

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 67

BROJ 1 - 2

STRANA 1 - 150

Beograd 2013.

1-2

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. 67 Br. 1-2 Str. 1 - 150 Beograd, 2013.



IZDAVAČ:

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF BELGRADE
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЈ МЕДИЦИНИ УНИВЕРСИТЕТА В БЕЛГРАДЕ

SUIZDAVAČ: Veterinarska komora Srbije

COPUBLISHER: Veterinary Chamber of Serbia

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK – EDITOR IN CHIEF: *Vitomir Ćupić*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD: *Vojin Ivetić, Milovan Jovičin, Vera Katić, Sanja Kovačević-Aleksić, Zoran Kulišić, Zoran Rašić, Horea Šamanc, Vesna Matekalo-Sverak, Jadranka Tijanić, Dragiša Trailović*

MEĐUNARODNI UREĐIVAČKI ODBOR – INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD: *Arturo Anadon (Španija), Horia Cernescu (Rumunija), Toni Dovenski (Makedonija), Petar Džaja (Hrvatska), Marijan Kosec (Slovenija), Mehmed Muminović (Bosna i Hercegovina), Dimitrios Raptopoulus (Grčka), Peter Šotony (Mađarska), Carlo Valente (Italija)*

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Sandra Dilkić*

LEKTORI – LECTORS:

Sanja Vranić, 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 6 000 dinara
za individualne pretplatnike 2 000 dinara
za inostranstvo 200 USD
(The annual subscription outside Serbia is 200 US \$)

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:

Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije

Publication of this journal is financially supported by:

Ministry of Education and Science, Republic of 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.rs; www.vetks.org.rs

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 67 Br. 1 - 2 str. 1 - 150 Beograd, 2013.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Potkonjak A., Jurišić A., Petrović Aleksandra, Nićin S., Rajković Dragana, Lako B., Obrenović Sonja: Entomološki i ekološki indeks rizika za pojavu lajmske bolesti na području Vojvodine, Srbija
Entomological and Ecological Index for Risk of Infection Causing Lyme Disease in Territory of Vojvodina, Serbia
Энтомологический и экологический индекс риска для инфекции возбудителем болезни лайма на подведомственной области Воеводины, Сербия 3
- Vakanjac Slobodanka, Pavlović V., Magaš V., Pavlović M., Đurić M., Maletić M., Nedić Svetlana, Sočo I.: Ispitivanje efikasnosti intramamarno aplikovanih antibiotika i glukokortikosteroida u lečenju supkliničkih i kliničkih mastitisa kod krava
Investigations of Efficacy of Intramammary Applied Antimicrobials and Glucocorticosteroids in the Treatment of Subclinical and Clinical Mastitis in Cows
Испытание эффективности внутримаммарно апплицированных антибиотиков в лечении подклинических и клинических маститов коров 15
- Jezdimirović Milanka, Aleksić Nevenka, Milovanović Mirjana, Stojanović Dragica, Jezdimirović N., Đurđević D., Kureljušić Jasna: Uticaj eugenola na hematološke parametre kod pacova
Effect of Eugenol on Hematological Parameters in Rats
Влияние Эугенола на гематологические параметры у крыс 29
- Bugarski D., Petrović T., Boboš S., Milanov Dubravka, Orlić D., Radinović M., Lazić S.: Usporedno ispitivanje imunološkog odgovora teladi u različitim intervalima između primarne i sekundarne imunizacije inaktivisanom vakcinom protiv goveđeg herpes virusa-1
Comparative Investigations of Immune Response of Calves at Different Intervals Between Primary and Secondary Immunization Using Inactivated Bovine Herpesvirus 1 Vaccine
Сравнительное испытание иммунного ответа телютов при различных интервалах между первичной и вторичной иммунизацией инактивационной вакциной против говюжего герпес вируса - I 43
- Potkonjak A., Savić Sara, Vračar V., Rnjak D., Tikvicki M., Obrenović Sonja, Lako B.: Prevalencija antitela klase G na antigene uzročnika lajmske bolesti kod pasa u Vojvodini, Srbija
Prevalence of G Class Antibodies to Antigens of Lyme Disease Causes in Dogs in Vojvodina, Serbia
Превалентность антител класса Г на антигены возбудителя болезни лайма у собак в Воеводине, Сербия 55

■ Ristic M., Damme K.: Significance of pH-value for Meat Quality of Broilers – Influence of Breed Lines Značaj pH vrednosti za kvalitet mesa brojlera – uticaj genotipova Значение pH-стоимости для качества мяса бройлеров - влияние генотипов . . .	67
---	----

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРНЫЕ РАБОТЫ

■ Božić Tatjana, <u>Stevanović Jelka</u> , Borozan Sunčica, Jović S., Dimitrijević B., Ignjatović I.: Uticaj oksidativnog stresa na razvoj bolesti Influence of Oxidative Stress on Disease Development Влияние окислительного стресса на развитие болезни	75
■ Velhner Maja, Potkonjak Dubravka, Stojanović Dragica, Mitevski D., Stojanov I., Petrović Jelena: Rezistencija salmonela na antibakterijske lekove i mere kontrole u živinar-skoj proizvodnji Resistance to Antimicrobials Drugs and Control Measures of <i>Salmonella</i> spp in the Poultry Industry Сопротивление сальмонелл на антибактериальные лекарства и меры кон-троля в птицеводческом производстве	87
■ Savić Mila, Vučković S., Jovanović S.: Prilog sagledavanju potencijala prirodnih resursa Sjeničko - peštarske visoravni za organizovanje organske ovčarske proizvodnje Contribution to Reviewing Potentials of Natural Resources of the Sjenica-Pešter Pla-teau for Organizing Organic Sheep Production Приложение обозревания потенциала природных ресурсов Съеничко-пештерского плоскогорья для организации органического овцеводческого производства	97
■ Ilić Tamara, Petrović T., Dimitrijević Sanda: Značaj populacija divljih ptica i njihova parazito-fauna Significance of Wildfowl Populations and their Parasite Fauna Значение популяции диких птиц и их паразитофауна	105

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REPORT – ПОКАЗ СЛУЧАЯ

■ Francuski Jelena, Andrić N., Ilić V., Jovanović M., Lazarević-Macanović Mirjana, Krstić V., Kovačević-Filipović Milica: Retrospektivna analiza kliničkopatološkog nalaza kod opstrukcije donjih mokraćnih puteva mačaka Retrospective Analysis of Clinical Pathological Findings in Obstruction of Lower Uri-nary Pathways in Cats Ретроспективный анализ клинических патологических результатов у об-струкции нижних мочевых путей кошек	117
■ Krnjaja Vesna, Novaković Ž., Stojanović Ljiljana, Ostojić-Andrić Dušica, Stanišić N., Nikšić D., Mandić Violeta: Kontaminacija hrane za goveda plesnima i mikotoksinima Contamination of Cattle Feed with Molds and Mycotoxins Контаминация корма для крупного рогатого скота плеснями и микотоксинами	129

IN MEMORIAM	139
-----------------------	-----

DIPLOMI RANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKJE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE - ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОК-ТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	143
--	-----

UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS.	147
---	-----

**ENTOMOLOŠKI I EKOLOŠKI INDEKS RIZIKA ZA POJAVU
LAJMSKE BOLESTI NA PODRUČJU VOJVODINE, SRBIJA******ENTOMOLOGICAL AND ECOLOGICAL INDEX FOR RISK
OF INFECTION CAUSING LYME DISEASE IN TERRITORY
OF VOJVODINA, SERBIA***

**A. Potkonjak, A. Jurišić, Aleksandra Petrović, S. Nićin, Dragana Rajković,
B. Lako, Sonja Obrenović****

*U Evropi se, od svih vektorski prenosivih infekcija, najčešće registruje lajmska bolest, a najznačajniji vektor *Borrelia burgdorferi* je krpelj *Ixodes ricinus*. Od lajmske bolesti obolevaju ljudi i životinje. Rizik za pojavu lajmske bolesti je u korelaciji sa potencijalnim izlaganjem ubodu krpelja i zavisi od gustine populacije krpelja u endemskom području, procenta krpelja zaraženih uzročnikom lajmske bolesti, dužine i prirode aktivnosti prijemčive populacije na određenom području. Cilj ovog istraživanja je da se ustanove entomološki i ekološki indeks rizika, kao i da se proceni rizik transmisije uzročnika lajmske bolesti na području Vojvodine, Srbija.*

Prikupljanje krpelja je obavljeno na 12 lokacija Južnobačkog okruga, Srbija. Ukupno je do nivoa vrste identifikovano 1400 krpelja. Nakon utvrđivanja zaraženosti krpelja uzročnikom lajmske bolesti, primenom mikroskopskog pregleda u tamnom polju, izračunati su entomološki i ekološki indeks rizika za data područja.

*Identifikovane su dve vrste krpelja na našem geografskom području – *Ixodes ricinus* i *Dermacentor marginatus*. Kod *I. ricinus* utvrđena je prevalencija infekcije izazvane *B. burgdorferi*, koja se kretala do 33,1%. Ekološki indeks rizika ukazuje na to da potencijalni rizik od zaražavanja ljudi i životinja postoji na 8 lokaliteta. Za 3 lokaliteta je*

* Rad primljen za štampu 24. 02. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Aleksandar Potkonjak, docent, Departman za veterinarsku medicinu, mr sc. Aleksandar Jurišić, asistent, mr sc. Aleksandra Petrović, asistent, Departman za fitomedicinu i zaštitu životne sredine, mr sc. Slobodan Nićin, istraživač-stipendista Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, Departman za ekonomiku poljoprivrede i sociologiju sela, dr sc. Dragana Rajković, redovni profesor, Departman za fitomedicinu i zaštitu životne sredine, dr sc. med. vet. Branislav Lako, redovni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet; dr sc. med. vet. Sonja Obrenović, asistent, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

utvrđen definitivan aktuelni rizik za prenošenje uzročnika lajmske bolesti.

Ključne reči: Borrelia burgdorferi, lajmska bolest, infekcija, rizik, krpelji

Uvod / Introduction

Poslednje dve decenije intenzivno se izvode epidemiološka, ekološka, klinička i eksperimentalna istraživanja u cilju boljeg razumevanja lajmske bolesti. Lajmska bolest je multisistemsko oboljenje ljudi i životinja izazvano spirohetom *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Fritz i Kjemtrup, 2003). Od svih vektorski prenosivih infekcija, u Evropi se najčešće registruje lajmska bolest. Klinička slika ljudi je polimorfna i karakteriše se simptomima sličnim gripoznom sindromu uz pojavu *erythema migrans* sa reumatološkim, kardiološkim i neurološkim komplikacijama (Fritz i Kjemtrup, 2003; Stanek i sar., 2011). Čovek je slučajni domaćin u ishrani krpelja i održavanju *B. burgdorferi* kao uzročnika prirodno žarišne zoonoze. Do uboda krpelja dolazi u prirodi, gde je u proces održavanja *B. burgdorferi* uključen veliki broj životinjskih vrsta – domaće i divlje životinje, mali glodari i ptice (Mladenović i sar., 2010). Od lajmske bolesti, osim ljudi, mogu da obole i psi, konji, goveda i ovce. Kod najvećeg broja životinja infekcija uzročnikom lajmske bolesti je asimptomatska (Bushnick, 1994). U Evropi je najznačajniji vektor uzročnika lajmske bolesti krpelj *Ixodes ricinus* (Jensen, 2000).

Rizik za pojavu lajmske bolesti je u korelaciji sa potencijalnim izlaganjem ubodu krpelja i zavisi od gustine populacije krpelja u endemskom području, procenta krpelja zaraženih uzročnikom lajmske bolesti, te dužine i prirode aktivnosti prijemčive populacije na određenom području (Fritz i Kjemtrup, 2003). Promena geografske distribucije i gustine populacije krpelja zavisi od različitih biotičkih i abiotičkih faktora koji mogu da utiču na vrednosti incidencije lajmske bolesti kod ljudi i životinja (Lindgren i sar., 2000). Gustina populacije krpelja je sezonski i prostorno promenljiva jer zavisi od dostupnosti domaćina za hematofagnu ishranu, strukture vegetacije, klimatskih promena i uticaja čoveka na određenom geografskom području (Scharlemann i sar., 2008; Githeko i sar., 2000). Krpelji su najaktivniji od marta/aprila pa do oktobra / početka novembra, mada Dautel i sar. (2008) navode da aktivnost krpelja *I. ricinus* može biti prisutna i tokom cele zime. Iako Lajmska bolest ima sezonski karakter (Mladenović i sar., 2010), rizik od inficiranja postoji i u periodima kada je zima blaga (Dautel i sar., 2008).

Složena ekologija *B. burgdorferi* otežava prevenciju lajmske bolesti, zbog čega u ovoj oblasti još uvek nisu rešeni brojni problemi. I pored intenzivnih istraživanja lajmske bolesti i dalje postoje mnoge nedoumice vezane za ekologiju *B. burgdorferi*, profilaksu, dijagnostiku i lečenje obolelih od lajmske bolesti. Mnogo je radova koji se bave faktorima koji pospešuju transmisiju *B. burgdorferi* sa krpelja na eksperimentalne životinje, ali je malo radova koji se bave rizikom od oboljevanja od lajmske bolesti nakon uboda krpelja (Mladenović i sar., 2010).

Za procenu rizika transmisije uzročnika lajmske bolesti, na određenom području, koriste se entomološki (Mather i sar., 1996) i ekološki indeks rizika (Schulze i sar., 1991). Za određivanje entomološkog indeksa rizika koriste se podaci o gustini populacije krpelja (broj prikupljenih krpelja po jedinici vremena prikupljanja) i prevalenciji infekcije krpelja *B. burgdorferi* na istom području. Ekološki indeks rizika predstavlja brz, sistematičan i ekonomičan metod za identifikaciju područja na kojima postoji rizik za transmisiju uzročnika lajmske bolesti. Posebno je značajan za procenu rizika infekcije jer uključuje više parametara u odnosu na entomološki indeks rizika.

Cilj ovog istraživanja je da se ustanove entomološki i ekološki indeks rizika, kao i da se proceni rizik transmisije uzročnika lajmske bolesti na području Vojvodine, Srbija.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Prikupljanje i identifikacija krpelja / Collecting and identification of ticks

Za prikupljanje krpelja korišćen je flag-čas metod, koji podrazumeva prevlačenje dva bela flanelska platna različite površine (1 m x 1 m i 2 m x 1,6 m) po vegetaciji niskog rasta i tlu, u okviru izabраних preseka, tokom 60 minuta. Na svakih 20 m, tokom prevlačenja, platno je pregledano sa obe strane i krpelji su prikupljeni pomoću pincete. Prikupljanje krpelja je obavljeno na 12 lokacija Južnobackog okruga, Srbija. Četiri lokaliteta predstavljaju urbanu sredinu sa izraženim antropogenim uticijem – Gradsko groblje, Uspensko groblje, Park kod železničke stanice (delovi grada Novog Sada) i Zmajevu. Dva lokaliteta predstavljaju semi-urbana područja na kojima žive ljudi ili su poznata područja za odmor i rekreaciju ljudi u prirodi – Šangaj i Klisja u Novom Sadu. Većina lokaliteta predstavlja ruralni tip staništa za krpelje – Kamenički park, Subić i deo eksperimentalnih površina Instituta za topolarstvo u Novom Sadu, Bačka Palanka, Mošorin i Titel. Identifikacija prikupljenih krpelja je obavljena do nivoa vrste po ključu Estrada-Pena i saradnika (2004). Ukupno je prikupljeno 1400 krpelja.

Utvrđivanje zaraženosti krpelja uzročnikom lajmske bolesti /

Establishing infection of ticks with cause of lyme disease

Za utvrđivanje zaraženosti krpelja uzročnikom lajmske bolesti korišćena je metoda prema Kovalevskiju i saradnicima koja se zasniva na mikroskopskom pregledu u tamnom polju sadržaja srednjeg creva krpelja, koji je prethodno resuspendovan u fiziološkom rastvoru (Kovalevsky i sar., 1996).

Izračunavanje entomološkog indeksa rizika /

Determining entomological risk index

Entomološki indeks rizika je izračunat po metodi Mathera, kao proizvod gustine populacije krpelja (broj prikupljenih krpelja po jedinici vremena pri-

kupljanja) i prevalencije infekcije krpelja uzročnikom lajmske bolesti na istom području (Mather i sar., 1996).

*Izračunavanje ekološkog indeksa rizika /
Determining ecological risk index*

Ekološki indeks rizika je izračunat po metodi Schulze-a i saradnika, na osnovu odabranih ekoloških parametara kao što su pogodnost staništa za krpelje (flora i fauna) (tabela 1), površina staništa (tabela 2), pristupačnost staništu (tabela 3), gustina populacije krpelja (tabela 4) i prevalencija infekcije krpelja uzročnikom lajmske bolesti (tabela 5) (Schulze i sar., 1991). U ovom istraživanju primenjene su tri modifikacije u izračunavanju ekološkog indeksa rizika i odnose se na strukturu vegetacije, vrstu krpelja i maksimalne vrednosti zaraženosti krpelja uzročnikom lajmske bolesti na našem geografskom području, utvrđene pregledom sadržaja srednjeg creva krpelja pod tamnim poljem mikroskopa (Rajković i Jurišić, 2005). Potencijalni rizik za transmisiju uzročnika lajmske bolesti utvrđen je na osnovu podataka prikazanih u tabeli 6, dok je aktuelni rizik za transmisiju uzročnika lajmske bolesti utvrđen na osnovu podataka prikazanih u tabeli 7.

