokovati anemiju [1, 8].

Sniženi MCHC i povećani MCV karakteriziraju hipokromnu makrocitnu anemiju. Ova anemija je rijetka u ptica kućnih ljubimaca. Anemija se javlja kod akutnog gubitka krvi i kod ranog stupnja trovanja sa olovom. Hipokromna makrocitna anemija se može javiti sa neregenerativnom anemijom [1, 8].

Normocitna (normalni MCV), normokromna (normalni MCHC) anemija je najčešća anemija u ptica kućnih ljubimaca. Normocitna normokromna anemija je neregenerativna. Ova anemija se javlja kod upalnih ili kroničnih bolesti. Život ptičjih eritrocita se skraćuje. Visok je omjer mijeloidnih i eritroidnih stanica u kostnoj srži ptice. Smanjuje se stvaranje eritrocita [1, 8].

Kronične upalne bolesti poput kronične bakterijske infekcije, klamidijaze, peritonitisa žuči, tuberkuloze, aspergiloze i nekih virusnih bolesti u ptica kućnih ljubimaca uzrokuju normocitnu normokromnu neregenerativnu anemiju [8].

Izgladnjivanje, nedostatak željeza i folne kiseline, hipotireoidizam, kemijski utjecaji i toksini (olovo i aflatoksini) mogu biti uzrok normocitne normokromne neregenerativne anemije. S neoplazijom hematopoetskih stanica ili mezenhimalnih stanica može se javiti normocitna, normokromna anemija [1, 8].

Tabela 1. Klasifikacija anemija na temelju eritrocitnih konstanti (MCV i MCHC) [8]
Table 1. Classification of anemias based on erythrocyte constants (MCV and MCHC) [8]

A) Hipokromna mikrocitna / <i>Hypochromic microcytic</i> Sniženi MCHC / <i>Low MCHC</i> Sniženi MCV / <i>Low MCV</i> Porast polikromazije, anizocitoza / <i>Increased polychromasia, anisocytosis</i> Uzroci hipokromne, mikrocitne anemije: / <i>Causes of hypochromic, microcytic anemia:</i> – prehrana sa smanjenom količinom željeza (eksperimentalno izazvano) / <i>diet with reduced quantities of iron (experimentally induced)</i> – kronična krvarenja / <i>chronic bleeding</i> – paraziti koji sišu krv / <i>blood-sucking parasites</i>
B) Hipokromna makrocitna / <i>Hypochromic macrocytic</i> Sniženi MCHC / <i>Low MCHC</i> Povišeni MCV / <i>High MCV</i> Povećana polikromazija, anizocitoza / <i>Increased polychromasia, anisocytosis</i> Uzroci hipokromne, makrocitne anemije: / <i>Causes of hypochromic, macrocytic anemia:</i> – odgovor na akutni gubitak krvi / <i>response to acute blood loss</i> – odgovor na trovanje olovom / <i>response to lead poisoning</i> – eksperimentalna toksičnost / <i>experimental toxicity</i> – odgovor na hemolitičnu anemiju / <i>response to haemolytic anemia</i>
C) Normokromna normocitna / <i>Normochromic normocytic</i> Normalan MCHC / <i>Normal MCHC</i> Normalan MCV / <i>Normal MCV</i> Uzroci normokromne, normocitne anemije: / <i>Causes of normochromic, normocytic anemia:</i> Aspergiloze / <i>aspergillosis</i> Tuberkuloza / <i>tuberculosis</i> Klamidijaze / <i>clamidiasis</i> kronična bakterijska infekcija / <i>chronic bacterial infection</i> hematopoetska neoplazija / <i>hematopoietic neoplasia</i> mezenhimalna neoplazija / <i>mesenchymal neoplasia</i> virusne bolesti / <i>viral diseases</i> gladovanje / <i>starvation</i> lijekovi: ciklofosfamid, kortikosteroidi / <i>medicines: cyclophosphamide, corticosteroids</i>

Određeni lijekovi mogu uzrokovati supresiju kostne srži u ptica. Tako lijekovi poput ciklofosfamida i kortikosteroida uzrokuju supresiju ptičje kostne srži [8].

Vrste ptičjih anemija / *Types of avian anemias*

Vrste ptičjih anemija su: regenerativna anemija, neregenerativna anemija, hemolitična anemija, anemija Heinz tijela, anemija uzrokovana teškim metalima, anemija uzrokovana krvnim parazitima i policitemija [1, 8].

Klinički regenerativna anemija se dijeli u dvije skupine: 1) neregenerativna anemija se poboljšava radi uspješnog liječenja kroničnih ili upalnih bolesti i 2) pojačani odgovor kostne srži (stanje neliječeno) na gubitak krvi. Najjednostavniji pokazatelj regeneracije je kliničko praćenje hematokrita. Uznapredovala neregenerativna anemija koja nastaje kao posljedica kroničnih ili upalnih bolesti pokazuje povećanu varijabilnost eritrocitnih oblika [1]. RDW% (podjela eritrocita po

volumenu) pokazuje grafički populaciju eritrocita, kategoriziranu prema MCV. Karakteristično za neregenerativnu anemiju je smanjeni RDW%, dok je u regenerativnih anemija povišeni RDW%. Regenerativne anemije koje nastaju kao posljedica gubitka krvi imaju povišeni RDW% i anizocitozu [8].

Autoimuna hemolitična anemija nije zabilježena u ptica kućnih ljubimaca i rijetka je u peradarstvu. Hemolitična anemija se javlja kod izlaganja toksinima. Normocitne i normokromne ili makrocitne i normokromne promjene su prvi znakovi bolesti. Otrovanje bakrom dovodi do hemolitične anemije. U ptica akutna intoksikacija teškim metalima može rezultirati intravaskularnom hemolizom. Hemoliza uzrokovana trovanjem olovom očituje se oštećenjem hemoglobina i destrukcijom stanica. *Plasmodium* infekcija može uzrokovati intravaskularnu hemolizu. Hemolitička anemija je često regenerativna, a karakterizira je povećana polikromazija, makrocitoza, anizocitoza i retikulocitoza. Niski hematokrit i normalne vrijednosti proteina u serumu javljaju se u hemolitičkim anemija [1, 8].

Paraziti su često vidljivi prilikom mikroskopske analize razmaza periferne ptičje krvi. Na razmazu periferne krvi najčešće se pojavljuju: *Haemoproteus*, *Plasmodium*, *Leukocytozoon* i *Microfilaria*, a rjeđe se pojavljuju: *Atoxoplasma*, *Aegyptianella*, *Borrelia anserina* i *Trypanosoma*. Ovi paraziti mogu izazvati anemije u ptica. Određeni paraziti poput *Plasmodium* ili *Aegyptianella* mogu uzrokovati povećani raspad eritrocita [11, 2, 8, 19].

Haemoproteus se dijagnosticira kada je prisutan pigmentirani intraeritrocitni gametocit. U stanici su vidljivi jedan ili više gametocita. Zreli gametocit zauzima polovicu citoplazme eritrocita. Broj gametocita koji se vide na perifernom razmazu krvi varira s dobi ptice, stupnju stresa i sezoni. Šizogoni *Haemoproteusa* se pojavljuju u endotelnim stanicama, u plućima, jetri i slezeni. Akutna infekcija izazvana sa *Haemoproteus*-om može rezultirati anemijom. *Haemoproteus* je čest u bijelih papiga i ara (*Ara chloroptera*) [2, 8, 19].

Plasmodium uzrokuje ptičju malariju. Klinička slika pokazuje hemolitičku anemiju, leukocitozu, limfocitozu, hemoglobinuriju i naglu smrt. Identifikacija *Plasmodiuma* se temelji na prisutnosti intraeritrocitnih gametocita, trofozoita i šizonta u Romanowsky otopini u perifernom krvnom razmazu. Organizmi se mogu nalaziti u trombocitima, leukocitima i endotelnim stanicama. *Plasmodium* je od kliničke važnosti u golubova, močvarnih ptica, ptica grabljivica, pingvina i peradi (nojeva). Nastavljaju se detaljna istraživanja životnog ciklusa *Plasmodiuma* i na poboljšanju dijagnostičkih metoda u pingvina [2, 8, 19]. Hemolitičku anemiju s leukocitozom i limfocitozom uzrokuje *Plasmodium struthionis* u nojeva u Sudanu i južnoj Africi [10, 18].

Leukocytozoon je prisutan u mnogobrojnih divljih vrsta ptica. Klinička slika se sastoji od anoreksije, hemolitičke anemije, hemoglobinurije, depresije i dehidracije. *Leukocytozoon* je vidljiv kao okrugli i izduženi gametocit na perifernom razmazu krvi. Ima kliničku važnost u močvarnih ptica, purana i u mladim ptica grabežljivaca [2, 19].

Atoxoplasma je parazit mononuklearnih leukocita (limfocita, monocita i makrofaga). U kanarinaca uzrokuje visoki mortalitet. Crveni crv (*Dermanyssus gallinae*) prenosi parazita *Atoxoplasma*. U razmazu periferne krvi vide se sporoziti unutar mononuklearnih leukocita [2, 19].

Aegyptianella je parazit eritrocita u ptica koje žive u tropskim i suptropskim područjima. Nađen je u tek uvezenih ptica. *Aegyptianella pullorum* pojavljuje se u pilića, gusaka, purana i pataka. Pojavljuje se u tri oblika: 1) početno tijelo koje izgleda poput male (u dijametru je manji od 1 μ m) okrugle, bazofilne inkluzije unutar citoplazme; 2) razvijeniji oblik koji podsjeća na *Babesiu* i 3) veliki ovalni, eliptični oblik veličine od 2 do 4 μ m [2, 8].

Komarac ili crveni crv (*Dermanyssus gallinae*) prenose parazita *Trypanosoma*. Parazit se dijagnosticira na krvnom razmazu pomoću Romanowsky otopine. U perifernoj krvi ili kostnoj srži može se vidjeti *Trypanosoma*. *Trypanosoma* je dijagnosticiran u divljih uhvaćenih ptica u sjevernoj Americi sa malim kliničkim posljedicama [2, 19].

Policitemija se javlja s povećanim iznosom hematokrita i hemoglobina. Prvo treba isključiti dehidraciju, jer ona može biti uzrok policitemije. Analiziranjem navedenih parametara: glikoze u plazmi, kalcija i ukupnih proteina isključuje se dehidracija kao uzrok policitemije [8].

Kod apsolutne policitemije povećana je masa eritrocita i dolazi do povećane eritrocitopoeze u kostnoj srži. Sekundarna policitemija se pojavljuje kao reakcija na smanjenu razinu kisika u krvi. Ovakav tip policitemije je najčešći kod apsolutne policitemije. U ptičjih bolesnika kronične respiratorne bolesti i plućne infekcije mogu uzrokovati sekundarnu apsolutnu policitemiju. Primarna apsolutna policitemija u sisavaca je uzrokovana neoplastičnim proliferacijama hematopoetskih stanica. U literaturi koja opisuje ptice kućne ljubimce nije razjašnjeno postojanje ovih vrsta neoplazija. Rijetko nastaje u ptica kućnih ljubimaca [8].

Kod infektivne anemije u pilića u dobi od jednog do tri tjedna javljaju se aplastična anemija, imunosupresija i povećani mortalitet pilića. Hematokrit je manji od 27 posto. Javljaju se leukopenija i trombocitopenija. Infektivna anemija se javlja zbog citotoksičnog djelovanja virusa na mijeloidne prekurzorske stanice u kostnoj srži [13, 14, 19].

U 7.4 posto slučajeva nastaje promjena morfologije eritrocita [8].

Morfološke promjene eritrocita/Morphological changes in erythrocytes

Polikromatske stanice su normalno prisutne od jedan do pet posto u perifernoj krvi. Povećava se polikromazija u bolesnika koji pokazuju regenerativni odgovor na anemiju. Kod neregenerativnih anemija nema polikromatskih stanica. Procjena stupnja polikromazije i retikulocitoze može pomoći u razlikovanju depre-

sivne anemije i hemolitične anemije. Niski stupanj polikromazije znak je neregenerativne anemije [8].

Poikilociti su ptičji eritrociti različitih veličina. Javljaju se s teškim sistemskim infekcijama koje napadaju kostnu srž. Eritrociti su mlađi i veći. Najprecizniji način određivanja stupnja anizocitoze je podjela stanica po volumenu izražena u postotku (RDW%) [8]. Anizociti bez polikromazije i s promijenjenim oblikom eritrocita ukazuju na mijeloproliferativni poremećaj [1].

Kod otrovanja olovom pojavljuju se nabrekli eritrociti s normalnim eliptičnim oblikom i hipokromatskim područjem. Hipokromni eritrociti se javljaju u ptica s akutnim i kroničnim upalnim bolestima. Značajne su leukocitoza i heterofilija. Uznapredovala sideropenična anemija je povezana s hipokromnim eritrocitima. Otrovanje teškim metalima, naročito olovom mogu uzrokovati hipokromne eritrocite [8].

Referentne vrijednosti ptičjih eritrocitnih pokazatelja /

Referent values of avian erythrocyte indicators

Prilikom tumačenja ptičjih eritrocitnih pokazatelja treba znati da niz čimbenika poput vrste ptice, spola, dobi, prehrane, hormona, stresa, različitih klimatskih uvjeta, izbora antikoagulansa, načina na koji su skupljeni i čuvani uzorci mogu uzrokovati kvalitativne i kvantitativne promjene hematoloških pokazatelja. Spolni hormoni imaju važnu ulogu u proizvodnji eritrocita u ptica [12, 8, 18].

Prilikom dijagnosticiranja i određivanja vrste anemije kliničar treba znati da se referentne vrijednosti za eritrocite, hemoglobin i hematokrit značajno razlikuju između pojedinih vrsta ptica [8, 10, tabele 2 i 3]. Referentne vrijednosti mogu se međusobno razlikovati i unutar iste ptičje vrste (ratiti: emu i nojevi) [12, 10, 16, 18]. Također, između ptica koje žive u divljini prisutna je velika razlika tijekom godišnjih doba u odnosu na eritrocite, dok u ptica kućnih ljubimaca nema razlike. Kliničar prilikom interpretacije hematoloških pokazatelja treba pretpostaviti da su eritrociti, hematokrit i hemoglobin niži u ptica koje su stare između 3 i 6 mjeseci u odnosu na odrasle ptice [8]. Mladi ružičasti i čileanski flamingo, prepelice i perad (guske i nojevi) imaju niže vrijednosti za hematokrit, eritrocite i hemoglobin u odnosu na odrasle ptice [12, 15]. Ove niske vrijednosti dolaze s mikrocitnom i hipokromnom anemijom koja postupno raste sa starošću ptice i doseže maksimum u zreloj dobi ptice. Mikrocitna, hipokromna anemija je najčešći oblik anemije u zreloj dobi ptice [12]. Malo je objavljenih istraživanja s hematološkim pokazateljima u ptica najmlađe dobi. Ptice u prvih nekoliko dana svoga života nemaju razvijen imunološki sustav. Zbog toga su izložene nekim infektivnim bolestima [8].

Tabela 2. Referentne vrijednosti za eritrocite, hematokrit i hemoglobin u nekih ptičjih vrsta [9, 10]

Table 2. Referent values for erythrocytes, haematocrit and haemoglobin in some bird species [9, 10]

	Eritrociti ($\times 10^3/\mu\text{L}$) / <i>Erythrocytes ($\times 10^3/\mu\text{L}$)</i>		Hematokrit (%) / <i>Haematocrit (%)</i>		Hemoglobin (g/dL) / <i>Haemoglobin (g/dL)</i>	
	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>
Amazonka / <i>Amazon</i>	2.82	2.45 - 3.18	47.83	41.96 - 52.5	14.46	12.2 - 15.89
Australska papigica / <i>Australian budgie</i>	4.32	3.77 - 4.6	51.45	43.4 - 56.1	14.7	12.42 - 16.89
Kakadu / <i>Cacadu</i>	2.84	2.44 - 3.34	47.1	40.2 - 55.12	13.61	11.1 - 16
Patka / <i>Duck</i>	2.98	2.5 - 3.7	47.51	42.4 - 53.7	12.36	11.1 - 13.99
Emu / <i>Emu</i>	1.85	1.72 - 2.1	47.4	39 - 57	16.04	13.6 - 17
Patuljasta papiga / <i>Dwarf parrot</i>	3.82	3.45 - 4.04	50.7	44.6 - 55.3	11.4	10.1 - 13.82
Crvena ara / <i>Red macaw</i>	3.11	2.63 - 3.49	48.87	41.7 - 53.9	13.7	11.3 - 16.04
Noj / <i>Ostrich</i>	1.8	1.70 - 2.17	45	41 - 57	16.92	14 - 17.2
Senegalska papiga / <i>Senegal parrot</i>	3.69	3.3 - 4.02	52.2	44.4 - 56	13.37	12.3 - 15

Tabela 3. Referentne vrijednosti eritrocitnih konstanti u nekih ptičjih vrsta [9, 11] /
Table 3. Referent values for erythrocyte constants in some bird species [9, 11]

	MCV (fL)		MCH (pg)		MCHC (g/dL)	
	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>	Aritmetička sredina / <i>Arithmetic mean</i>	Referentna vrijednost / <i>Referent value</i>
Amazonka / <i>Amazon</i>	168	160 - 175	51.7	47.2 – 56.8	30.53	29.07 – 31.89
Australska papigica / <i>Australian budgie</i>	121.5	116 - 127	26.1	23.1 – 30.89	21.79	19.8 – 23.9
Kakadu / <i>Cacadu</i>	166.3	158 - 175	47.7	40.45 – 53.7	28.85	25.8 – 31.5
Patka / <i>Duck</i>	164.3	157 - 170	42	37.5 – 44.6	25.53	22.69 – 27.53
Emu / <i>Emu</i>	219	206 - 220	86.5	78.2 - 89	39.37	35.2 – 43.3
Patuljasta papiga / <i>Dwarf parrot</i>	130.4	125 - 138	29	27.5 – 31.4	21.51	20.29 – 23.14
Crvena ara / <i>Red macaw</i>	161.1	149 - 173	43.5	27.3 – 31.3	22.08	20.58 – 22.94
Noj / <i>Ostrich</i>	212	205 - 218	82.2	76.4 – 88.4	37.65	34.7 – 41.2
Senegalska papiga / <i>Senegal parrot</i>	144.9	139 - 151	36.5	33.1 – 39.4	25	23.4 – 27.4

MCV: prosječan volumen eritrocita; / *Mean Corpuscular Volume*

MCH: prosječan sadržaj hemoglobina u eritrocitu; / *Mean Corpuscular Haemoglobin*

MCHC: prosječna koncentracija hemoglobina u 1 litri eritrocita / *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration in 1 litre erythrocytes.*

Zaključak / Conclusion

Niz čimbenika poput vrste ptice, spola, dobi, prehrane, hormona, stresa, različitih klimatskih uvjeta, izbora antikoagulansa, načina na koji su skupljeni i čuvani uzorci mogu utjecati na rezultate hematoloških testova [18].

Anemija može biti jedini značajniji hematološki nalaz u bolesne ptice. Budući da je život ptičjeg eritrocita mnogo kraći nego u sisavaca neregativne anemije se mnogo brže razvijaju u ptica. Zbog toga kliničar mora što prije dijagnosticirati anemiju. Referentne vrijednosti se razlikuju između pojedinih vrsta ptica. Dob ptice utječe na eritrocite, hemoglobin i hematokrit.

Potrebno je standardizirati vrijednosti hematoloških pokazatelja u odnosu na pojedine dobne skupine različitih vrsta ptica. Malo je objavljenih istraživanja koja obrađuju hematološke pokazatelje u ptica najmlađe dobi. Takva istraživanja omogućila bi da se što prije dijagnosticiraju anemije u najranijoj dobi ptice. Potrebna su daljnja istraživanja koja bi odredila hematološke pokazatelje u raznih vrsta ptica najmlađe dobi, jer ptice u prvih nekoliko dana svoga života nemaju razvijen imunološki sustav, pa su vrlo osjetljive na infekcije mikroorganizama i invazije parazita. Anemija je česta u ptica kućnih ljubimaca. Zbog toga je potrebno razvijati hematološke laboratorijske metode koje bi omogućile što ranije dijagnosticiranje anemije.

Literatura / References

1. Campbell T. W.: Avian Hematology, u: Campbell T. W. Avian Hematology and Cytology (Second Edition) Iowa State Press, 3-19, 1995a. - 2. Campbell T. W.: Common Avian Blood Parasites, u: Campbell T. W. Avian Hematology and Cytology (Second Edition) Iowa State Press, 30-34, 1995b. - 3. Canfield P. J.: Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals, Aust. Vet. J., 76, 12, 793-800, 1998. - 4. Coble T.: Working with your veterinarian, u: Drenowatz C. (ed): Ratite Encyclopedia, Ostrich – Emu – Rhea (First Edition) Charley Elrod & Helen Wilborn, Ratite Records, Inc. Post Office Box 790365, San Antonio, TX 78279-0365, USA, 281-286, 1995. - 5. Ergün E., Ergün L., Özen A. Asti R. N.: Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (*Struthio camelus massaicus*) Revue Méd. Vét. 155, 3, 147-150, 2004. - 6. Fudge A. M.: Avian Blood Sampling and Artificat Considerations, u: Fudge A. M. (ed): Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets W. B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace & Company, The Curtis Center, Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania 19 106, USA, 1-8, 2000a. - 7. Fudge A. M.: Avian Complete Blood Count, u: Fudge A. M. (ed): Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets W. B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace & Company, The Curtis Center, Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania 19 106, USA, 9-18, 2000b. - 8. Fudge A. M.: Disorders of Avian Erythrocytes, u: Fudge A. M. (ed): Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets W. B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace & Company, The Curtis Center, Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania 19 106, USA, 19-28, 2000c. - 9. Fudge A. M.: Laboratory Reference Ranges for Selected Avian, Mammalian and Reptilian Species, u: Fudge A. M. (ed): Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets W. B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace & Company, The Curtis Center, Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania 19 106, USA, 375-400, 2000d. - 10. Hopkins B. A.: Blood count & serum chemistry analysis, u: Drenowatz C. (ed): Ratite Encyclopedia, Ostrich – Emu – Rhea (First Edition) Charley Elrod & Helen Wilborn, Ratite records, Inc. Post Office Box 790365, San Antonio, TX 78279 – 0365, USA, 409-412, 1995a. - 11. Hopkins B. A.: Blood parasites, u: Drenowatz C. (ed): Ratite Encyclopedia, Ostrich – Emu – Rhea (First Edition) Charley Elrod & Helen Wilborn, Ratite records, Inc. Post Office Box 790365, San Antonio, TX 78279 – 0365, USA, 417, 1995b. - 12. Levi A., Perelman B., Waner T., van grevenbroek M., Van Creveld C., Yagil R.: Haematological parameters of the ostrich (*Struthio camelus*), Avian Pathology 18, 321-327, 1989. - 13. McConell C. D. G., Adair B. M., McNulty M. S.: Effects of chicken anemia virus on cell – mediated immune function in chickens exposed to the virus by natural route, Avian Diseases 37, 366-374, 1993a. - 14. McConell C. D. G., Adair B. M., McNulty M. S.: Effects of chicken anemia virus on macrophage function in chickens, Avian Diseases 37, 358-365, 1993b. - 15. Palomeque J., Pinto D., Viscor G.: He-

matological and blood chemistry values of the Masai ostrich (*Struthio camelus*), Journal of Wildlife Diseases 27, 1, 34-40, 1991. - 16. Perelman B.: Health Management and Veterinary Procedures. U: The Ostrich Biology, Production and Health, edited by D. C. Deeming, CABI Publishing, Wallingford and Oxon, UK, 321-346, 1999. - 17. Raskin R. E.: Quality Assurance in the Laboratory, u: Fudge A. M. (ed): Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets W. B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace & Company, The Curtis Center, Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania 19 106, USA, 367-374, 2000. - 18. Raukar J.: Hematološki pokazatelji u nojeva (*Struthio camelus*), Vet. stanica 35, 1, 33-41, 2004. - 19. Shivaprasad H. L.: An Overview of Avian Pathology, California Veterinary Diagnostic System, Fresno Branch, University of California, Davis, 1-35, 2002. - 20. Spinu M., Spinu O., Degen A. A.: Haematological and immunological variables in a domesticated and wild subspecies of ostrich (*Struthio camelus*), British Poultry Science, 40, 613-618, 1999.

ENGLISH

AVIAN ANEMIAS

Jelena Raukar

This paper deals with avian anemias classified by MCHC/MCV and with types of anemias. Further hematological and immunological research is needed to secure information on hematological parameters in different avian species at their earliest age. Anemia is a common clinical finding in birds because the avian erythrocyte half-life is much shorter than the mammalian. Therefore anemia should be determined as soon as possible. Researchers should standardize hematological parameters for every single avian species.

Key words: disorders of avian erythrocytes, classification of avian anemias, types of anemia

РУССКИЙ

ПТИЧЬИ АНЕМИИ

Елена Раукар

В работе показана классификация птичьей анемии на основании *MCHC/MC* и вида анемий. Нужны дальнейшие гематологические и иммунологические исследования, ибо не хватает информации о гематологических показателях различных видов птиц наиболее молодого возраста. Анемия часто является у птиц из-за сокращённой жизни эритроцитов. Вследствие этого нужно чем раньше диагностировать анемию. В исследованиях нужно бы было определить гематологические референтные стоимости для отдельного птичьего вида.