Tabela 1. Pogodnost ekosistema za krpelje /
Table 1. Suitability of ecosystems for ticks

Ocena / Grade	Opis / Description
5	Mešovite listopadne ili zimzelene šume sa grmljem >75% i sporadičnom travom, dominiraju rodovi: <i>Pinus</i> , <i>Quercus</i> , <i>Abies</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Betula</i> , <i>Sambucus</i> , <i>Prunus</i> , <i>Rubus</i> , <i>Forsythia</i> , <i>Cornus</i> , <i>Corylus</i> , <i>Setaria</i> , <i>Alopecurus</i> , <i>Avena</i> , bez uticaja antropogenog faktora / <i>Mixed deciduous or evergreen forests with presence of bush layer 75% and sporadically present grass layer; dominant genera: Pinus, Quercus, Abies, Ulmus, Betula, Sambucus, Prunus, Rubus, Forsythia, Cornus, Corylus, Setaria, Alopecurus, Avena, without influence of anthropogenic factor</i>
4	Mešovite listopadne ili zimzelene šume sa grmljem >50% i travom, dominiraju rodovi: <i>Pinus</i> , <i>Abies</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Robinia</i> , <i>Betula</i> , <i>Sambucus</i> , <i>Prunus</i> , <i>Rubus</i> , <i>Crataegus</i> , <i>Corylus</i> , <i>Forsythia</i> , <i>Setaria</i> , <i>Dactylis</i> , <i>Cynodon</i> , <i>Alopecurus</i> , <i>Avena</i> , sa sporadičnim uticajem antropogenog faktora / <i>Mixed deciduous or evergreen forests with presence of bush layer 50% and present grass layer; dominant genera: Pinus, Abies, Ulmus, Robinia, Betula, Sambucus, Prunus, Rubus, Crataegus, Corylus, Forsythia, Setaria, Dactylis, Cynodon, Alopecurus, Avena, with sporadic influence of anthropogenic factor</i>
3	Mešovite listopadne ili zimzelene šume sa grmljem >25% i učestalom travom, dominiraju rodovi: <i>Pinus</i> , <i>Abies</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Robinia</i> , <i>Betula</i> , <i>Sambucus</i> , <i>Corylus</i> , <i>Forsythia</i> , <i>Setaria</i> , <i>Dactylis</i> , <i>Alopecurus</i> , <i>Avena</i> , <i>Trifolium</i> , <i>Taraxacum</i> , <i>Lamium</i> , <i>Agropyron</i> , <i>Cynodon</i> , <i>Digitaria</i> , <i>Poa</i> , sa redovnim uticajem antropogenog faktora / <i>Mixed deciduous or evergreen forests with presence of bush layer 25% and frequently present grass layer; dominant genera: Pinus, Abies, Ulmus, Robinia, Betula, Sambucus, Corylus, Forsythia, Setaria, Dactylis, Alopecurus, Avena, Trifolium, Taraxacum, Lamium, Agropyron, Cynodon, Digitaria, Poa, with regular influence of anthropogenic factor</i>
2	Livade, obrasla polja, šume močvarnog zemljišta, dominiraju rodovi: <i>Avena</i> , <i>Poa</i> , <i>Setaria</i> , <i>Alopecurus</i> , <i>Trifolium</i> , <i>Lamium</i> , <i>Lolium</i> , <i>Agropyron</i> , <i>Echinochloa</i> , <i>Taraxacum</i> , <i>Dactylis</i> , <i>Cynodon</i> , <i>Digitaria</i> , sa čestim uticajem antropogenog faktora / <i>Meadows, overgrown fields, forests on swampy ground, dominant genera: Avena, Poa, Setaria, Alopecurus, Trifolium, Lamium, Lolium, Agropyron, Echinochloa, Taraxacum, Dactylis, Cynodon, Digitaria, with frequent influence of anthropogenic factor</i>

nastavak tabele 1. / *cont. Table 1*

1	Obradive površine, atletske staze, travnjaci, dominiraju familije: <i>Poaceae</i> i <i>Fabaceae</i> i rodovi: <i>Poa</i> , <i>Lotus</i> , <i>Salvia</i> , <i>Bromus</i> , <i>Plantago</i> , <i>Trifolium</i> , <i>Stachys</i> , sa konstantnim i značajnim uticajem antropogenog faktora / <i>Arable land, recreational paths, lawns, dominant families: Poaceae and Fabaceae and genres: Poa, Lotus, Salvia, Bromus, Plantago, Trifolium, Stachys, with constant and significant influence of anthropogenic factor</i>
---	---

Tabela 2. Površina staništa /
Table 2. Habitat surfaces

Ocena / Grade	Opis / Description
5	80%–100% pregledane površine / <i>examined surface</i>
4	60%–79% pregledane površine / <i>examined surface</i>
3	40%–59% pregledane površine / <i>examined surface</i>
2	20%–39% pregledane površine / <i>examined surface</i>
1	0%–19% pregledane površine / <i>examined surface</i>

Tabela 3. Pristupačnost staništu /
Table 3. Habitat accessibility

Ocena / Grade	Opis / Description
5	Staništa pogodna za krpelje, lako dostupna sa čestim posetama ljudi (izletišta, staze za trčanje, fizičke vežbe ili vožnju bicikla, kampovi, igrališta, školska dvorišta, parkovi) / <i>Suitable tick habitats, easily accessible with frequent visits by humans (picnic areas, recreational paths, exercise areas or bicycle paths, campgrounds, playgrounds, school yards, parks)</i>
4	Staništa pogodna za krpelje, lako dostupna / <i>Suitable tick habitats, easily accessible</i>
3	Staništa pogodna za krpelje, teško pristupačna usled prirodnih ili veštačkih prepreka (multiflora ruže, gusta ili druga neprohodna vegetacija, voda, ograda) / <i>Suitable tick habitats, difficult access due to natural or artificial obstacles (multiflora roses, dense or other impenetrable vegetation, water, fence)</i>
2	Staništa pogodna za krpelje, ograničen pristup (vojni objekti, aerodromi, privatni vrtovi) / <i>Suitable tick habitats, limited access (military facilities, airports, private gardens)</i>
1	Neodgovarajuća staništa ili bez pristupa / <i>Inadequate habitats or without access</i>

Tabela 4. Gustina populacije krpelja /
Table 4. Density of tick population

Ocena / Grade	Opis / Description
5	>30 krpelja <i>I. ricinus</i> prikupljenih u toku 1 sata / <i>30 ticks I. ricinus collected within 1 hour</i>
4	11–29 krpelja <i>I. ricinus</i> prikupljenih u toku 1 sata / <i>11–29 ticks I. ricinus collected within 1 hour</i>
3	6–10 krpelja <i>I. ricinus</i> prikupljenih u toku 1 sata / <i>6–10 ticks I. ricinus collected within 1 hour</i>
2	1–5 krpelja <i>I. ricinus</i> prikupljenih u toku 1 sata / <i>1–5 ticks I. ricinus collected within 1 hour</i>
1	0 krpelja <i>I. ricinus</i> prikupljenih u toku 1 sata / <i>0 ticks I. ricinus collected within 1 hour</i>

Tabela 5. Prevalencija infekcije krpelja uzročnikom lajmske bolesti /
Table 5. Prevalence of tick infection with cause of lyme disease

Ocena / Grade	Opis / Description
5	25% inficiranih krpelja <i>I. ricinus</i> / 25% infected ticks <i>I. ricinus</i>
4	19%–24% inficiranih krpelja <i>I. ricinus</i> / 19%–24% infected ticks <i>I. ricinus</i>
3	13%–18% inficiranih krpelja <i>I. ricinus</i> / 13%–18% infected ticks <i>I. ricinus</i>
2	7%–12% inficiranih krpelja <i>I. ricinus</i> / 7%–12% infected ticks <i>I. ricinus</i>
1	0%–6% inficiranih krpelja <i>I. ricinus</i> / 0%–6% infected ticks <i>I. ricinus</i>

Tabela 6. Izračunavanje potencijalnog rizika za transmisiju uzročnika lajmske bolesti /
Table 6. Determining potential risk of transmission of lyme disease causes

Ocena / Grade	Opis rizika / Description of risk
11–15	Visok / High
7–10	Umeren / Moderate
0–6	Nizak / Low

Tabela 7. Izračunavanje aktuelnog rizika za transmisiju uzročnika lajmske bolesti /
Table 7. Determining actual risk of transmission of lyme disease causes

Ocena / Grade	Opis rizika / Description of risk
11–15	Visok / High
7–10	Umeren / Moderate
0–6	Nizak / Low

Rezultati rada / Results

Identifikovane su dve vrste krpelja u analiziranom uzorku na našem geografskom području i to krpelji *Ixodes ricinus* i *Dermacentor marginatus*. Ukupno je prikupljeno 1306 krpelja vrste *Ixodes ricinus* i 94 krpelja vrste *Dermacentor marginatus*. U odnosu na stadijum razvoja i pol krpelja vrste *Ixodes ricinus*, identifikovano je 874 adulta (652 ženke i 222 mužjaka), 320 nimfi i 112 larvi. Sva 94 primerka vrste *Dermacentor marginatus* bili su adulti (63 ženke i 31 mužjak).

Kod krpelja vrste *I. ricinus*, mikroskopskim pregledom u tamnom polju, utvrđena je prevalencija infekcije *B. burgdorferi*, koja se kretala do 33,1%. U sadržaju srednjeg creva krpelja prikupljenih sa pet lokaliteta nije utvrđeno prisustvo uzročnika lajmske bolesti. Podaci o inficiranosti krpelja uzročnikom lajmske bolesti su prikazani u tabeli 8.

Najviši entomološki indeks rizika za inficiranje uzročnikom *B. burgdorferi* je utvrđen na lokalitetima u Bačkoj Palanci i iznosi 0,158. Najniži entomološki indeks rizika za inficiranje *B. burgdorferi* je utvrđen na lokalitetu Uspensko groblje

i iznosi 0,008. Na lokalitetima Gradsko groblje, Park kod železničke stanice, Zmajev, Mošorin i Titel, entomološki indeks rizika za inficiranje uzročnikom lajmske bolesti iznosi 0 (tabela 8).

Tabela 8. Entomološki indeks rizika /
Table 8. Entomological risk index

Lokalitet / Locality	Broj krpelja/h / Number of ticks/h	Broj krpelja/min / Number of ticks/min	Inficiranost <i>B. burgdorferi</i> / Infection of <i>B. burgdorferi</i>	Entomološki indeks rizika / Entomological risk index
Institut za topolarstvo / <i>Poplar Institute</i>	80	1,33	0,008	0,010
Gradsko groblje / <i>City cemetery</i>	7	0,11	0	0
Uspensko groblje / <i>Uspensko cemetery</i>	8	0,13	0,062	0,008
Park kod železničke stanice / <i>Railway Station Park</i>	3	0,05	0	0
Šangaj	9	0,15	0,092	0,013
Klisa	28	0,46	0,066	0,030
Kamenički park	15	0,25	0,107	0,026
Subić	60	1,00	0,017	0,017
Bačka Palanka	29	0,48	0,331	0,158
Zmajev	3	0,05	0	0
Mošorin	2	0,03	0	0
Titel	6	0,10	0	0

Za 8 lokaliteta je utvrđen visok potencijalni rizik transmisije *B. burgdorferi*. To su sledeći lokaliteti: Institut za topolarstvo, Park kod železničke stanice, Šangaj, Klisa, Kamenički park, Subić, Bačka Palanka i Titel. Umeren potencijalni rizik za prenošenje uzročnika lajmske bolesti utvrđen je na ostala 4 lokaliteta – Gradsko groblje, Uspensko groblje, Zmajev, Mošorin. U istraživanju nisu identifikovani lokaliteti sa niskim potencijalnim rizikom za prenošenje uzročnika lajmske bolesti. U tabeli 9 su prikazane izračunate vrednosti ekološkog indeksa sa potencijalnim rizikom transmisije *Borrelia burgdorferi*.

Za tri lokaliteta je utvrđen definitivan aktuelni rizik za prenošenje uzročnika lajmske bolesti. To su lokaliteti Kamenički park, Subić i Bačka Palanka. Potencijalni aktuelni rizik transmisije *Borrelia burgdorferi* je utvrđen za tri lokaliteta (Institut za topolarstvo, Šangaj i Klisa). Za ostale lokalitete (Gradsko groblje, Uspensko groblje, Park kod železničke stanice, Zmajev, Mošorin, Titel) utvrđen je ograničen aktuelni rizik transmisije uzročnika lajmske bolesti. U istraživanju nisu identifikovani lokaliteti sa niskim aktuelnim rizikom za prenošenje *B. burgdorferi*, kao ni lokaliteti bez aktuelnog rizika transmisije *B. burgdorferi*. Izračunate vred-

nosti ekološkog indeksa sa aktuelnim rizikom za prenošenje uzročnika lajmske bolesti su prikazane u tabeli 9.

Tabela 9. Prikaz ekološkog indeksa rizika za prenošenje *B. burgdorferi* /
Table 9. Ecological risk index for transmission of *B. burgdorferi*

Lokalitet / <i>Locality</i>	Tip / <i>Type</i>	I	II	III	IV	V	PR I-III	AR I-V
Institut za topolarstvo / <i>Poplar Institute</i>	R	5	5	4	5	1	14	20
Gradsko groblje / <i>City cemetery</i>	U	3	2	5	3	1	10	14
Uspensko groblje / <i>Uspensko cemetery</i>	U	3	1	5	3	2	9	14
Park kod železničke stanice / <i>Railway Station Park</i>	U	4	3	5	2	1	12	15
Šangaj	SU	3	3	5	3	2	11	16
Klisa	SU	3	4	5	4	2	12	18
Kamenički park	R	5	5	5	4	2	15	21
Subić	R	5	5	4	5	2	14	21
Bačka Palanka	R	5	5	3	4	5	13	22
Zmajevo	U	3	2	5	2	1	10	13
Mošorin	R	2	5	3	2	1	10	13
Titel	R	3	5	3	3	1	11	15

Legenda: R – ruralno, SU – semiurbano, U – urbano, I – Pogodnost staništa za krpelje (flora i fauna), II – Površina staništa, III – Pristupačnost staništu, IV – Gustina populacije krpelja, V – Prevalencija infekcije krpelja *Borrelia burgdorferi*, PR – Potencijalni rizik transmisije, AR – Aktuelni rizik transmisije /
Legend: R - rural, SU - semi-urban, U - urban, I - suitable tick habitat (flora and fauna), II - Habitat surface, III - Habitat accessibility, IV - density of tick population, V - Prevalence of infected ticks *Borrelia burgdorferi*, PR - Potential risk of transmission, AR - Actual risk of transmission

Diskusija / Discussion

U ovom istraživanju su identifikovane dve vrste krpelja sakupljenih na lokalitetima Južnobačkog okruga (*D. marginatus* i *I. ricinus*). Kao dominantna vrsta krpelja u slobodnoj prirodi ustanovljen je *Ixodes ricinus*. Na području Beograda, Stajković i saradnici su u dvogodišnjem periodu (1990–1992) prikupili, identifikovali do nivoa vrste i mikroskopski pregledali u tamnom polju na *B. burgdorferi* 5915 krpelja. Oni su ustanovili, takođe, da je dominantna vrsta u prirodi *I. ricinus* (99,8%) (Stajkovic i sar., 1993). Milutinovićeva je ustanovila da je u Republici Srbiji *I. ricinus* apsolutno dominantna vrsta. Ova vrsta krpelja je u tom istraživanju sprovedenom na 19 lokaliteta u centralnoj Srbiji bila zastupljena 35% u analiziranom uzorku (Milutinović, 2000).