Ключевые слова: анемии, птиц

**ODREĐIVANJE REZIDUA DIKLOFENAKA U TKIVIMA
SVINJA POSLE INTRAMUSKULARNE PRIMENE***
*DETERMINATION OF DICLOFENAC RESIDUE IN SWINE TISSUE
FOLLOWING INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION*

Zorica Pejčić, Milanka Jezdimirović, Milena Pokrajac**

Rezidue diklofenaka (DF) u tkivima svinja (jetra, bubreg, mišić, injekciono mesto) ispitivane su metodom tečne hromatografije (HPLC) i to 15 časova, 72 časa i 120 časova posle i.m. primene pojedinačne terapijske doze diklofenak-natrijuma. Posle 15 časova od primene, najviša koncentracija DF nađena je u bubregu (0.614 mg/kg), dok je oko dva puta niža koncentracija nađena u jetri (0.316 mg/kg). Na injekcionom mestu, koncentracija DF bila je 0.432 mg/kg, dok se u mišiću izvan injekcionog mesta, DF zadržao u veoma niskoj koncentraciji (0.052 mg/kg), najnižoj u odnosu na sva ostala ispitivana tkiva. Posle 72 časa od primene, DF je bio prisutan u svim ispitivanim tkivima, ali su njegove koncentracije bile niže od granice određivanja primenjenim analitičkim postupkom. Tragovi primenjenog leka gube se posle isteka karence (120 h) u svim tkivima, osim na injekcionom mestu. Duže zadržavanje leka na injekcionom mestu može da bude posledica lokalnog zapaljenja, odnosno iritacije koja bi prouzrokovala sniženje pH vrednosti okoline injekcionog mesta i tako prouzrokovala sporije rastvaranje i duže zadržavanje diklofenaka na mestu primene.

Ključne reči: diklofenak, rezidue, svinje, tkiva

Uvod / Introduction

Ispitivanje lekova koji se koriste u veterinarskoj praksi veoma je važno za zaštitu zdravlja, kako ciljnih životinja, tako i zdravlja ljudi u čijoj se ishrani koriste tkiva ovih životinja. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) imaju izuzetan značaj u farmakoterapiji, s obzirom na njihovu sposobnost da delimično ili potpuno zaustavljaju proces zapaljenja koji je osnova mnogih patoloških stanja. Osnovna terapijska dejstva NSAIL, kao što su antiinflamatorno, analgetičko i anti-

* Rad primljen za štampu 28. 6. 2005. godine

** Mr Zorica Pejčić, asistent, dr Milanka Jezdimirović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, dr Milena Pokrajac, redovni profesor, Farmaceutski fakultet, Beograd

piretičko, proizilaze iz njihove sposobnosti da inhibišu biosintezu prostaglandina, medijatora u procesu zapaljenja. Upotreba ovih lekova u veterinarskoj i humanoj medicini veoma je široka, jer se koriste kod oboljenja u kojima je akutna ili hronična zapaljenjska reakcija izazvala različite poremećaje funkcija organa, bol ili povišenu telesnu temperaturu. Broj ovih lekova koji su do sada uvedeni u veterinarsku praksu neopravdano je mali. Najčešće se koriste aspirin, fenilbutazon, fluniksin-meglumin, naproksen, meklofenaminska kiselina, ketoprofen, meloksikam, a sada i diklofenak [1].

Diklofenak (DF) je nesteroidni antiinflamatorni lek, koji ima izraženu antiinflamatornu, analgetičku i antipiretičku aktivnost, kao i veoma dobru podnošljivost. Kumulira se na mestu zapaljenja, na kome postiže koncentracije koje su više nego u zdravom tkivu, a približne koncentracijama u plazmi [2]. Poluvreme eliminacije je kratko (jedan do dva časa), tako da su neželjeni efekti koje diklofenak izaziva najčešće blagi i prolazni, zbog čega ima bolju podnošljivost od mnogih drugih lekova iz grupe NSAIL [3]. Diklofenak je u medicinu uveden 1973. godine, a za veterinarsku upotrebu u našoj zemlji 1996. godine.

U veterinarskoj medicini, diklofenak je indikovao kod svinja, goveda i konja za lečenje artritisa, zapaljenjskih i degenerativnih promena posle trauma, akutne i hronične šepavosti tokom artritisa, tendinitisa i miozitisa, Terapijska doza diklofenaka za sve pomenute vrste životinja iznosi 2,5 mg/kg, jednom dnevno, *i.m.* [1]. Primenjuje se i u veterinarskoj oftalmologiji, u terapiji zapaljenjskih stanja vezanih, pre svega, za hirurške intervencije na oku [4], a takođe i kao dodatak primarnoj antibiotskoj i antišok terapiji, u kojoj poboljšava opšte stanje, ubrzava oporavak i pomaže preživljavanje životinje [5, 6, 7].

U izveštaju Evropske agencije za procenu lekova (EMA) određena je vrednost prihvatljivog dnevnog unošenja (ADI) za diklofenak koja iznosi 0,5 µg/kg, ili 30 µg po osobi. Maksimalni rezidualni nivoi (MRL) za diklofenak u tkivima svinja iznose: 5 µg/kg za mišić i jetru, 1 µg/kg za kožu sa masnim tkivom i 10 µg/kg za bubreg [8]. Karenca koju je dao proizvođač jedinog kod nas registrovanog preparata diklofenaka za veterinarsku primenu, traje pet dana.

Ciljevi ovog istraživanja bili su razvijanje odgovarajućeg analitičkog postupka za određivanje diklofenaka u tkivima svinja, kao i dobijanje preliminar-nih podataka o eventualnim reziduama diklofenaka u onim tkivima svinja koja se najviše koriste u ishrani ljudi (mišić), kao i ona koja imaju najveću metaboličku aktivnost (jetra, bubreg).

Materijal i metode rada / Materials and methods

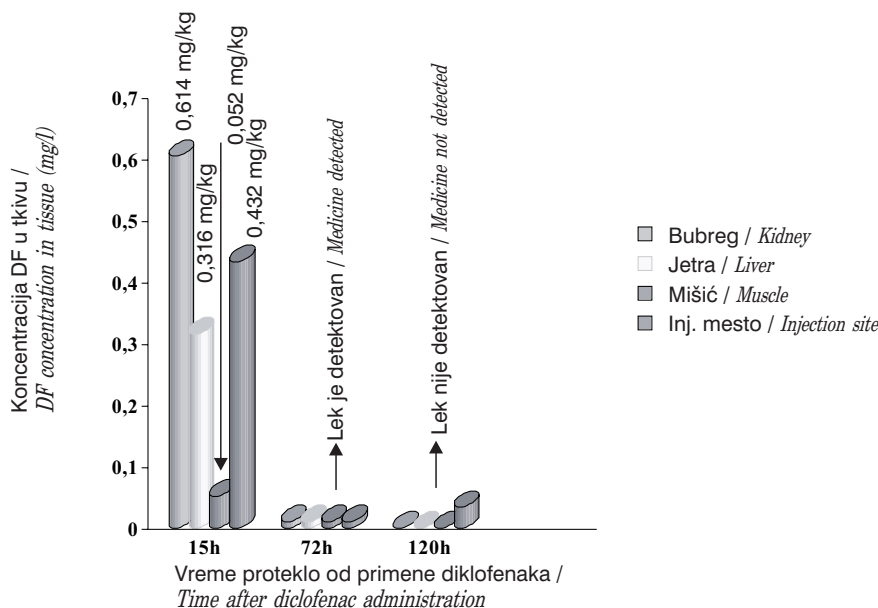
Lekovi / Medicines. U analitičkom postupku korišćeni su diklofenak-natrijum i flurbiprofen (interni standard), koji su dobijeni iz fabrike lekova Galenika a.d. Životinjama se primenjivao injekcioni preparat *Reuflogin^R ad us. vet.* (Fatro, Italija) koji u 1 ml sadrži 50 mg diklofenak-natrijuma.

Protokol / Protocol. Eksperiment je izveden na zdravim svinjama ($n=3$) rase jorkšir, muškog pola, uzrasta između dva i tri meseca. Životinjama je aplikovana terapijska doza diklofenak-natrijuma od 2.5 mg/kg telesne mase, duboko intramuskularno iza uha. Hranu i vodu svinje su dobijale *ad libitum* tokom celog eksperimenta. Rezidue diklofenaka u tkivima (bubreg, jetra, mišić i injekciono mesto) određivane su posle 15 časova, 72 časa i 120 časova od primene leka. Tkiva su uzorkovana neposredno posle žrtvovanja životinja i to po jedna životinja za svako navedeno vreme. Kao slepe probe korišćena su tkiva netretiranih životinja. Svaki uzorak imao je masu od oko 5 grama. Uzorak sa injekcionog mesta uzet je tako da obuhvati tkivo kroz koje je prošla igla pri aplikaciji leka i okolno tkivo iz koga se lek resorbovao (širine oko 10 cm i dubine oko 6 cm) [9]. Tkiva su zatim homogenizovana, zamrznuta na temperaturi od -18°C i tako čuvana do ispitivanja.

Analitički postupak. Uzorci tkiva analizirani su tečnom hromatografijom sa UV detekcijom (HPLC/UV), uz odgovarajuću prethodnu ekstrakciju [10].

Rezultati ispitivanja i diskusija / Results and discussion

Koncentracije diklofenaka u ispitivanim tkivima tretiranih svinja (bubreg, jetra mišić i mišić na injekcionom mestu), dobijene u različitim vremenskim intervalima posle i.m. primene pojedinačne doze diklofenaka od 2,5 mg/kg, prikazane su grafički (grafikon 1).



Grafikon 1. Koncentracija diklofenaka u tkivima svinja u različitim vremenskim intervalima posle njegove jednokratne i.m. primene u terapijskoj dozi od 2,5 mg/kg /

Graph. 1. Diclofenac concentration in swine tissue at different time intervals following a single i.m. administration of a therapeutic dose of 2.5 mg/kg

Ispitivanje sadržaja diklofenaka u tkivima svinja sprovedeno je radi procene raspodele leka, kao i određivanja njegovih rezidua u tkivima, koje nastaju kao posledica raspodele. Ispitivani su bubreg i jetra zbog svog značajnog uticaja na eliminaciju leka, mišić izvan injekcionog mesta kao tkivo koje čini najveći deo telesne mase životinje i u ishrani ljudi se najviše koristi, i mišić na injekcionom mestu zbog procene resorpcije diklofenaka sa mesta primene, kao i zbog moguće precipitacije i dužeg zadržavanja leka na ovom mestu, što može da utiče na karencu leka.

Posle 15 časova od primene, najviša koncentracija diklofenaka nađena je u bubregu (0,614 mg/kg), dok je oko dva puta niža koncentracija nađena u jetri (0,316 mg/kg). Ove koncentracije bile su više nego u plazmi u istom periodu. Dobijeni rezultati mogu da se objasne značajnom ulogom ovih organa u eliminaciji leka, njihovom dobrom prokrvljenošću i činjenicom da, verovatno, pripadaju centralnom prostoru. Riess i sar [11] takođe su našli da su bubreg i jetra pacova organi u kojima diklofenak postiže najviše koncentracije. Niža koncentracija diklofenaka u jetri u odnosu na bubreg, mogla bi da se protumači brzim stvaranjem metabolita diklofenaka u jetri [12, 13], zbog čega u ovom tkivu koncentracija nepromenjenog leka brzo opada. Za razliku od jetre, nepromenjeni diklofenak se zbog svoje lipofilnosti veoma malo eliminiše bubregom [13], što bi mogao da bude uzrok sporijeg opadanja koncentracija leka u ovom organu.

Na injekcionom mestu, koncentracija diklofenaka posle 15 časova od primene bila je 0,432 mg/kg, što je, verovatno, posledica zaostatka jednog dela primenjene doze koji se do tog trenutka još nije resorbovao, a ne posledica raspodele. Moguće je da je deo lekovite supstance iz preparata precipitirao u mišiću i tako stvorio mali depo, odakle se sporije rastvarao i resorbovao [14]. Kako je u konkretnom slučaju primenjeno ukupno 55 mg diklofenaka po životinji, odnosno 2,5 mg/kg, može da se zaključi da je taj zaostatak veoma mali i da se lek skoro potpuno resorbovao sa injekcionog mesta. Istovremeno, u mišiću izvan injekcionog mesta, diklofenak se zadržao u veoma niskoj koncentraciji (0,052 mg/kg), najnižoj u odnosu na sva ostala ispitivana tkiva i nižoj nego u plazmi. Ovaj podatak je u skladu sa rezultatima dobijenim kod pacova [11], kao i sa malim stepenom raspodele diklofenaka u mišićnom tkivu koje, verovatno, pripada periferenom prostoru.

Posle 72 časa od primene, diklofenak je bio prisutan u svim ispitivanim tkivima, ali su njegove koncentracije bile niže od granice određivanja primenjenim analitičkim postupkom. Dobijeni rezultati u skladu su sa kratkim poluvremenom eliminacije iz plazme i malim volumenom distribucije diklofenaka.

Imajući u vidu karencu, brzinu eliminacije i volumen distribucije diklofenaka, očekivalo se da posle 120 časova od primene ni u jednom od ispitivanih tkiva ne bude tragova leka. Međutim, na injekcionom mestu diklofenak je bio prisutan u koncentraciji od 0.034 mg/kg, što verovatno nije posledica raspodele, već sporije resorpcije leka. Ovaj zaostatak diklofenaka na injekcionom mestu povezan je sa mogućom precipitacijom leka u mišiću [14], koja nastaje zbog nje-

gove slabe rastvorljivosti, posebno u kiseloj sredini [15]. Kako dobijeni neočekivani rezultat potiče samo od jedne ispitane životinje, može da se pretpostavi da je posledica neke njene individualne farmakokinetičke karakteristike, ili precipitacije leka na injekcionom mestu. Takođe, možda bi pomenuti rezultat mogao da bude posledica zapaljenja na samom injekcionom mestu, odnosno iritacije koja bi prouzrokovala sniženje pH vrednosti okoline injekcionog mesta i tako uzrokovala sporije rastvaranje i duže zadržavanje diklofenaka na mestu primene.

Zaključak / Conclusion

U ispitivanim tkivima svinja najviše koncentracije diklofenaka nađene su u bubregu, nešto niže na injekcionom mestu, zatim u jetri i najniže u mišiću izvan injekcionog mesta. Tragovi diklofenaka prisutni su u svim ispitivanim tkivima svinja posle 72 časa od primene leka. Ovi tragovi leka gube se posle isteka karence (120 časova), osim u slučaju injekcionog mesta na kome se diklofenak neočekivano nalazi u merljivoj količini. Za dobijanje detaljnijih podataka o reziduama diklofenaka u tkivima svinja, neophodno je da se obave dodatna ispitivanja koja bi kao osnovu mogla da koriste metodološki i eksperimentalni pristup praćenju rezidua iznet u ovom radu.

Literatura / References

1. Jezdimirović M.: Veterinarska farmakologija. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2005.
2. Menasse R., Hedwall P. R., Kraetz J., Pericin C., Reisterer L., Sallmann A., Ziel R., Jaques R.: Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. *Scand. J. Rheumatology, Suppl.* 22, 5-16, 1978.
3. Small R. E.: Diclofenac Sodium. *Clin. Pharm.*, 8, 545-558, 1989.
4. Moore C. P.: Ophthalmic Pharmacology. In: *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 7th ed. R. H. Adams, Iowa State University Press, Ames. 1105-1129. 1995.
5. Mozes T., Meiligers J. P., Tak C. J., Zijlstra F. J., Ben-Efraim S., Saxena P. R., Bonta I. L.: Protective effect of diclofenac sodium against endotoxin shock in anaesthetized pigs. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*. 48, 2, 193-200, 1993.
6. Weitzberg E.: The endothelin receptor antagonist bosentan, in combination with the cyclooxygenase inhibitor, diclofenac, counteracts pulmonary hypertension in porcine endotoxin shock. *Crit. Care. Med.* 25, 5, 848-857, 1997.
7. Wanecek M., Rudehill A., Hemsen A., Lundberg J. M., Weitzberg E.: The endothelin receptor antagonist bosentan, in combination with the cyclooxygenase inhibitor, diclofenac, counteracts pulmonary hypertension in porcine endotoxin shock. *Crit. Care. Med.* 25, 5, 848-857, 1997.
8. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (VMD): Diclofenac (Summary report), 2003.
9. Anonimus: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Forty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 864, Geneva, 1996.
10. Pejčić Z.: Procena farmakokinetike i rezidua diklofenaka u svinja, Magistarski rad, Farmaceutski fakultet Beograd, 2001.
11. Riess J. W., Stierlin H., Degen P., Faigle J. W., Gerardin A., Moppet J., Sallmann A., Schmid K., Schweizer A., Sulc M., Theobald W., Eagner J.: Pharmacokinetics and metabolism of the antiinflammatory agent Voltaren. *Scand. J. Rheumatology, Suppl.* 22, 17-29, 1978.
12. Fowler P. D., Dawes P. T., John V. A., Shotton P. A.: Plasma and synovial fluid concentrations of diclofenac sodium and its hydroxylated metabolites

during once-daily administration of a 100 mg slow-release formulation. Eur. J. Clin. Pharmacol. 31, 4, 469-472, 1986. - 13. Degen P., Dieterle W., Schneider W., Theobald W., Sinterhauf U.: Pharmacokinetics of diclofenac sodium and five metabolites after single doses in healthy volunteers and after repeated doses in patients. Xenobiotica, 18, 12, 1449-1455, 1988. - 14. Peris-Ribera J. E., Pla-Delfina J. M.: Comparative oral and parenteral bioavailability of diclofenac: animal studies. Rev. Farmacol. Clin. Exp. 2, 1, 37-46, 1985. - 15. Chan K. K. H., Mojaverian P., Ziehmer B. A., John V. A.: Application of radiotelemetric technique in evaluating diclofenac sodium absorption after oral administration of various dosage forms in healthy volunteers. Pharm. Res. 7, 10, 1026-1032, 1990.

ENGLISH

DETERMINATION OF DICLOFENAC RESIDUE IN SWINE TISSUE FOLLOWING INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION

Zorica Pejčić, Milanka Jezdimirović, Milena Pokrajac

Diclofenac residue (DF) in swine tissue (liver, kidney, muscle, injection site) were examined using the method of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 15h, 72h, and 120h after i.m. administration of an individual therapeutic dose of diclofenac-sodium. At 15h after administration, the highest concentration of DF was found in the kidney (0.614 mg/kg), while a concentration about two times lower was found in the liver (0.316 mg/kg). At the injection site, the DF concentration was 0.432 mg/kg, while DF remained in a very low concentration (0.052 mg/kg) in the muscle outside the injection site, which was the lowest concentration in comparison with all the other examined tissues. At 72h after administration, DF was present in all examined tissues, but its concentrations were lower than the level that could be determined using the analytic procedure. Traces of the administered medicine disappeared after the waiting period of 120h in all tissues, except for the injection site. The longer presence of the medicine at the injection site could be a consequence of local inflammation, or irritation, that could cause a reduction in pH values of the area around the injection site, thus leading to slower dissolving and a longer presence of the DF at the injection site.

Key words: Diclofenac, residue, swine, tissue

РУССКИЙ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТКОВ ДИКЛОФЕНАКА В ТКАНЯХ СВИНЕЙ ПОСЛЕ ВНУТРИ-МЫШЧЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Зорица Пейчић, Миланка Ездимировић, Милена Покрајач

Остатки диклофенака (ДФ) в тканях свиней (печень, почка, мышца, инъекционное место) испытывались методом жидкой хроматографии (HPLC) а именно 15 ч., 72 ч. и 120 ч. после в. м. применения отдельные терапевтические дозы диклофена-натрия. После 15 ч. от применения, наивысшая концентрация ДФ найдена в почке (0,614 мг/кг), пока около 2 раза более низкая концентрация найдена в

печени (0,316 мг/кг). На инъекционном месте, концентрация ДФ составляла 0,432 мг/кг, пока в мышце извне инъекционного места. ДФ задержался в очень низкой концентрации (0,052 мг/кг), наиболее низкой в отношении всех остальных испытываемых тканей. После 72 ч. от применения, ДФ был присутствующий во всех испытываемых тканях, но его концентрации были ниже границы определения применённым аналитическим поступком. Следы, применённого лекарства теряются по истечению каренцы (120 ч.) во всех тканях, кроме на инъекционном месте может быть следствие локального воспаления, то есть ирритации, которая бы причинила снижение *pH* стоимости окрестности инъекционным месте и так привела до более медленного растворения и более долгой задержки ДФ на месте приемнения.

Ключевые слова: диклофенак, остатки, свиньи, ткани

NALAZ SPECIFIČNIH ANTITELA PROTIV *Leptospira interrogans* U KRVNOM SERUMU GOVEDA*
FINDINGS OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST *Leptospira interrogans* IN CATTLE BLOOD SERA

Ž. Grgić, Branka Vidić, Bosiljka Đuričić, Sara Savić-Jevđenić,
I. Stojanov**

U petogodišnjem periodu na području devet opština Južnobačkog regiona serološki je ispitano 24208 uzoraka krvnih seruma goveda, što čini 31,18 posto od ukupnog reproduktivnog fonda goveda. Uzorci su ispitani metodom mikroskopske aglutinacije, živim antigenima 9 serotipova leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. bataviae*, *L. canicola* i *L. hardjo*.

Specifična antitela protiv leptospira utvrđena su kod 286 ili 1,18 posto uzoraka seruma goveda. Nivo seroprevalencije infekcije izazvane leptospirama na godišnjem nivou bio je od 2,56 posto do 0,05 posto. Najveći broj seropozitivnih grla iznosio je 151 grlo, ili 3,54 posto i ustanovljen je u opštini Novi Sad. Tokom posmatranog perioda kod goveda je dijagnostikovano prisustvo četiri serotipa leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* i *L. hardjo*. Najzastupljeniji serotip je *L. hardjo* 41,02 posto, dok su serotipovi *L. grippotyphosa* 34,61 posto, *L. icterohaemorrhagiae* 14,74 posto i *L. pomona* 9,61 posto dijagnostikovani u nižem procentu.

Zapažen je trend porasta broja inficiranih grla leptospirama za 0,195 posto na godišnjem nivou. Na osnovu prikazane analize može da se predvidi sa verovatnoćom od 95 posto da će leptospiroza kod goveda za naredni period u Južnobačkom epizootiološkom području biti u intervalu od 0,09 posto do 3,50 posto.

Ključne reči: leptospiroza, goveda, rasprostranjenost

* Rad primljen za štampu 16. 9. 2005. godine

** Mr Živoslav Grgić, istraživač saradnik, dr Branka Vidić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr Bosiljka Đuričić, profesor, Katedra za zarazne bolesti i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Sara Savić-Jevđenić, istraživač saradnik, mr Igor Stojanov, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Uvod / Introduction

Leptospiroza je zarazno oboljenje domaćih, divljih životinja i glodara. Rezervoari infekcije u prirodi su sitni glodari: vodeni miš, poljski miš, voluharice i drugi koji u spoljašnju sredinu izlučuju leptospire urinom. Leptospire se u prirodi održavaju i razmnožavaju na vlažnom zemljištu, vodama močvara i ritova. Domaće životinje i ljudi inficiraju se leptospirama direktnim kontaktom sa izvorom infekcije, a „vrata” infekcije su koža i sluzokoža. Pojedini serotipovi leptospira ispoljavaju svoje patogeno delovanje za određenu vrstu životinja, koje su primarni domaćini, dok ostale vrste predstavljaju povremene ili prolazne domaćine. Kod goveda najčešće su utvrđeni serotipovi: *L. pomona*, *L. hardjo* i *L. grippotyphosa*, dok se infekcije izazvane sa *L. canicola* i *L. icterohaemorrhagiae* javljaju povremeno. I ostali serovarijeteti leptospira mogu da se dokažu kod goveda, ali tada su u pitanju samo sporadični slučajevi. Ispitivanja koja su rađena poslednjih godina ukazuju da se serovarijeteti leptospira, koji pripadaju grupi *hebdomadis*, češće javljaju.

Leptospiroza kod goveda javlja se kod svih kategorija životinja. Infekcija se ispoljava u akutnoj, subakutnoj ili inaparentnoj formi. Kliničke manifestacije oboljenja su povišena temperatura u trajanju od četiri do pet dana, pojava anoreksije, konjunktivitisa i dijareje. Kao posledica infekcije može da se javi neplodnost i pobačaj. Kada se javi infekcija izazvana sa *L. hardjo* u zapatu muznih krava mogu da se dijagnostikuju mastitisi, mleko dobija izgled kolostruma sa primesama krvi, a u nekim slučajevima i zasušenje [1]. Kada se radi o težim slučajevima infekcije javljaju se ikterus, abortus i hemoglobinurija. Pobačaji se javljaju najčešće između prve i treće nedelje od pojavljivanja oboljenja. Infekcija izazvana leptospirama u zapatima krava u određenim područjima brzo se i lako širi, naročito ako je prisutan visok procenat inficiranih životinja, leptospire pasiraju sa jednog grla na drugo, a što značajno utiče i na virulenciju uzročnika.

Na osnovu dosadašnjih ispitivanja na području Vojvodine leptospiroza je dijagnostikovana kod goveda [4, 2, 6, 7, 8, 9, 10]. Navedeni podaci ukazuju na potrebu stalnog nadzora ove zoonoze, utvrđivanje rasprostranjenosti i distribucije serotipova leptospira kod svih vrsta životinja, u ovom slučaju goveda.

Materijal i metode rada / Materials and methods

U petogodišnjem periodu na području 9 opština Južnobačkog regiona pregledano je 24208 uzoraka krvnih seruma ili 31,18 posto ukupnog fonda goveda. Uzorci krvnih seruma goveda ispitani su metodom mikroskopske aglutinacije u tamnom polju sa devet serotipova leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. bataviae*, *L. canicola* i *L. hardjo*. Pozitivnim rezultatom smatran je nalaz specifičnih antitela u razblaženju seruma 1:100 i viši.

U toku analize rezultata naših ispitivanja korišćeni su statistički podaci o brojnom stanju životinja u Južnobačkom epizootiološkom području dobijeni od Zavoda za statistiku Republike Srbije. Za izračunavanje kretanja i predviđanja prevalencije korišćena je analiza trenda.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

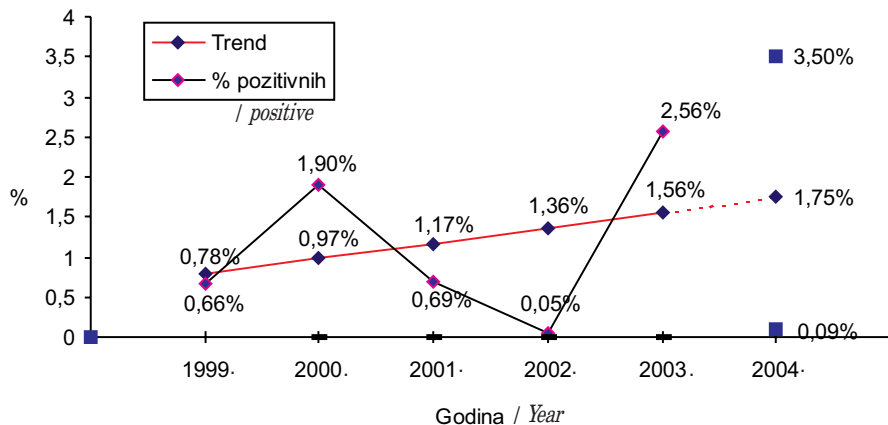
Ispitivanjem je obuhvaćeno 24208 uzoraka seruma goveda, a pozitivni nalazi dobijeni su kod 286 uzoraka ili 1,18 posto od ispitanih uzoraka. Specifična antitela za leptospire kod goveda utvrđena su na području svih 9 opština Južnobačkog regiona. Najveći stepen seroprevalencije zabeležen je kod goveda u opštini Novi Sad, odnosno 151 seropozitivno grlo ili 3,54 posto.

Tabela 1. *Leptospiroza goveda u Južnobačkom epizootiološkom području*
Table 1. *Cattle leptospirosis in Southern Bačka epizootiological district*

Opština / Community		Bač	Bačka Palanka	Bački Petrovac	Bečej	Novi Sad	Srbo- bran	Temerin	Titel	Žabalj	Ukupno Total
Pregledano / Examined		1263	2036	1114	8609	4256	750	816	2847	2517	24208
	N o.	5	15	2	7	151	3	2	32	69	286
Pozitivno / Positive	%	0,39	0,73	0,17	0,08	3,54	0,4	0,24	1,12	2,74	1,18

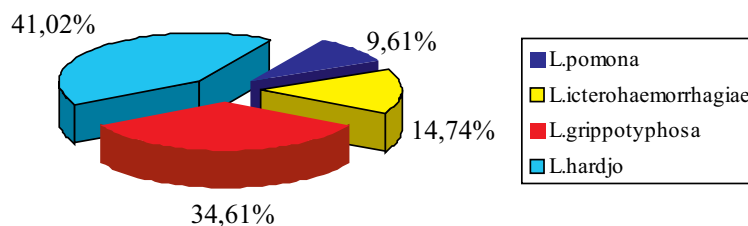
Analizirajući dobijene rezultate tokom posmatranog petogodišnjeg perioda zapažen je trend porasta broja goveda inficiranih leptospirama za 0,195 posto na godišnjem nivou. Nivo seroprevalencije za pojedine godine u toku ispitivanog perioda bio je od 0,05 posto do 2,56 posto. Na osnovu prikazane analize može da se predvidi sa verovatnoćom od 95 posto da će broj seropozitivnih životinja u narednom periodu na području Južnobačkog epizootiološkog regiona biti u intervalu od 0,09 posto do 3,50 posto inficiranih grla (grafikon 1).

Prateći distribuciju serotipova leptospira tokom posmatranog perioda kod goveda utvrđeno je prisustvo 4 serotipa leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* i *L. hardjo*. Analizirajući ukupan broj seropozitivnih goveda, evidentirano je da je najzastupljeniji serotip *L. hardjo* dijagnostikovao u 41,02 posto slučajeva. Ostali serotipovi leptospira bili su zastupljeni u nižem procentu: *L. grippotyphosa* 34,61 posto, *L. icterohaemorrhagiae* 14,74 posto i *L. pomona* 9,61 posto (grafikon 2). Miller i sar [5], kao i Lange [3] takođe su kod goveda u najvećem procentu dijagnostikovali leptospiru serotip *hardjo*. Do sličnih rezultata u svojim ispitivanjima došli su i Vidić i sar [6, 7, 8, 9, 10].



Grafikon 1. Kretanje nivoa prevalencije za leptospirozu kod goveda u Južnobačkom epizootiološkom području
Graph 1. Range of seroprevalence for leptospirosis in cattle in Southern Bačka epizootiological district

Leptospiroze su značajno zarazno oboljenje domaćih životinja i ljudi kako kod nas tako i u svetu. Na području Vojvodine enzootije su u prethodnom periodu ustanovljene na farmama svinja, ređe goveda. Leptospiroza kod ljudi na području Vojvodine registruje se sporadično, pre svega kod osoba profesionalno izloženih infekciji. Na osnovu podataka iz literature evidentno je dugogodišnje interesovanje istraživača za proučavanje leptospiroza. Cilj našeg rada bio je da se utvrdi prisustvo leptospiroze kod goveda i da na osnovu dobijenih rezultata dâ doprinos u sagledavanju rasprostranjenosti ove infekcije kod goveda, zastupljenost određenih serotipova, zdravstveni značaj kao i incidenciju oboljenja.



Grafikon 2. Distribucija serotipova leptospira kod goveda u Južnobačkom epizootiološkom području
Graph 2. Distribution of leptospires serotypes in cattle in epizootiological district of Southern Bačka

Metodom mikroskopske aglutinacije specifična antitela protiv leptospire u serumu inficiranih životinja mogu se dokažu najranije od petog do desetog dana nakon inficiranja. Primenom ove metode može da se postavi tačna dijagnoza, uzimanjem parnih uzoraka seruma u razmaku od dve nedelje. Za otkrivanje i suzbijanje leptospiroze važno je i poznavanje izvora infekcije. Poznato je da serotipovi leptospira imaju različite domaćine (rezervoare), a to su u prvom redu glodari i divlje životinje, kao i domaće životinje u čijim se populacijama leptospire permanentno održavaju. Tako su primarni domaćini za serotip *L. hardjo* goveda, a u novije vreme ukazuje se i na značaj ovaca. Na određenim područjima leptospiroza može da se javlja endemski. Međutim, savremeni način življenja, uvoz životinja, migracija glodara i divljih životinja i drugo, omogućavaju da se određeni serotipovi leptospira prošire i na nova područja ili države.

Ukupan procenat seropozitivnih goveda u našim ispitivanjima bio je 1,18 posto. Interval seropozitivnih goveda bio je od 0,05 posto do 2,56 posto. Ustanovljen je trend rasta broja seropozitivnih goveda na godišnjem nivou za 0,195 posto. Kod seropozitivnih goveda na području Južnobačkog epizootiološkog područja registrovana su 4 serotipa leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* i *L. hardjo*. Kao najzastupljeniji serotip u goveda je *L. hardjo*, 41,02 posto, zatim *L. grippotyphosa* (34,61 posto), dok su *L. pomona* i *L. icterohaemorrhagiae* dijagnostikovani u znatno nižem procentu 9,61 posto, odnosno 14,74 posto. Miller i sar [5] takođe su kod goveda u najvišem procentu dijagnostikovali leptospiru serotip *hardjo*. Serološkim ispitivanjem ustanovili su prisustvo specifičnih antitela protiv leptospire kod 49 posto ispitanih krvnih seruma. Metodom imunofluorescencije su dokazali u četrdeset prvom uzorku tkiva bubrega, odnosno u 0,8 posto ispitivanih uzoraka prisustvo leptospira. Od ukupnog broja izolovanih leptospira, 73 izolata identifikovano je kao serovarijetet *hardjo* (83%), 11 izolata kao serovarijetet *pomona* (12,5%), a 4 izolata kao serovarijetet *grippotyphosa* (4,5 posto). Koristeći REA-test istraživači su odredili genotipsku pripadnost izolovanih leptospira i dokazali da 85 posto pripada genotipu *hardjobovis*, dok je 11 uzoraka identifikovano kao genotip *hardjobovis* ili 15%. Ispitujući 4484 uzorka krvnih seruma goveda sa pobačajem, Lange [3] je utvrdio leptospirozu kod 2,5 posto ispitanih uzoraka, sa sledećim serotipovima leptospira: *L. hardjo*, *L. saxkoebing* i *L. sejroe*. Do sličnih rezultata u svojim ispitivanjima su došli i Vidić i sar [7, 8 i 9]. Autori su utvrdili da je najzastupljeniji serotip leptospira kod goveda *L. hardjo*, i da se infekcija kod krava manifestovala u vidu mastitisa i pobačaja. Vidić i sar. [9] ispitali su 19965 uzoraka krvnih seruma krava na prisustvo specifičnih antitela protiv leptospira. Uzorci su sakupljeni sa farmi i iz privatnog sektora na području Vojvodine. Specifična antitela protiv leptospira utvrđena su kod 822 ispitana uzorka ili 4,12 posto. Najzastupljeniji serotip leptospira kod krava na farmama bio je *L. hardjo*, 84,79 posto, dok je kod krava iz privatnog sektora dominirao serotip *L. pomona*, 52,53 posto. Kod krava iz četiri zapata u kojima je dijagnostikovana leptospira *hardjo* nisu registrovani klinički znaci leptospiroze, dok su kod seropozitivnih krava u dva zapata ustanovljeni mastitisi. Autori su tokom ovih istraživanja prvi put

izolovali *L. hardjo* iz urina serološki pozitivnih krava. Vidić i sar [10] za izolaciju *L. hardjo* koristili su navedene podloge: EJMh sa dodatkom 5 µg/ml furazolidona i neomicina, EJMh sa dodatkom 200 µg/ml 5-FU, čvrsta podloga bovini albumin-polisorbat 80 (Tween 80) sa 1% agara i polučvrsta podloga sa bovini albumin-polisorbat 80, sa i bez dodatka 5-FU. *L. hardjo* je izolovana i identifikovana upotrebom specifičnih antiseruma. *L. hardjo* je izolovana iz tri uzorka mleka i pet ispitivanih uzoraka urina. Autori navode da su najbolje rezultate za izolaciju leptospira iz mleka i urina krava dobili primenom polučvrste BAP 80 podloge sa dodatkom 5-FU i sa EJMh podlogom sa dodatkom 5-FU.

Praćenjem programa kontrole i usavršavanjem dijagnostičkih metoda leptospiroze, došlo se do mnogobrojnih saznanja o prirodi i posledicama ove infekcije, kao i o njenom zdravstvenom značaju kako u veterinarskoj tako i u humanoj medicini. Leptospiroza i danas predstavlja ozbiljan zdravstveni problem, kako za ljude tako i životinje. U stočarskoj proizvodnji ona se javlja kao uzgojni ali i kao selekcijski problem. U novije vreme, tehnološkim razvojem i ekonomskim napretkom društva uvećane su mogućnosti migracije stanovništva i životinja što ima kao posledicu veću mogućnost unošenja i širenja novih serotipova leptospira. To ukazuje na potrebu permanentnog praćenja epizootičke situacije, kao i pronalaženje i usavršavanje novih dijagnostičkih metoda i mera kontrole leptospiroze.

Literatura / References

1. Higgins R. J., Harbourne J. F., T. W. A., Stevens A. E.: Mastitis and abortion in dairy cattle associated with leptospira of the serotype hardjo; Vet. Rec. 107, 307-310, September 27, 1980. - 2. Galić M., Trbić B., Karakašević B., Kajić S.: Leptospiroza kod domaćih životinja i ljudi u Vojvodini. 5. italijansko - jugoslovenski dani, Poreč, 21-25, 10, 1979. - 3. Lange S.: Seroepidemiological studies of the detection of leptospira of the sejroe group in cattle in middle Thuringia. Berl-Munch-Tierarztl-Wochenschr. 1; 105, 11, 374-377, Nov. 1992. - 4. Marković R., Nikolić B., Gaslić M.: Raširenost leptospiroza kod svinja na području Vojvodine. Savremena poljoprivreda 9, 658-662, 1963. - 5. Miller D. A., Wilson M. A., Beran G. W.: Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. Am. J. Vet. Res., 52, 11, 1761-1765, Nov. 1991. - 6. Vidić Branka, Boboš S., Jovičin M., Šeguljev Zorica, Lazić S., Čekić N.: Leptospiroza krava: Izolacija *L. hardjo* iz urina inficiranih krava. Zbornik radova Naučni skup „Unapređenje zdravstvene zaštite životinja i proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla” Novi Sad., 117-121, 1995. - 7. Vidić Branka, Ž. Grgić, S. Boboš.: Serološko ispitivanje leptospiroza u domaćih životinja i ljudi u periodu 1994-1995. god. Zbornik rezimeā, VII kongres infektologa Jugoslavije, Priština, 34. 1996. - 8. Vidić Branka, Boboš S., Grgić Ž., Šeguljev Zorica, Lalić M.: *Leptospira interrogans* serološki tip hardjo u krava. Vet. glasnik, 50, 5-6, 341-349. 1996. - 9. Vidić Branka, Lalić M., Šeguljev Zorica, Grgić Ž.: Seroprevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in cows and isolation from urine. Acta vet., 1, 47, 15-22, 1997. - 10. Vidić Branka, Boboš S.: *Leptospira interrogans* serovar hardjo causative agent of mastitis in dairy cows; 10. Magyar buiatricks kongresszus - Middle-European Buiatrics Congress, Siofok, Hungary, Proceeding, 272-274, 1998.

ENGLISH

FINDINGS OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST *LEPTOSPIRA INTERROGANS* IN CATTLE BLOOD SERA

Z. Grgic, Branka Vidic, Bosiljka Djuricic, Sara Savic-Jevdjenic, I. Stojanov

Serological investigations were performed on 24,208 samples of cattle blood serum, representing 31.18% of the reproductive cattle fund in the territory of nine municipalities in the Southern Backa region over a period of five years. The samples were examined using the method of microscopic agglutination, with live antigens of nine leptospira serotypes: *L.pomona*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.grippotyphosa*, *L.sejroe*, *L.tarassovi*, *L.australis*, *L.bataviae*, *L.canicola*, and *L.hardjo*.

Specific antibodies against leptospira were established in 286 or 1.18% samples of cattle serum. The level of seroprevalence of leptospira infection at an annual level ranged from 2.56% to 0.05%. The biggest number of seropositive cattle were registered in the municipality of Novi Sad – 151 cattle, or 3.54%. In the course of the observation period, the presence of four serotypes of leptospira were diagnosed in cattle: *L.pomona*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.grippotyphosa*, *L.hardjo*. The most represented serotype was *L.hardjo*, 41.02%, while the serotypes *L.grippotyphosa* (34.61%), *L.icterohaemorrhagiae* (14.74%) and *L.pomona* (9.61%) were diagnosed in smaller percentages.

An increasing tendency was observed in the number of cattle infected with leptospira at an annual level of 0.195%. On the basis of the presented analysis, it can be predicted with a probability of 95%, that leptospirosis in cattle will appear within the range of 0.09% to 3.50% in the epizootiological region of Southern Backa in the coming period.

Key words: Leptospirosis, cattle, seroprevalence

РУССКИЙ

***Leptospira interrogans* В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Ж. Гргич, Бранка Видич, Босилька Джуричич, Сара Савич-Евдженич, И. Стоянов

Лептоспироз у крупного рогатого скота является у всех категорий животных. Инфекция проявляется в острой, подострой, или инapparентной форме. Клинические проявления заболевания повышенная температура в продолжительности от 4-5 дней, явление инорексии, конъюнктивита и диареи. Как следствие инфекции может явиться неплodовитость, выкидыш, маститы, а в некоторых случаях и засушение.

В пятилетнем периоде на подведомственной обалсти 9 общин Южно-бачкого региона серологически испытано 24208 образчиков кровяных серумов крупного рогатого скота, что составляет 31,18% из совокупного репродуктивного фонда крупного рогатого скота. Образчики испытаны методом микроскопической агглютинации, с живыми антигенами 9 серотипов лептоспир: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. bataviae*, *L. canicola* и *L. hardjo*.

Специфические антитела против лептоспир утверждены у 286 или 1,18% образчиков сыворотки крупного рогатого скота. Уровень серопревалентности инфекции, вызванной лептоспирами на годовом уровне двигался от 2,56% до 0,05%. Наибольшее число сероположительных голов записано в общине Нови Сад, и составляло 151 голова, или 3,54%. В течение наблюдаемого периода у крупного рогатого скота диагностировано присутствие 4 серотипа лептоспир: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*. Наиболее представленный серотип *L. hardjo* 41,02%, пока серотипы *L. grippotyphosa* 34,61%, *L. icterohaemorrhagiae* 14,74% и *L. pomona* 9,61% диагностированы в более низком проценте.

Замечена тенденция роста инфицированных голов лептоспирами за 0,195% на годовом уровне. На основе показанного анализа можно предвидеть с вероятностью от 95%, что лептоспироз крупного рогатого скота для очередного периода в Южнобачком эпизоотологическом районе будет двигаться в интервале от 0,09% до 3,50%.

Ключевые слова: лептоспироз, крупный рогатый скот, распространённость

**EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON HELMINTHOSES IN
GOATS AND SHEEP CAUSED BY PROTOSTRONGYLIDAE
LEIPER, 1926***

***EPIDEMIOLOŠKA ISTRAŽIVANJA HELMINTOZA IZAZVANIH SA
PROTOSTRONGYLIDAE LEIPER, 1926, KOD KOZA I OVACA***

Mariana S. Panayotova-Pencheva**

Studies on sheep, goats and terrestrial snails from a pasture in a north-eastern Bulgarian region have been carried out. Protostrongylids of 4 genera – Muellerius, Cystocaulus, Protostrongylus and Neostrongylus have been established. The infection extensity in goats is higher than that in sheep while the generic diversity is greater in sheep. In tracing the season dynamics in the parasitic infections of the end hosts it has been established that during the summer the infection extensity is permanently kept in its high values. In the autumn a drop in infection extensity is observed but the amount of the larvae released with faeces is augmented reaching its maximum in November-December. A relative increase in the infection extensity as well as in the larval output is observed in February and solely for the larval output such an increase is recorded in April. Season dynamics in the spread of the different protostrongylid genera in the end hosts and the influence of age and sex on larval output have been traced. The season dynamics of the extensity and intensity of the infection of the snails on the pasture has also been followed up. H. obvia is the intermediate host of greatest importance for the spread of protostrongylidoses in the region under study.

Key words: epidemiology, goats, Protostrongylidae, sheep, snails

Introduction / Uvod

Protostrongylids represent some of the most important helminths parasitizing on small ruminants. They are found throughout Europe, Asia, Africa, the Americas and Australia. In Bulgaria protostrongylids are widespread [13]. The

* Rad primljen za štampu 28. 9. 2005. godine

** Dr Mariana S. Panayotova-Pencheva, Institute of Experimental Pathology and Parasitology, Bulgarian Academy of Science, Sofia, Bulgaria

degree of infection in sheep soars to 100 percent while in goats it reaches up to 79.8 percent [34, 40, 19, 38, 4]. The infection of animals with these nematods leads to a decrease of their productivity and impairment of respiratory function [38, 4], hampers the development of the cubs, causes verminous pneumoniae [20, 23], creates conditions for the onset of secondary non-parasitic infections [6, 8, 20] and raises lethality rate [13, 37, 21]. The above-mentioned data only confirm the up-to-datedness of the protostrongylidoses spread in all parts of the world and the need for the targetted attack on them. Systematic and detailed studies on epidemiological characteristics enable the development of scientifically approbated strategies for the prevention and successful treatment of the helminthoses. That is why the aim of the present work was to investigate certain epidemiological aspects of protostrongylidoses in a north-eastern Bulgarian region.

Materials and methods / Materijal i metode rada

The studies were carried out from January 2004 to March 2005 on a pasture of sheep and goats in the area around of the town of Strazhitsa, north-eastern Bulgarian. The region is situated in the moderate continental climatic zone on a terrain of plains and hills in the Yantra river valley, in the foothills of the Balkan Mountains. The vegetation mainly consists of grass, bush and deciduous tree species. The soils are of the meadow black-earth type. The average precipitation is about 520-650 mm per year.

A mixed flock of sheep and goats belonging to private landowners was subject to the study. Faecal samples from arbitrarily chosen sheep and goats were collected on a monthly basis. By the routine methods of Vaida and Baermann larval diagnostics was performed in laboratory conditions and the extensity of the protostrongylid infections was registered. Every month individual faecal samples from the rectum of marked goats of different sex and age were collected for carrying out quantitative larval diagnostics. For the entire period of study the marked animals were not dehelminthized. The faecal samples were investigated 48 hours following their picking, being kept at a temperature of 4°C until then. The number of protostrongylid larvae of the first stage (L1) was determined using the method of Baermann modified in the following way: 1 gramme of faecal samples wrapped in a cloth was placed in a conic cup with 50 ml of water heated to a temperature of 45°C for 1 hour after which the liquid was intensely stirred by airing with a pipette and 0.5 ml was withdrawn from it. The larvae in that quantity were counted and their number was calculated per 1 gramme of faecal mass.

Snails of the species found in the pastures were gathered from 8 to 10 o'clock in the morning. The intensity and the extensity of the infection in them have been recorded in laboratory conditions. The quantity of protostrongylid larvae in the snails was investigated by compression of their legs and by counting of the thus obtained well-visible larvae on a light microscope.

Digital data were processed after the statistical methods of Sepetliev (1980).

Results and discussion / Rezultati ispitivanja i diskusija

Investigations on the end hosts:

The results from the monthly investigation of the faecal samples from arbitrarily chosen sheep and goats of the flock are given in Table 1. The infection extensity (IE) with protostrongylids of the goats is 88.09 percent. It is higher than the one established so far in Bulgaria (79.8 percent - Zurliiski and Russev, [40]; 71.2 percent - Halacheva *et al.* [1]) but is lower than the one reported for Morocco – 100 percent [3, 5] and Spain - 98 % [1]. There are three genera established in the goats – Muellerius, Cystocaulus and Neostrongylus with IE being for these genera as follows: 88.09 percent, 34.92 percent and 0.79 percent respectively. In the sheep IE is 62.35 percent which is twice higher than the one reported for the sheep in Turkey – 33.8 percent [28]. There are four genera established for the sheep: Muellerius – 50 percent IE; Protostrongylus – 14.12 percent IE; Neostrongylus – 11.76 percent IE and Cystocaulus – 11.28 percent IE. In the sheep and the goats 39 percent of the infections are mixed. Multigeneric protostrongylid infections have been also established in a previous study of ours in wild ruminants in Bulgaria [29].

The dynamics of the infection in the end hosts during the different months of the survey is shown in Figure 1. In the sheep IE is relatively constant during the summer period - from 66.7 percent to 77.8 percent. During the greater remaining part of the year a monthly alternation of peaks and declines is observed, the maximum being recorded in February – 100 percent. In the goats IE is high almost throughout the whole year, over 80 percent, the second half of the year being kept at 100 percent except for the months of July and October. During the first half of the year an alternation of peaks and declines in IE is also observed though not so marked as in the case of the sheep. The average IE for both species of end hosts displays peaks in February, April and December, while in the summer months it is permanently maintained as high.