Kod krpelja vrste *I. ricinus*, mikroskopskim pregledom u tamnom polju, utvrđena je prevalencija infekcije *B. burgdorferi*, koja se kretala od 0% do

33,1%. Za naše geografsko područje Rajković i saradnici navode prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 29,2% (Rajković i Jurišić, 2005). Za područje grada Beograda i okoline Stajković i sar. (1993) navode prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 27,0% do 31,7%. Čekanac i sar. (2010) navode sličnu prosečnu prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 21,9% za područje Beograda. Drndarević i sar. (1992) su primenom mikroskopskog pregleda u tamnom polju ustanovili 22% pozitivnih ženki krpelja vrste *I. ricinus* na prisustvo uzročnika lajmske bolesti, od ukupno pregledane 263 jedinke, prikupljene na području Beograda i Osjeka. U istraživanju sprovedenom na 19 lokaliteta u centralnoj Srbiji, Milutinovića je ustanovila ukupnu prevalenciju infekcije krpelja vrstom *I. ricinus* od 29% (Milutinović, 2000). U drugom istraživanju, primenom PCR metode, Milutinovića i saradnici su dokazali prisustvo genoma uzročnika lajmske bolesti kod 42,5% pregledanih krpelja (Milutinović i sar., 2008a). U drugom istraživanju, objavljenom iste godine, Milutinovića i saradnici su ustanovili zaraženost krpelja *I. ricinus* uzročnikom lajmske bolesti na području Kljajića od 7,6% do 45,9% (kod adulta) na području Bovanskog jezera, što su više vrednosti u odnosu na prosek u Evropi (Milutinović i sar., 2008b). Tomanović i sar. (2010) ustanovili su kod 16 krpelja vrste *I. ricinus* na području Srbije istovremenu infekciju različitim genospecijesima uzročnika lajmske bolesti i *A. phagocytophilum*. Savić i sar. (2010) su ustanovili da postoji aktuelni rizik od infekcije uzročnikom lajmske bolesti u Vojvodini, Srbija, jer je *B. burgdorferi* sensu lato prisutna u populaciji krpelja i pasa. Isti istraživači su ustanovili srednju vrednost prevalencije infekcije krpelja uzročnikom lajmske bolesti od 22,12%, kao i srednju vrednost seroprevalencije lajmske bolesti kod pasa od 25,81%.

U ovom istraživanju vrednosti flag/časa su se kretale od 2 do 80, a entomološki indeks rizika transmisije *B. burgdorferi* od 0 do 0,158. Čekanac i sar. (2010) su naveli relativno visoke vrednosti flag/časa od 17,9-33,4. Krstić i Stajković (2007) su saopštili vrednost entomološkog indeksa rizika transmisije *B. burgdorferi* za područje Beograda od 0,03 do 0,15. Za 8 lokaliteta je utvrđen visok potencijalni rizik transmisije *B. burgdorferi* – Institut za topolarstvo, Park kod železničke stanice, Šangaj, Klisa, Kamenički park, Subić, Bačka Palanka i Titel. Za tri lokaliteta je utvrđen definitivan aktuelni rizik transmisije *B. burgdorferi* – Kamenički park, Subić i Bačka Palanka. Ekološki indeks rizika za prenošenje uzročnika lajmske bolesti je bolji od entomološkog, jer je sveobuhvatniji. Osim gustine populacije krpelja, za njegovo određivanje razmatraju se i drugi faktori – prevalencija infekcije krpelja *B. burgdorferi*, pogodnost ekosistema za krpelje, površina staništa i pristupačnost staništu (Schulze i sar., 1991).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata našeg istraživanja može se zaključiti da je na određenim lokalitetima identifikovan visok entomološki rizik od pojave lajmske

bolesti nakon uboda krpelja. Ekološki indeks rizika ukazuje na to da potencijalni rizik od zaražavanja ljudi i životinja postoji na 8 od 12 ispitanih lokaliteta. Za 3 lokaliteta je utvrđen definitivan aktuelni rizik za prenošenje uzročnika lajmske bolesti. Sve ovo ukazuje na to da je na području Južnobačkog okruga lajmska bolest endemski prisutna i da postoji rizik od inficiranja ljudi i životinja uzročnikom lajmske bolesti nakon uboda inficiranog krpelja. Dalja istraživanja bi trebalo usmeriti na ekologiju lajmske bolesti na istom geografskom području u cilju redukcije populacije krpelja, kako bi se smanjile vrednosti ovih indeksa rizika za inficiranje uzročnikom lajmske bolesti, pa samim tim i smanjio broj novoregistrovanih slučajeva lajmske bolesti kod ljudi i životinja.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Ovo istraživanje je finansirao Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj AP Vojvodine (naziv projekta: Istraživanje lajmske bolesti i drugih vektorski prenosivih zoonoza u Vojvodini, broj projekta: 114-451-1892/2011).

These investigations were financed by the Provincial Secretariat for Science and Technological Development of AP Vojvodina within Project Number 114-451-1892/2011 Investigations of lyme disease and other vector transmitted zoonoses in Vojvodina .

Literatura / References

1. Bushmick SL. Lyme Borreliosis in Domestic Animals. J Spirochetal & Tick-Borne Dis 1994; 1: 24-30.
2. Čekanac R, Pavlović N, Gledović Z, Grgurević A, Stajković N, Lepšanović Ž, Ristanović E. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in Belgrade area. Vector Borne Zoonotic Dis 2010; 10(5): 447-52.
3. Dautel H, Dippel C, Kammer D, Werkhausen A, Kahl O. Winter activity of *Ixodes ricinus* in a Berlin forest. Int J Med Microbiol 2008; 298: 50-4.
4. Drndarević D, Lako B, Stojanović R, Stajković N, Obradović M, Živanović B, Čekanac R, Derković V, Nanušević N, Dmitrović R. *Ixodes ricinus* dokazan vektor lajm borelioze i u Jugoslaviji. Vojnosanitetski Pregl 1992; 49(1): 8-11.
5. Estrada-Pena A, Bouattour A, Camica JL, Walzer AR. Ticks of domestic animals in the Mediterranean region: a guide to identification of species. University of Zaragoza, Spain; Atalanta, Houten, The Netherlands, 2004.
6. Fritz CL, Kjemtrup AM. Lyme borreliosis. J Am Vet Med Assoc 2003; 223(9): 1261-70.
7. Githeko AK, Lindsay SW, Confalonieri UE, Patz JA. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. Bull World Health Organ 2000; 78(9): 1136-47.
8. Jensen PM. Host seeking activity of *ixodes ricinus* ticks based on daily consecutive flagging samples. Exp Appl Acarol 2000; 24(9): 695-708.
9. Kovalevsky YV, Korenberg YI, Kutlina GV, Ustinova OA. Standards for screening of a ixodid tick nymphal preparation by dark-field microscopy in the foci of borrelioses. Med Parazitol (Mosk) 1996; (4): 18-21.
10. Krstić M, Stajković N. Risk for infection by lyme disease cause in green surfaces maintenance workers in Belgrade. Vojnosanitetski Pregled 2007; 64(5): 313-8.
11. Lindgren E, Talleklint L, Polfeldt T. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. Environ Health Perspect 2000; 108(2): 119-23.

12. Mather TN, Nicholson MC, Donnelly EF, Matyas BT. Entomologic index for human risk of Lyme disease. *Am J Epidemiol* 1996; 144(11): 1066-9.
13. Milutinović M. Diverzitet i ekologija Iksodidnih krpelja (*Acari:Ixodidae*) u centralnoj Srbiji, Jugoslavija. *Arch Biol Sci* 2000; 52(1): 39-46.
14. Milutinović M, Masuzawa T, Tomanović S, Radulović Z, Fukui T, Okamoto Y. *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Francisella tularensis* and their co-infections in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks collected in Serbia. *Exp Appl Acarol* 2008a; 45(3-4): 171-83.
15. Milutinović M, Radulović Z, Tomanović S. Assessment of the risk of contracting Lyme disease in areas with significant human presence. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 2008b; 60(1): 121-9.
16. Mladenović J, Čekanac R, Stajković N, Krstić M. Risk of Lyme disease development after a tick bite. *Vojnosanitetski Pregled* 2010; 67(5): 369-74.
17. Rajković DV, Jurišić A. *Ixodes ricinus* as vector and reservoir of *Borrelia burgdorferi* in an urban environment. *Arch Biol Sci* 2005; 57(3): 253-4.
18. Savić S, Vidić B, Lazić S, Lako B, Potkonjak A, Lepšanić Z. *Borrelia burgdorferi* in ticks and dogs in the province of Vojvodina, Serbia. *Parasite* 2010; 17(4): 357-61.
19. Scharlemann JP, Johnson PJ, Smith AA, Macdonald DW, Randolph SE. Trends in ixodid tick abundance and distribution in Great Britain. *Med Vet Entomol* 2008; 22(3): 238-47.
20. Schulze TL, Taylor RC, Taylor GC, Bosler EM. Lyme disease: a proposed ecological index to assess areas of risk in the northeastern United States. *Am J Public Health* 1991; 81(6): 714-8.
21. Stajković N, Drndarević D, Lako B, Dmitrović R, Obradović M, Đerković V, Čekanac R, Đorđević D. Vectors of *Borrelia burgdorferi*. *Glas Srp Akad Nauka Med* 1993; (43): 45-56.
22. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. (2011). Lyme borreliosis. *Lancet* 2012; 379(9814): 461-73.
23. Tomanović S, Radulović Z, Masuzawa T, Milutinović M. Coexistence of emerging bacterial pathogens in *Ixodes ricinus* ticks in Serbia. In *Parasite* 2010; 17: 211-7.

ENGLISH

ENTOMOLOGICAL AND ECOLOGICAL INDEX FOR RISK OF INFECTION CAUSING
LYME DISEASE IN TERRITORY OF VOJVODINA, SERBIA

A. Potkonjak, A. Jurišić, Aleksandra Petrović, S. Nićin, Dragana Rajković, B. Lako,
Sonja Obrenović

In Europe, of all the vector transmitted diseases, the occurrence of lyme disease is the one most often registered, and the most significant vector *Borrelia burgdorferi* is the tick *Ixodes ricinus*. Both humans and animals contract lyme disease. The risk of the occurrence of lyme disease is in correlation with potential exposure to tick bites and depends on the density of the tick population in the endemic area, the percentage of ticks infected with the cause of lyme disease, the duration and the nature of the activity of the susceptible population in a certain area. The objective of these investigations was to determine the en-

tomological and the ecological risk index, as well as to assess the risk of transmission of the cause of lyme disease in the territory of Vojvodina Province in the Republic of Serbia.

Ticks were collected at 12 locations in the South Bačka District of Vojvodina. A total of 1400 ticks were identified up to the level of species. After establishing the infection of ticks with the cause of lyme disease, the entomological and the ecological index was determined for the given regions using microscopic examination in a dark field.

Two species of ticks were identified in this geographic region (*Ixodes ricinus* and *Dermacentor marginatus*). Examining *I. ricinus*, the prevalence of infection *B. burgdorferi* was established, ranging up to 33.1%. The ecological risk index indicates that there is a potential risk of humans and animals becoming infected at 8 localities. It was determined for 3 localities that there is a definite actual risk of the transference of causes of lyme disease.

Key words: *Borrelia burgdorferi*, lyme disease, infection, risk, ticks

РУССКИЙ

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНДЕКС РИСКА ДЛЯ ИНФЕКЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕМ БОЛЕЗНИ ЛАЙМА НА ПОДВЕДОМСТВЕННОЙ ОБЛАСТИ ВОЕВОДИНЫ, СЕРБИЯ

А. Потконяк, А. Юришич, Александра Петрович, С. Ничин, Драгана Райкович, Б. Лако, Соня Обренович

В Европе, из всех векторно переносных инфекций, чаще всего регистрируется явление болезни Лайма, а наиболее значительный вектор *Borrelia burgdorferi* клещ *Ixodes ricinus*. Болезнью Лайма заболевают люди и животные. Риск для явления болезни Лайма в корреляции с потенциальным подверганием укусу клещей и зависит от густоты популяции клещей в эндемической подведомственной области, процента клещей, заражённых возбудителем болезни, длины и природы активности приемлемой популяции на определённой подведомственной области. Цель этого исследования установить энтомологический и экологический индекс риска, словно и оценить риск трансмиссии возбудителя болезни на подведомственной области Воеводины, Сербия.

Собирание клещей сделано на 12 локаций в южнобачком округе Воеводины, Сербия. Совокупно до уровня вида идентифицировано 1400 клещей. После утверждения заражённости клещей возбудителем болезни Лайма, применением микроскопического осмотра в тёмном поле, вычислены энтомологический и экологический индекс риска для данных подведомственных областей.

Идентифицированы два вида клещей на нашей географической подведомственной области (*Ixodes ricinus* и *Dermacentor marginatus*). У *Ixodes ricinus* утверждена превалентность инфекции *B. burgdorferi*, которая двигалась до 33,1%. Экологический индекс риска указывает, что потенциальный риск от заражения людей и животных присутствующий на 8 локальных места. За 3 локальных места утверждён окончательный актуальный риск для переноски возбудителя болезни Лайма.

Ключевые слова: Боррелиа бургдорфери, болезнь Лайма, инфекция, риск, клещи

**ISPITIVANJE EFIKASNOSTI INTRAMAMARNO
APLIKOVANIH ANTIBIOTIKA I GLUKOKORTIKOSTEROIDA
U LEČENJU SUPKLINIČKIH I KLINIČKIH MASTITISA
KOD KRAVA***

***INVESTIGATIONS OF EFFICACY OF INTRAMAMMARY APPLIED
ANTIMICROBIALS AND GLUCOCORTICOSTEROIDES IN THE
TREATMENT OF SUBCLINICAL AND CLINICAL MASTITIS IN COWS***

**Slobodanka Vakanjac, V. Pavlović, V. Magaš, M. Pavlović, M. Đurić,
M. Maletić, Svetlana Nedić, I. Sočo****

*Zapaljenje mlečne žlezde (mastitis) kod krava predstavlja jedan od najaktuelnijih problema u intenzivnoj proizvodnji mleka, nanoseći velike ekonomske gubitke. Sa ispitivanih farmi u toku jedne godine, uzeto je 80 uzoraka mleka iz četvrti vimena krava sa kliničkim mastitisom i 160 uzoraka mleka iz četvrti vimena krava sa supkliničkim mastitisom. Ispitana je efikasnost tri preparata – A, B i C, u lečenju krava od kliničkih i supkliničkih mastitisa. Preparat A (neomicin, polimiksin B, oleandomicin i prednizolon) pokazao je veću efikasnost u lečenju kliničkih mastitisa izazvanih bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* i *Micrococcus* sp., ali slabiju efikasnost u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih *Staphylococcus aureus*. Preparat B (amoksicilin, klavulanska kiselina i prednizolon) pokazao je veću efikasnost u lečenju kliničkih mastitisa izazvanih bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* i *Micrococcus*, ali slabije dejstvo u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *Staphylococcus aureus*. Preparat C (prokain penicilin G, streptomycin, neomicin sulfat i prednizolon acetat) pokazao je efikasnost u lečenju kliničkih i supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus**

* Rad primljen za štampu 20. 03. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Vakanjac Slobodanka, vanredni profesor, dr sc. med. vet. Vojislav Pavlović, redovni profesor, mr sc. med. vet. Magaš Vladimir, asistent, dr sc. med. vet. Pavlović Miloš, vanredni profesor, Đurić Miloje, dr vet. med., stručni saradnik, Maletić Milan, dr vet. med., asistent, Nedić Svetlana, dr vet. med., stručni saradnik, Katedra za porodiljstvo, sterilitet i v.o., Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine; mr sc. med. vet. Sočo Ivan, JKP Gradske pijace, Beograd

cus dysgalactiae, Streptococcus uberis, Micrococcus, Staphylococcus aureus i Escherichia coli.

Ključne reči: mastitis, terapija, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae

Uvod / Introduction

Zapaljenje mlečne žlezde (mastitis) kod krava, predstavlja jedan od najaktuelnijih problema u intenzivnoj proizvodnji mleka, nanoseći velike ekonomske gubitke. Dugogodišnji različiti pristupi lečenju mastitisa nisu dali odgovarajuće rešenje, pa je problem mastitisa i dalje prisutan i aktuelan. Najbolji način aplikovanja antibiotika kod infekcija mlečne žlezde jeste intramamarno (Pyorala, 2002), iako su švedski istraživači pokazali radiografskim studijama da se penicilin G neravnomerno raspoređuje u vimenu (Ullberg i sar., 1958) i kao slaba kiselina teško prodire u mlečnu žlezdu (Frenklin i sar., 1986). Sistemsko lečenje mastitisa je široko usvojeno u nordijskim zemljama i ova praksa se i danas nastavlja (Ekman i sar., 1994).

Čak i ako lek ima teorijski idealne karakteristike, rezultati lečenja kod kliničkih ispitivanja mogu biti razočaravajući, kao u slučaju fluorohinolona (Kaartinen, 1995). Makrolidni antibiotici bi bili idealni lekovi za lečenje kliničkih mastitisa, međutim, kod njih je problem u farmakodinamici, odnosno u njihovom bakteriostatskom načinu delovanja (Owens i sar., 1999).

Najčešći uzročnici akutnog i hroničnog kataralnog mastitisa su bakterije iz roda *Streptococcus* (*Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*). Kod kliničke forme mastitisa potrebno je aplikovati visoku dozu penicilina G 2-4 miliona i.j./četrvt vimena ili polusintetskog penicilina (Gruneth, 1996; Pavlović, 2001). Ako dijagnoza nije sigurna ili potvrđena, treba koristiti intramamarnu aplikaciju antibiotika širokog antimikrobnog spektra delovanja (500 mg ampicilina, 200-300 mg cefacetrila ili 500 mg tetraciklina) (Gruneth, 1996). Za izazivače iz roda *Staphylococcus*, u praksi su se dobro pokazali antibiotici koji nisu osetljivi na enzim penicilinazu (oksacilin 400-1000 mg/četrvt vimena), koju sintetišu ove bakterije. Kod stafilokoknog mastitisa mogu se koristiti i cefalosporini, makrolidi u gore navedenim dozama kao i tetraciklini (400 mg) (Pyorala, 2002). Schröder i sar. (2005) su ustanovili na osnovu urađenog antibiograma da su izolovani sojevi *Staph. aureus* pokazali 100% osetljivost na sledeće antibiotike: oksacilin, cefacetil i neomicin, te ih preporučuju kod mastitisa izazvanih ovim mikroorganizmom. Corti (2003) je iz 91% uzoraka mleka izolovao *Staph. aureus* koji je bio osetljiv na Penicilin G, ampicilin, amoksicilin sa klavulanskom kiselinom, linkomicin, neomicin, gentamicin i kanamicin. Isti autor navodi da je 30% izolovanih sojeva *Streptococcus sp.* i 79% izolovanih sojeva *E. coli* osetljivo na ove iste navedene antibiotike.

Najčešći uzročnici piogenog mastitisa su *Arcanobacterium pyogenes*, ređe *Staphylococcus aureus*, a retko *Spherophorus necrophorus* i ostali. Obolelu

četvrt treba tokom dana što češće izmuzati i uveče ubaciti antibiotik. (Gruneth, 1996; Hillerton, 1988).

Najčešći uzročnik flegmonoznog mastitisa jeste *E. coli* i drugi koliformni mikroorganizmi. Česta muža uz aplikovanje oksitocina je preporučljiva mera u lečenju koliformnih infekcija (Gruneth, 1996). Preporučuje se i davanje diuretika u cilju eliminacije toksina iz krvi (Anderson, 1989; Smith; 1985).

Terapija granulomatoznog mastitisa sprovodi se uglavnom samo lokalno. Na osnovu veterinarskih propisa do sada korišćeni antimikotici (nistatin, klotrimazol) ne mogu se više koristiti kod goveda. Lečenje se sprovodi upotrebom natamicina, i to u količini od 100 mg koja se rastvori u 500 ml fiziološkog rastvora i aplikuje u cisternu vimena (Stanojević, 2001).

Cilj istraživanja bila je mikrobiološka analiza uzoraka mleka uzetih iz četvrti sa kliničkim mastitisima i četvrti vimena krava sa povećanim brojem somatskih ćelija (supklinički mastitisi) pre terapije, posle perioda karence da bi se ispitala efikasnost intramamarno aplikovanih preparata (koji pored antibiotika sadrže i glukokortikosteroide) u terapiji kliničkih i supkliničkih mastitisa krava izazvanih bakterijama *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae*, kao i mikrobiološka analiza uzoraka mleka uzetih iz četvrti sa supkliničkim mastitisima koji nisu lečeni (kontrolna grupa).

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivanja su obavljena na jednoj farmi na kojoj je na muži bilo 300 krava holštajn-frizijske rase u slobodnom sistemu držanja sa automatskom mužom u sistemu „riblja kost“, sa godišnjom proizvodnjom oko 7000 kg mleka. Ispitivana je efikasnost različitih preparata (kombinacija antibiotika i glukokortikosteroida) koji su se aplikovali pomoću intramamarnih špriceva, u cilju smanjenja pojave kliničkih i supkliničkih mastitisa kod krava izazvanih patogenim mikroorganizmima. Sistematska kontrola supkliničkih mastitisa koja se vrši jednom godišnje pokazala je da su ispitivane krave u prethodnoj laktaciji bile inficirane *Staph. aureus* i *Str. agalactiae*.

U ogled je uključeno 80 krava sa znacima kliničkih mastitisa, kao i 160 krava iz čijih su uzoraka mleka izolovani patogeni mikroorganizmi uzročnici supkliničkih mastitisa. Sve krave su podeljene u četiri grupe, tri eksperimentalne i jedna kontrolna grupa krava. U svakoj grupi je bilo po 20 krava sa kliničkim mastitisom (sa po jednom obolelom četvrti) i po 40 krava sa supkliničkim mastitisom izazvanim *Staph. aureus* i *Str. agalactiae*. Pre uzimanja uzoraka, vime je očišćeno i obrisano krpom dobro natopljenom u dezinficijensu i iscedenom. Vrhovi sisa i otvori sisnog kanala očišćeni su i dezinfikovani tamponom vate natopljenim 70% alkoholom. Prvi mlazevi mleka su odbacivani, nakon čega je iz svake četvrti nekoliko mililitara mleka izmuzeno u sterilne epruvete. Uzorci mleka su u ručnom frižideru dopremani u laboratoriju.

Svi uzorci mleka zasejani su na hranljivom agaru (Torlak, Beograd) sa dodatkom 10% ovčije krvi i inkubirani u aerobnim uslovima 24 h na 37°C. Mikroor-

ganizmi su izolovani i identifikovani na osnovu morfoloških i biohemijskih karakteristika, kako je opisano kod Quinn i sar. (1994).

Prvoj eksperimentalnoj grupi krava intramamarno je aplikovan preparat A (neomicin sulfat, polimiksin B sulfat, oleandomicin i prednizolon – Neopol B, Veterinarski zavod, Zemun).

Drugoj eksperimentalnoj grupi krava intramamarno je aplikovan preparat B (amoksicilin, klavulanska kiselina i prednizolon – Klamoks, Veterinarski zavod, Zemun).

Trećoj eksperimentalnoj grupi krava intramamarno je aplikovan preparat C (prokain-benzilpenicilin ili prokain penicilin G, streptomycin sulfat, neomicin sulfat i prednizolon acetat – Mastrepen, Veterinarski zavod, Zemun).

Četvrtoj (kontrolnoj) grupi nije aplikovan nijedan preparat, već su jedinke ostavljene bez terapije – za samoizlečenje.

Ispitivani preparati su aplikovani po uputstvu proizvođača. Preparat A i C su aplikovani (pomoću intramamarnog šprica) jednom dnevno, dok je preparat B aplikovan dva puta dnevno u intervalu od 12 h. Terapija je trajala 3 dana. Za mikrobiološku analizu, mleko je uzeto pre prve aplikacije preparata i 10 dana nakon poslednje aplikacije preparata.

Rezultati istraživanja / Results

Na farmi krava sa visokim godišnjim procentom supkliničkih i kliničkih mastitisa, uporedo su ispitani preparati sa kombinacijom antibiotika i glukokortikosteroida – preparati A, B i C.

U prvoj eksperimentalnoj grupi 20 krava, tj. 20 četvrti zahvaćenih kliničkim mastitisom i 40 krava, tj. 62 (38,7%) četvrti zahvaćenih supkliničkim mastitisom tretirano je preparatom A.

Tabela 1. Bakteriološki nalaz kliničkih mastitisa pre i posle terapije preparatom A
Table 1. Bacteriological findings in clinical mastitis before and after therapy with preparation A

Izolovani mikroorganizmi / <i>Isolated microorganisms</i>	Broj izolata (%) / <i>Number of isolates</i> (n=20) (%)	Pozitivna kontrola / <i>Positive control</i>	Uspešnost terapije <i>Success of therapy</i> (%)
<i>E. coli</i>	4 (20%)	1	75
<i>Str. agalactiae</i>	2 (10%)	0	100
<i>Staph. aureus</i>	10 (50%)	9	10
<i>Hemolitični mikrokokus /</i> <i>Hemolytic micrococcus</i>	1 (5%)	0	100
<i>Str. uberis</i>	1 (5%)	0	100
<i>Str. dysgalactiae</i>	2 (10%)	0	100

Desetog dana nakon aplikovanja preparata A kravama obolelim od kliničkog mastitisa izazvanog bakterijom *E.coli* (4 krave – 20%), isti uzročnik je

ponovo izolovan iz mleka samo jedne životinje, što znači da je preparat A delovao sa 75% uspešnosti. Od 10 krava obolelih od kliničkog mastitisa izazvanog *Staph. aureusom*, posle terapije preparatom A, navedeni mikroorganizam je izolovan iz 9 uzoraka mleka (pocenat uspešnosti je 10%). Kod svih ostalih patogenih mikroorganizama (*Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* i hemolitični mikrokok) preparat A je delovao sa 100% efikasnosti.

Od 62 četvrti vimena krava sa supkliničkim mastitisom, *E. coli* je izolovana iz 7 (11,3%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (9,7%), *C. bovis* iz 11 (17,8%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (4,8%), *Str. uberis* 9 (14,5%), *Micrococcus sp.* iz 8 (12,9%) i hemolitični mikrokok i *Staph. aureus* iz 9 (14,5%) uzoraka. Deset dana posle aplikovanja preparata A u četvrti obolele od supkliničkog mastitisa izazvanog bakterijama *Str. agalactiae* i *S. aureus* kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti na supklinički mastitis izazvan streptokokom (*Str. agalactiae*). Kod mastitisa izazvanog stafilokokom (*S. aureus*) od ukupno 9 četvrti, uzročnik je posle terapije ponovo izolovan kod 7 četvrti, tako da je procenat efikasnosti bio 22,2%.

Preparatom B (II eksperimentalna grupa) tretirano je 20 krava, odnosno 20 četvrti zahvaćenih kliničkim mastitisom i 40 krava, odnosno 65 (40,6%) četvrti zahvaćenih supkliničkim mastitisom. Tabela 2 prikazuje bakteriološki nalaz mleka krava obolelih od kliničkog mastitisa kojima je intramamarno aplikovan preparat B. Od ukupno 20 krava, *E. coli* je izolovana kod 5 (25%), *Str. agalactiae* kod 2 (10%), i *Str. dysgalactiae* kod 1 (5%), *Staph. aureus* kod 7 (35%), hemolitični mikrokok kod 3 (15%) i *Str. uberis* kod 2 (10%) krave. Deset dana posle aplikovanja intramamarnog šprica preparata B i na kontroli mleka 5 krava obolelih od kliničkog mastitisa izazvanog *E. coli*, isti uzročnik je izolovan ponovo iz mleka samo jedne životinje, što znači da je delovao sa 80% efikasnosti. Od 7 obolelih krava sa kliničkim mastitisom izazvanim *S. aureusom*, posle terapije preparatom B, navedeni mikroorganizam je izolovan kod 3 krave (pocenat efikasnosti je 57,1%). Kod svih ostalih patogenih mikroorganizama (*Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* i hemolitični mikrokok), preparat B je delovao sa 100% efikasnosti.

Tabela 2. Bakteriološki nalaz kliničkih mastitisa pre i posle terapije preparatom B
Table 2. Bacteriological findings in clinical mastitis before and after therapy with preparation B

Izolovani mikroorganizmi / Isolated microorganisms	Broj izolata / Number of isolates (n=20) (%)	Pozitivna kontrola / Positive control	Uspešnost terapije Success of therapy (%)
<i>E. coli</i>	5 (25%)	1	80,0
<i>Str. agalactiae</i>	2 (10%)	0	100,0
<i>Staph. aureus</i>	7 (35%)	3	57,1
Hemolitični mikrokokus / Hemolytic micrococcus	3 (15%)	0	100,0
<i>Str. uberis</i>	2 (10%)	0	100,0
<i>Str. dysgalactiae</i>	1 (5%)	0	100,0

Od 65 četvrti krava sa supkliničkim mastitisom, *E. coli* je izolovana iz 7 (10,7%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (9,4%), *C. bovis* iz 10 (15,3%), *Str. dysgalactiae* iz 2 (3,1%), *Str. uberis* 2 (3,1%), *Micrococcus sp.* iz 15 (32,1%) i hemolitični mikrokok iz 15 (23,1%) i *Staph. aureus* iz 13 (20%) uzoraka mleka. Deset dana posle aplikovanja preparata B, u četvrtima zahvaćenim supkliničkim mastitisom izazvanim bakterijama *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*, kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti kod supkliničkog mastitisa izazvanog streptokokom (*Str. agalactiae*). Kod mastitisa izazvanog stafilokokom (*Staph. aureus*) od ukupno 13 četvrti, uzročnik je posle terapije ponovo izolovan kod 7 četvrti vimena, tako da je procenat efikasnosti bio 46,1%.

Preparatom C (III eksperimentalna grupa) tretirano je 20 krava, odnosno 20 četvrti zahvaćenih kliničkim mastitisom i 40 krava, odnosno 58 (36,25 %) četvrti zahvaćenih supkliničkim mastitisom. Od ukupno 20 krava, *E. coli* je izolovana kod 3 (15%), *Str. agalactiae* kod 2 (10%), i *Str. dysgalactiae* kod 2 (10%), *Staph. aureus* kod 6 (30%), hemolitični mikrokok kod 4 (20%) i *Str. uberis* kod 3 (15%) krave. Deset dana posle aplikovanja preparata C kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti kod svih kliničkih mastitisa. Navedeni uzročnici kliničkog mastitisa kod obolelih krava više nisu izolovani iz uzoraka mleka.

Tabela 3. Bakteriološki nalaz kliničkih mastitisa pre i posle terapije preparatom C
Table 3. Bacteriological findings in clinical mastitis before and after therapy with preparation C

Izolovani mikroorganizmi / <i>Isolated microorganisms</i>	Broj izolata / <i>Number of isolates</i> (n=20) (%)	Pozitivna kontrola / <i>Positive control</i>	Uspešnost terapije <i>Success of therapy</i> (%)
<i>E. coli</i>	3 (15%)	0	100
<i>Str. agalactiae</i>	2 (10%)	0	100
<i>Staph. aureus</i>	6 (30%)	0	100
Hemolitični mikrokokus / <i>Hemolytic micrococcus</i>	4 (20%)	0	100
<i>Str. uberis</i>	3 (15%)	0	100
<i>Str. dysgalactiae</i>	2 (10%)	0	100

Od 58 četvrti vimena krava sa supkliničkim mastitisom, bakterija *E. coli* je izolovana iz 10 (17,3%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (10,3%), *C. bovis* iz 7 (12,2%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (5,1%), *Str. uberis* 2 (3,4%), *Micrococcus sp.* iz 11 (18,9%) i hemolitični mikrokok iz 9 (15,5%) i *Staph. aureus* iz 10 (17,3%) četvrti krava. Deset dana posle aplikovanja preparata C u četvrtima vimena zahvaćenim supkliničkim mastitisom izazvanim bakterijama *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*, kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti.

U četvrtoj (kontrolnoj) grupi – 20 krava, odnosno 20 četvrti vimena obolelih od kliničkih mastitisa i 40 krava (160 četvrti vimena), obolelih od sup-

kliničkog mastitisa, nisu tretirane ni sa jednim preparatom. Tabela 4. prikazuje bakteriološki nalaz mleka krava obolelih od kliničkih mastitisa iz kontrolne grupe krava. Od ukupno 20 krava, *E. coli* je izolovana kod 4 (20%), *Str.agalactiae* kod 2 (10%), i *Str. dysgalactiae* kod 2 (10%), *Staph. aureus* kod 6 (30%), hemolitični mikrokok kod 5 (25%) i *Str. uberis* kod 1 (5%) krave. Posle deset dana u uzorcima mleka kontrolne grupe, *E. coli* je ostala prisutna u sva 4 (100%) uzorka mleka, *Str. agalactiae* i *Str. dysgalactiae* ponovo su izolovane u jednom uzorku mleka. Od ukupno 6 uzoraka mleka *Staph. aureus* je izolovan kod 5 (83%) uzoraka, a hemolitični mikrokokus od 5 uzoraka ponovo je izolovan iz 4 (80%) uzorka. *Streptococcus uberis* nije izolovan u ponovnom uzorkovanju mleka.

Tabela 4. Bakteriološki nalaz kliničkih mastitisa u kontrolnoj grupi krava
Table 4. Bacteriological findings in clinical mastitis in control group of cows

Izolovani mikroorganizmi / Isolated microorganisms	Broj izolata / Number of isolates (n=20) (%)	Pozitivna kontrola / Positive control	Uspešnost terapije Success of therapy (%)
<i>E. coli</i>	4 (20%)	4	0
<i>Str. agalactiae</i>	2 (10%)	1	50,0
<i>Staph. aureus</i>	6 (30%)	5	11,3
Hemolitični mikrokokus	5 (25%)	4	20,0
<i>Str. uberis</i>	1 (5%)	0	100,0
<i>Str. dysgalactiae</i>	2 (10%)	1	50,0

Od 51 četvrti krava zahvaćenih supkliničkim mastitisom, *E. coli* je izolovana iz 8 (15,6%) uzoraka mleka, *Str.agalactiae* iz 6 (11,7%), *C. bovis* iz 7 (13,7%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (5,9%), *Str. uberis* 4 (7,8%), *Micrococcus sp.* iz 8 (15,7%) i hemolitični mikrokokus iz 5 (9,9%) i *Staph. aureus* iz 10 (19,7%) četvrti krava. Posle deset dana u uzorcima mleka kontrolne grupe, *Str.agalactiae* je od ukupno 6 uzoraka mleka ponovo izolovana u pet uzoraka. Od ukupno 10 uzoraka mleka *Staph. aureus* je izolovan iz 8 (80%) uzoraka.