The season dynamics in the spread of the different protostrongylid genera has been traced and graphically presented in Figure 2 and Figure 3. From Figure 2 it is clear that IE of the Cystocaulus genus in the goats displays monthly peaks and declines in the first half of the year and has greater values as compared to the second half. In the summer, after June, the IE with Cystocaulus starts to drop gradually and toward the end of autumn and in the winter it is gradually increased without reaching values over 36.4 percent. The rate of infection with the Muellerius genus is high throughout the whole year. Except for the weakly pressed

Table 1. Coprolarvoscopic investigations of goats and sheep /
Tabela 1. Koprolarvoscopska istraživanja kod koza i ovaca

Hosts / <i>Domaćin</i>	Goats / <i>Koze</i>				Sheep / <i>Ovce</i>			
Month / <i>Mesec</i>	N	N+	N+ (genus)	IE %	N	N+	N+ (genus)	IE %
I.04.	14	14	14-Muell. 4-Cystoc.	100 28.6	14	2	2-Muell.	14.3
II	24	16	16-Muell. 14-Cystoc.	66.7 58.3	6	6	3-Muell. 3-Cystoc.	50 50
III	32	24	24-Muell. 8-Cystoc. 2-Neostr.	75 25 6.25	12	4	4-Muell. 4-Cystoc. 4-Protostr. 2-Neostr.	33.3 33.3 33.3 16.7
IV	16	14	14-Muell. 12-Cystoc.	87.5 75	14	12	10-Muell. 4-Cystoc. 4-Protostr. 2-Neostr.	71.4 28.6 28.6 14.3
V	14	8	8-Muell. 4-Cystoc.	57.1 28.6	14	6	6-Muell. 2-Protostr.	42.9 14.3
VI	20	20	20-Muell. 10-Cystoc.	100 50	20	14	12-Muell. 4-Cystoc. 4-Neostr. 4-Protostr.	60 20 20 20
VII	16	14	14-Muell. 6-Cystoc.	87.5 37.5	16	12	8-Muell. 2-Cystoc. 4-Protostr. 2-Neostr.	50 12.5 25 12.5
VIII	14	14	14-Muell. 4-Cystoc.	100 28.6	12	8	6-Muell. 2-Cystoc. 2-Protostr. 4-Neostr.	50 16.7 16.7 33.3
IX	18	18	18-Muell. 4-Cystoc.	100 22.2	18	14	10-Muell. 2-Neostr.	55.6 11.1
X	24	20	20-Muell. 4-Cystoc.	83.3 16.7	4	2	2-Muell.	50
XI	20	20	20-Muell. 4-Cystoc.	100 20	8	2	2-Muell.	25
XII	22	22	22-Muell. 8-Cystoc.	100 36.4	18	16	14-Muell. 4-Neostr. 2-Protostr.	77.8 22.3 11.1
I.05.	18	18	18-Muell. 6-Cystoc.	100 33.4	14	8	6-Muell. 2-Protostr.	42.9 14.3
Total / <i>Ukupno</i>	252	222	Proto-dae	88.09	170	106	Proto-dae	62.35

N – total number of investigated faecal samples / *ukupan broj ispitivanih uzoraka fecesa*

N+ – number of faecal samples positive for larvae of protostrongylids /

broj uzoraka fecesa pozitivnih na larve Protostrongylidae

N+ (genus) - number of faecal samples positive for larvae of the different protostrongylid genera /

broj uzoraka fecesa pozitivnih na larve raznih rodova Protostrongylidae

IE – infection extensity / *ekstenzivnost infekcije*

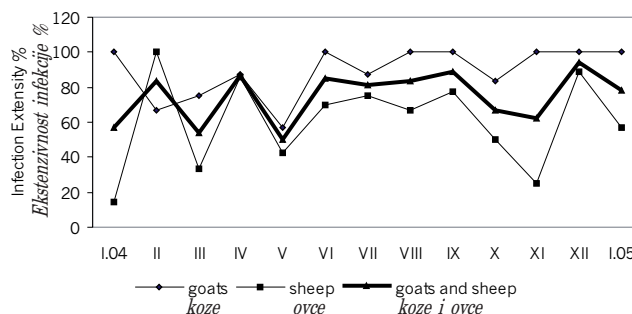


Figure 1. Season dynamics of protostrongylid infections in goats and sheep (Strazhitsa, Bulgaria, 2004-2005)

Slika 1. Dinamika *Protostrongylidae* infekcija po godišnjim dobima kod koza i ovaca (Stražica, Bugarska, 2004-2005)

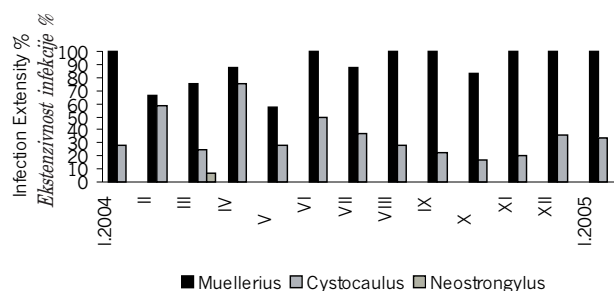


Figure 2. Season dynamics of prevalence of protostrongylid genera in goats (Strazhitsa, Bulgaria, 2004-2005)

Slika 2. Dinamika rasprostranjenosti rodova *Protostrongylidae* po godišnjim dobima kod koza (Stražica, Bugarska, 2004-2005)

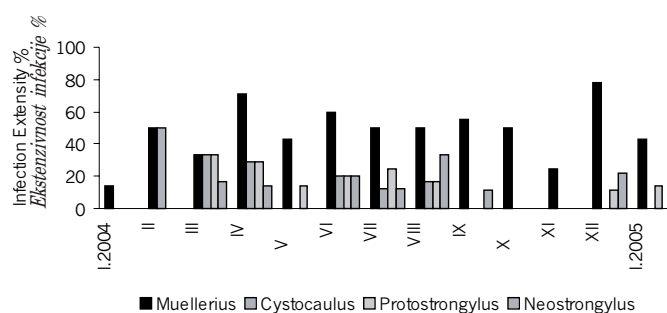


Figure 3. Season dynamics of prevalence of protostrongylid genera in sheep (Strazhitsa, Bulgaria, 2004-2005)

Slika 3. Dinamika rasprostranjenosti rodova *Protostrongylidae* po godišnjim dobima kod ovaca (Stražica, Bugarska, 2004-2005)

drops in February and May, IE is steadily kept over 80 percent during the year being 100 percent for the better part of the months. It is quite clear from Figure 3 that the protostrongylid generic diversity in the sheep is different during the different months of the year. It is noteworthy that the *Muellerius* genus is every month present in the lung fauna, throughout all seasons the IE with this particular genus being rather higher than that with the rest of the protostrongylid genera. During the spring and summer the generic diversity is at its maximum, all four genera of helminths established in the sheep being present. During the autumn and winter (from September till February) *Muellerius* has mainly been registered.

For that period the genera *Neostrongylus* and *Protostrongylus* were recorded only twice at a time and the *Cystocaulus* genus just once. The *Muellerius* genus is the most widespread one both among the goats and the sheep. This is most probably due to the high resistance, great longevity and the prolonged preservation of infection capacities of L1 in the environment [31, 27, 14, 36]. This makes it possible for a great number of animals to be infected for a longer period. For the *Neostrongylus* genus larvae the survival capacity according to Reguera-Feo *et al.* [31] and Morondo-Pelayo *et al.* [27] is quite low.

The amount of protostrongylid larvae in 1 gramme of faeces (LPG) has been calculated every month for every one of the marked goats (Table 2). The mean monthly values of this parameter in the adult goats and cubs are compared and the results are shown in Figure 4. The graph clearly states that there are several peaks in the larval output in the adults. The first one is observed in February 2004 – a total of 1537 larvae and the next one is in April – 2537. During the other months up till September, the larval output vacillates without surpassing 2000 LPG. During the months of autumn and winter, October, November and December, the larval output is abruptly increased reaching its maximum in December – 6414 LPG. In the next two months it falls under 2000 and at the end of the winter it rises again over that level – 2316. The increased larval output in February 2004 and February – March 2005 is accounted for by the so-called baby-delivery leap of the infection due to the lowered resistance of the organism as a result from the stress. Other authors have also observed this phenomenon in animals during the last months of gestation or around birth [10, 32, 4].

The increase of the larval output in April may be due to several reasons: spring enhancement of the sexual production of the adult helminths, activation of the histotropic larvae latent during the winter and now reaching sexual maturation, and the attenuated immunity of the host caused by the lack of antigenic stimuli during the winter. The protostrongylid larval output augmentation during the autumn and winter is probably due to an increased sexual production of the helminths with which the animals have been infected during the spring and summer. This could also be brought about by the lowered resistance of the animals due to the impaired conditions of living – low temperatures, lack of green food, etc. These results are in accordance with those of Diez-Banos *et al.* [32] according to whom IE with protostrongylids in sheep decreases during the warm

Table 2. *Protostrongylid larval output (larvae per gramme faeces) by marked goats /*
Tabela 2. Proizvodnja larvi Protostrongylidae (larve po gramu fečesa) kod obeleženih koza

A, S	I II. 2004	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII.04	I.2005	II	III
10 f	500	500	1100	1000	0*	600	100	1600	1700	3600	3200	900	150	2100
7 f	4000	0*	1400	300	700	900	1000	2900	2600	200	1100	100	1900	4500
7 f	4900	0*	11500	4300	2900	250	3600	3300	9500	19200	14500	NI	NI	NI
5 f	400	100	500	NI	200	100	0*	NI	1100	0*	300	0*	200	700
5 f	900	600	400	2000	2000	0*	0*	0*	3000	4300	7700	0*	0*	3400
3 f	0*	NI	3600	200	1000	650	300	1900	6300	10000	14700	6700	7300	2100
3 f	300	200	800	0*	300	150	0*	0*	1300	2600	3400	600	500	1100
<1 f	N	N	N	N	N	400	500	400	700	6000	2800	2300	NI	NI
<1 f	N	N	N	N	N	150	700	800	NI	5100	3500	NI	NI	NI
<1 f	N	N	N	N	N	350	300	2100	3500	28900	3500	2000	1400	0*
<1 f	N	N	N	N	N	0*	1200	2100	1100	4600	3900	2600	2700	2200
3 m	1300	300	1000	100	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<1 m	N	N	N	N	N	400	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<1 m	N	N	N	N	N	600	860	1700	NI	20200	11700	2800	700	NI
<1 m	N	N	N	N	N	100	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<1 m	N	N	N	N	0*	600	2800	NI	2100	NI	NI	NI	NI	NI
<1 m	N	N	N	N	N	0*	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

A – age of animal (years) / starost životinje (godine)

S – sex of animal / pol životinje

<1 – under 1 year / manje od jedne godine

f – female / ženke

m – male / mužjaci

*a small number of larvae (under 100) have been established after the method of Vaida / mali broj larvi (manji od 100) ustanovljeno je po metodi Vaida

NI – not investigated / nije ispitano

N – sample, negative for protostrongylids / uzorak negativan na Protostrongylidae

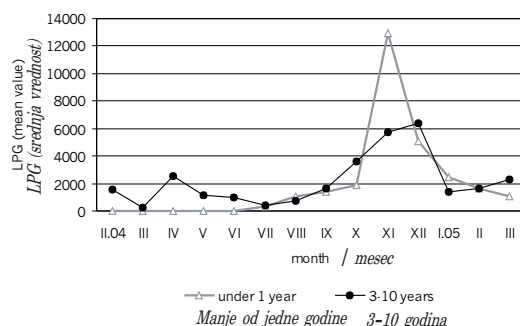


Figure 4. Season dynamics of protostrongylid larval output in goats (Strazhitsa, Bulgaria, 2004-2005)

Slika 4. Dinamika proizvodnje larvi *Protostrongylidae* po godišnjim dobima kod koza (Stražica, Bugarska, 2004-2005)

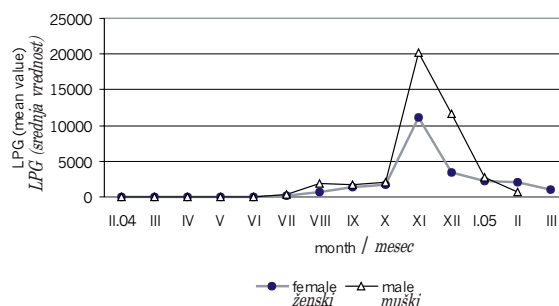


Figure 5. Influence of sex on protostrongylid larval output in young goats

Slika 5. Uticaj pola na proizvodnju larvi *Protostrongylidae* kod mladih koza

months and is on the rise during the cold ones. They are also consistent with the findings of Richard *et al.* [32] who have established higher IE values and augmented quantitative larval excretion for *Muellerius capillaris* in lactating goats during the autumn as opposed to spring.

Protostrongylid larval output (PLO) in young goats has been established for the first time 5 to 6 months after their birth. This is the period of the encounter of the young animals with infectious larvae on the pasture, the overcoming of maternal immunity and development of the helminths to sexual maturity. The larval output in this age group is significantly augmented during the autumn and winter months but the peak is in November – 1 month prior to that for the adult goats and the LPG amount is significantly greater – 12960 which can be assigned

to the fact that the cubs have been infected for the first time in the calendar year during which their immune system has also been under construction. After November the larval output in young goats decreases.

The influence of sex on PLO has been traced by interpreting the results from the investigations on the animals before 1 year of age (Figure 5). PLO is higher in the male cubs during all months of the study save for February that could be attributed to baby-delivery in the females.

A number of authors in Bulgaria have reported a protostrongylid IE growth with age [12, 2, 30, 40, 25], others, however, have reported just the opposite or have established differences due to the protostrongylid species [16, 7]. Up till the present moment, however, the influence of the host's age on the amount of protostrongylid larvae released with the faeces has not been studied in our country. It is obvious from the present study (Fig. 6) that PLO also rises with age which is in accord with other authors reporting on this fact [9, 32].

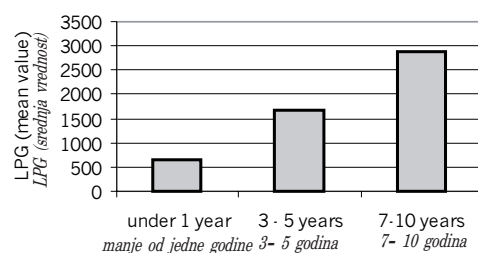


Figure 6. Age dynamics of protostrongylid larval output in goats
Slika 6. Uticaj starosne dobi na proizvodnju larvi *Protostrongylidae* kod koza

Investigations on the intermediate hosts:

The following snail species have been gathered during the entire field study on the pasture: *Helicella obvia* [Menke, 1828], *Monacha cartusiana* [Mueller, 1774] and *Bradybaena fruticum* [Mueller, 1774]. *H. obvia* is the most common species with density in some places in the pasture of over 300 snails per square metre and a presence during the entire period from May to October. *H. obvia* is followed by *M. cartusiana* -with much lower density and found during three of the studied months. A total of 5 juvenile specimens of the *B. fruticum* species were found in September and October. The results from the snail studies are presented in Table 3. The degrees of parasitic infection of both major species on the pastures are compared in Table 4. IE is higher in *H. obvia* than that in *M. cartusiana*, which is in accordance with the data of Georgiev [17] about the Stara Zagora region. As for the infection intensity (II) the opposite trend is valid which contradicts the above-

quoted author. In one experimental studies we have also recorded a higher II in *M. cartusiana* as compared to the one found in *H. obvia* (unpublished data).

Table 3. Investigations of snails /
Tabela 3. Istraživanja na puževima

Month / Mesec	Snail species / Vrsta	N	N+	IE%	Min. II	Max. II	L	Mean II /
May / Maj	<i>H. obvia</i>	50	12	24	1	7	65	5.4
June / Jun	<i>H. obvia</i>	64	23	35.9	1	11	71	3
	<i>M. cartusiana</i>	3	1	33.3	23	23	23	23
July / Jul	<i>H. obvia</i>	50	18	36	1	14	55	3
	<i>M. cartusiana</i>	22	6	27.3	1	55	102	17
August / Avgust	<i>H. obvia</i>	50	15	30	1	92	165	11
September / Septembar	<i>H. obvia</i>	57	16	28	1	26	86	5.3
	<i>M. cartusiana</i>	23	5	21.7	1	19	39	7.8
	<i>B. fruticum</i>	3	2	66.7	1	2	3	1.5
October / Oktobar	<i>H. obvia</i>	50	7	14	1	7	17	2.4
	<i>B. fruticum</i>	2	0	0	0	0	0	0

N – total number of investigated snails / *ukupan broj ispitivanih puževa*

N+ – total number of infected snails / *ukupan broj inficiranih puževa*

IE – infection extensity / *ekstenzivnost infekcije*

II – infection intensity / *intenzivnost infekcije*

L – total number of protostrongylid larvae in the infected snails /
ukupan broj larvi Protostrongylidae kod inficiranih puževa

Table 4. Comparative infection of the major snail species /
Tabela 4. Usporedne infekcije glavnih vrsta puževa

Snail species / Vrsta	N	N+	IE%	L	Mean II /
<i>H. obvia</i>	321	91	28.34	459	5.04
<i>M. cartusiana</i>	48	12	25	164	13.66

N – total number of investigated snails / *ukupan broj ispitivanih puževa*

N+ – total number of infected snails / *ukupan broj inficiranih puževa*

IE – infection extensity / *ekstenzivnost infekcije*

L – total number of larvae in the infected snails / *ukupan broj larvi kod inficiranih puževa*

II – infection intensity / *intenzivnost infekcije*

Season dynamics of the infection intensity and extensity with protostrongylid larvae of the snails is presented in Figure 7. It is evident from it that IE is at its highest during the summer – between 30 percent and 35 percent, and it is comparatively high in spring – 24 percent and lowest in the autumn – 8.6 percent. Similar dynamics is also observed for II but in this case a peak month (August) is registered in the summer after which it shows a smooth decline.

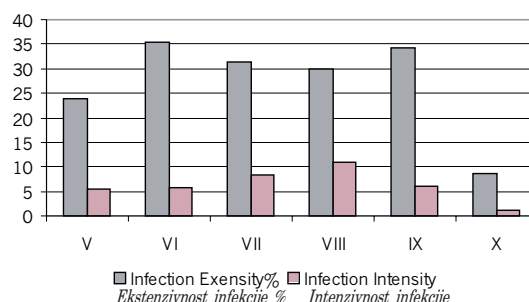


Figure 7. Season dynamics of protostrongylid infection in snails (Strazhitsa, Bulgaria, 2004)

Slika 7. Dinamika *Protostrongylidae* infekcija po godišnjim dobima kod puževa (Stražica, Bugarska, 2004)

According to authors from Europe, Joyeux and Gaud, 1946; Davtian, 1950; Zdarska, 1960, quoted by Sumnaliev [33] the extensity of protostrongylid infection in the gastropods displays two peaks – a spring and an autumn one. The studies of Sumnaliev [33] about the Sofia area confirm this tendency in relation to the species *Neostromylus lineatus* and *Cystocaulus ocreatus*. In other species he observed one peak for each – in the summer for *M. capillaris* and in the autumn for the *Protostrongylus* sp. For the Shumen region the author observed the highest IE with protostrongylids in *H. obvia* at the end of spring - the beginning of summer, but not in all years of the studies. According to Zurliiski [39] the extensity of protostrongylid infections in the gastropods in the Varna area displays a peak in the autumn and according to Georgiev and Georgiev [18] this parameter for the Stara Zagora region is higher in the summer rather than in the autumn. The months June and July are found as peak ones for the protostrongylid infection of mollusks in Poland [26] while Manga-Gonzalez and Morrondo-Pelayo [24] have noted the months July, August, September and October as peak ones for Spain. In Tunisia, Lahmar *et al.* [22] have established that the infection in the snails is high from February till April (at the end of the humid period) and later with the increase of the temperature and subsiding of the showers the infection in the snails decreases in size. From the above-presented we can draw the conclusion that the season dy-

namics in the infection of gastropods with protostrongylids depends on the climatic and geographical characteristics of the region under study, as well as on the concrete conditions during the research period.

Conclusion / Zaključak

In conclusion the epidemiology of the protostrongylidoses in the climate-geographical conditions of north-eastern Bulgarian can be summed up in the following manner. In spring being activated the intermediate hosts start progressively to contract infection. The peaks in IE and PLO in the end hosts are also favorable factors. II in the gastropods is gradually on the rise in the summer, reaching its peaks in August after which it starts to drop, while IE is permanently preserved around its highest values from June to September. The availability of a constant source of infection for the end hosts during these months quite logically explains the lasting maintenance of IE in them as well. In the autumn, together with the decrease of IE and II in the snails, a diminution of IE in the end hosts is observed while larval output starts to increase reaching its maximum in November-December. The augmentation of the IE and PLO values in the end hosts is also observed in February due to the conditions of the birth delivery period.

The higher IE in the goats and the greater generic diversity in the sheep render these two species of end host topical, each one in a specific way, for the epidemiology of protostrongylidoses.

Due to the high IE and the great density of the intermediate hosts *H. obvia* we consider the species to be of greatest importance for the spread of these helminthoses in the studied region.

Acknowledgement: Study supported by the Bulgarian Ministry of Education and Science, grant No AS-1311/2003. /

Zahvalnica: Istraživanje je podržalo bugarsko Ministarstvo za obrazovanje i nauku, projekat broj AS-1311/2003.

References / Literatura

1. Astiz S., Miro G., Meana A., Garcia-Romero C., Valcarcel F.: Seasonal prevalence of lungworm infections of goats in Castilla-La Mancha, TEA Production Animal, 96, 2, 95-101, 2000. - 2. Bankov D., Mitev M., Spasov M.: Study on the etiology and epizootology of helminth infections at the industrial sheep complexes, Veterinary Science (in Bulgarian), 14, 7, 39-47, 1977. - 3. Berrag B., Cabaret J.: Impaired pulmonary gas exchange in ewes naturally infected by small lungworms, Int J Parasitol, 26, 1397-1400, 1996. - 4. Berrag B., Urquhart G. M.: Epidemiological aspects of lungworm infections of goats in Morocco, Vet Parasitol, 61, 1-2, 81-85, 1996. - 5. Berrag B., Cabaret J.: Assessment of the severity of natural infections of kids and adult goats by small lungworms (Protostrongylidae, Nematoda) using macroscopic lesion scores, Vet Res, 28, 2, 143-148, 1997. - 6. Boev S. N.: Protostrongylidi, In: Ryzhikov KM, editor, Osnovy Nematodologii, Vol 25, Moscow: Nauka, 268, 1975. - 7. Bratanov V.: Study on the worm population in sheep in the districts of Haskovo and Kardjali. Veterinarna Sbirka (in Bulgarian), 11, 14-17, 1965. - 8. Cabaret J.: Sheep and goats: epidemiology of protostrongylid lungworm infection, Int Goat and Sheep Res, 2,

- 142-152, 1984. - 9. Cabaret J., Dakkak A., Alahkam L.: Considerations sur l'élimination des larve L1 de Protostrongylides dans les feces des ovins: nature de la distribution, influence de l'âge de l'animal et des traitements anthelminthiques, Ann Soc Belge Med Trop, 58, 309-314, 1978. - 10. Cabaret J., Dakkak A., Bahida B.: On some factors influencing the output of the larvae of Protostrongylids of sheep in natural infections, Tijdschr Diergeneeskde, 105, 8, 115-120, 1980. - 11. Cabaret J., Anjorand N., LeClerc C.: Parasitic risk factors on pastures of French dairy goat farms, Small Rum Res, 2, 69-78, 1989. - 12. Daskalov P., Kakaceva-Avramova D., Varadinov A., Jivkov D., Karapcanski I.: Sur les nematodes pulmonaires des moutons en Bulgarie, Proceedings of Central Helminthological Laboratory, BAS, 6, 59-65, 1961. - 13. Denev J.: Immunization trials in infection by Protostrongylids of sheep and goats, Vet Med Nauki (in Bulgarian), 8, 45-51, 1971. - 14. Diez-Banos P., Cabaret J., Morrondo-Pelayo P.: Comparative survival of first-stage larvae of small lungworms *Muellerius capillaris* and *Neostrongylus linearis* of goats in alfalfa and ryegrass plots, Vet Res, 24, 3, 266-271, 1993. - 15. Diez-Banos P., Morrondo-Pelayo P., Feijoo-Penela A., Carrillo-Gonzalez B., Lopez-Sandez C.: Relationship between the excretion of protostrongylid larvae in sheep in north-west Spain and climatic conditions, J Helminthol, 68, 3, 197-201, 1994. - 16. Georgiev B. I.: Beitrag zur helminthenfauna unter den schafen in Bulgarien, Proceedings of Institute of Experimental Veterinary Medicine, 5, 154-163, 1956. - 17. Georgiev D.: Ecological aspects of the circulation of the Protostrongylidae nematode family on pastures in the Stara Zagora area, PhD Thesis, College of Agriculture at the Thracian University, Stara Zagora, 2003. - 18. Georgiev D., Georgiev B.: Terrestrial gastropods as intermediate hosts of protostrongylid nematodes in pastures for sheep and goats in the region of Stara Zagora, Bulgaria, Acta Zoologica Bulgarica, 54, 3, 47-54, 2002. - 19. Halacheva M., Lilkova N., Roussev I., Vitanov I.: Endoparasitoses in goats – species composition and distribution, VI National Conference of Parasitology Sofia 5-7 October, 107, 2001. - 20. Kutz S., Fisher K., Polley L.: A lung nematode in Canadian Arctic Muskoxen, Bovidae Medical Imaging, 15, 2, 359-377, 1999. - 21. Kutz S. J., Veitch A. M., Hoberg E. P., Elkin B. T., Jenkins E. J., Polley L.: New host and geographic records for two protostrongylids in Dall's sheep, J Wildl Dis, 37, 4, 761-774, 2001. - 22. Lahmar S., Cabaret J., Cheniti T.: Land snails and periods at high risk for protostrongylid infection on a sheep-grazed pasture of northeast Tunisia, Vet Parasitol, 36, 1-2, 105-115, 1990. - 23. Malone F. E.: Parasitic bronchitis and pneumonia. In: Martin WB, Aitken ID, editors, Diseases of Sheep, Oxford: Blackwell Science, 202-204, 2000. - 24. Manga-Gonzalez Y., Morrondo-Pelayo P.: Notes on natural infection of some Helicidae species (Mollusca, Stylommatophora) by protostrongylinae sheep larvae, Malacologia, 22, 1-2, 61-70, 1982. - 25. Marinov M.: Helminth parasites of sheep on highland pastures in intensive sheep-breeding regions in the Middle Stara Planina Mts (Bulgaria), Acta Zoologica Bulgarica, 49, 86-93, 1997. - 26. Misiewicz J., Demiaszkiewicz A. W.: Occurrence of larvae of Protostrongylidae family in terrestrial snails in the woods of Olsztyn and Silesian districts, Wiad Parazytol, 40, 2, 167-172, 1994. - 27. Morrondo-Pelayo P., Diez-Banos P., Cabaret J.: Influence of desiccation of faeces on survival and infectivity of first-stage larvae of *Muellerius capillaris* and *Neostrongylus linearis*, J Helminthol, 66, 3, 213-219, 1992. - 28. Oncel T., Akyol C. V.: The prevalence of helminth parasites in sheep in Southern Marmara region, Turkey, VI National Conference of Parasitology Sofia 5-7 October, 104-105, 2001. - 29. Panayotova-Pencheva M., Nanev V., Todev I., Mutafova T.: Investigations of protostrongylid fauna of wild ruminants from different regions in Bulgaria, Veterinary Medicine (in Bulgarian), 1-2, 54-57, 2004. - 30. Petkov A.: Helminthoses in sheep under the new conditions in AIC and modern tasks of prevention, Veterinarna sbirka (in Bulgarian), 9, 33-36, 1983. - 31. Reguera-Feo A., Rojo-Vazquez F. A., Cordero-Del-Campillo M.: On first-stage larval resistance under controlled conditions of three species of nematodes of the family Protostrongylidae Leiper, 1926, Ann Parasitol Hum Comp, 61, 3, 297-301, 1986. - 32. Richard S., Cabaret J., Cabourg C.: Genetic and environmental factors associated with nematode infection of dairy goats in northwestern France, Vet Parasitol, 36, 3-4, 237-43, 1990. -

33. Sumnaliev P.: Studies on the biological cycle of protostrongylids in Bulgaria, PhD Thesis, Central Helminthological Laboratory at BAS, Sofia, 142, 1968. - 34. Sumnaliev P.: Opasni gosti, Sofia: Zemizdat, 172, 1972. - 35. Sepetliev D.: In: Prokopieva G, editor, Medical statistics, Sofia: Medicina i fizkultura, 207, 1980. - 36. Solomon A., Ilan P., Itamar G.: Desiccation tolerance of *Muellerius cf. capillaris* (Nematoda: Protostrongylidae) first-stage larvae, J Parasitol, 84, 4, 802-805, 1998. - 37. Svarc R.: Pulmonary nematodes of the chamois *Rupicapra rupicapra tatica* Blahout, 1971. 1. Pathomorphological picture of lungs during the development of worms into the adult stage, Helminthologia, 21, 2, 141-150, 1984. - 38. Thomson E. F., Gruner L., Bahhady F., Orita G., Termanini A., Ferdawi A. K., Hreitani H.: Effects of gastro-intestinal and lungworm nematode infections on ewe productivity in farm flocks under variable rainfall conditions in Syria, Livest Prod Sci, 63, 65-75, 2000. - 39. Zurliiski P.: Study on the intermediate hosts of the family Protostrongylidae (Leiper, 1926), Veterinarna Sbirka (in Bulgarian), 1, 26-27, 1994. - 40. Zurliiski P., Russev I.: Investigation on the distribution of family Protostrongylidae in goats, Veterinarna sbirka (in Bulgarian), 5/6, 40-42, 1990.