Diskusija / Discussion

Prema navodima Stojanovića i sar. (2001) na lečenje mastitisa na farmama muznih krava se i dalje troše značajna materijalna sredstva. Procenjuje se da je najmanje 40% svih krava inficirano nekim od uzročnika mastitisa, ali samo 2% – 5% krava boluje od kliničkog mastitisa. Supklinički mastitisi izazvani *S. agalactiae*, *Streptococcus sp.*, *Staph. aureus* i *Staphylococcus sp.* bili su veoma česti i iznosili su 35% – 40% svih supkliničkih mastitisa. U našem radu je obuhvaćeno između 31,8% i 40,6% inficiranih četvrti krava sa supkliničkim mastitisima.

Od 20 krava obolelih od kliničkih mastitisa, *E. coli* je izolovana kod 4 (20%), *Str. agalactiae* i *Str. dysgalactiae* kod 2 (10%), *Staph. aureus* kod 10 (50%), hemolitični mikrokok i *Str. uberis* kod 1 (5%) krave. Deset dana posle aplikovanja preparata A (neomicin, polimiksin B, oleandomicin i prednizolon) kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat kod krava obolelih od kliničkog mastitisa izazvanog bakterijom *E. coli* delovao sa 75% efikasnosti. Kod krava sa kliničkim mastitisom izazvanim bakterijom *Staph. aureus*, posle primene preparata A, efikasnost ove terapije je iznosila 10%. Međutim, Schröder i sar. (2005) ustanovili su da je *Staph. aureus* 100% osetljiv na oksacilin, cefacetil i neomicin, te ih preporučuju kod mastitisa izazvanih ovim mikroorganizmom. Kod svih ostalih patogenih mikroorganizama (*Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* i hemolitični mikrokok) preparat A je delovao sa 100% uspešnosti.

Od ukupno 62 četvrti vimena krava obolelih od supkliničkih mastitisa, *E. coli* je izolovana iz 7 (11,3%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (9,7%), *C. bovis* iz 11 (17,8%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (4,8%), *Str. uberis* 9 (14,5%), *Micrococcus sp.* iz 8 (12,9%) i hemolitični mikrokok i *S. aureus* iz 9 (14,5%) četvrti krava. Deset dana posle aplikovanja preparata A u četvrti vimena obolelih od supkliničkog mastitisa izazvanog bakterijama *Str. agalactiae* i *Staph. aureus* kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti kod supkliničkog mastitisa izazvanog *Str. agalactiae*. Taponen (2003) u svom radu ukazuje na prednosti upotrebe kombinacije penicilina i neomicina kao intramamarne terapije kliničkih mastitisa izazvanih Gram pozitivnim mikroorganizmima. Preparat A kod mastitisa izazvanog stafilokokom *Staph. aureus* je pokazao mali procenat uspešnosti, svega 22,2%, za razliku od rezultata Cortija (2003), koji je ustanovio da je 91% uzoraka mleka iz kojih je kao uzročnik izolovan *Staph. aureus* bio osetljiv na penicilin G, ampicilin, kombinaciju amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, linkomicin, neomicin, gentamicin i kanamicin.

Posle aplikovanja preparata B (amoksicilin, klavulanska kiselina i prednizolon) kravama obolelim od kliničkog mastitisa izazvanog bakterijom *E. coli*, navedeni mikroorganizam je od ukupno 5 obolelih krava ponovo izolovan iz mleka jedne životinje, što znači da je preparat delovao sa 80% uspešnosti. Od ukupno 7 obolelih krava sa kliničkim mastitisom izazvanim *Staph. aureusom*, posle terapije preparatom B, navedeni mikroorganizam je izolovan iz mleka 3 krave (procenat uspešnosti je 57,1%) dok je kod Cortija (2003) izolovani *Staph. aureus* bio osetljiv na penicilin G, ampicilin, amoksicilin sa klavulanskom kiselinom u 91% slučajeva. Kod svih ostalih patogenih mikroorganizama (*Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* i hemolitični mikrokok) preparat B je delovao sa 100% efikasnosti. Wilson (1999) u svom radu navodi veliku stopu izlečenja kliničkih i supkliničkih mastitisa amoksicilinom (82%) izazvanih bakterijama *Staph. aureus*, *Str. agalactiae*.

Deset dana posle aplikovanja preparata B u četvrtima vimena obolelih od supkliničkog mastitisa izazvanih bakterijama *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*, kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti

kod supkliničkog mastitisa izazvanog *Str. agalactiae*. Kod mastitisa izazvanog *Staph. aureus* od ukupno 13 četvrti, uzročnik je posle terapije ponovo izolovan kod 7 četvrti, tako da mu je procenat uspešnosti bio 46,1% za razliku od navoda Moronija (2006), koji preporučuje amoksicilin i klavulansku kiselinu u suzbijanju supkliničkih mastitisa izazvanih *Staph. aureus*.

Od 20 krava sa kliničkim mastitisom kojima je aplikovan preparat C (prokain penicilin G, streptomycin, neomicin sulfat i prednizolon acetat), *E. coli* je izolovana kod 3 (15%), *Str. agalactiae* kod 2 (10%), i *Str. dysgalactiae* kod 2 (10%), *Staph. aureus* kod 6 (30%), hemolitični mikrokod kod 4 (20%) i *Str. uberis* kod 3 (15%) krave. Deset dana posle aplikovanja preparata C kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% uspešnosti kod svih kliničkih mastitisa. Navedeni uzročnici kliničkog mastitisa kod obolelih krava više nisu izolovani iz uzoraka mleka. Slično navodi McDougall (2003), koji je intramamarno tretirao krave različitim kombinacijama antibiotika – prvu grupu krava sa 333 mg linkomicina, 100 mg neomicina i drugu grupu krava sa 1000 mg penicilina i 500 mg dihidrostreptomocina. Na kraju oglada nije bilo značajne statističke razlike u procentu ozdravljenja između navedenih grupa. Obe grupe pokazale su izuzetno visok stepen izlečenja (76,7%).

Od 58 četvrti vimena krava sa supkliničkim mastitisom kojima je aplikovan preparat C, *E. coli* je izolovana iz 10 (17,3%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (10,3%), *C. bovis* iz 7 (12,2%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (5,1%), *Str. uberis* 2 (3,4%), *Micrococcus sp.* iz 11 (18,9%) i hemolitični mikrokod iz 9 (15,5%) i *Staph. aureus* iz 10 (17,3%) četvrti krava. Deset dana posle aplikovanja preparata C u četvrti vimena obolele od supkliničkog mastitisa izazvanog bakterijama *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*, kontrola mleka je pokazala da je navedeni preparat delovao sa 100% efikasnosti kod supkliničkog mastitisa izazvanog sa *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*. Već jednokratno aplikovanje preparata C kravama sa kliničkim mastitisom dovodi do potpunog povlačenja kliničkih simptoma 24h posle aplikacije preparata, kao što je navedeno u radu Vakanjac i sar. (1997).

U kontrolnoj grupi, iz uzoraka mleka 20 krava sa kliničkim mastitisom *E. coli* je izolovana kod 4 (20%), *Str. agalactiae* kod 2 (10%), i *Str. dysgalactiae* kod 2 (10%), *Staph. aureus* kod 6 (30%), hemolitični mikrokod kod 5 (25%) i *Str. uberis* kod 1 (5%) krave. Deset dana od terapije, u uzorcima mleka kontrolne grupe *E. coli* je ostala prisutna u sva 4 uzorka mleka, *Str. agalactiae* i *Str. dysgalactiae* ponovo su izolovane iz jednog uzorka mleka. Od ukupno 6 uzoraka mleka *Staph. aureus* je izolovan iz 5 uzoraka, a hemolitični mikrokod od 5 uzoraka ponovo je izolovan iz 4 uzorka. *Streptococcus uberis* nije izolovan u ponovnom uzorkovanju mleka. Stepensamoizlečenja je jako nizak kod *E. coli* (0%), a kod *Str. agalactiae* je bio 50%.

U kontrolnoj grupi, 51 četvrt vimena krava sa supkliničkim mastitisom nije lečena. Mleko je mikrobiološki ispitivano u isto vreme kada i mleko eksperimentalnih grupa krava. *E. coli* je izolovana iz 8 (15,6%) uzoraka mleka, *Str. agalactiae* iz 6 (11,7%), *C. bovis* iz 7 (13,7%), *Str. dysgalactiae* iz 3 (5,9%), *Str. uberis* 4

(7,8%), *Micrococcus sp.* iz 8 (15,7%) i hemolitični mikrokok iz 5 (9,9%) i *Staph. aureus* iz 10 (19,7%) četvrti vimena krava. Posle deset dana, iz uzoraka mleka kontrolne grupe krava, *Str. agalactiae* je od ukupno 6 uzoraka mleka ponovo izolovana iz pet uzoraka. Od ukupno 10 uzoraka mleka, *S. aureus* je izolovan iz 8 uzoraka. U SAD je uveden prekid muže kod krava obolelih od supkliničkog mastitisa izazvanog stafilokokom *Staph. aureus*, tako da je polovina ispitivanih krava obolelih od ovog mastitisa pokazala normalnu sekreciju i količinu mleka u sledećoj laktaciji (Pyorala, 2002).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata bakterioloških analiza mleka pre i posle aplikovanja preparata koji su sadržavali kombinacije antimikrobnih lekova i glukokortikosteroida (ogledne grupe) i kontrolne grupe krava, mogu se izvesti sledećih zaključci:

Preparat A (neomicin, polimiksin B, oleandomicin i prednizolon) namenjen za lokalnu intramamarnu primenu pokazao je veću efikasnost u lečenju kliničkih mastitisa izazvanih bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* i *Micrococcus sp.* Preparat A je pokazao veću efikasnost u odnosu na kontrolne jedinice u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *Streptococcus agalactiae*, a manju efikasnost u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *Staphylococcus aureus*.

Preparat B (amoksicilin, klavulanska kiselina i prednizolon) takođe preparat namenjen za lokalnu intramamarnu primenu pokazao je veću efikasnost u odnosu na kontrolne jedinice u lečenju kliničkih mastitisa izazvanih bakterijama (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* i *Micrococcus*), kao i u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih streptokokom *Streptococcus agalactiae*, a manju efikasnost u lečenju supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *Staphylococcus aureus*.

Preparat C (prokain penicilin G, streptomycin, neomicin sulfat i prednizolon acetat), namenjen za lokalnu intramamarnu primenu, pokazao je veću efikasnost u odnosu na kontrolne jedinice u lečenju kliničkih i supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijama *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva nauke Interdisciplinarni projekat III 46002 „Molekularno-genetička i ekofiziološka istraživanja u zaštiti autohtonih animalnih genetičkih resursa, očuvanju dobrobiti, zdravlja i reprodukcije gajenih životinja i proizvodnji bezbedne hrane“.

Literatura / References

1. Anredson KL. Therapy for acute coliform mastitis. *Copm Cont Educ* 1989; 11: 1125-33.

2. Corti S, Sicher D, Regli W, Stephan R. Current data on antibiotic resistance of the most important bovine mastitis pathogens in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2003; 145(12): 571-5.
3. Ekman T, Aström G, Funke H. Measures taken by veterinarians in Sweden in cases of bovine mastitis. *Acta Vet Scand.* 1994; 35(4): 329-35.
4. Frerking H. Zur Feststellung von Enterstörungen und Enterentzündungen in Vorzugsmilchbetrieben unter Verwendung geeigneter Laboratoriumsverfahren. *Vet Med Diss. Hanover* 1961.
5. Gruneth E. *Buiatrik*. Verlag Schape, Hanover 1996; 45-61.
6. Hillerton JE. Summer mastitis-the current position. *In Practice* 1988; 10(2): 131-7.
7. Kaartinen L, Salonen M, Alli L, Pyörälä S. Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *J Vet Pharmacol Ther* 1995; 18(5): 357-62.
8. McDougall S. Intramammary treatment of clinical mastitis of dairy cows with a combination of lincomycin and neomycin, or penicillin and dihydrostreptomycin. *NZ Vet J* 2003; 51(3): 111-6.
9. Moroni P, Pisoni G, Antonini M, Villa R, Boettcher P, Carli S. Short communication: antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. *J Dairy Sci* 2006; 89(8): 2973-6.
10. Owens WE, Nickerson SC, Ray CH. Efficacy of parenterally or intramammarily administered tilmicosin or ceftiofur against *Staphylococcus aureus* mastitis during lactation. *J Dairy Sci* 1999; 82(3): 645-7.
11. Pavlović V i sar. Preventiva i terapija mastitisa krava. Zbornik radova simpozijuma „Mastitis i kvalitet mleka“. Vrnjačka Banja 2001; 51-5.
12. Pyörälä S. Antimicrobial treatment of mastitis-choice of the route of administration and efficacy. *Proceedings of the British Mastitis Conference. Brockworth* 2002; 20-9.
13. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby, Edinburgh 1994; 118-36; 209-25.
14. Roesch M, Doherr MG, Scharen W, Schallibaum M, Blum WJ. Subclinical mastitis in dairy cows in Swiss organic and conventional production system. *J Dairy Res* 2007; 74: 86-92.
15. Stanojević S, Krnjaić D. Gljivični mastitisi goveda. Zbornik radova simpozijuma „Mastitis i kvalitet mleka“, Vrnjačka Banja, 2001.
16. Schröder A, Hoedermaker M, Klein G. Resistance of mastitis pathogens in northern Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005; 118(9- 10), 393-8.
17. Stojanović L, Petrović M, Katić V. Značaj mastitisa u proizvodnji mleka. Zbornik radova simpozijuma „Mastitis i kvalitet mleka“, Vrnjačka Banja. 2001; 1-7.
18. Taponen S i sar. Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin susceptible gram positive bacteria a double blind field study. *J Vet Pharmacol Therapeut* 2003; 2(3): 193-8.
19. Wilson DJ, Gonzales RN, Case KL, Garrison LL, Grohn YT. Comparison of several antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens. *J Dairy Sci* 1999; 82(8): 1664-70.
20. Ullberg S, Hansson E, Funke H. Distribution of aqueous penicillin and penicillin in oil in normal goat udders following intramammary injection; an auto-radiographic study. *Am J Vet Res* 1958; 19(70): 135-8.

21. Vakanjac S, Pavlović N, Marković S. Ispitivanje leka Mastrepena u lečenju kliničkih i supkliničkih mastitisa. Veterinarski glasnik 1997; 51(1-2): 55-60.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF EFFICACY OF INTRAMAMMARY APPLIED ANTIMICROBIALS AND GLUCOCORTICOSTEROIDES IN THE TREATMENT OF SUBCLINICAL AND CLINICAL MASTITIS IN COWS

Slobodanka Vakanjac, V. Pavlović, V. Magaš, M. Pavlović, M. Đurić, M. Maletić, Svetlana Nedić, I. Sočo

Inflammation of the mammary gland, mastitis in cows, presents one of the most acute problems in intensive dairy production, inflicting huge economic losses. In the course of one year, 80 samples were taken at investigated farms from udder quarters of cows with clinical mastitis and 160 samples from udder quarters of cows with subclinical mastitis. The efficacy of three preparations, A, B, and C, was examined in the treatment of clinical and subclinical mastitis in cows. The investigations indicate that antibiotic preparation A (neomycin, polymyxine B, oleandomycin and prednisolone) exhibited a greater efficacy in the treatment of clinical mastitis caused by *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* and *Micrococcus sp.*, but a smaller efficacy in the treatment of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. Preparation B (amoxicillin, clavulanic acid and prednisolone) exhibited a higher efficacy in the treatment of clinical mastitis caused by *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* and *Micrococcus*, but a weaker effect in the treatment of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. Preparation C (procaine penicillin G, streptomycin, neomycin sulfate and prednisolone acetate) exhibited efficacy in the treatment of clinical and subclinical mastitis caused by *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Key words: mastitis, therapy, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВНУТРИМАМАРНО АППЛИЦИРОВАННЫХ АНТИБИОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ ПОДКЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ МАСТИТОВ КОРОВ

Слободанка Ваканяц, В. Павлович, В. Магаш, М. Павлович, М. Джурич, М. Малетич, Светлана Недич, И. Сочо

Воспаление молочной железы, маститы коров, представляют собой один из самых актуальных проблем в интенсивном производстве молока, нанося большие экономические ущербы. С испытанных ферм в течение одного года, взято 80 образчиков молока из четверти коров с клиническим маститом и 160 образчиков молока из четверти с подклиническим маститом. Испытана эффективность три препарата А, В и С в лечении клинических и подклинических маститов коров.