SRPSKI

**EPIDEMIOLOŠKA ISTRAŽIVANJA HELMINTOZA IZAZVANIH SA
PROTOSTRONGYLIDAE LEIPER, 1926, KOD KOZA I OVACA**

Mariana S. Panajotova-Pencheva

Obavljena su istraživanja na ovcima, kozama i puževima iz severoistočne oblasti Bugarske. Ustanovljena su četiri roda *Protostrongylidae* – *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Prostrongylus* i *Neostrongylus*. Ekstenzivnost infekcije kod koza je veća nego kod ovaca, dok je generička raznolikost veća kod ovaca. Praćenjem dinamike parazitskih infekcija kod krajnjih domaćina po godišnjim dobima ukazala su da se ekstenzivnost infekcije trajno zadržava na visokim nivoima tokom leta. U toku jeseni, zabeležen je pad ekstenziteta infekcije, ali je povećana količina larvi oslobođenih u fecesu, dostižući maksimalnu vrednost u novembru i decembru. Relativno povećanje ekstenzivnosti infekcije, kao i izbacivanja larvi, ustanovljeno je u februaru, a samo izbacivanje larvi je povećano u aprilu. Praćene su i promene po godišnjim dobima u širenju različitih rodova *Protostrongylidae* u krajnjim domaćinima, kao i uticaj starosti i pola na izbacivanje larvi. Promene ekstenzivnosti i intenzivnosti infekcije kod puževa na pašnjaku takođe su praćene po dobima godine. *H. obvia* je intermedijarni domaćin od najveće važnosti za širenje protostrongilidoza u ispitivanom regionu.

Ključne reči: epidemiologija, koze, *Protostrongylidae*, ovce, puževi

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕЛЬМИНТОЗОВ, ВЫЗВАННЫХ
С *PROTOSTRONGYLIDAE LEIPER*, 1926, У КОЗ И ОВЕЦ**

Мариана С. Панаётова-Пенчева

Совершены исследования на овцах, козах и слизняках – улитках из северо-восточной области Болгарии. Установлены четыре рода *Protostrongylidae* – *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Prostrongylus* и *Neostrongylus*. Экстенсивность инфекции у коз бо́лее большая, чем у овец, пока генерическая разнообразность бо́льше у овец. Слежкой динамики паразитических инфекций у окончательных хозяев по временам года показали, что экстенсивность инфекции длительно задерживается на высоком уровне в течение лета. В течение осени, записано падение экстенсивности, но увеличено количество личинок, освобождённых в кале, достигая максимальную стоймость в ноябре и декабре. Релятивное увеличение экстенсивности инфекции, словно и выбрасывания личинок записано в феврале, а только выбрасывание личинок увеличено в апреле. Слежены и изменения по временам года в расширении различных родов *Protostrongylidae* в окончательных хозяев, словно и влияние возраста и пола на выбрасывание личинок. Изменения экстенсивности и интенсивности инфекции у слизняков-улиток на постбище также слежены по возрасту года. *H. obvia* интермедиальный хозяин наиболее важно для расширения протостронгилдозов в испытанном регионе.

Ключевые слова: эпидемиология, козы, *Protostrongylidae*, овцы, слизняки-улитки

**FLORFENICOL – PHARMACODYNAMIC,
PHARMACOKINETICS AND CLINICAL EFFICACY OF ORAL
FORMULATIONS IN DOMESTIC ANIMALS – A SYSTEMATIC
REVIEW***

***FLORFENIKOL – FARMAKODINAMIKA, FARMAKOKINETIKA I
KLINIČKA EFIKASNOST ORALNIH FORMULA KOD DOMAĆIH
ŽIVOTINJA – SISTEMATSKI PRIKAZ***

L. Ščuka**

Porcine respiratory disease complex (PRDC) is a major economic problem for swine producers world-wide.

Pharmacodynamic, pharmacokinetics and clinical efficacy of florfenicol oral formulations in domestic animals were evaluated. For this purpose the systematic review and meta-analysis were done.

In vitro efficacy of florfenicol showed that this drug is highly effective against most important respiratory pathogens. All these facts are shown in our survey.

*Three studies in pigs were relevant to include in the meta-analysis, which showed that results in the florfenicol group were better than in comparative control groups in all observed parameters: clinical signs, lung lesions and reisolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* ($P < 0.001$). A second meta-analysis with 7 studies showed that the usage of florfenicol reduces mortality in pig herds with PRDC ($P < 0.05$).*

Other field trials in pigs using florfenicol oral forms were reviewed. After treatment with florfenicol oral solution there was a significant drop of mortality in both groups of pigs ($P < 0.01$); eg. one using florfenicol oral solution in treating PRDC ($n = 85$) and another mixed pneumo-enteric infection ($n = 54$).

Analysis of data when using premix in pigs ($n = 118$) also suggests that a medicated premix has a favorable anti-infectious effect on pigs, irrespective of the group of animals or the evolution stage of the disease.

* Rad primljen za štampu 26. 10. 2005. godine

** Leon Ščuka, PhD MsC DVM, „Krka“, d.d., Novo mesto, Ljubljana, Slovenija, e-mail: leon.scuka@krka.biz

Finally, favourable effect of florfenicol in treating swine ileitis was also presented.

Regarding their pharmacokinetics, in vitro and clinical efficacy of florfenicol oral forms, they should be considered as a powerful tool for combating complex infections that are frequently met in intensive animal production.

Key words: florfenicol, oral forms, pharmacokinetics, pharmacodynamics, systematic review, pigs

Introduction / Uvod

Florfenicol is a thiamphenicol derivative whose molecule contains a fluorine atom instead of a hydroxyl group. Florfenicol is, therefore, also active against acetyltransferase-producing bacteria and against chloramphenicol-resistant bacteria. Unlike chloramphenicol, florfenicol does not contain a nitro-group, so its use is not associated with aplastic anemia [1].

Porcine respiratory disease complex (PRDC) also called swine respiratory disease (SRD) is a major economic problem for swine producers worldwide. PRDC is characterised by slow and uneven growth, reduced feed intake, higher feed to gain conversion ratios, cough, and clinical pneumonia. PRDC is a multifactorial disease. The following were detected as typical pathogens: porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), *Mycoplasma hyopneumoniae*, swine influenza virus (SIV), *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, *Pasteurella multocida*, pseudorabies virus (PRV), porcine respiratory coronavirus (PRCV) and, porcine circovirus type 2 (PCV). The interaction between pathogens and the immune status of the animal must be taken into account when developing strategies for each farm [2].

A Systematic Review / Sistematski prikaz

Systematic reviews are concise summaries of the best available evidence that address sharply defined questions, they seek to assemble and examine all the high quality evidence on a specific question at hand. These strategies include a comprehensive search of all potentially relevant articles and the use of explicit, reproducible criteria in the selection of articles for review. When the results of primary studies are summarized but not statistically combined, the review may be called a qualitative systematic review. A quantitative systematic review, or meta-analysis, is a systematic review that uses statistical methods to combine the results of two or more studies [4].

1. Pharmacokinetics / Farmakokinetika

Table 1. Basic pharmacokinetic data on florfenicol depending on animal species and routes of administration (5-11) /

Tabela 1. Osnovni farmakokinetički podaci o florfenikolu u zavisnosti od vrste životinje i načina davanja (5-11)

Animal species (rote of administration) / Vrsta životinje (način davanja)	Tmax (h)	Cmax (μg/ml)	Bioavailability / Biodostupnost (%)	Volume of distribution / Rasprostra- njenost (l/kg)	T1/2 (h)
Pigs (i.m) / <i>Svinje</i> (oral) / (<i>oralno</i>)	2.3 3.0	7.3 14.8	96.9 148.5	1.53	14.6-17.2 5.5-10.0
Poultry (oral) / <i>Živina</i> (<i>oralno</i>) Turkeys (oral) / <i>Ćurke</i> (<i>oralno</i>)	3.2 2.0	1.0 5.7	55.3 59.2	2.34-5.11 0,70	21.9 2.4
Fish-brook trout / <i>Ribe – rečna pastrmka</i> (water temperature 10-11°C) / (<i>temperatura vode 10-11°C</i>)	12	3.2	81.2	1.12	12.0

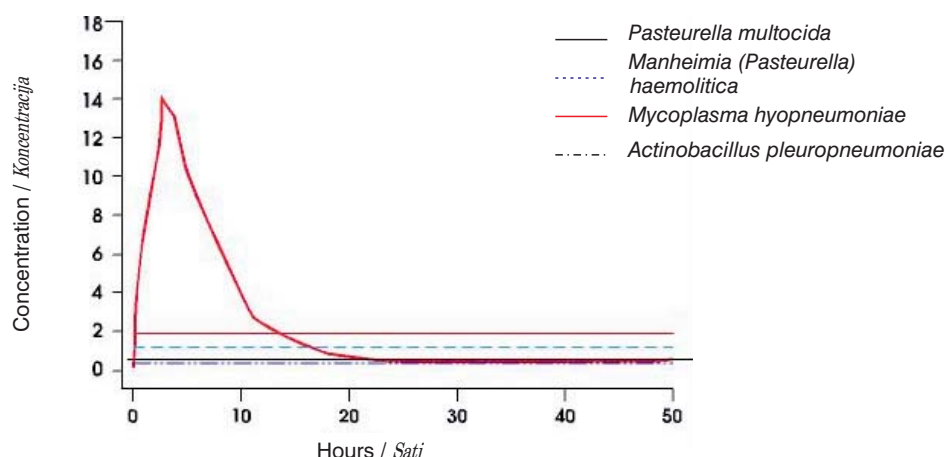
Following oral administration, florfenicol is readily absorbed, which is evident from the high bioavailability values, and only small amounts are bound to plasma proteins (up to 18.6%).

In turkeys high concentrations of florfenicol are found in plasma quickly after oral administration.

After intramuscular and oral administration, florfenicol is extensively distributed in tissues and body fluids; plasma and tissue concentration of the active substance is therefore higher than the minimal inhibitory concentrations required for the *in vitro* inhibition of growth of microorganisms. High concentrations are noted in the kidneys, lungs, urinary bladder, muscle and heart tissue, in the intestines, bronchial secretion, urine and bile; lower levels are noted in the cerebrospinal fluid and the cerebral tissue. The higher bioavailability oral in pigs might be explained by the fact that florfenicol passes through an enterohepatic circulation.

In the organism, florfenicol is partly biotransformed; more than a half of the administered dose is excreted in an unchanged form, mostly in urine and a smaller part in faeces.

Oral administration of the drug is associated with high initial concentrations which are above most bacterial MICs for aprox. 15-21 hours. It is suggested that florfenicol displays concentration-dependent and also postantibiotic effect (PAE) against animal pathogenes. Taking into account also PAE, which is probably due to the time needed to remove the drug from ribosomes, the total effect of florfenicol could last a few hours longer [12, 13].



Graph 1. Mean florfenicol serum concentrations at different time intervals following oral administration to pigs (15 mg/kg body weight, 250 mg/kg feed) (N=6) compared with MICs in table 2. [5] /

Grafikon 1. Srednje koncentracije florfenikola u serumu u različitim vremenskim intervalima posle oralne primene kod svinja (15 mg/kg t.m, 250 mg/kg hrane) (N=6) u poređenju sa MICs u tabeli 2 [5]

Table 2. Pharmacokinetic parameters obtained from plasma concentrations of florfenicol after single oral administration to fasted and fed pigs (20 mg/kg t.m. n=6) [7] /

Tabela 2. Farmakokinetički parametri dobijeni za florfenikol koncentracije u plazmi posle jedne oralne primene kod izgladnjivanih i hranjenih svinja (20 mg/kg t.m, n=6) [7]

Group / Grupa	C _{max} (mg/l)	T _{max} (h)	T _{1/2} (h)	AUC (mg/h L)
Fast / Izgladnjivane	15.1	1	6.0	91.4
Feed / Hranjene	7.5	2	6.4	88.5

By comparing the pharmacokinetic parameters from fasted and fed pigs after oral administration of florfenicol, it is suggested that both bioavailabilities were similar and the half-lives of elimination were rather long. The high C_{max} was reached in 1 h and 2 h in fasted and fed pigs, respectively. The results showed that feeding has little impact on absorption of florfenicol and suggested that it could be added into feed to control bacterial disease.

2. In vitro efficacy of florfenicol on important disease pathogens /

In vitro efikasnost florfenikola kod važnih patogenih bolesti

Many authors have investigated *in vitro* efficacy of florfenicol in pigs and poultry as is shown in table 3.

Table 3. Some values showing *in vitro* efficacy of florfenicol in pigs and poultry (13-17) /
Tabela 3. Neke vrednosti koje pokazuju *in vitro* efikasnost florfenikola kod svinja i živine (13-17)

Type of pathogen (number of strains) / <i>Vrsta patogena (broj sojeva)</i>	MIC ₅₀ (µg/ml)	Type of pathogen (number of strains) / <i>Vrsta patogena (broj sojeva)</i>	MIC ₅₀ (µg/ml)
<i>Pasteurella multocida</i> (N = 119), pigs / <i>svinje</i>	0.51	<i>Staphylococcus aureus</i> (N = 6), poultry / <i>živina</i>	2
<i>Pasteurella haemolytica</i> (N = 13), pigs / <i>svinje</i>	0.70	<i>Pasteurella multocida</i> (N = 2), poultry / <i>živina</i>	0.125
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (N=108), pigs / <i>svinje</i>	0.50	<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (N = 3), poultry / <i>živina</i>	0.125
<i>Streptococcus suis</i> type 2 (N = 42), pigs / <i>svinje</i>	1.0	<i>Staphylococcus aureus</i> (N = 6), poultry / <i>živina</i>	2
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (N = 14), pigs / <i>svinje</i>	2.0	<i>Escherichia coli</i> (N = 11), poultry / <i>živina</i>	3.11
		<i>Enterococcus faecalis</i> (N = 3), poultry / <i>živina</i>	2

Zolynas [18] examined *in vitro* efficacy against different respiratory pathogens in pigs.

Table 4. MIC (µg/ml) of florfenicol against pathogenic bacterial lung isolates /
Tabela 4. MIC (ug/ml) florfenikola prema izolatima patogenih bakterija iz pluća

Bacteria (number of isolates) / <i>Bakterija (broj izolata)</i>	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	MIC range (µg/ml)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (N = 100)	0.25	0.5	0.25-1.0
<i>Pasteurella multocida</i> (N = 107)	0.5	0.5	0.25-0.5
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (N = 49)	2.0	2.0	0.5-4.0
<i>Haemophilus parasuis</i> (N = 36)	0.25	0.5	≤ 0.12-1.0
<i>Streptococcus suis</i> (N = 62)	2.0	2.0	1.0-2.0
<i>Salmonella choleraesuis</i> (N = 36)	4.0	4.0	2.0-4.0
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (N = 14)	2.0	8.0	0.5-8.0
<i>Mycoplasma hyorhinis</i> (N = 24)	2.0	4.0	0.5-8.0

Salmon *et al* [19] reviewed MICs of comparable antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine.

Table 5. Summary of MIC ($\mu\text{g/ml}$) for various antimicrobial agents against isolates from swine respiratory disease in period 2000-2001 /
Tabela 5. Prikaz MIC ($\mu\text{g/ml}$) kod raznih antimikrobnih agenasa prema izolovima respiratorne bolesti svinja za period 2000-2001.

Antimicrobial agent / <i>Antimikrobni agensi</i>	Actinobacillus pleuropneumoniae (N = 89)			Pasteurella multocida (N = 186)			Streptococcus suis (N = 167)		
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
Ceftiofur / <i>Ceftiofur</i>	≤ 0.03	≤ 0.03	$\leq 0.03-0.06$	≤ 0.03	≤ 0.03	$\leq 0.03-0.12$	≤ 0.03	0.06	$\leq 0.03-4.0$
Enrofloxacin / <i>Enrofloksacin</i>	≤ 0.03	≤ 0.03	$\leq 0.03-0.06$	≤ 0.03	≤ 0.03	$\leq 0.03-0.5$	0.25	0.5	$\leq 0.03-1.0$
Tilmicosin / <i>Tilmikosin</i>	2.0	4.0	0.12-4.0	4.0	8.0	$\leq 0.12- >64.0$	>64.0	>64.0	$\leq 0.12- >64.0$
Florfenicol / <i>Florfenikol</i>	0.25	0.5	0.06-0.5	0.25	0.5	$\leq 0.06-4.0$	1.0	2.0	0.12-4.0
Tetracycline / <i>Tetraciklin</i>	16.0	32.0	0.12-64.0	2.0	32.0	0.25- >64.0	64.0	64.0	0.25- >64.0
Spectinomycin / <i>Spektinomisin</i>	8.0	16.0	2.0-32.0	16.0	32.0	8.0- >128.0	8.0	32.0	$\leq 2.0- >128.0$
Penicillin / <i>Penicilin</i>	0.5	32.0	$\leq 0.12-64.0$	≤ 0.12	≤ 0.12	$\leq 0.12- >64.0$	≤ 0.12	0.25	$\leq 0.12-32.0$
Trimethoprim/sulfa / <i>Trimetoprim/sulfa</i>	≤ 0.06	≤ 0.06	$\leq 0.06-0.12$	≤ 0.06	0.25	$\leq 0.06- >8.0$	≤ 0.06	0.12	$\leq 0.06-1.0$

Kolodziejczyk *et al* [20] screened bacterial strains, 89.47% of all *A. pleuropneumoniae* strains (n=38), 92.3% of all *P. multocida* strains (n=78), 90.57% of *Streptococcus suis* strains (n=53), 76.47% of all *Staphylococcus aureus* strains (n=17), 78.79% of *S. choleraesuis* strains (n=17), 100% of *Haemophilus parasuis* strains (n=17) and 73.76% of *E. coli* strains (n=141) were susceptible to florfenicol.

Silva in Ishizuka [21] reviewed the susceptibility of respiratory pathogens to different antimicrobial agents.

Table 6. Share of susceptible strains with usage of different antimicrobials /
Tabela 6. Udeo podložnih sojeva pri upotrebi različitih antimikrobnih agenasa

Antimicrobial / Antimikrobni agens	<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
	%	%	%
Florfenicol / <i>Florfenikol</i>	100.0 (24/24)	96.7 (29/30)	96.7 (29/30)
Josamycin / <i>Josamicin</i>	66.7 (16/24)	80.0 (24/30)	70.0 (21/30)
Enrofloxacin / <i>Enrofloksacin</i>	75.0 (18/24)	76.7 (23/30)	80.0 (24/30)
Spiramycin / <i>Spiramicin</i>	62.5 (15/24)	76.7 (23/30)	53.3 (16/30)
Amoxicillin / <i>Amoksisicilin</i>	83.3 (20/24)	73.3 (22/30)	53.3 (16/30)
Lincomycin / <i>Linkomicin</i>	54.2 (13/24)	73.3 (22/30)	73.3 (22/30)
Norfloxacin / <i>Norfloksacin</i>	75.0 (18/24)	66.7 (20/30)	80.0 (24/30)
Tiamulin / <i>Tiamulin</i>	50.0 (12/24)	0.0 (0/30)	0.0 (0/30)

3. Clinical efficacy of florfenicol oral forms in pigs / Klinička efikasnost oralnih formula florfenikola kod svinja

A clinical trial was performed to establish the efficacy of florfenicol in the treatment of *A. pleuropneumoniae* infections. The trial comprised 44 pigs, which were assigned into five groups. The pigs were examined daily to establish possible signs of respiratory tract diseases. At the end of the trial, the pigs' lungs were examined for pathoanatomical changes and in certain cases *A. pleuropneumoniae* was isolated again [22].

The results obtained in three test groups showed that Floron oral solution is the most effective drug for the treatment of *A. pleuropneumoniae* infections. All animals were completely healed; no pathoanatomical changes were registered, and in the repeated test *A. pleuropneumoniae* was not isolated again.

Treatment with florfenicol premix was successful.

The results of therapy with tilmicosin were poorer. Only one third of the infected test pigs were healed, in 6 pigs pathoanatomical changes were observed and *A. pleuropneumoniae* was isolated again.

Table 7. *Clinical efficacy of two pharmaceutical forms of florfenicol and tilmicosin in pigs, infected by A. pleuropneumoniae* /

Tabela 7. Klinička efikasnost dve farmaceutske forme florfenikola i tilmikozina kod svinja zaraženih bakterijom A. pleuropneumoniae

Group / Grupa	Clinical signs of respiratory tract disease ¹ / Klinički znaci oboljenja respiratornog trakta ¹	Pathoanatomical changes of respiratory tract ² / Patoanatomske promene respirator- nog trakta ²	Reisolation of <i>A. pleuropneumoniae</i> ³ / Reizolacija <i>A. pleuropneumoniae</i> ³
Florfenicol Oral solution / <i>Florfenikol oralni rastvor</i> (N = 9)	0/0/9	0/9	0/9
Florfenicol Premix / <i>Florfenikol premiks</i> (N = 9) 40 ppm	1/0/9	2/9	2/9
Tilmicosin Premix / <i>Tilmikozin premiks</i> (N = 9)	5/0/9	6/9	6/9
Infected control group <i>Inficirana kontrolna grupa</i> (N = 9)	7/2/9	8/9	8/9
Non-infected control group / <i>Neinficirana kontrolna grupa</i> (N = 8)	0/0/8	0/8	0/8

¹ No. of animals with signs of respiratory tract diseases/No. of dead animals/No. of all animals /
Broj životinja sa znacima oboljenja respiratornog trakta/Broj mrtvih životinja/Ukupan broj životinja

² No. of animals with positive changes/total number of animals /

Broj životinja sa pozitivnim promenama/Ukupan broj životinja

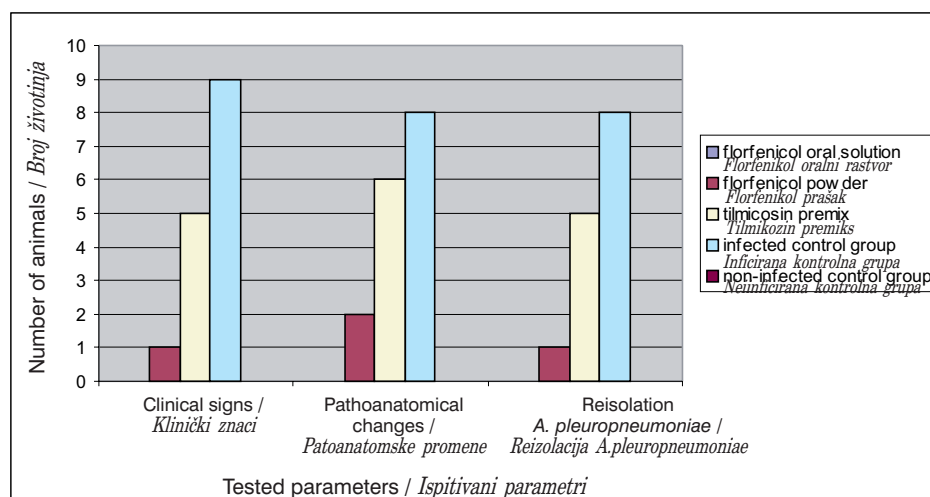
³ No. of animals in which *A. pleuropneumoniae* was isolated again//total number of animals /
Broj životinja kod kojih je A. pleuropneumoniae ponovo izolovana/Ukupan broj životinja

Statistically significantly better results in all three tested parameters were obtained in the group treated with florfenicol oral solution than in the group treated with tilmicosin premix ($P < 0.01$).

There were no statistically significant differences ($P > 0.05$). In any of the tested parameters in the two groups which received florfenicol oral solution or florfenicol premix for preparation of medicated feed mixture.

In all three test groups, the results were statistically significantly better than in the infected control group (both forms of florfenicol: $P < 0.001$; and tilmicosin: $P < 0.05$).

Very similar results were obtained also by Palacios-Arriaga *et al* [23] who studied the efficacy of a florfenicol premix in weaning pigs experimentally inoculated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Twenty five clinically healthy pigs were distributed into 3 groups: group A – non medicated and groups B and C orally medicated with 20 and 40 ppm of florfenicol respectively. The pigs were fed during 12 consecutive days and on day 5 all the groups were challenged with *A. pleuropneumoniae*.



Graph 2. Comparison of incidence of clinical signs, pathoanatomical changes and re-isolation of *A. pleuropneumoniae* after treatment with two pharmaceutical forms of Floron and Pulmotil G 200 in pigs infected with *A. pleuropneumoniae* /

Grafikon 2. Poređenje učestalosti kliničkih znakova, patoanatomskih promena i reizolacije *A. pleuropneumoniae* posle tretmana sa dve farmaceutske formule Floron i Pulmotil G 200 kod svinja inficiranih bakterijom *A. pleuropneumoniae*

Table 8. Clinical and pathological parameters of weaning pigs experimentally inoculated with *A. pleuropneumoniae* /

Tabela 8. Klinički i patohistološki parametri odbijene prasadi eksperimentalno zaraženih bakterijom *A. pleuropneumoniae*

Parameter / Parametar	Control / Kontrola (n = 5)	Florfenicol 20 ppm / Florfenikol 20 ppm (n = 10)	Florfenicol 40 ppm / Florfenikol 40 ppm (n = 10)
Mortality / Smrtnost	0/5	0/10	0/10
Clinical signs / Klinički znaci	5/5	3/10	0/10
Lung lesions / Lezije na plućima	5/5	4/10	0/10
<i>A. pleuropneumoniae</i>	5/5	1/10	1/10
Body weight gain / Porast telesne mase (kg)	2.2 (± 0.53)	4.35 (± 0.37)	5.20 (± 0.37)

In all observed parameters, except for mortality, the results in florfenicol groups significantly differed from the control group ($P < 0.05$).

It is shown that medication with the feed containing 40 ppm of florfenicol blocked efficiently the signs and lesion caused by *A. pleuropneumoniae* and increased the daily body weight gain.

Ueda *et al* [24] also examined the efficacy of florfenicol on experimentally induced *A. pleuropneumoniae* (APP) in pigs. They conducted 4 experiments (with different serotypes of APP) and the results are summarized.

Table 9. Summarized results of the study /
Tabela 9. Zbirni rezultati istraživanja

Group / Grupa	Number / Broj	Mortality / Smrtnost	Clinical signs / Klinički znaci	Reisolation of App / Reizolacija App	Lesions / Lezije
Infected control group / <i>Inficirana kontrolna grupa</i>	22	18	22	22	22
Florfenicol 25 ppm / <i>Florfenikol 25 ppm</i>	4	0	4	3	4
Florfenicol 50 ppm / <i>Florfenikol 50 ppm</i>	22	0	12	6	7
Florfenicol 100 ppm / <i>Florfenikol 100 ppm</i>	4	0	0	0	0
Thiamphenicol 200 ppm / <i>Tiamfenikol 200 ppm</i>	22	6	21	17	18

Florfenicol provides a remarkable effect against experimentally induced *A. pleuropneumoniae* infection regardless of serotype. The total effect of florfenicol was also significantly higher than in the thiamphenicol group ($P < 0.01$) and the most effective dosage was florfenicol 100 ppm, and florfenicol in a dosage 50 ppm was also very effective.

Field clinical trials were also conducted using florfenicol oral forms in pigs [25].

The results of the therapy with florfenicol oral solution, 100 mg/ml florfenicol, administered twice daily, with an automated dosing device which, depending on the medium weight of the pigs, provided 2 mg/kg body weight per individual.

The evaluation of the therapy with medicated premix 2g/100g florfenicol, was performed with pigs from an industrial farm (where frequent episodes of respiratory and digestive outbreaks occurred).

Table 10. *Efficacy of florfenicol oral forms in pigs /*
Tabela 10. Efikasnost florfenikol oralnih formula kod svinja

Disease / <i>Bolest</i>	Florfenicol powder / <i>Florfenikol prašak</i> n = 78			Florfenicol oral solution / <i>Florfenikol oralni rastvor</i> n = 85 (age from 27 to 115 days)	
PRDC / <i>PRDC</i>	Mortality (after beginning of treatment) / <i>Smrtnost (posle početka tretmana)</i>			Mortality / <i>Smrtnost</i>	
	48 hours / <i>48 sati</i> 3 (3.8 %)	72 hours / <i>72 sata</i> 2 (2.6 %)	96 hours / <i>96 sati</i> 0 (0.0 %)	Before treatment / <i>Pre tretmana</i> 18 (21.2 %)	After treatment / <i>Posle tretmana</i> 6 (7.1 %)
Pneumo-enteric polibacterial / <i>Pneumo-enterična polibakterijska</i>	Florfenicol powder / <i>Florfenikol prašak</i> n = 40			Florfenicol oral solution / <i>Florfenikol oralni rastvor</i> n = 54 (age 90 days / s)	
	Mortality (after beginning of treatment) / <i>Smrtnost (posle početka tretmana)</i>			Mortality / <i>Smrtnost</i>	
	48 hours / <i>48 sati</i> 1 (2.5 %)	72 hours / <i>72 sata</i> 0 (0.0 %)	96 hours / <i>96 sati</i> 0 (0.0 %)	Before treatment / <i>Pre tretmana</i> 16 (30.0 %)	After treatment / <i>Posle tretmana</i> 0 (0.0 %)

After treatment with florfenicol oral solution there was a significant drop of mortality in both groups of animals ($P < 0.01$).

Analysis of data in the table suggests that medicated premix has a favorable anti-infectious effect on pigs, irrespective of the group of animals or the evolution stage of the disease.

In the group with clinical signs of PRDC, the evolution of the disease was halted after 3 days of treatment, with a loss of 5 animals (6.4 %). And, in the case of second group, the disease stopped after 48 hours, with only 1 animal death (2.5%), although the population where the animals were extracted from, encountered a 26.7% loss through animal death, and from the bone marrow of dead animals, *Salmonella cholerae suis* was isolated.

Beside the therapeutic procedures with solution 100 mg/ml florfenicol to swines with the mentioned diseases, control groups of 10 healthy, contact pigs were established, which were preventively (necessity) treated with the therapeutic dose, for a period of 2 days. During the observation period – 2 weeks, all the control groups of animals remained clinically healthy.

The therapeutic intervention and the regression of mortality, irrespective of the bacteria involved, was doubled by the regain of appetite and normal behavior of the animals, with a weight gain similar to the specific animal category.

Palacios *et al* [26] evaluated the effect of treatment with a 20 ppm florfenicol premix in feed on piglets (n=30, 21 kg average body weight) experimentally infected with *M. hyopneumoniae*.

The pigs were divided at random in 3 different groups each consisting of 10 animals.

Table 11. Results of the trial /
Tabela 11. Rezultati istraživanja

Group / Grupa	<i>P. multocida</i> isolation / Izolacija <i>P. multocida</i>	Lung lesion area / Površina lezije na plućima (%)	Average daily gain / Prosečni dnevni prirast (g)
Non infected / Neinficirani	Negative / Negativno	0.56	0.39
Infected and not treated / Inficirani netretirani	Positive / Pozitivno	13.99	0.23
Infected and treated with florfenicol / Inficirani tretirani florfenikolom	Negative / Negativno	1.89	0.33

There were no differences between the negative (non infected) group and the florfenicol group, but there were significant differences regarding the lung lesions area and production parameters as for the positive control.

Iglesias *et al* [27] conducted a study to show clinical and pathological effects of soluble florfenicol 10 % solution (100 mg florfenicol/ 1 l water) in weaned piglets experimentally inoculated with an *H. parasuis* strain.

Pigs were divided in two groups of 7 pigs each (25 days old, 4.5 kg of weight).

Table 12. Results of pathological signs and clinical effect in two groups (N = 14) /
Tabela 12. Rezultati patoloških znakova i klinički efekti kod dve grupe (N=14)

Group / Grupa	Mortality / Smrtnost	Meningitis Index / Meningitis	Poliserositis Index / Poliserozitis	Pericarditis Index / Perikarditis	Poliarthritis Index / Poliartritis	Lung lesion / Plućna lezija (%)	Clinical Index / Klinički indeks
Control / Kontrola	2	1.57	1.57	2.85	1.57	7.57	7.29
Florfenicol / Florfenikol	0	0.28	0.57	1.28	0.85	5.0	6.46

The two groups statistically significantly differed in all parameters ($P < 0.05$) except for clinical index and percentage of lung lesions, although the amount and severity of clinical disease manifestations were lower in the group of animals treated with florfenicol which all together also shows that florfenicol administration achieved reduction of tissue colonisation of bacteria.

The study demonstrated a potential benefit in administering florfenicol in the drinking water when animals are exposed to *H. parasuis* with the benefit derived from reduced mortality and clinical sign differences.

Jackson *et al* [28] reviewed the naturally occurring swine respiratory disease. Two studies involving 244 pigs were conducted in Nebraska and Ohio to

evaluate the efficacy of florfenicol administered in drinking water for 3 to 5 days at 50 or 100 mg/l versus negative control for the treatment of swine respiratory disease. There were altogether 5 groups. Pigs from herds with histories of pleuropneumonia were transported to study sites until natural infection occurred with pyrexia 40.3°C. Each animal was clinically examined daily from day 0 through 2 days post medication. Pigs that died during the study were necropsied, scored and sampled within 24 hours after day 11.

Mean body temperatures of all groups receiving florfenicol decreased rapidly and were significantly lower ($P < 0.05$) than the nonmedicated group. There was significantly lower lung consolidation in florfenicol groups receiving 5 days of medication than in any other group, the success rate in all florfenicol groups was also significantly higher than in the control group, there were 2 mortalities, 1 in the florfenicol group receiving 50 ppm florfenicol for 3 days and 1 in the control group.

Table 13. MIC_{90} ($\mu\text{g/ml}$) of isolated strains in the study /
Tabela 13. MIC_{90} ($\mu\text{g/ml}$) sojeva izolovanih u istraživanju

<i>A. pleuropneumonia</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. suis</i>
0.5	2.0	2.0

Lechtemberg *et al* [29] included 456 pigs in six studies conducted at different locations, aged from 8 to 13 weeks, with mean initial weights of 20.0 to 34.5 kg. One group received 100 ppm florfenicol for 5 consecutive days, the others animals were in the control group.

Table 14. Mortality and overall treatment success in the field trial /
Tabela 14. Smrtnost i ukupan uspeh tretmana u ogledu na terenu

Group / Grupa	Cumulative mortality / Kumulativna smrtnost	Failure rate / <i>Stepen neuspeha</i>	
		Day 5 / Dan 5	Day 7 / Dan 7
Florfenicol (n = 230) / <i>Florfenikol (n=230)</i>	17 (7.4 %)	22 (9.6 %)	68 (29.6 %)
Nonmedicated control (n = 226) / <i>Nelečene kontrole (n=226)</i>	22 (9.7 %)	115 (50.9 %)	103 (45.6 %)
P value / <i>P vrednost</i>	P = 0.503	P = 0.001	P = 0.0125

Mortality in the field studies was insufficient to provide a significant difference, however clinical success did provide significantly more clinical success in the florfenicol than in the control group.

Iglesias and Trujano [30] also showed the economic impact of florfenicol in feed-medication programmes.

Three trials were performed with approx. 750 pigs in each. In trials one and two, pigs received 40 ppm florfenicol in medicated feed during 14 days while in the third trial they received 20 ppm for 35 days.

Table 15. Mortality, proportion of pigs sold at premarket weight and average daily gain of pigs /

Tabela 15. Smrtnost, procenat svinja prodatih po težini pre pijace i prosečan dnevni prirast svinja

Group / Grupa	Mortality / Smrtnost (%)	Pre-market / Pre pijace (%)*	Average daily gain / Prosečan dnevni prirast (g)
1. Florfenicol / <i>Florfenikol</i> Control / <i>Kontrola</i>	2.7 2.9	2.5 3.1	611 597
2. Florfenicol / <i>Florfenikol</i> Control / <i>Kontrola</i>	3.2 3.9	2.3 2.7	519 490
3. Florfenicol / <i>Florfenikol</i> Control / <i>Kontrola</i>	1.8 5.9	2.2 1.1	560 500

* hogs sold at pre-market weight / svinje prodane po težini merenoj pre ponude na pijaci

All trials showed that the use of florfenicol medication in the feed during the growing period significantly reduced the mortality rate ($P = 0.035$). Perhaps the best parameter for evaluation of benefits of the control programmes is the average daily gain; it was higher in all treated groups. The proportion of pigs that were sold at premarket weight was lower in medicated group with the exception of the 3rd trial while there was higher mortality at the same time.

Stynen *et al* [31] evaluated the efficacy of florfenicol in the treatment of swine ileitis. Proliferative enteropathy (PPE) also known as ileitis, is a disease that occurs worldwide causing significant losses to the swine industry, the causative agent is *Lawsonia intracellularis*. In each group there were 50 animals.

Table 16. Weight gain during treatment, appearance of ileitis and detection *L. intracellularis* (in faeces) /

Tabela 16. Povećanje težine tokom tretmana, pojava ileitisa i otkrivanje *L.intracellularis* (u fecesu)

Group / Grupa	Weight gain / Povećanje mase		% reduction of ileitis / % smanjenje ileitisa	<i>L. intracellularis</i>		
	At the beginning / Na početku	At the end / Na kraju		Day 0 / Dan 0	Day 7 / Dan 7	Day 14 / Dan 14
Florfenicol 40 ppm (14 days) / <i>Florfenikol 40 ppm (14 dana)</i>	55 kg	77.3 kg	75.0 %	30 %	10 %	0%
Nonmedicated control / <i>Nelečene kontrole</i>	59 kg	76.0 kg	33.3 %	60 %	20 %	10%

Results from the table show favorable effect of florfenicol premix in better weight gain, higher reduction percentage for ileitis than in control group, following the use of 40 ppm of florfenicol for 14 days the causative agent was not detected in faeces.

Statistical analysis / Statistička analiza

SigmaStat Ver. 2.03 (SPSS Inc) and Excel for Windows were used in computing and statistical data analysis.

For meta-analysis Comprehensive Meta-Analysis Ver 1.0 (Biostat) was used.

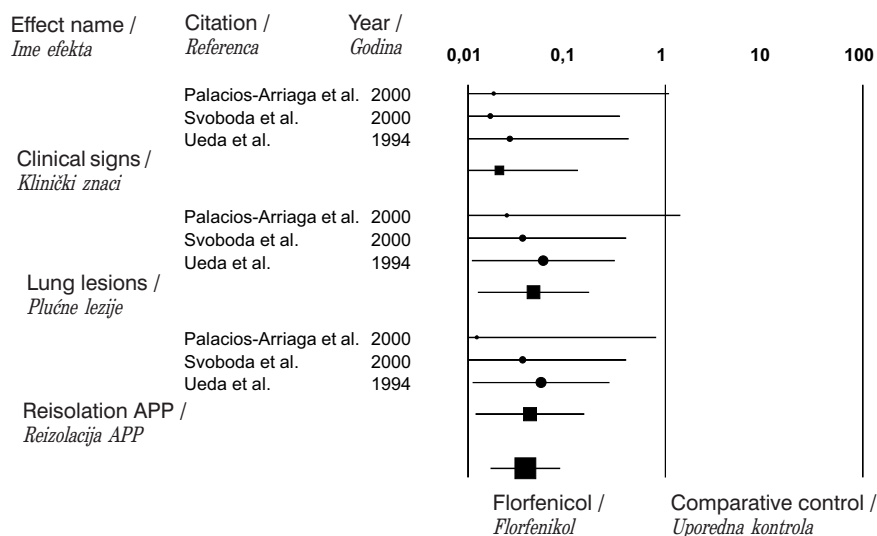
Results – quantitative analysis / Rezultati – kvantitativna analiza

In a quantitative systematic review we can only include two studies in which were used oral forms of florfenicol to evaluate efficacy in controlling pleuropneumonia in pigs. The results are shown in graph 3. In the graphs we compiled data on authors of individual studies, the year of study publication or performance, and quoted the mean values of the effect size, with 99% confidence intervals.

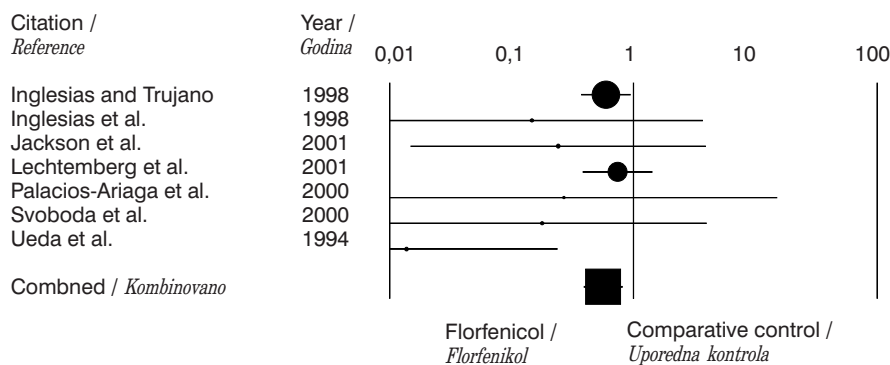
We selected the odds ratio - OR as effect size. Characteristic of OR is that a value of 1.0 means that a certain therapy has no effect; values below 1.0 mean that the tested therapy (in our case the use of florfenicol) is better than that of the control/reference group therapy. Values above 1.0 indicate an advantage of the control/reference group therapy over the tested therapy. When in a graph the study presentation with its mean value and lines for confidence interval does not intersect the value of 1.0, we speak about a $P < 0.01$ level of statistical significance; this means that for 99-percent confidence intervals the P level of statistical significance equals 0.01. If we take then the level $P < 0.05$, then it is 0.05 for 95-percent confidence interval.

The total effect size is always conditioned by weights of individual studies; therefore, in a meta-analysis we speak about a weighted total value of the effect size which, the same as for individual studies, is presented by mean values and confidence intervals. In the graph the weights for individual studies are presented as bigger or smaller full circles (●). This means that studies with smaller weights have smaller circles and those with larger weights have larger circles. The total effect size is shown as a full square (■).

We conducted meta-analysis for all parameters under a fixed effect model, because all the results were homogenous ($P = 0.97$). Results in the florfenicol group were better than the comparative control in all observed parameters ($P < 0.001$).



Graph 3. Meta Analysis of efficacy paramethers for *A. pleuropneumoniae* /
Grafikon 3. Meta analiza efikasnosti parametara za *A. pleuropneumoniae*



Graph 4. Meta-Analysis – mortality in pigs (PRDC)
Grafikon 4. Meta analiza – smrtnost kod svinja (PRDC)

We conducted meta-analysis under a fixed effect model, because all the results were homogenous ($Q = 8.9$; $df = 6$; $P = 0.18$). Meta-analysis showed that there was overall less mortality in florfenicol groups than in control groups

($P < 0.05$), so we can conclude that the usage of florfenicol reduces mortality in pig herds with PRDC.

Discussion and conclusions / Diskusija i zaključci

It is not often that a new antibiotic molecule is introduced as a medicine for pigs and poultry, which makes oral forms of florfenicol particularly exciting.

From the results of our systematic review it is evident that florfenicol is a very effective antimicrobial especially in pigs.

From the available evidence it is obvious that oral forms of florfenicol have excellent pharmacokinetic parameters and are very suitable for usage in pig rearing. Oral administration of the drug is associated with high initial concentrations which are above most pathogen bacterial MICs for approx. 15-21 hours which was presented also graphically.

In vitro efficacy of florfenicol shows that this drug is highly effective against most important respiratory pathogens. It is one of the most effective antimicrobial agents in combating economically important complex respiratory diseases in pigs. A useful economic impact in decreasing mortality was also showed using meta-analysis of 7 studies.

We reviewed also clinical efficacy of florfenicol oral forms and in a quantitative systematic review included 3 studies in which efficacy in controlling pleuropneumonia in pigs was examined. Florfenicol, irrespective of the oral form used, has a high efficacy in PRDC and pneumo-enteric syndrome in pigs. We can conclude that it is especially significant to have new additions such as florfenicol in oral form preparations to combat complex infections that are frequently encountered today.

References / Literatura

1. Spoo J. W., Riviere J. E.: Chloramphenicol, macrolides, lincosamides, fluoroquinolones and miscellaneous antibiotics. In: Adams HR (ed). Veterinary pharmacology and therapeutics. 7th ed. Ames: Iowa State University Press, 820-854, 1995. - 2. Golinar I.: Porcine respiratory disease complex (PRDC) in Slovenia, preliminary results. In: Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress. Ames, Iowa, USA, 325, 2002. - 3. Burch D.: Commercially significant bacterial infections in poultry. In: Antibacterials: Products and markets. Animal pharm Reports, 23-29, 2000. - 4. Mulrow C., Cook D. C.: Systematic reviews. synthesis of best evidence for health care decisions. Philadelphia: American College of Physicians, 5-12, 1998. - 5. Voorspoels J., D'Haese E., De Craene B. A. *et al.*: Pharmacokinetics of florfenicol after treatment of pigs with single oral or intramuscular doses or with medicated feed for three days. Vet Rec, 145, 397-399, 1999. - 6. HongXia J., Qihiui F., ZhenLing Z., Zhengliu C.: Pharmacokinetics of florfenicol in pigs. Chinese J Vet Sci, 21, 1, 86-89, 2001. - 7. Jiang H. X., Fung K. F., Zeng Z. L., Chen Z. L.: Pharmacokinetics of florfenicol in pigs after different administrating routes. J Vet Pharmacol Therap, 26 (Suppl. 1), 96, 2003. - 8. Afifi N. A., Abo El-Sooud K.: Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens. Br Poultry Sci, 38, 425-428, 1997. - 9. Rios A.:

- Martinez-Larrañaga MR, Anadón A. Plasma disposition of florfenicol in broiler chickens following intravenous administration. *J Vet Pharmacol Therap*, 20 (Suppl.1), 182, 1997. - 10. Switala M., Okoniewski P., Smutkiewicz A.: Pharmacokinetics of florfenicol in turkeys. *J Vet Pharmacol Therap*, 26 (Suppl. 1), 116-117, 2003. - 11. Pinault P. L., Millot L. K., Sanders P. J.: Absolute oral bioavailability and residues of florfenicol in the rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *J Vet Pharmacol Therap*, 20 (Suppl.1), 297-298, 1997. - 12. Barigazzi G., Lori D., Cevidalli A. E.: Postantibiotic effect (PAE) of florfenicol on *P. multocida* strains from pigs. In: *Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress*. Ames, Iowa, USA, 48, 2002. - 13. Gongzheng H. U., Li Y.: Postantibiotic effect of florfenicol. *J Vet Pharmacol Therap*, 26 (Suppl. 1), 217, 2003. - 14. Bole-Hribovšek V.: Poročilo o občutljivosti bakterij na florfenikol. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, 1-8, 2001. - 15. Barigazzi G., Candotti P., Foni E., Martinelli L., Raffo A.: *In vitro* susceptibility of 108 isolated *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 17 antimicrobial agents from pig lungs in Italy in 1994-95. In: *Proceedings of the 14th International Pig Veterinary Society Congress*. Bologna, Italy, 207, 1996. - 16. Barigazzi G., Candotti P., Foni E., Martinelli L., Raffo A.: Susceptibility of isolated 42 *Streptococcus suis* Type 2 strains to 18 antibacterial agents from pigs in Italy. In: *Proceedings of the 14th International Pig Veterinary Society Congress*. Bologna, Italy, 225, 1996. - 17. Hörmansdorfer St., Bauer J.: Zur Resistenz boviner und porciner Pasteurellen gegenüber Florfenicol und anderen Antibiotika. *Berl Münch Tierärztl Wschr*, 111, 422-426, 1998. - 18. Zolynas R., Cao J., Simmons R.: Evaluation of the efficacy and safety of Nuflor injectable solution (15 mg/kg twice 48 hours apart) in the treatment of swine respiratory disease (SRD). In: *Proc Am Assoc Swine Vet*, 211-214, 2003. - 19. Salmon S., Portis E., Lindeman C.: Minimum inhibitory concentrations for ceftiofur and comparator antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine. In: *Proc Am Assoc Swine Vet*, 235-239, 2003. - 20. Kolodziejczyk P., Karbowiak S.: Arh J. Skuteność FLORONU® INJ w terapii zespołu zaburzeń oddechowych swin (PRDC) w fermie wielkotowarowej. *Magazyn Weterynaryjny, Suplement - Swinie*, sesja 5, 69-71, 2003. - 21. Silva A. F., Ishizuka M. M.: Comparação da sensibilidade *in vitro* de agentes causadores de processos respiratórios em suínos frente ao Cooperflor e 7 outros antibióticos. - 22. Svoboda T., Schroeffer J., Hermansky P., Pažout L.: Clinical study on the evaluation of efficacy and tolerance of Floron 2% premix for medicated feed and Floron 10% oral solution on pigs - experimental *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 infection. Jilove: BIOPHARM Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs a.s. Czech Republic. November 2000, 1-59, 2000. - 23. Palacios-Arriaga J. M., Gutierrez-Pabello A., Chavez-Gris G., Hernandez-Castro R.: Efficacy of Florfenicol Premix in Weaning Pigs Experimentally Infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Rev Latinoam Microbiol*, 42, 27-32, 2000. - 24. Ueda Y., Otsuki S., Narukawa N.: Effect of florfenicol on experimentally induced *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. In: *Proceedings of the 13th International Pig Veterinary Society Congress*. Bangkok, Thailand, Thailand, 207, 1994. - 25. Bercea I.: Floron, anti-infectious synthetic product, with therapeutic, curative and/or necessity properties. Report, 7 pages, 2003. - 26. Palacios A. J., Ciprian C. A., Cruz S. T., Romero R. A.: Colmenares GV. Efficacy of florfenicol premix in weaned piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*. In: *Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress*. Ames, Iowa, USA, 325, 2002. - 27. Iglesias S. G.: Clinical and pathological effects of soluble florfenicol in weaned piglets experimentally inoculated with an *Haemophilus parasuis* field strain. In: *Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress*. Ames, Iowa, USA, 39, 2002. - 28. Jackson J. A., Davis G. W., Lechtemberg K. F., Katz T. L., Lockwood P. W.: Efficacy of florfenicol (FFC) administered in the drinking water in the treatment of naturally occurring swine respiratory disease. In: *Proceedings 15th International Pig Veterinary Society Congress*. Birmingham, England, 186, 1998. - 29. Anon. Nuflor (florfenicol). Freedom of Information Office, Center for Veterinary Medicine, FDA.NADA 141-063. On Line. Available: <http://www.fda.gov/cvm/efoi/section2/141-206.pdf>. September 4, 2002, 1-25,

2002. - 30. Iglesias J. G., Trujano M.: The use of florfenicol in feed-medication programmes aimed to reduced economic impact of respiratory disease. In: Proceedings 15th International Pig Veterinary Society Congress. Birmingham, England, 185, 1998. - 31. Synen A. P. R., Ristow L. E., Silva A. F., Silva L. C. G.: Evaluation of the efficacy of florfenicol in the treatment of swine ileitis. In: Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress Ames, Iowa, USA, 15, 2002.