Испытания указывают, что антибиотический препарат А (неомицин, плимиксин В, олеандомицин и преднизолон) показал бóльшую эффективность в лечении клинических маститов, вызванных с *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* и *Micrococcus sp.*, но более слабую эффективность в лечении подклинических маститов, вызванных *Staphylococcus aureus*. Препарат В (амоксиклав, клавулонская кислота и преднизолон), показал бóльшую эффективность в лечении клинических маститов, вызванных *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* и *Micrococcus*, но более слабое действие в лечении подклинических маститов, вызванных *Staphylococcus aureus*. Препарат С (прокаинопенициллин G, стрептомицин, неомицин сульфат и преднизолон ацетат), показал эффективность в лечении клинических и подклинических маститов, вызванных с *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Ключевые слова: мастит, терапия, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*

UTICAJ EUGENOLA NA HEMATOLOŠKE PARAMETRE KOD PACOVA*

EFFECT OF EUGENOL ON HEMATOLOGICAL PRAMETERS IN RATS

Milanka Jezdimirović, Nevenka Aleksić, Mirjana Milovanović,
Dragica Stojanović, N. Jezdimirović, D. Đurđević, Jasna Kureljušić**

Ispitivan je mogući hematotoksični efekat eugenola kod pacova posle dvonedeljne i četvoronedeljne kontinuirane p.o. primene. Ogled je izveden na 72 mužjaka pacova soja vistar podeljenih u šest grupa. Četiri grupe tretirane su različitim dozama eugenola (10 mg/kg tm/dan, 50 mg/kg/dan, 200 mg/kg/dan i 400 mg/kg tm/dan), peta kontrolna grupa dobijala je vehikulum (0,5 % metil-celuloza, 20 % propilen-glikol i voda), a šesta je bila netretirana, apsolutno kontrolna. Eugenol i vehikulum aplikovani su gastričnom sondom u volumenu od 1 ml/100 g telesne mase pacova. Krv je uzorkovana kardijalnom punkcijom 14. i 28. dana ogleda u cilju određivanja hematoloških parametara (hematokrit, broj eritrocita, prosečna vrednost zapremine eritrocita (MCV), koncentracija hemoglobina, prosečna vrednost koncentracije hemoglobina (MCH), broj leukocita, leukocitna formula i broj trombocita).

Rezultati su pokazali da eugenol primenjivan 14 i 28 dana u dozama od 10, 50, 200 i 400 mg/kg tm/dan nema hemolitičku aktivnost. Takođe, primenjivan tokom četiri nedelje ne utiče značajno na broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, hematokrit, zapreminu eritrocita, broj leukocita i leukocitnu formulu. Eugenol primenjivan tokom dve nedelje prouzrokuje značajno povećanje mase hemoglobina po eritrocitu u odnosu na kontrolu. Ovaj efekat je nespecifičan i ne zavisi od doze, ni od dužine tretmana. Doze eugenola od 10 i 200 mg/kg/dan primenjivane tokom četiri nedelje prouzrokuju statistički značajno smanjenje broja trombocita u odnosu na apsolutno kontrolnu grupu, dok najviša ispitivana doza (400 mg/kg) izaziva značajno povećanje broja trombocita u poređenju sa dozama od 10 i 200 mg/kg/dan. Promene

* Rad primljen za štampu 23. 02. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Milanka Jezdimirović, redovni profesor, dr sc. med. vet. Nevenka Aleksić, redovni profesor, dr sc. med. vet. Mirjana Milovanović, docent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; dr. sc. med. vet. Dragica Stojanović, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; Nemanja Jezdimirović, dr vet. med., Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; Dragan Đurđević, dr vet. med., Institut za eksperimentalnu medicinu, VMA, Beograd; Jasna Kureljušić, dr vet. med. Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

broja trombocita izazvane eugenolom kvalitativno su različite i ne zavise niti od doze niti od dužine tretmana.

Eugenol primenjivan tokom dve i četiri nedelje ne ispoljava značajan uticaj na broj limfocita, monocita i granulocita.

Ključne reči: eugenol, hematotoksičnost, eritrociti, leukociti, pacov

Uvod / Introduction

U EU je od 2006. godine zabranjena primena antibakterijskih lekova kod životinja čije se meso koristi u ishrani ljudi sa ciljem da se preveniraju bakterijske infekcije i stimuliše rast. U skladu sa time, a u cilju dobijanja proizvoda sa oznakom organski proizvedene hrane, u Srbiji je donet Zakon o organskoj proizvodnji i organskim proizvodima (Sl. glasnik RS broj 30/10) i Pravilnik o kontroli i sertifikaciji u organskoj proizvodnji i metodama organske proizvodnje (Sl. glasnik RS broj 48/11), koji zabranjuju upotrebu antibiotika, kokcidiostatika, biostimulatora, hormona ili bilo kojih drugih materija kojima se stimuliše rast ili proizvodnja. Zbog toga je potrebno da se do sada korišćeni konvencionalni sintetski lekovi zamene fitofarmacima i/ili homeopatskim proizvodima.

Imajući u vidu da je strateški cilj naše zemlje proizvodnja organske hrane animalnog porekla, koja favorizuje prevenciju u odnosu na lečenje, primena alternativne terapije biljnim preparatima zauzima značajno mesto u sprovođenju zdravstvenog nadzora životinja. Iz tih razloga, poslednjih nekoliko godina intenzivno se istražuje efikasnost i bezbednost primene ekstrakta biljaka (karanfilić, cimet, slačica, origano, majčina dušica, ruzmarin), esencijalnih ulja, bioaktivnih molekula i sintetskih aktivnih komponenti kod životinja čije se meso koristi u ishrani ljudi, a naročito kod živine i svinja. Cilj je dobijanje fitofarmaka i dodataka krmnim smešama koji će da povećaju opštu otpornost životinja i spreče nastajanje bakterijskih, parazitskih, gljivičnih i virusnih bolesti, ali i da poboljšaju proizvodne performanse i kvalitet mesa i mleka (Lee i sar., 2004; Hernandez i sar., 2004; Zhang i sar., 2005; Lückstädt, 2005; Lević i sar., 2007; Pramod i sar., 2010).

Brojni su rezultati koji ukazuju na antimikrobno dejstvo aktivnih komponenti esencijalnih ulja: eugenola iz karanfilića, timola iz majčine dušice i origana, karvakrola iz origana, vanilina iz vanile, alicina iz belog luka, cinam-aldehida iz kore cimeta i alil-izotiocijanata iz slačice (Ratajac, 2005; Si i sar., 2006, 2006a; Chaieb i sar., 2007; Seed i Tariq, 2008; Gong i sar., 2008). Eugenol, izoeugenol, karvakrol i timol, dati pojedinačno ili u kombinaciji sa organskim kiselinama i njihovim solima, koriste se kao alternativa sintetskim antibakterijskim promoterima rasta kod živine i svinja jer pozitivno utiču na proizvodne performanse (Si i sar., 2006, 2006a; Lević i sar., 2007; de Lange i sar., 2010).

U zemljama EU promet i primena biljnih dodataka hrani za životinje odobravaju se za određenu vrstu životinje, precizira se način njihove primene, a

dozvola za promet se izdaje na deset godina (EC No 1831/2003). Prema ovoj regulativi koja sadrži listu odobrenih dodataka, eugenol i izoeugenol svrstani su u kategoriju aditiva koji utiču na ukus ili boju hrane, odnosno povećavaju njenu palatabilnost.

Efikasnost i bezbednost biljnih preparata kod ciljnih vrsta životinja često su nedovoljno klinički ispitane jer prema zakonskim propisima oni mogu da se označe kao tradicionalni biljni lekovi ili dijetetski suplementi za čiji promet nije potrebna dozvola agencije za lekove (WHO, 1996, 1999; Calixto, 2000; SI glasnik RS, 2010). S obzirom na to da eugenol, sintetska aktivna komponenta etarskog ulja karanfilića (*Caryophylli aetheroleum*), ima brojna farmakološka, mikrobiološka i nutritivna dejstva koja omogućavaju njegovu široku primenu u veterinarskoj i humanoj medicini, ispitivanje njegovog uticaja na hematološke parametre ima za cilj da ustanovi bezbednost po zdravlje, odnosno utvrdi mogući hemotoksičan efekat posle produžene peroralne primene. Iako je ova vrsta ispitivanja primarna za utvrđivanje bezbednosti, u literaturi je malo podataka, i to kontroverzних. Negativan uticaj eugenola na hematološke parametre je prvi znak njegove loše sistemske podnošljivosti, koja ograničava dužinu primene i korišćenje većeg raspona doza.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivanje uticaja eugenola na hematološke parametre izvedeno je na 72 pacova muškog pola soja vistar, starosti oko tri meseca i prosečne telesne mase $227,02 \pm 26,37$ g. Period adaptacije životinja pre uvođenja u eksperiment trajao je sedam dana. Ogled je izveden na šest grupa pacova, po 12 jedinki u svakoj. Četiri grupe dobijale su eugenol u različitim dozama, peta je tretirana vehikulom (kontrolna grupa – K), a šesta je bila netretirana, apsolutno kontrolna (AK). Pacovi su boravili u kavezima od pleksiglasa (po šest životinja u svakom), u vivarijumu sa prirodnim svetlošću, temperaturom od 18°C do 24°C i relativnom vlagom vazduha 50% – 70%. Hrana i voda bile su im na raspolaganju bez ograničenja. Tokom celog ogleda sa životinjama je postupano u skladu sa etičkim principima Pravilnika o radu sa životinjama Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu (2008).

Prva grupa pacova dobijala je eugenol u dozi od 10 mg/kg telesne mase, druga u dozi od 50 mg/kg tm, treća eugenol u dozi od 200 mg/kg tm i četvrta grupa u dozi od 400 mg/kg, peroralno, svakodnevno, tokom četiri nedelje. Etanolni 50% rastvor eugenola (Essentico, Kula) razblaživan je metil-celulozom (sa udelom mase od 0,5%), propilen-glikolom (20%) i vodom do rastvora koji u volumenu od 100 ml sadrži 1 g, 5 g, 20 g i 40 g eugenola. Odgovarajući rastvor eugenola i vehikula aplikovani su gastričnom sondom u zapremini od 1 ml/100 g telesne mase pacova. Kontrolna grupa pacova dobijala je 1 ml/100 g telesne mase vehikulum sastavljen iz metil-celuloze, etanola, propilen-glikola i prečišćene

vode (0,5%, 10%, 20% i prečišćena voda do 100%). Apsolutna kontrolna grupa pacova nije tretirana. Dalji postupak (smeštaj, ishrana, pregledi) sa pacovima svih grupa bio je identičan.

Od svih pacova uzimano je po 1 ml krvi punkcijom srca 14. i 28. dana oglada. Uzorci krvi za hematološka ispitivanja sakupljani su u epruvete sa dodatkom EDTA (etilen-diamino-tetra-sirćetna kiselina). Određivani su hematološki parametri – broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, hematokrit, prosečna vrednost zapremine eritrocita (MCV), prosečna vrednost koncentracije hemoglobina (MCH), broj leukocita, leukocitna formula i broj trombocita. Korišćen je aparat Arcus (automatski digitalni analajzer 18 hematoloških parametara proizvođača Diatron, Austrija).

Rezultati su statistički obrađeni primenom mera varijacije. Za testiranje statističke značajnosti razlika srednjih vrednosti ispitivanih parametara između grupa pacova primenjena je analiza varijance i Tukey test. Statistička obrada podataka urađena je primenom Excell 2007 (MS Office 2007, Microsoft Corporation).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Uticaj eugenola na broj eritrocita kod pacova /

The influence of eugenol on erythrocyte count in rats

Prosečan broj eritrocita kod kontrolnih grupa pacova (AK, K) i grupa tretiranih eugenolom (10, 50, 200 i 400 mg/kg/dan) ustanovljen dve i četiri nedelje posle početka eksperimenta nije se statistički značajno razlikovao (tabele 1 i 2). Sve testirane doze eugenola prouzrokovale su neznatno povećanje broja eritrocita, kako posle dvonedeljne tako i posle četvonedeljne primene, u odnosu na kontrole. Slična, neznatna, razlika u broju eritrocita zapažena je između 14. i 28. dana ispitivanja u svakoj grupi tretiranoj eugenolom (tabele 1 i 2). Prosečan broj eritrocita kod grupa pacova tretiranih eugenolom ustanovljen 14. dana oglada kretao se od $3,90 \times 10^{12}/l$ (200 mg/kg/dan) do $4,41 \times 10^{12}/l$ (10 mg/kg/dan). Posle četiri nedelje tretmana najniža doza eugenola prouzrokovala je najveće povećanje broja eritrocita, $4,61 \times 10^{12}/l$, a nešto manje, $4,58 \times 10^{12}/l$, najviša ispitivana doza. Prosečno neznatno povećanje broja eritrocita nije zavisilo od veličine primenjene doze, niti od dužine tretmana.

Prosečan broj eritrocita kod kontrolnih grupa pacova ustanovljen 14. i 28. dana kretao se od $3,90 \times 10^{12}$ do $4,05 \times 10^{12}/l$ i u saglasnosti je sa rezultatima nekih drugih autora ($4,44 \times 10^{12}$ do $5,10 \times 10^{12}/l$) (Widman, 1980; Dacie i Lewis, 1991; Eastham i Slade, 1993; Ikpi i Nku, 2008; Antai i sar., 2009), ali je niži od referentnih vrednosti ($5,4 \times 10^{12}$ do $8,5 \times 10^{12}/l$) za pacove soja vistar (Jain, 1993; Pritchett i Corning, 2004; Liberati i sar., 2004).

Dobijeni rezultat ispitivanja uticaja eugenola na prosečan broj eritrocita u našem ogledu u saglasnosti je sa literaturnim podacima koji pokazuju da eugenol primenjivan u hrani u koncentraciji od 0,1% do 1,0% tokom četiri meseca

Table 1. Hematološki parametri kod kontrolnih pacova i pacova tretiranih eugenolom tokom 14 dana /
Table 1. Haematological parameters in control rats and those treated with eugenol for 14 days

Tretman / Treatment	AK / Absolute control	K / Control	10 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
Broj eritrocita / RBC count (x10 ¹² /l)	4,05±0,23	4,29±0,16	4,41±0,28	4,23±0,44	3,90±0,48	4,31±0,31
Koncentracija hemoglobina / Hb concentration (g/l)	74,00±5,00	74,33±6,01	81,33±5,48	75,20±8,51	74,60±8,95	81,25±6,49
MCH (pg)	18,35±0,25	17,30±0,78	18,50±0,29	17,74±0,40	19,24±0,28*	18,82±0,22
MCV (fl/l)	61,65±0,45	58,63±1,74	58,85±0,93	57,82±1,04	59,48±0,45	58,78±0,85
PCV (%)	25,0±1,6	25,2±1,7	26,0±1,8	24,5±2,7	23,2±2,9	25,4±2,0
Broj trombocita / Platelet count (x10 ⁹ /l)	325,00±5,00	583,67±77,57	354,25±31,28	419,60±68,97	357,60±47,76	468,67±72,36

*p<0,05 značajnost u poređenju sa kontrolnim grupama i grupom tretiranom eugenolom u dozi od 50 mg/kg/dan /

*p<0,05 significance in relation to control groups and the group treated with eugenol in a dose of 50 mg/kg/day

Tabela 2. Hematološki parametri kod kontrolnih pacova i pacova tretiranih eugenolom tokom 28 dana /
Table 2. Haematological parameters in control rats and those treated with eugenol for 28 days

Tretman / Treatment	AK / Absolute control	K / Control	10 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
Broj eritrocita / RBC count (x10 ¹² /l)	3,90±0,16	3,90±0,20	4,61±0,20	4,25±0,17	4,35±0,28	4,58±0,17
Koncentracija hemoglobina / Hb concentration (g/l)	73,00±2,48	74,25±2,25	86,25±6,36	74,80±6,93	74,67±6,98	83,90±3,41
MCH (pg)	19,10±0,58	18,78±0,50	18,53±0,60	18,76±0,32	19,98±0,59	19,17±0,37
MCV (fl/l)	63,05±1,38	63,45±2,00	61,70±2,03	60,54±1,04	60,93±1,57	59,07±0,50
PCV (%)	29,30±0,60	30,12±2,5	28,92±0,9	30,91±2,81	27,42±2,20	26,5±1,4
Broj trombocita / Platelet count (x10 ⁹ /l)	555,75±15,2	515,26±47,6	394,75±36,49**	485,60±30,11	403,00±21,0**	528,60±18,79** A

**p<0,01 značajnost u odnosu na apsolutnu kontrolnu grupu, ^Ap<0,01 u poređenju sa grupom tretiranom eugenolom u dozi od 10 i 200 mg/kg/dan /

**p<0,01 significance in relation to the absolute control group, ^Ap<0,01 compared with the group treated with eugenol in doses of 10 and 200 mg/kg/day

kod pacova ne menja broj eritrocita i druge hematološke parametre, odnosno nema hemolitičku aktivnost (Hagan i sar., 1967). Noviji rezultati dobijeni ispitivanjem uticaja vodenog ekstrakta karanfilića (eugenol u dozi od 300 i 700 mg/kg) na broj eritrocita kod pacova pokazuju da tromesečna primena u dozi od 300 mg/kg/dan ne utiče na vrednost ovog parametra, dok doza od 700 mg/kg izaziva značajno ($p < 0,05$) prolazno povećanje broja eritrocita koje nestaje već druge nedelje po prekidu tretmana (Agbaje i sar., 2009).

*Uticaj eugenola na koncentraciju hemoglobina u krvi /
The influence of eugenol on blood haemoglobin concentration in rats*

Eugenol primenjivan 14 i 28 dana u dozama od 10, 50, 200 i 400 mg/kg tm neznatno povećava prosečnu koncentraciju hemoglobina kod pacova u poređenju sa apsolutnom kontrolom i kontrolom tretiranom vehikulumom. Najizraženije povećanje prosečne koncentracije hemoglobina zabeleženo 14. i 28. dana ogleđa bilo je u grupi pacova tretiranoj najnižom dozom eugenola (14. dan 81,33 g/l i 28. dan 86,25 g/l), a nešto manje u grupi tretiranoj najvišom dozom (81,25 g/l i 83,90 g/l), u poređenju sa obema kontrolama. Povećanje nije zavisilo od veličine primenjene doze eugenola, niti od dužine tretmana (tabele 1 i 2).

Najniža koncentracija hemoglobina ustanovljena je kod pacova apsolutne kontrolne grupe, kako 14. (74,00 g/l, tabela 1), tako i 28. dana ogleđa (73,00 g/l, tabela 2). Prosečne koncentracije hemoglobina kod pacova obe kontrolne grupe bile su ispod fizioloških vrednosti za soj Wistar (143 ± 10 g/l) (Liberati i sar., 2004; Ipki i Nku, 2008).

Naši rezultati ispitivanja uticaja eugenola na koncentraciju hemoglobina kod pacova posle četvonedeljnog tretmana slični su sa nalazima dobijenim posle njegove primene u hrani u dozi većoj od 1000 mg/kg/dan, tokom 133 dana (Hagan i sar., 1967), i dozama od 1400 do 4000 mg/kg hrane tokom mesec dana (Hagan i sar., 1965, 1967). Dobijeni rezultati ukazuju na to da eugenol ne menja značajno koncentraciju hemoglobina. Međutim, naši rezultati nisu u saglasnosti sa nalazima dobijenim posle tromesečne p.o. primene vodenog ekstrakta karanfilića (*Syzigium aromaticum*), odnosno eugenola u dozi od 300 i 700 mg/kg, kojima je ustanovljeno da obe doze eugenola prouzrokuju statistički značajno povećanje koncentracije hemoglobina (Agbaje i sar., 2009). Očigledno je da višenedeljna kontinuirana primena eugenola preko gastrične sonde kod pacova prouzrokuje značajno dozno-zavisno povećanje koncentracije hemoglobina u krvi, što nije slučaj kada se daje u hrani (Hagan i sar., 1967). Ovo može da se pripisuje boljoj apsorpciji, odnosno biološkoj raspoloživosti eugenola iz vodenog ekstrakta karanfilića, kako u odnosu na uljno-etanolnu emulziju sa dodatkom metil-celuloze primenjenu u našem eksperimentu, tako i u poređenju sa eugenolom iz hrane. Međutim, postoje podaci koji ukazuju na dobru iskoristljivost eugenola posle mešanja sa hranom kod brojerskih pilića. Dokazano je, takođe, da vodeni ekstrakt iz lišća afričkog bosiljka (*Ocimum gratissimum*), koji sadrži

eugenol, izaziva supresiju hematopoeze (Jimoh i sar., 2008). Ekstrakt aplikovan pacovima svakodnevno tokom četiri nedelje u dozi od 0,2 do 1,6 g/kg tm izazvao je signifikantno smanjenje hematokrita, broja eritrocita i leukocita i pad koncentracija hemoglobina. Autori su izneli pretpostavku da su nastali efekti posledica delovanja saponina prisutnih u listovima bosiljka, zbog čega predlažu da se on, uprkos svojim lekovitim svojstvima, ne koristi kontinuirano duže vreme.

*Uticaj eugenola na prosečnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitima (MCH) /
The influence of eugenol on mean corpuscular haemoglobin (MCH)*

Posle dvonedeljne primene eugenol prouzrokuje značajno povećanje prosečne mase hemoglobina po eritocitu (MCH) kod pacova tretiranih dozom od 200 mg/kg/dan u odnosu na kontrolne i u odnosu na životinje tretirane dozom od 50 mg/kg/dan ($p < 0,05$) (tabela 1). Prosečna vrednost MCH u grupi tretiranoj dozom od 200 mg/kg/dan iznosila je 19,24 pg, dozom od 50 mg/kg/dan 17,74 pg, a u kontroli 17,30 pg. Međutim, posle četvornedeljne primene (tabela 2) eugenol ni u jednoj dozi nije ispoljio ovaj efekat.

Činjenica da povećanje prosečne mase hemoglobina u eritrocitima ustanovljeno 14. dana oglada nije bilo dozno zavisno govori u prilog nespecifičnom hematopoetskom dejstvu eugenola.

*Uticaj eugenola na prosečnu zapreminu eritrocita (MCV) /
The influence of eugenol on mean corpuscular volume (MCV)*

Eugenol primenjivan 14 i 28 dana u dozama od 10, 50, 200 i 400 mg/kg telesne mase ne utiče značajno na prosečnu zapreminu eritrocita u poređenju sa apsolutnom netretiranom grupom, niti sa kontrolnom ($p > 0,05$). Najmanja zapremina eritrocita 14. dana (57,82 fl/l) ustanovljena je u grupi pacova tretiranoj eugenolom u dozi od 50 mg/kg, a 28. dana u dozi od 400 mg/kg (59,07 fl/l) (tabele 1 i 2).

Neznatno povećanje zapremine eritrocita uočeno je 28. dana oglada u svim grupama pacova (kontrolne i grupe tretirane eugenolom). Povećanje ne zavisi od veličine primenjene doze, niti od dužine tretmana.

*Uticaj eugenola na hematokrit /
The influence of eugenol on packed cell volume (PCV)*

Ispitivane doze eugenola primenjivane tokom dve i četiri nedelje ne menjaju vrednosti hematokrita u odnosu na apsolutnu kontrolnu grupu pacova (25,0% 14. dana i 29,3% 28. dana) (tabele 1 i 2). Najniža ispitivana doza eugenola (10 mg/kg) posle dvonedeljne primene prouzrokuje neznatno povećanje vrednosti hematokrita (26,0%), a 20 puta veća doza neznatno smanjenje (23,2%). Na kraju ispitivanja, vrednosti hematokrita bile su najmanje posle primene eugenola u dozi od 400 mg/kg/dan, a najveće posle doze od 50 mg/kg/dan.

Činjenica je da su u ovom ispitivanju i kod kontronih grupa pacova ustanovljene niže vrednosti hematokrita od referentnih, koje se kreću od 37% do 49% (Pritchett i Corning, 2004).

Poređenjem vrednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita kod pacova, posle primene eugenola u svim ispitivanim dozama tokom dve i četiri nedelje, nije ustanovljen njegov negativan uticaj na hematopoezu, niti hemolitička aktivnost. Dobijeni rezultati ispitivanja uticaja eugenola na hematokrit u ovom ogledu kontradiktorni su sa rezultatima Agbaje i saradnika (2009), koji su ustanovili da vođeni ekstrakt karanfilića (odgovara dozama eugenola od 300 i 700 mg/kg) primenjivan tokom dve nedelje dovodi do značajnog prolaznog povećanja hematokrita kod pacova.

Uticaj eugenola na broj trombocita /

The influence of eugenol on thrombocyte number

Eugenol primenjivan u dozama od 10, 50, 200 i 400 mg/kg/dan tokom 14 dana nema značajan uticaj na broj trombocita (tabela 1). Međutim, posle četvoronedeljne primene prouzrokuje značajne razlike ($p < 0,01$, tabela 2). Doze od 10 mg/kg/dan i 200 mg/kg/dan dovode do statistički značajnog smanjenja broja trombocita u odnosu na apsolutnu kontrolu ($555,75 \times 10^9/l$), dok najviša ispitivana doza (400 mg/kg) izaziva značajno povećanje ($528,60 \times 10^9/l$) u odnosu na vrednosti kod pacova tretiranih dozama od 10 mg/kg ($394,75 \times 10^9/l$) i 200 mg/kg ($403,00 \times 10^9/l$, $p < 0,01$).

Promene broja trombocita izazvane eugenolom posle četvoronedeljne p.o. primene bile su kvalitativno različite i nisu zavisile od veličine primenjene doze, niti od dužine tretmana. Takođe, broj trombocita kod kontrolnih grupa pacova i grupa tretiranih eugenolom u dozama od 10, 50 i 200 mg/kg/dan bio je ispod referentnih vrednosti 14. dana oglada. Prosečan broj trombocita ostao je ispod minimalnih referentnih vrednosti i posle četiri nedelje tretmana eugenolom u dozama od 10 i 200 mg/kg/dan. Naši rezultati ispitivanja uticaja eugenola na broj trombocita kod pacova donekle su u saglasnosti sa rezultatima Agbaje i sar. (2009) koji su dokazali da eugenol primenjivan tokom tri meseca u dozi od 300 mg/kg/dan ne utiče na ove krvne elemente, dok doza od 700 mg/kg/dan prouzrokuje značajno povećanje njihovog broja. Ovaj efekat je prolaznog karaktera i nestaje posle dve nedelje od obustavljanja tretmana.

Uticaj eugenola na broj leukocita i diferencijalnu krvnu sliku /

The influence of eugenol on leukocyte number and differential leukocyte count

Eugenol primenjivan tokom 14 dana u svim ispitivanim dozama (10, 50, 200 i 400 mg/kg/dan) prouzrokuje neznatno smanjenje ukupnog broja leukocita u poređenju sa obema kontrolama. Najviša doza eugenola prouzrokuje najizraženije smanjenje broja leukocita ($5,80 \times 10^9/l$), a najmanje smanjenje ustanovljeno je posle primene doze od 200 mg/kg ($7,32 \times 10^9/l$) (tabela 3). Neznatna

Tabela 3. Uticaj eugenola na broj leukocita i diferencijalnu krvnu sliku kod kontrolnih pacova i pacova tretiranih eugenolom tokom 14 dana /

Table 3. The influence of eugenol on the number of leukocytes and differential blood count in control rats and those treated with eugenol for 14 days

Tretman/ Treatment	AK / Absolute control	K / Control	10 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
Broj leukocita / WBC count (x10 ⁹ /l)	8,00±1,90	7,97±1,65	6,25±0,60	6,44±0,77	7,32±0,52	5,80±0,00
Limfociti / Lymphocytes (x10 ⁹ /l)	6,90±2,40	6,57±1,20	5,50±0,50	6,28±0,59,	5,90±0,36	6,13±0,88
Monociti / Monocytes (x10 ⁹ /l)	0,85±0,35	1,07±0,34	0,60±0,09	0,50±0,50	0,50±0,17	1,13±0,19
Granulociti / Granulocytes (x10 ⁹ /l)	0,200±0,10	0,330±0,12	0,225±0,06	0,120±0,05	0,350±0,03	0,383±0,08

Tabela 4. Uticaj eugenola na broj leukocita i diferencijalnu krvnu sliku kod kontrolnih pacova i pacova tretiranih eugenolom tokom 28 dana /

Table 4. The influence of eugenol on the number of leukocytes and differential blood count in control rats and those treated with eugenol for 28 days

Tretman/ Treatment	AK / Absolute control	K / Control	10 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
Broj leukocita / WBC count (x10 ⁹ /l)	8,15±0,39	7,15±0,77	6,95±0,39	7,86±0,46	7,98±0,34	8,36±0,45
Limfociti / Lymphocytes (x10 ⁹ /l)	7,30±0,76	6,20±0,86	6,10±0,25	6,24±0,48	6,38±0,26	6,63±0,44
Monociti / Monocytes (x10 ⁹ /l)	0,90±0,08	0,80±0,17	0,78±0,06	0,60±0,09	0,93±0,15	1,00±0,11
Granulociti / Granulocytes (x10 ⁹ /l)	0,400±0,11	0,350±0,09	0,275±0,08	0,320±0,03	0,550±0,07	0,390±0,08

leukopenija uočena je posle dvonedelnog tretmana pacova eugenolom, nezavisno od veličine primenjene doze. Ustanovljena leukopenija ne bi mogla da se pripíše supresivnom hematopoeznom dejstvu eugenola. Ova tvrdnja potkrepljena je činjenicom da se prosečan broj leukocita povećavao kod svih grupa pacova tretiranih eugenolom posle 28. dana ispitivanja u odnosu na 14. dan (tabele 3 i 4). Eugenol je prouzrokovao neznatno dozno-zavisno povećanje broja leukocita u funkciji vremena. Posle 28. dana ogleda prosečan broj leukocita bio je najmanji u grupi pacova tretiranoj dozom od 10 mg/kg ($6,95 \times 10^9/l$), a najviši u grupi tretiranoj sa 400 mg/kg ($8,36 \times 10^9/l$). Razlike u broju leukocita između pojedinih grupa bile su bez statističke značajnosti do kraja ispitivanja ($p > 0,05$). Prosečne vrednosti ukupnog broja leukocita ustanovljene 14. i 28. dana ogleda kod pacova tretiranih eugenolom, kao i kod kontrolnih grupa bile su u fiziološkim granicama.

Dobijeni rezultati ispitivanja uticaja eugenola na prosečan broj leukocita u našem ogledu u saglasnosti su sa literaturnim podacima koji pokazuju da eugenol primenjivan u hrani u koncentraciji od 0,1% do 1% tokom četiri meseca (Hagan i sar., 1967) i u vodi u dozi od 300 i 700 mg/kg/dan tokom tri meseca ne menja značajno broj leukocita kod pacova (Agbaje i sar., 2009). Eugenol primenjivan tokom dve i četiri nedelje ne utiče značajno na broj limfocita, monocita i granulocita u poređenju sa obema kontrolama (tabele 3 i 4). Naši rezultati ispitivanja uticaja eugenola na diferencijalnu krvnu sliku pacova u saglasnosti su sa nalazima Agbaje i saradnika (2009).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata mogu da se izvedu sledeći zaključci:

1. Eugenol primenjivan p.o. u dozi od 10, 50, 200 i 400 mg/kg/dan tokom dve i četiri nedelje ne utiče značajno na broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, hematokrit, zapreminu eritrocita, broj leukocita i leukocitnu formulu kod pacova.

2. Ispitivane doze eugenola primenjivane tokom četiri nedelje prouzrokovale su promene broja trombocita koje nisu zavisile od veličine primenjene doze, niti od dužine tretmana. Doze od 10 i 200 mg/kg značajno su smanjivale broj trombocita, a doza od 400 mg/kg značajno povećavala njihov broj.

3. Eugenol primenjivan tokom dve i četiri nedelje nije značajno uticao na prosečan broj limfocita, monocita i granulocita u poređenju sa kontrolnim grupama pacova.

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENT:

Istraživanje je obavljeno uz finansijsku podršku Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, projekata broj 46009 i 46002. /

Investigations were carried out with financial support from the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia, projects number 46009 and 46002.

Literatura / References

1. Agbaje EO, Adeneye AA, Daramola AO. Biochemical and toxicological studies of aqueous extract of *Syzigium aromaticum* (L) Merr. & Perry (Myrtaceae) in rodents. *Afr J Trad Complement Altern Med* 2009; 6(3): 241-54.
2. Antai AB, Ofem OE, Ikpi DE, Ukafia S, Agiang EA. Phytochemistry and some haematological changes following oral administration of ethanolic root extract of *Gonoloma latifolium* in rats. *Nigerian J Physiol Sci* 2009; 24(1): 79-83.
3. Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res* 2000; 33(2): 179-89.
4. Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi A, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. *Myrtaceae*). *Phytother Res* 2007; 21: 501-6.
5. Dacie JV, Lewis SM. *Practical Haematology*, 7th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh 1991; 37-61, 87-113-213, 535-44.
6. De Lange CFM, Pluske J, Gong J, Nyachoti CM. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest Sci* 2010; 134: 124-34.
7. Gong J, Yu H, Liu T, Li M, Si W, de Lange CFM, Dewey C. Characterization of ileal bacterial microbiota in newly-weaned pigs in response to feeding lincomycin, organic acids or herbal extract. *Livest Sci* 2008; 116: 318-22.
8. Hagan EC, Hansen WH, Fitzhugh OG, Jenner PM, Jones WI, Taylor JM, Long EL, Nelson AA, Brouwer JB. Food flavorings and compounds of related structure II. Subacute and chronic toxicity. *Food Cosmet Toxicol* 1967; 5: 141-57.
9. Hagan EC, Jenner PM, Jones WH, Fitzhugh OG, Long EL, Brouwer JG, Webb WK. Toxic properties of compounds related to safrole. *Toxicol Appl Pharmacol* 1965; 7: 18-24.
10. Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Sci* 2004; 83: 169-17.
11. Ikpi DE, Nku K. Effect of ethanolic extract of *Dennettia tripetala* fruit on haematological parameters in albino wistar rats. *Nigerian J Physiol Sci* 2008; 23(1-2): 13-7.
12. Jain CN. *Essentials of veterinary hematology*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1993.
13. Jimoh ORJ, Olaore J, Olayaki LA, Olawepo A, Biliaminu SA. Effects of aqueous extract of *Ocimum gratissimum* on haematological parameters of Wistar rats. *Biokemistry* 2008; 20(1): 33-7.
14. Lee K, Everts H, Beynen A. Essential oils in broiler nutrition. *Int J Poul Sci* 2004; 3(12): 738-52.
15. Lević J, Sredanović S, Đuragić O, Jakić D, Lević LJ, Pavkov S. New feed additives based on phytochemicals and acidifiers in animal nutrition. *Biotechnol Anim Husbandry* 2007; 23(5-6): 527-34.
16. Liberati AT, Sansone RS, Feustom HM. Hematology and clinical chemistry values in pregnant Wistar Hannover rats compared with normal controls. *Vet Clin Pathol* 2004; 33: 68-72.