SRPSKI

FLORFENIKOL – FARMAKODINAMIKA, FARMAKOKINETIKA I KLINIČKA EFIKASNOST ORALNIH FORMULA KOD DOMAĆIH ŽIVOTINJA – SISTEMATSKI PRIKAZ

L. Ščuka

Kompleks respiratornih oboljenja svinja *PRDC* je veliki ekonomski problem za proizvođače svinja u celom svetu. Ispitivani su farmakodinamika, farmakokinetika i klinička efikasnost oralnih formula florfenikola kod domaćih životinja. Sačinjeni su sistematski prikaz i meta-analiza.

In vitro efikasnost florfenikola je pokazala da je ovaj lek veoma efikasan protiv najvažnijih respiratornih patogena. Svi ovi podaci dati su u našem prikazu.

Tri ispitivanja na svinjama su bila relevantna za uključivanje u meta-analizu, koja je ukazala da su rezultati za florfenikol grupu bolji od onih za uporedne kontrolne grupe za sve posmatrane parametre: klinički znaci, plućne lezije i reizolacija *Actinobacillus pleuropneumoniae* ($P < 0.001$). Druga meta-analiza sa 7 istraživanja ukazala je da upotreba florfenikola smanjuje smrtnost kod svinja sa *PRDC* ($P < 0.05$).

Prikazani su i drugi eksperimenti na svinjama na terenu koristeći florfenikol u formulama za oralnu upotrebu. Posle primene florfenikola oralnog rastvora nastao je značajan pad smrtnosti kod svinja obe grupe ($P < 0.01$); na primer, jedna koristi rastvor florfenikola za tretman *PRDC* ($n=85$), a druga za mešanu pneumo-enteričnu infekciju ($n=54$).

Analiza podataka za upotrebu premiksa kod svinja ($n=118$) takođe nagađava da tretirani premiks ima pozitivan antiinfekcijski efekat kod svinja, bez obzira na grupu životinja ili stadijum evolucije bolesti.

Konačno, prikazan je i povoljan efekat florfenikola na tretman ileitisa kod svinja.

Što se tiče farmakokinetike, *in vitro* i kliničke efikasnosti florfenikol oralnih formula, treba da se smatraju snažnim oruđem za borbu protiv kompleksnih infekcija na koje se često nailazi kod intenzivne proizvodnje životinja.

Ključne reči: Florfenikol, oralne formule, farmakokinetika, sistematski prikaz, svinje

ХЛОРФЕНИКОЛ-ФАРМАКОДИНАМИКА, ФАРМАКОКИНЕТИКА И КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОРАЛЬНЫХ ФОРМУЛ У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ - СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ПОКАЗ

Л. Щука

Комплекс респираторных заболеваний свиней КРЗС большая экономическая проблема для производителей свиней по всему миру. Испытаны фармакодинамика, фармакокинетика и клиническая эффективность оральных формул хлорфеникола у домашних животных. Составлены систематический показ и мета-анализ.

In vitro эффективность хлорфеникола показала, что это лекарство очень эффективное против наиболее важных респираторных патогенов. Все эти данные даны в нашем показе. Три испытания на свинях были релевантные для включения в мета-анализ, который показал, что результаты для хлорфеникол группы лучше тех для сравнительных контрольных групп для всех наблюдаемых параметров: клинические знаки, лёгочные повреждения и реизоляция *Actinobacillus pleuropneumoniae* ($P < 0,001$). Второй мета-анализ с 7 исследованиями показал, что употребление хлорфеникола уменьшает смертность у свиней с КРЗС ($P < 0,05$).

Показаны и другие эксперименты на свинях на месте, пользуясь хлорфеникол в формулах для орального употребления. После применения хлорфеникол орального раствора пришло до значительного падения смертности у обеих групп свиней ($P < 0,01$); нпр. одна пользуется раствор хлорфеникола для лечения КРЗС ($n=85$), а вторая для смешанной пневмо-энтерической инфекции ($n=54$).

Анализ данных для употребления премиксов у свиней ($n=118$) также намекает, что трактованный премикс имеет положительный антиинфекционный эффект у свиней, несмотря на группу животных или стадию эволюции болезни.

Окончательно, показан и подходящий эффект хлорфеникола на лечение илеита у свиней.

Что касается фармакокинетики, *in vitro* и клинической эффективности хлорфеникол оральных формул, надо их считать сильным орудием для борьбы против комплексных инфекций, которые часто встречаются у интенсивного производства животных.

Ключевые слова: Хлорфеникол, оральные формулы, фармакокинетика, систематический показ, свиньи

CLINICAL APPROACH TO DISCOLORATION IN BODY HAIR IN A ROTTWEILER DOG*

KLINIČKI PRISTUP GUBITKU BOJE DLAKE KOD JEDNOG ROTVAJLERA

M. E. Or, A. Kayar, Ç. Parkan, R. Gönül, T. Morkoç, H. T. Dodurka**

Micanfin (Biocan-M[®], Bioveta) is a new veterinary drug used successfully in the treatment and prophylaxis of dermatomycosis in dogs and cats. In this study, leukotrichia was determined after administration of Micanfin and the objective was to determine the diagnosis and treatment protocol of the case.

The case was a male Rottweiler dog, aged four, weighing 35 kg, presented with alopecia at a special veterinary clinic. A routine clinical examination, skin scraping, and antibiogram-mycologic examination of the body fluids were performed. A hematological examination and the levels of some serum parameters were determined.

At the end of mycologic examinations, while there was no reproduction, it was found that the serum zinc level was very low. It was detected after other laboratory examinations that the case was hypothyroidism. All the body hair, except for a small area locally returned to the original colour, decreased activity reported by the the animal owner disappeared at the end of the zinc applications and the treatment performed for the hypothyroidism (Biocan-M[®]).

In conclusion, it was determined that the Micanfin vaccine application had not caused any side effects such as leukotrichia and the case was hypothyroidism.

Key words: Rottweiler dog, clinical approach, dermetomycosis, hypothyroidism

* Rad primljen za štampu 13. 10. 2005. godine

** M. E. Or, A. Kayar, Ç. Parkan, R. Gönül, Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, 34320 Avcýlar-Istanbul, Turkey; T. Morkoç, Interhas Ltd Company Ankara, Turkey, H. T. Dodurka, Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, 34320 Avcýlar-Istanbul, Turkey

Introduction / Uvod

Excessive urbanization and environmental pollution have generalized also mycotic diseases such as bacterial and viral diseases. The number of dogs with skin problems increase more and more and dermatomycosis has an important role in these skin problems [12].

The achievements in diagnosis, treatment and prophylaxis of viral, bacterial and parasitic infections, with the improvement of medicine, are not as high as in mycotic infections [12, 10]. Many drugs have been used both locally and orally in the treatment of dermatomycosis. However, since pet owners cannot reserve time for the treatment of their pet and cannot use creams and solutions because of a contamination risk, either the desired result cannot be obtained or treatment lasts a very long time [12, 17, 10]. Griseofulvin, ketocanazole, fluconazole, itraconazole and terbinafin of the antifungals used orally in veterinary medicine, are effective drugs. However, all of the above drugs have adverse effects, such as hepatotoxicity, nephrotoxicity, bioavailability difference and hormone unbalance [10, 5, 6, 1a, 11, 8].

The use of both immunoprophylactic and immunotherapeutic drugs has recently spread in veterinary medicine [16, 2, 7, 18, 17, 5]. Fenner and Karle [2] have used Insol Dermatophyton, an inactivated vaccination, in the treatment of dermatophytosis and they have determined an improvement at a rate of 95 % four weeks after the second injection, and they reported that these diseases can be treated effectively. It was suggested that Micanfin vaccination must be administered to healthy animal once a year by I.M., twice with 15 day intervals for diseased animals [2, 5]. Although it was reported that pain had occurred on the site of injection in some cases, no signs of pain were reported in the scientific studies [18].

Case History / Opis slučaja

The case was a male Rottweiler dog, aged four, weighing 35 kg. The patient was presented at a special veterinary surgeon clinic because of widespread alopecia, inappetance, exercise intolerance. It was determined that the patient had a good general condition but he had an abscess on his neck. Moreover, the animal owner reported rare alopecic areas thicker on the back and forelegs.

Clinical and Laboratory Examinations / *Klinička i laboratorijska istraživanja*

Skin scrapings were done from those areas and fungal spores were detected at the end of microscopic examinations. Dermatomycosis was diagnosed without any cultural examination and micanfin was administered 3 times with two week interval, and the abscess was treated. Widespread leukotrichia oc-

curred on the body hair two weeks later after the third injection (Figure 1). It was thought the leukotrichia was caused by the injections and the patient was presented to the Internal Medicine Department, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University. At the end of the clinical examination, small pustules on the neck of the dog were observed. Firstly, a bacteriological culture and antibiogram were



done from this region, moreover both anticoagulated and without anticoagulation blood and hair samples were taken. Hematological parameters were determined by automatic blood count equipment (Medonic CA 750) (Table 1), serum AST, ALT, ALP, total protein, albumin, urea, creatinine, glucose and cholesterol levels were measured by Express Plus Ciba Corning autoanalyzer, the zinc level was determined by Atomic Absorption Spectrophotometry (Table 2).

There was any multiplication at the end of the micological culture examinations, the serum zinc level was low and other parameters were normal.

Figure 1. Widespread leukotrichiosis on the body hair two weeks after the third injection

Slika 1. Rasprostranjenost leukotrihoza na dlaci dve nedelje posle treće doze tretmana

Table 1. Hematological parameters /
Tabela 1. Hematološki parametri

Parameter / Parametar	Unit / Jedinica	Results / Rezultati	Normal Ranges / Normalni rasponi
RBC	$10^6/\text{mm}^3$	6.66	5.5-8.5
PCV	%	46.1	37-55
PLT	$10^3/\text{mm}^3$	228	200-900
WBC	$10^3/\text{mm}^3$	18.1	6-17
HBG	g/dL	15.9	12-18
MCV	μm^3	69.1	60-77
MCH	Pg	23.9	19.5-24.5
MCHC	g/dL	34.5	32-36

Table 2. Serum Parameter Levels /
Tabela 2. Nivio parametara u serumu

Parameter / <i>Parametar</i>	Unit / <i>Jedinica</i>	Results / <i>Rezultati</i>	Normal Ranges / <i>Normalni rasponi</i>
AST	U/L	26	<90
ALT	U/L	31	<100
ALP	U/L	78	<200
Total Protein / <i>Ukupni proteini</i>	mg/dL	7.1	5.5-7.8
Albumin / <i>Albumin</i>	mg/dL	3.7	2.5-3.8
Urea / <i>Ureja</i>	mg/dL	33	10-50
Creatinine / <i>Kreatinin</i>	mg/dL	0.8	0.7-1.5
Glucose / <i>Glikoza</i>	mg/dL	98	60-120
Zinc / <i>Cink</i>	μg/dL	40	90-130
Cholesterol / <i>Holesterol</i>	μg/dL	388	120-255

Diagnosis / *Dijagnoza*

Thyroid functions were evaluated because of discoloration in the hair and hypothyroidy was diagnosed at the end of the evaluation of the laboratory parameters (T₃, T₄, TSH, fT₄) (Table 3). Moreover, ECG was taken in the order to evaluate changes in the heart rhythm due to hypothyroidy and no pathological change was observed.

Table 3. Serum thyroid levels during the treatment /
Tabela 3. Nivoi tireoideje u serumu tokom tretmana

Parameter / <i>Parametar</i>	Unit / <i>Jedinica</i>	20/05/2002	28/08/2002	24/10/2002	06/03/2003	Normal Ranges / <i>Normalni rasponi</i>
T ₃	ng/dL	48	86	101	70	50-60
T ₄	ng/dL	0.7	0.9	1.7	2.9	1.3-2.9
TSH	ng/mL	0.037	0.15	0.20	0.4	0-0.5
fT ₄	ng/dL	0.6	0.9	0.9	0.7	0.7-2.1

Treatment / *Tretman*

In this case, sodium levothyroxine in a dose of 0.02 mg/kg daily, zinc 250 mg/daily and vitamin E were administered and at the end of five months, all

the hairs returned to the original colour except for a small local region (Figure 2), decreased activity disappeared completely. The patient is still being followed.



Figure 2. *The appearance of the all hair of the patient at the end of five months*
Slika 2. Izgled dlačnog prekrivača pacijenta na kraju petog meseca

Results and discussion / Rezultati i diskusija

Hypothyroidism is one of the endocrinal diseases seen widely in dogs. The rate of basal metabolism is slow and many systems are affected and clinical disorders are caused in many tissues and organs, such as, firstly the skin, cardiovascular, neuro-muscular, reproductive, gastrointestinal, urinary systems and the eye [12, 14, 13, 13, 1].

Primary hypothyroidism ($K < -4$) was detected in this case in the calculation to diagnose using serum cholesterol and serum ft_4 [1, 15]. Clinical signs such as indolence, reluctant defecation, exercise intolerance, hormonal alopecia were observed according to researchers [14, 1, 3]. Except for these signs, no cardiac, opthalmic, orthopedic or neurological disorders were observed. Gookin *et al.*, [3] have stated that these disorders would be normal in dogs with hypothyroidism.

Positive results have been reported by administering synthetic thyroxine in the treatment of hypothyroidism. Sodium levothyroxine in a dose of 0.02 mg/kg (22 mcg/kg) b.i.d. was recommended from the L-thyroxine group of medicines [12, 14, 1].

In conclusion, it was determined that Micanfin vaccine application used as an immunoprophylactic and immunotherapeutic measure did not cause a counter indication such as leukotrichia and the case was hypothyroidism.

References / Literatura

1. Batmaz H., Aytug N.: Kedi ve Köpek Hastalıkları. p.319-323, Turkey, 1998. -
2. Boothe D. M.: Drug therapy in cats: A therapeutic category approach. Journal of the American Veterinary Medical Association 196, 1659-1669, 1990. - 3. Fenner A., Karle J.: Therapeutic vaccination against dermatophytosis in horses with Insol Dermatophyton results of a field study 11 German counties. Praktische Tierarzt 81, 574-578, 2000. - 4. Gookin J. L., Trepanier L. A., Bunch S. E.: Clinical hypothyroidism associated with trimethoprim-sulfadiazine administration in a dog. Journal of the American Veterinary Medical Association 214, 1028-1031, 1999. - 5. Hall E. J., Miller W. D., Medleau L.: Ketoconazole treatment of generalized dermatophytosis in a dog with hyperadrenocorticism. Journal of the American Animal Hospital Association 20, 597-600, 1984. - 6. Kamionowski M., Kamionowska E., Jasnoch E., Suchomska B.: Efficacy of Alpevac (Biowet Pulawy) in the prevention of dermatomycosis in rabbits. Zycie Wetery 76, 101-102, 2001. - 7. Khosla R., Grupta M. P., Dhablania D. C., Jand S. K.: Clinical diagnostic features of dermatophytosis in dogs with particular reference to therapeutic measures. Indian Veterinary Journal 66, 1157-1159, 1989. - 8. Kostro K., Glinski Z., Wojcka-Lorenkiewicz K., Gacek L., Krakowski M.: Alopecic vaccine in prophylactics and controlling trichophytosis in rabbits. Medycyna Weterynaryjna 56, 816-820, 2000. - 9. Leib M. S., Monroe W. E.: Internal Medicine, Bacterial and Fungal Disease of the Skin. W. B. Saunders Comp. Philadelphia, 42-48, 1997. - 10. Mancianti F., Pedonese F., Zullino C.: Efficacy of oral administration of itraconazole to cats with dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. Journal of the American Veterinary Medical Association 213, 993-995, 1998. - 11. Meckenstock E.: Zur klink und therapie von dermatomycosen bei Haus-und Nutztieren. Veterinär-medizinische Nachrichten, Heft 2, 87-96, 1969. - 12. Or M. E.: Oral antimikotiklerin köpek dermatomikoz tedavisinde denemesi ve bu antimikotiklerin kan serum parametreleri üzerine etkileri. PhD Thesis. Istanbul University, 1995. - 13. Panciera D. L.: An echocardiographic and electrocardiographic study of cardiovascular function in hypothyroid dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 205, 996-1000, 1994. - 14. Peterson M. E., Melian C., Nichols R.: Measurement of serum total thyroxine triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 211, 1396-1402. - 15. Senturk S., Batmaz H.: Hypothyroidism in dogs. Veterinary Surgery J 2, 66, 1996. - 16. Sodikoff C. H.: Laboratory Profiles of Small Animal Diseases. A Guide to Laboratory Diagnosis. 3rd. Ed. Mosby. Missouri, 40, 2001. - 17. Sparkers A. H., Gruffyd-Jones T. J., Stockes C. R.: Acquired immunity in experimental feline microsporum canis infection. Research in Veterinary Science 61, 165-168, 1996. - 18. Wawrzekiewicz K., Ziolkowska G., Sadzikowski Z., Stepien M.: Immune response of cats experimentally infected with microsporum canis. Polish Journal of Veterinary Science 3, 97-103, 2000a. - 19. Wawrzekiewicz K., Sadzikowski Z., Ziolkowska G., Wawrzekiewicz J.: Inactivated vaccine against Microsporum canis infection in cats. Medycyna Weterynaryjna 56, 245-250, 2000b. - 20. Williams D. A., Moncrieff C. S., Bruner J., Sustarsic D., Sahakian N. P., Ünver E., Shami A. S.: Validation of an immunoassay for canin thyroid-stimulating hormone and changes in serum concentration following induction of hypothyroidism in dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 209, 1730-1732, 1996.

SRPSKI

KLINIČKI PRISTUP GUBITKU BOJE DLAKE KOD JEDNOG ROTVAJLERA

M. E. Or, A. Kayar, Ç. Parkan, R. Gönül, T. Morkoç, H. T. Dodurka

Micanfin (Biocam-M[®]) je novi veterinarski lek koji se uspešno koristi u tretmanu i profilaksi dematomikoze kod pasa i mačaka. U ovom radu leukotrihija je ustanovljena posle davanja Micanfina i cilj je bio da se ustanove dijagnoza i protokol lečenja ovog slučaja.

U pitanju je bio mužjak rotvajler star četiri godine, telesne mase 35 kg, koji je primljen na specijalističku veterinarsku kliniku zbog alopecije. Obavljen je rutinski klinički pregled, uzet je uzorak kože i urađeni su antibiogram i mikološki pregled telesnih tečnosti. Obavljena su hematološka ispitivanja i određene su vrednosti nekih parametara u serumu.

Na kraju mikoloških istraživanja, iako nije bilo reprodukcije, ustanovljeno je da je nivo cinka u serumu veoma nizak. Posle naknadnih laboratorijskih istraživanja utvrđeno je da je u pitanju hipotireoidizam. Sve dlake, osim na jednoj maloj površini, povratile su originalnu boju, i vlasnik psa je izjavio da životinja više ne pokazuje smanjenu aktivnost posle završetka primene cinka i tretmana hipotireodizma.

U zaključku, ustanovljeno je da primena vakcine Micanfina nije izazvala leukotrihiju kao neželjeni efekat, nego je to bio slučaj hipotireoidizma.

Ključne reči: rotvajler, pas, klinički pristup, dematomikoza, hipotireoidizam

РУССКИЙ

КЛИНИЧЕСКИЙ ДОСТУП ПОТЕРЕ АМСТИ У ОДНОГО РОТВЕЙЛЕРА

M. E. Or, A. Kayar, Ç. Parkan, R. Gönül, T. Morkoç, H. T. Dodurka

Мицанфин новое ветеринарное лекарство, используемое успешно в лечении и профилактике дерматомикоза у собак и кошек. В этой работе лейкотрихия установлена после дачи Мицанфина и цель была установить диагноз и протокол лечения этого случая.

Вопрос был самец ротвейлер ему четыре года, массы тела 35 кг, который принят на специализированную ветеринарную клинику из-за алопеции. Совершен рутинный клинический осмотр, взят образец кожи и сделана антибиотикограмма и микологический анализ жидкостей тела. Сделаны гематологические испытания и определены стоимости некоторых параметров в сыворотке.

На конце микологических исследований, хотя не было репродукции, установлено, что уровень цинка в сыворотке очень низкий. После дополнительных лабораторных исследований утверждено, что вопрос гипотиреодизм. Все шерсти кроме на одной маленькой поверхности возвратили оригинальный цвет, и собаковод-владелец заявил, что животное больше не показывает уменьшенную активность по окончании применения цинка и лечения гипотиреодизма.

В выводе, установлено, что применение вакцины Мицанфина не вызвало лейкотрихию, как нежелательных эффект, но это был случай гипотиреодизма.

Ключевые слова: ротвейлер, собака, клинический доступ, дерматомикоз, гипотиреодизм

**FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE
U BEOGRADU 2004. GODINE**

Doktorirali:

Kurčubić S. Vladimir
Fratrić P. Natalija
Panajotović B. Viktor
Kovačević V. Branko
Baloš M. Milica
Stepanović B. Predrag
Plavša P. Nada

Magistrirali:

Santrač M. Violeta
Milosavljević D. Petar
Stanojević M. Dragan
Janković T. Dušan
Jakovljević R. Goran
Radovanović T. Dragan
Trajković R. Svetlana
Šekler D. Milenko
Matović B. Kazimir
Ilić Đ. Živka

Specijalizirali:

Kuprešanin R. Predrag
Ninković V. Vladimirk
Živković R. Goran
Božović R. Vjera
Gitarić D. Dejan
Beljin M. Dragana
Mitrović R. Radmila
Dimitrijević Č. Vojislav
Petković S. Jovan
Milićević R. Dragan
Mihajlović Z. Branislav
Milenković V. Milanka
Stojović N. Predrag
Šekler D. Milenko
Nešić D. Ivana
Šoblaher-Orčić J. Matilda
Cokić Č. Jovan
Kapetanov M. Nikola

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2005. GODINE

Doktorirali:

Mišić B. Zorana
Ilić D. Tamara
Pešut J. Olivera
Đorđević M. Milutin
Kovačević-Filipović H. Milica
Vakanjac V. Slobodanka
Kirovski Lj. Danijela

Mijatović S. Bojana
Relić R. Renata
Milovanović M. Aleksandar
Žutić I. Jadranka
Kirovski A. Marko
Mišić R. Dušan
Roksandić B. Dragutin
Prodanov Z. Jasna
Pušić M. Ivan
Rajković I. Miodrag

Magistrirali:

Krstić P. Milena
Stojiljković S. Ljubomir
Vasilev D. Dragan
Vasilev D. Saša
Savić M. Božidar
Jović Z. Slavoljub
Marinković M. Darko
Tasić V. Aleksandar
Marković V. Radmila
Velinković N. Miljan
Dokić D. Zorica
Dobrosavljević J. Ivan
Dačić D. Miroljub
Petković M. Jelena
Jovanović-Panić M. Ljiljana
Petković M. Miloš
Klun M. Ivana
Tomić P. Aleksandar
Đorđević Ž. Vesna
Milanović Z. Svetlana

Specijalizirali:

Marković R. Aleksandar
Trajkov G. Arsen
Janjić S. Slavoljub
Stojićević-Pantelić Vesna
Obradović N. Jasmina
Vuković S. Dejan
Jasović R. Zuvrija
Spalević D. Ljiljana
Cekić B. Dragana
Đurić R. Ranko
Đerić M. Zoran
Ninkoović S. Davor
Nešković M. Milijana
Tomišić Č. Goran
Dragojević B. Tijana
Veljković J. Predrag
Vukić S. Dejan
Tadić O. Zorana
Vasiljević A. Teodora

Jovanović D. Zoran
Ratajac D. Radomir
Vuković R. Svetlana
Sikimić M. Petar
Rončević M. Anđelka
Širtov Š. Robert
Stojiljković V. Dragoslav
Bakić V. Radomir
Popović S. Aleksandra
Filipović S. Zoran
Krasnić N. Anton
Lalović Z. Jelena
Kovačević B. Slobodan
Savić R. Dragana
Novaković T. Predrag
Janković S. Čedomir
Stevanović D. Miloš

Popović V. Mirko
Raketić V. Vladimir
Rudinski B. Petar
Raketić M. Mirko
Bursać N. Vladimir
Kalaba S. Ljubomir
Novaković D. Ilija
Živković N. Tomislav
Kiškarolj F. Ferenc
Stošić S. Zorica
Petej R. Zoran
Marketić S. Slobodanka
Banovčanin B. Branka
Radanović Č. Oliver
Vučinić M. Snežana
Drašković D. Mirjana
Milovanović A. Zoran

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2005. GODINE

Janjić Z. Dalibor

Rođen 31. 8. 1978. u Leskovcu
Diplomirao 1. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Leskovac
Beogradska 23

Avdalović M. Vladimir

Rođen 11. 11. 1976. u Požarevcu
Diplomirao 7. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Požarevac
Šumadijska 65/12

Tomić D. Srđan

Rođen 14. 7. 1979. u Beogradu
Diplomirao 8. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Šabac
Nušićeva 2/48

Topalov S. Tamara

Rođena 6. 7. 1977. u Zrenjaninu
Diplomirala 10. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Elemir
Dr Laze Mijatova 10

Gojković Đ. Dragan

Rođen 20. 8. 1966. u S. Mitrovici
Diplomirao 10. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka S. Mitrovica
Miloša Obilića 185

Đorđević M. Marko

Rođen 2. 11. 1975. u Vilingenu,
Nemačka
Diplomirao 10. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Lajkovac
Ložionička 50

Milošević J. Slobodan

Rođen 24. 2. 1975. u Sallfeldenu,
Austrija
Diplomirao 10. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Žabari
Sime Simića 32

Lončar M. Zoran

Rođen 20. 9. 1977. u Sisku
Diplomirao 7. 2. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
III bulevar 68

Petrović M. Rima

Rođena 17. 11. 1964. u Beogradu
Diplomirala 28. 12. 2004. godine
Stalno mesto boravka Beograd

Andrijanić B. Dubravka

Rođena 11. 7. 1976. u Loznici
Diplomirala 21. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Loznica
Marije Bursać 26

Radosavljević O. Jelena

Rođena 19. 6. 1979. u Beogradu
Diplomirala 21. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Đuke Dinić 28

Bokroš A. Andraš

Rođen 29. 12. 1974. u Senti
Diplomirao 25. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Senta
JNA 29/A

Jakovljević Ž. Slađana

Rođena 29. 3. 1976. u Beogradu
Diplomirala 25. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kikinda
Svetozara Miletića 88

Nikolajević B. Vladimir

Rođen 8. 8. 1975. u Beogradu
Diplomirao 25. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Dimitrija Tucovića 141

Čongor G. Fekete

Rođen 26. 3. 1979. u Subotici
Diplomirao 28. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Feketić
Herojska 137/A

Ištvan I. Vajda

Rođen 1. 12. 1975. u Bačkoj Topoli
Diplomirao 28. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Feketić
Herojska 137/A

Debeljak A. Aleksandra

Rođena 14. 1. 1978. u Kraljevu
Diplomirala 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Gračac
36215 Podunavci

Šipčić Ž. Goran

Rođen 28. 8. 1973. u Valjevu
Diplomirao 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Valjevo
Naselje M. Pavlovića 16/2

Žekić M. Predrag

Rođen 27. 12. 1962. u Novom Selu
Diplomirao 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Sivec
JNA 84

Marković D. Nebojša

Rođen 12. 6. 1977. u Beogradu
Diplomirao 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kralja Milutina 17/3

Simanović G. Ivan

Rođen 18. 5. 1979. u Beogradu
Diplomirao 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Stepojevac
Ivana Milutinovića 1

Krstić M. Olga

Rođena 9. 12. 1975. u Pančevu
Diplomirala 30. 3. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zemun
P. Marganovića 8

Milenković N. Lidija

Rođena 18. 10. 1963. u Beogradu
Diplomirala 4. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Stjepana Supanca 20

Arsić M. Jelena

Rođena 7. 2. 1977. u Valjevu
Diplomirala 21. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Valjevo
Sindelićeva 6/4

Šefer M. Eugen

Rođen 3. 12. 1972. u Subotici
Diplomirao 22. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Subotica
Beogradski put 71

Savić S. Jelena

Rođena 22. 2. 1977. u Bijeljini
Diplomirala 22. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka nepoznato

Chatzistefanou I. Maria

Rođena 9. 5. 1979. u Atini (Grčka)
Diplomirala 22. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka nepoznato

Pešić D. Sneška

Rođena 17. 4. 1974. u Pirotu
Diplomirala 22. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Pirot
Takovska 5/6

Čurčić D. Vladimir

Rođen 12. 9. 1975. u Novom Sadu
Diplomirao 25. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Nadežde Petrović 8

Stanojković D. Marina

Rođena 3. 1. 1980. u Surdulici
Diplomirala 25. 4. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Vitanovačka 42/22

Radosavljević R. Vladimir

Rođen 24. 9. 1978. u Loznici
Diplomirao 16. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Sloga 4

Rakić A. Milan

Rođen 19. 4. 1968. u Beogradu
Diplomirao 26. 5. 2005. godine

Stalno mesto boravka Beograd
Braće Grim 30

Bournous A. Petros

Rođen 5. 7. 1979. u Atini, Grčka
Diplomirao 16. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Halkida, Grčka
Tzavela 6

Banjac B. Milutin

Rođen 30. 4. 1972. u Beogradu
Diplomirao 18. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Bulevar JNA 143

Brkić I. Sanda

Rođena 3. 1. 1979. u Livervilu, Gabon
Diplomirala 24. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Ive Andrića 13

Jelenić S. Aleksandra

Rođena 5. 7. 1974. u S. Mitovici
Diplomirala 16. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka S. Mitrovica
Matije Huđi 26/13

Životić M. Marina

Rođena 14. 11. 1967. u Požarevcu
Diplomirala 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Veliko Orašje
Moše Pijade 8

Jeremić D. Zoran

Rođen 31. 8. 1969. u Varvarinu
Diplomirao 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bačina
Nušićeva 5

Đukić Đ. Stanko

Rođen 12. 3. 1980. u Sisku
Diplomirao 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Brigadira Ristića B-1

Učajev N. Igor

Rođen 3. 6. 1978. u Beogradu
Diplomirao 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Sime Miloševića 141

Talić M. Vladimir

Rođen 7. 6. 1977. u Šapcu
Diplomirao 30. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Šabac
Jadranska 1

Jugović Z. Dragan

Rođen 10. 6. 1978. u Kruševcu
Diplomirao 30. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Milutovac

Vukomanović M. Nataša

Rođena 8. 5. 1970. u Čačku
Diplomirala 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka S. Mršač
Kraljevo

Jovin P. Miloš

Rođen 25. 8. 1978. u Zrenjaninu
Diplomirao 24. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Mostarska 26

Strugar B. Nebojša

Rođen 9. 10. 1973. u Buchloe,
Nemačka
Diplomirao 30. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Lazarevac
Alekse Nenadovića 2

Selić J. Sreten

Rođen 15. 4. 1972. u Lazarevcu
Diplomirao 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Lazarevac
Orašačka 14/13

Brankov B. Branislav

Rođen 10. 3. 1975. u Beloj Crkvi
Diplomirao 30. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bela Crkva
Rasadnik 1B/12

Jovanović S. Jasmina

Rođena 25. 6. 1978. u Užicu
Diplomirala 16. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Đorđa Tomića 12/7

Radojev Đ. Aleksandar

Rođen 5. 7. 1978. u Rumi
Diplomirao 26. 5. 2005. godine
Stalno mesto boravka Dobrinici
Borkovačka 32

Simić M. Tanja

Rođena 11. 12. 1972. u Osijeku
Diplomirala 7. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Gibarac
Karađorđeva 40

Mirosavljević M. Ivana

Rođena 8. 2. 1979. u Beogradu
Diplomirala 14. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kumodraška 113

Ćučko B. Miloš

Rođen 19. 8. 1976. u Beogradu
Diplomirao 16. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Pilota Mihajla Petrovića 13

Ilić Z. Nikola

Rođen 10. 5. 1975. u Jagodini
Diplomirao 23. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Jagodina
Đurđevo Brdo 8

Simović M. Nenad

Rođen 24. 8. 1978. u Kragujevcu
Diplomirao 23. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Brestovac
34243 Toponica, Kragujevac

Jović B. Goran

Rođen 14. 1. 1978. u Kragujevcu
Diplomirao 16. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Žirovnica

Lukić J. Mladen

Rođen 30. 10. 1978. u Bijeljini
Diplomirao 23. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Laze Kostića 111

Čančarević P. Ivan

Rođen 28. 6. 1973. u Beloj Reci
Diplomirao 22. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Potočanje
31205 Sevojno

Obradović V. Darko

Rođen 17. 6. 1974. u Rači
Diplomirao 16. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka D. Šatornja
34314 Donja Šatornja

Golubović R. Predrag

Rođen 2. 8. 1976. u Kragujevcu
Diplomirao 15. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Lapovo
Patrijarha Dimitrija

Mikalački A. Velimir

Rođen 18. 5. 1978. u Kikindi
Diplomirao 27. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bečej
Sindelićeva 3

Vukajlović M. Ana

Rođena 6. 11. 1978. u Kutini
Diplomirala 27. 6. 2005. godine

Stalno mesto boravka Beograd
Paje Jovanovića 12

Kasanović M. Miloš

Rođen 10. 1. 1975. u Beogradu
Diplomirao 21. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Lješka 56

Vimić Đ. Dragan

Rođen 25. 9. 1972. u Rumi
Diplomirao 24. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kraljevci
Veljkova 95

Smoljanović P. Dragutin

Rođen 29. 6. 1975. u Beogradu
Diplomirao 27. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Matije Bana 3

Damljanovića B. Perica

Rođen 14. 5. 1976. u Ptuju
Diplomirao 23. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kralja Milutina 13A

Vladislavljević S. Nebojša

Rođen 5. 10. 1973. u Zemunu
Diplomirao 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka nepoznato

Đoković B. Stefan

Rođen 2. 8. 1971. u Beogradu
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
III bulevar 144/1b

Lečić N. Miloš

Rođen 31. 5. 1975. u Beogradu
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Stojana Aralice 27

Đoković D. Dragana

Rođena 7. 8. 1972. u Arilju
Diplomirala 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Arilje
Prvomajska bb

Nedeljković R. Slavica

Rođena 7. 4. 1972. u Arilju
Diplomirala 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Cerova
Arilje, Cerova bb

Vračar M. Milijana

Rođena 11. 8. 1979. u Bihaću
Diplomirala 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Prijedor
Branka Tubića-Jelina 16

Gabić S. Aleksandar

Rođen 14. 3. 1978. u Užicu
Diplomirao 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bajina Bašta
Rajka Tadića 28/14

Drobnjaković I. Mirjana

Rođena 2. 11. 1978. u Požegi
Diplomirala 17. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Požega
Prijanovići 126

Berić V. Maja

Rođena 1. 5. 1976. u Novom Sadu
Diplomirala 27. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Jovana Cvijića 48

Krizmanić M. Igor

Rođen 31. 3. 1973. u Somboru
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bački Breg
Jugoslovenska 44

Stefanović K. Ivana

Rođena 11. 1. 1976. u Paraćinu
Diplomirala 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Aleksinačkih rudara 11

Milošević M. Marijana

Rođena 1. 10. 1975. u Beogradu
Diplomirala 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Sarajevska 9

Jovanović Lj. Miljan

Rođen 22. 4. 1977. u Milićima
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Konarevo
Konarevo 137 (Kraljevo)

Jeremić Lj. Ivan

Rođen 23. 8. 1975. u Zaječaru
Diplomirao 27. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Filipa Filipovića 94a

Đorđević S. Tijana

Rođena 7. 4. 1978. u Beogradu
Diplomirala 20. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Cerski venac 15

Čakalo P. Jovo

Rođen 14. 1. 1978. u Osijeku
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zemun
Save Burića 4/35

Dakić S. Mira

Rođena 21. 12. 1966. u Beogradu
Diplomirala 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ljermontovljeva 2/85

Mirković K. Snežana

Rođena 24. 8. 1969. u Beogradu
Diplomirala 27. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zemun
Pavla Vujisića 18

Bašević R. Miroslav

Rođen 18. 7. 1976. u Loznici
Diplomirao 29. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Loznica
Drinske divizije 42

Starčević V. Miroslav

Rođen 6. 10. 1978. u Banja Luci
Diplomirao 21. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Zemun
N. Očmonje 29

Janković M. Miroljub

Rođen 9. 12. 1962. u Beogradu
Diplomirao 28. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Crnotravska 13a/120

Božić M. Radosav

Rođen 19. 4. 1976. u Bijeljini
Diplomirao 24. 6. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Neznanih junaka 12

Novak S. Neven

Rođen 13. 12. 1977. u Zagrebu
Diplomirao 21. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Borivoja Stevanovića 17

Dimić Z. Nataša

Rođena 22. 6. 1977. u Beogradu
Diplomirala 21. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Slogina 23

Jeremić Ž. Đorđe

Rođen 17. 12. 1979. u Čačku
Diplomirao 21. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Studentska 29/31

Kusurović B. Nenad

Rođen 8. 1. 1980. u Valjevu
Diplomirao 27. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Ub
Josipa Majera 54

Jorović B. Miloš

Rođen 3. 8. 1976. u Majdanpeku
Diplomirao 28. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Seljačkih buna 91

Savić B. Đorđe

Rođen 18. 10. 1980. u Banja Luci
Diplomirao 28. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Relje Krilatice 7/36

Ristić Z. Milena

Rođena 23. 2. 1979. u Nišu
Diplomirala 28. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Niš
Prva Kutina 88

Kijametović Ž. Vera

Rođena 31. 7. 1979. u Beogradu
Diplomirala 21. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Brsjačka 30

Đikić Z. Bojan

Rođen 30. 12. 1977. u Beogradu
Diplomirao 21. 9. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kragujevac
Kneza Miloša 27/7

Ašanin P. Nikola

Rođen 1. 5. 1979. u Beogradu
Diplomirao 19. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd

Turnić D. Violeta

Rođena 9. 2. 1973. u Čačku
Diplomirala 27. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Zaplanjska 88A

Beronja Đ. Bojan

Rođen 29. 5. 1980. u Kneževcu
Diplomirala 25. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beli Manastir
Josipa Pančića 58

Knežević S. Nemanja

Rođen 29. 12. 1970. u Stanišiću
Diplomirao 26. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka nepoznato

Tasić V. Bojan

Rođen 2. 6. 1976. u Svilajncu
Diplomirao 18. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Svilajnac
Slobodana Penezića Krcuna 21

Ignjatović M. Darko

Rođen 3. 4. 1978. u Valjevu
Diplomirao 24. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Valjevo

Đerić Z. Igor

Rođen 18. 2. 1979. u Brčkom
Diplomirao 25. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Račanska 74

Veljanovski M. Aleksandar

Rođen 15. 5. 1977. u Bajinoj Bašti
Diplomirao 27. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bajina Bašta
Braće Čučković 43

Ignjatović R. Jadranka

Rođena 15. 11. 1977. u Baru
Diplomirala 26. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Bulevar JNA 105b

Stanković Ž. Darko

Rođen 8. 4. 1972. u Beču
Diplomirao 21. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Jagodina
K. oktobra D1/I

Srđanov M. Srđan

Rođen 27. 6. 1977. u Novom Sadu
Diplomirao 26. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Pavleka Miškina 11

Belić D. Rastko

Rođen 26. 12. 1974. u Novom Sadu
Diplomirao 24. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd

Popović B. Snežana

Rođena 1. 2. 1978. u Zadru
Diplomirala 27. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kragujevac
Kneza Miloša 27/7

Majić Lj. Vesna

Rođena 31. 7. 1978. u Bajinoj Bašti
Diplomirala 26. 10. 2005. godine
Stalno mesto boravka Bajina Bašta
12. septembra 38/2

Čalić D. Branko

Rođen 23. 2. 1981. u Livnu
Diplomirao 23. 11. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kukujevac
Cara Lazara 27

Ugrinić M. Sandra

Rođena 9. 2. 1978. u Smed. Palanci

Diplomirala 22. 11. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Zvezdarskih jelki 24/14

Krsmanović S. Dragan

Rođen 1. 1. 1974. u Kruševcu
Diplomirao 22. 11. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Pere Četkovića 15/9

Lukić S. Miloš

Rođen 14. 11. 1977. u Beogradu
Diplomirao 30. 11. 2005. godine

Stalno mesto boravka Beograd
Nikole Čupića 18

Nedić B. Dušica

Rođena 27. 1. 1978. u Užicu
Diplomirala 29. 11. 2005. godine
Stalno mesto boravka Beograd

Petrušević B. Aleksandar

Rođen 3. 11. 1977. u Kraljevu
Diplomirao 22. 11. 2005. godine
Stalno mesto boravka Kraljevo

Ivanović Snežana:

CAMPYLOBACTER SPP. IZMEĐU ŽIVOTINJA I LJUDI,

Edicija: Posebna izdanja, izdavač Zadužbina Andrejević, Beograd 2005.

Meso je namirnica koja često može da bude uzrok trovanja kod ljudi. U obzir dolazi širok dijapazon mikroorganizama i parazita, a pojedina oboljenja dobijaju razmere epizootija sa velikim morbiditetom, a često i značajnim mortalitetom. To se posebno odnosi na bakterije trovače hrane.

Prve ustanovljene bakterije trovači bile su iz roda *Salmonellae spp.*, koje su i nazvane klasičnim trovačima mesa.

Kasnije su utvrđene i druge vrste bakterija koje mogu da budu uzrok trovanja, a u poslednje vreme često se govori o bakterijama iz roda *Campylobacter spp.* kao trenutno najznačajnijem alimentarnom uzročniku trovanja.

Prema podacima WHO, u poslednjih nekoliko godina broj trovanja ljudi prouzrokovan kampilobakterom premašio je broj trovanja izazvanih salmonelama, a enteritisi izazvani *Campylobacter spp.* su bez sumnje važan svetski problem.

Posebno je ugrožena populacija u zemljama sa intenzivnom proizvodnjom stoke. Kampilobakter može da se prenese sa životinja, kao izvora infekcije, na ljude, na više načina, najčešće preko kontaminisanog mesa, mleka i vode.

Pretpostavka je da se čovek najčešće inficira preko pilećeg mesa koje termički nije dovoljno obrađeno.

Imajući to u vidu i podatke koji se odnose na istraživanja o prevalenciji i biotipizaciji *Campylobacter spp.* kod pilića i svinja, koje su bili predmet autorove specijalizacije i magistrature, dr Snežana Ivanović se opredlila da pruži celoviti prikaz *Campylobacter spp.*, kako samog mikroorganizma, tako i epizootiološko-epidemiološki značaj koji on ima.

Knjiga sadrži 90 stranica, a materija je raspoređena u 15 poglavlja u kojima ima 16 tabela, 3 u boji i 3 crno-bele slike. Referenca obuhvata 152 naslova od čega je 16 autocitata.

Posle **sažetka i apstrakta** sledi treće poglavlje pod naslovom **Istori-jat i podela *Campylobacter spp.*** u kome su koncizno dati prikazi istraživanja kampilobakterioze, putevi otkrivanja uzročnika i konačno, njegova taksonomska podela. U nastavku je dat kratak opis osam vrsta *Campylobacter spp.* koji su od značaja za zdravlje ljudi.

Sledi poglavlje **Osobine *Campylobacter spp.*** u kome su objašnjene bitne karakteristike *Campylobacter spp.* značajne za njegovu determinaciju. U ovom poglavlju su obuhvaćene morfološke karakteristike *Campylobacter spp.*,

stvaranje toksina, metode i podloge za otkrivanje kampilobaktera i sličnosti i razlike između vrsta kampilobaktera.

Naslov narednog poglavlja je **Faktori koji utiču na preživljavanje *Campylobacter spp.*** i u njemu su opisani svi biotički činioci bitni za preživljavanje i perzistenciju *Campylobacter spp.* kako *in vivo* tako i u mesu, proizvodima od mesa, mleku i proizvodima od mleka. U ovom poglavlju su razmatrani uticaji koje imaju uslovi obrade mesa, mleka i njihovih proizvoda na preživljavanje i patogenost *Campylobacter spp.* u njima. Obraden je uticaj temperature (hlađenja, sušenja, zamrzavanja, visoke temperature i kisele sredine), osetljivost *Campylobacter spp.* na začine i kuhinjsku so i osetljivost na dezinficijense.

Šesto poglavlje nosi naslov **Probiotici i *Campylobacter spp.*** i u njemu je dat prikaz uticaja probiotika na *Campylobacter spp.* i ukazano da je ovaj patogen na koga probiotičke bakterije imaju uticaja. U poglavlju su dati i rezultati eksperimentalnih ispitivanja probiotika kod živine koje je obavljao autor tokom izrade njene disertacije.

Naredno poglavlje je posebno aktuelno i odnosi se na **Osetljivost na antibiotike**. U momentu kada je rezistentnost patogenih mikroorganizama prema antibioticima postala globalan problem istraživanja u ovom pravcu postala su od izuzetnog humanomedicinskog i veterinarskog značaja. U poglavlju su detaljno opisane metode ispitivanja osetljivosti *Campylobacter spp.* prema antibioticima.

Campylobacter spp. je mikroorganizam velike distribucije tako da je prisutan u spoljašnjoj sredini, u organizmima životinja i ljudi i ekskretima i sekretima koje izlučuju. To je i bila tema narednog poglavlja – **Rasprostranjenost *Campylobacter spp.*** u kome je data njegova rasprostranjenost u vodi i zemljištu.

Epizootiološki i epidemiološki značaj kampilobakterioze je izuzetno veliki na šta ukazuju podaci WHO po kojima je u poslednjih nekoliko godina broj trovanja ljudi prouzokovan sa kampilobakterom premašio broj trovanja izazvanih salmonelama i *E.coli*. O ovoj problematici govori se u poglavlju devet. **Epizootiologija i epidemiologija kampilobakterioze**. Prvi segment – epizootiologija se odnosi na rasprostranjenost *Campylobacter spp.* kod više životinjskih vrsta – živine, svinja, ovaca, goveda, pasa, mačaka i primata. Ovde se nalazi obilje podataka koji upečatljivo ilustruju rasprostranjenost ovog patogena kod životinja za života i u njihovim organima i mišićima koji se koriste u ishrani, ali, isto tako, i kod životinja ljubimaca koji lako mogu postati izvor infekcije svojih vlasnika. U logičnom sledu nastavlja se drugi segment – epidemiologija kampilobakterioze. U njemu su data najnovija svetska istraživanja koja se odnose na širenje oboljenja, rasprostranjenost i kliničke simptome na koje treba da se obrati pažnja. Segment je studiozno obrađen i celovit prikaz celokupne geneze humane kampilobakterioze i izuzetno je interesantan za široki dijapazon stručnjaka – i lekare i veterinare.

Deseto poglavlje **Komentar** sumira kompleksnost kampilobakterioze u korelaciji biotičkih i abiotičkih činilaca spoljašnje sredine i relacije životinja - čovek. U krajnje analitičkom pristupu ovi činioci su sagledani u jednoj ekološkoj celovitosti kruženja, distribucije, prevalencije i incidencije *Campylobacter spp.*

Slede **Zaključak, Literatura, Indeks pojmova, Rečnik skraćenica i Summary** čime je ova monografija u potpunosti zaokružena. Gledana u celini, monografija ***Campylobacter spp. između životinja i ljudi***, predstavlja jedno sveobuhvatno štivo u kome se na stručan, ali nadasve razumljiv i pristupačan način rasvetljavaju svi značajni aspekti kampilobakterioze i njenog uzročnika. Zbog toga je sa zadovoljstvom preporučujem stručnjacima i studentima osnovnih i posle diplomskih studija veterinarske i medicinske struke.

Dr Ivan Pavlović, viši naučni saradnik
Naučni institut za veterinarstvo Srbije