17. List of the authorized additives in feedingstuffs published in application of 9b in Concil Directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs (situation as 15 July 2003).
18. Lückstädt C. Acid-phytobiotic blends, a sustainable alternative for feed safety, animal health and natural growth promotion in pig farming. *Feed Mix* 2005; 13(4): 25-7.
19. National Toxicology Program technical report on the carcinogenesis studies of eugenol (CAS No. 97-53-0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed studies), TR 223, NTP publication No. 84-1779, http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr223.pdf (Accessed Febr 22, 2012)
20. Niewold TA. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poultry Sci* 2007; 86: 605-9.
21. Pramod K, Ansari SH, Ali J. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. *Nat Prod Commun* 2010; 5(12): 1999-2006.
22. Pravilnik o kontroli i sertifikaciji u organskoj proizvodnji i metodama organske proizvodnje, Službeni glasnik RS br. 48/11
23. Pritchett KR, Corning BF. Biology and medicine of rats. In: Reuter JD, Suckow MA. (Ed.) *Laboratory animal medicine and management*. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY, 2004.
24. Ratajac R. Ispitivanje efikasnosti eugenola u preveniranju i lečenju infekcija brojlera izazvanih sa *Salmonella enteritidis*. Specijalistički rad, Beograd, 2005.
25. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September on additives for use in animal, Official Journal of the EU, 18.10.2003, L 268/29-43.
26. Seed S, Tariq P. *In vitro* antibacterial activity of clove against gram negative bacteria. *Pak J Bot* 2008; 41: 2157-60.
27. Si W, Gong J, Chanas C, Cui S, Yu H, Caballero C, Friendship RM. *In vitro* assessment of antimicrobial activity of carvacrol, thymol, and cinnamaldehyde towards *Salmonella typhimurium* DT104: effects of pig diets and emulsification in hydrocolloids. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 1282-91.
28. Si W, Gong J, Tsao R, Zhou T, Yu H, Poppe C, Johnson R, Du Z. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *J Appl Microbiol* 2006a; 100: 296-305.
29. WHO-WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, Vol. 1, Geneva, 1999.
30. WHO-Annex II. Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines (WHO Technical Report Series No. 863), Geneva, 1996.
31. Widman FK. Clinical interpretation of laboratory tests. 9th Ed., American Association of Publishers, Washinton DC 1980; 293-5.
32. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Sl. glasnik RS br. 30/2010.
33. Zakon o organskoj proizvodnji i organskim proizvodima, Sl. glasnik RS br. 30/2010.
34. Zhang KY, Yan F, Keen CA, Waldroup PW. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. *Int J Poult Sci* 2005; 4(9): 612-9.

ENGLISH

EFFECT OF EUGENOL ON HEMATOLOGICAL PRAMETERS IN RATS

**Milanka Jezdimirović, Nevenka Aleksić, Mirjana Milovanović, Dragica Stojanović,
N. Jezdimirović, D. Đurđević, Jasna Kureljušić**

Investigations covered the possible hematotoxic effect of eugenol in rats following two-week and four-week continuous p.o. application. An experiment was conducted on 72 male Wistar rats divided into six groups. Four groups were treated with different doses of eugenol (10 mg/kg bm/day, 50 mg/kg/day, 200 mg/kg/day and 400 mg/kg bm/day), the control group was administered a vehiculum (0,5 % methylcellulose, 20 % propylene glycol and water), and the sixth group was the absolute untreated control. Eugenol and the vehiculum were administered using a gastric probe in a volume of 1 ml/100 g body mass of rat. Blood was sampled using cardiac puncture on days 14 and 28 of the experiment in order to determine hematological parameters (hematocrit, number of erythrocytes, MCV, haemoglobin concentration, MCH, number of leukocytes, leukocyte formula, and number of thrombocytes).

The results have shown that eugenol administered over 14 and 28 days in doses of 10, 50, 200 i 400 mg/kg bm/day has no hemolytic activity. Furthermore, administered over four weeks, it does not significantly affect the number of erythrocytes, haemoglobin concentration, hematocrit, erythrocyte volume, number of leukocytes, and the leukocyte formula. Applied over two weeks, eugenol causes a significant increase in the mass of haemoglobin per erythrocyte, in comparison with controls. This effect is non-specific and does not depend on the dose or on the duration of treatment. The eugenol doses of 10 and 200 mg/kg/day administered over a period of four weeks result in a statistically significant reduction in the number of thrombocytes in comparison with the absolute control, while the highest investigated dose (400 mg/kg) causes a significant increase in comparison with the numbers for rats treated with a dose of 10 and 200 mg/kg/day. The changes in thrombocyte number caused by eugenol are qualitatively different and depend neither on the dose nor on the duration of treatment.

Eugenol applied over two or four weeks does not exhibit a significant influence on the number of lymphocytes, monocytes or granulocytes.

Key words: eugenol, haematotoxicity, erythrocytes, leukocytes, rat

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ЭУГЕНОЛА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У КРЫС

**Миланка Ездимирович, Невенка Алексич, Миряна Милованович,
Драгица Стоянович, Н. Ездимирович, Д. Джурджевич, Ясна Курелюшич**

Испытыван возможный гематологический эффект эугенола у крыс после двухнедельного и четырёхнедельного непрерывного р.о. применения. Опыт сделан на 72 самца крыс штамма Wistar, разделенных в шесть групп. Четыре группы третируемые с различными дозами эугенола (10 мг/кг мт/день, 50 мг/кг/

день, 200 мг/кг/день и 400 мг/кг мт/день), контрольная группа получала вехикулум (0,5% метил-целлюлоза, 20% пропилен-гликол и вода), а шестая была абсолютный, нетретируемый, контроль. Эугенол и вехикулум апплицированы гастрическим зондом в объёме от 1 мл/100 г массы тела крыс. Кровь образчиков кардиальной пункцией 14 и 28 дней опыта с целью определения гематологических параметров (гематокрит, число эритроцитов, МЦВ, концентрация гемоглобина, МЦХ, число лейкоцитов, лейкоцитная формула и число тромбоцитов).

Результаты показали, что эугенол применялся в течение 14 и 28 дней в дозах от 10, 50, 200 и 400 мг/кг мт/день не имеет гемолитическую активность. Также, применялся в течение четыре недели не влияет значительно на число эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, ёмкость эритроцитов, число лейкоцитов и лейкоцитную формулу. Эугенол применялся в течение две недели вызывает значительное увеличение массы гемоглобина по эритроциту в отношении контроля. Этот эффект неспецифический и не зависит от дозы, ни от длины лечения. Дозы эугенола от 10 и 200 мг/кг/день применялись в течение четыре недели вызывают статистически значительное уменьшение числа тромбоцитов в отношении абсолютного контроля, пока самая большая испытываемая доза (400 мг/кг) вызывает значительное увеличение в сравнении с числом у крыс, третируемых дозой от 10 и 200 мг/кг/день. Изменения числа тромбоцитов, вызванные эугенолом качественно различались и не зависят ни от дозы, ни от длины лечения.

Эугенол применялся в течение двух и четырёх недель не проявляет значительное влияние на число лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов.

Ключевые слова: эугенол, гематотоксичность, эритроциты, лейкоциты, крыса

**UPOREDNO ISPITIVANJE IMUNOLOŠKOG ODGOVORA
TELADI U RAZLIČITIM INTERVALIMA IZMEĐU PRIMARNE
I SEKUNDARNE IMUNIZACIJE INAKTIVISANOM VAKCINOM
PROTIV GOVEĐEG HERPES VIRUSA-1***

***COMPARATIVE INVESTIGATIONS OF IMMUNE RESPONSE OF
CALVES AT DIFFERENT INTERVALS BETWEEN PRIMARY AND
SECONDARY IMMUNIZATION USING INACTIVATED BOVINE
HERPESVIRUS 1 VACCINE***

**D. Bugarski, T. Petrović, S. Boboš, Dubravka Milanov, D. Orlić,
M. Radinović, S. Lazić****

Goveđi herpesvirus-1 (BHV-1) je jedan od značajnijih uzročnika infekcija respiratornog sistema goveda i u suzbijanju ove infekcije imuno-profilaksa ima ključnu ulogu. Intenzitet imunološkog odgovora protiv BHV-1 nakon imunizacije inaktivisanim komercijalnim vakcinama varira zavisno od vrste vakcine, ali se generalno smatra da pružaju dobru zaštitu od razvoja kliničkog oblika infekcije i da su bezbedne. U radu je prikazan razvoj humoralnog imunološkog odgovora kod teladi u tovu koja su imunizovana protiv goveđeg herpesvirusa-1 (BHV-1) u različitim intervalima između primarne i sekundarne imunizacije. Telad je vakcinisana komercijalnom vakcinom, a zatim podeljena u dve grupe koje su revakcinisane 14, odnosno 21. dana. Tokom 120 dana trajanja ogleda, krv i nosna sluz su uzorkovani 11 puta. Uzorci krvnih seruma su ispitani na antitela za BHV-1 testom neutralizacije virusa (VN), a uzorci nosne sluzi VN testom i ELISA metodom. Nakon revakcinacije utvrđen je porast titra antitela u krvi svih oglednih životinja i on se održao na visokom nivou sve do kraja ispitivanja (120. dan). U krvnim serumima, srednje vrednosti titra antitela utvrđene su 30. dana kod grupe revakcinisane 14. dana i 45. dana kod grupe revakcinisane 21. dana. U nosnoj sluzi,

* Rad primljen za štampu 19. 03. 2012. godine

** Dejan Bugarski, T. Petrović, Naučni institut za veterinarstvo "Novi sad", Novi Sad; S. Boboš, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; Dubravka Milanov, D. Orlić, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; M. Radinović, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; S. Lazić, Naučni institut za veterinarstvo „Novi sad”, Novi Sad

testom neutralizacije virusa, antitela su najranije utvrđena 14 dana posle vakcinacije, a ELISA metodom tek nakon revakcinacije. Najviši titar antitela u nosnoj sluzi utvrđen je 45. dana u grupi revakcinisanoj 21. dana i 120. dana u grupi revakcinisanoj 14. dana. U odnosu na utvrđene vrednosti titra antitela, revakcinacija teladi inaktivisanom vakcinom protiv BHV-1 može se izvesti već 14. dana.

Ključne reči: anti BHV-1 vakcine, revakcinacija, antitela

Uvod / Introduction

Govedi herpesvirus-1 (BHV-1) je jedan od značajnijih uzročnika infekcija respiratornog sistema goveda i u suzbijanju ove infekcije imunoprofilaksa ima ključnu ulogu (Jones i Chowdhury, 2008). Razvoj različitih tipova vakcina protiv BHV-1 je konstantan od pedesetih godina XX veka, a klasične atenuirane i inaktivisane vakcine i dalje imaju svoju primenu, naročito u preventivi respiratornog sindroma junadi u tovu. Intenzitet imunog odgovora protiv BHV-1 nakon imunizacije inaktivisanim komercijalnim vakcinama varira zavisno od vrste vakcine, ali se generalno smatra da pružaju dobru zaštitu od razvoja kliničkog oblika infekcije i da su bezbedne (Soulebot i sar., 1982; Patel, 2005). Nedostatak zbog kojeg se inaktivisane vakcine smatraju manje efikasnim, odnosi se na duži vremenski period potreban da se postigne odgovarajuća zaštita (Van Drunen Littel – Van Den Hurk i sar. 1993), a kod teladi koja su tek primljena u tovilište, neophodno je obezbediti odgovarajuću zaštitu u najkraćem vremenu. Imunološki odgovor na inaktivisane vakcine odlikuje stvaranje pretežno IgG₁ izotipa, niska proliferacija limfocita i niska koncentracija interferona (Pontarollo i sar., 2002). Revakcinacijom se postiže pojačano stvaranje antitela i povećanje njihovog aviditeta (Özkul i sar., 2008), što je takođe od značaja u zaštiti od virusnih infekcija (Delgado i sar., 2009). Stoga se u praksi postavlja pitanje koji je vremenski interval potreban između primarne i sekundarne imunizacije kako bi se postigla željena zaštita u što kraćem vremenu. Interval između vakcinacije i revakcinacije protiv BHV-1 nije tačno definisan i proizvođači vakcina daju različite preporuke, ali se smatra da ne treba da bude kraći od 30 dana (Patel, 2005; Straub, 2007). Dosadašnja praksa u pogledu sekundarne imunizacije protiv BHV-1 se svodi na različito određivanje vremena između dve imunizacije atenuiranim ili inaktivisanim vakcinama – 3 nedelje (Lazić i sar., 2001; Castrucci i sar., 2002; Salt i sar., 2007; Stillwel i sar., 2008), 4 nedelje (Kaashoek i sar., 1995; Patel i sar., 2005) ili duže (Petzhold i sar., 2001). Cilj ovog rada je praćenje razvoja humoralnog imunološkog odgovora kod teladi u tovu primenom inaktivisane anti BHV-1 vakcine u različitim intervalima revakcinacije.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogledne životinje / Experimental animals

Ispitivanja su izvedena na teladi simentalске rase uzrasta 4-5 meseci i prosečne telesne mase između 200 kg i 250 kg. Dvadeset šest teladi je podeljeno u 3 grupe – po 10 u dve ogledne grupe i 6 u kontrolnoj grupi. Telad je smeštena u izolovan prostor komercijalnog tovilišta. U uzorcima krvnih seruma sve teladi pre početka ogleda nije utvrđeno prisustvo antitela protiv BHV-1.

Imunizacija / Immunization

Telad oglednih grupa je vakcinisana supkutanom aplikacijom 5 mL vakcine Respi-ol® (Veterinarski zavod Subotica) prema uputstvu proizvođača. Vakcina sadrži inaktivisane viruse BHV-1 i Pi-3. U obe ogledne grupe vakcinacija je izvršena istog dana, a revakcinacija 14. dana (grupa S/c14) i 21. dana (grupa S/c21). Telad kontrolne grupe nije vakcinisana.

Uzorkovanje materijala za ispitivanje / Sampling of material for investigations

Kod teladi iz oglednih grupa, krv i nosna sluz su uzorkovani prvi put na dan vakcinacije (0 dan). U grupi S/c14, uzorkovanje je ponovljeno 4, 8, 14, 17, 19, 21, 28, 30, 45. i 120. dana ogleda, a u grupi S/c21 4, 8, 14, 21, 24, 26, 28, 30, 45. i 120. dana. Od teladi kontrolne grupe uzorci su uzeti 0, 14, 21, 30, 45. i 120. dana. Ovakav raspored uzorkovanja je uslovljen ispitivanjem pojave antitela u krvi i nosnoj sluzi nakon vakcinacije i revakcinacije i njihovom perzistencijom.

Krv je uzorkovana punkcijom v. *jugularis*, a nosna sluz upotrebom sterilnih tampona od sunđera, dimenzija 7 cm x 3 cm x 2,5cm. Tamponi su ubacivani u jednu nozdrvu odakle su vađeni nakon 10 minuta. Sluz je zatim ceđena u sterilne epruvete. Uzorci sluzi u kojima je bilo primesa krvi nisu uzimani za ispitivanje, već je postupak uzorkovanja bio ponovljen iz druge nozdrve.

U laboratoriji su uzorci nosne sluzi centrifugirani 10 minuta na 3000 obrtaja na sobnoj temperaturi. Svi uzorci nosne sluzi i krvnih seruma su do početka ispitivanja čuvani na - 22°C.

Utvrđivanje antitela protiv BHV-1 / Establishing antibodies against BHV-1

Specifična antitela protiv BHV-1 u uzorcima krvnih seruma određivana su metodom virus-neutralizacije (VN), a u nosnoj sluzi VN i ELISA metodom. Za izvođenje metode VN korišćene su MDBK (Madin-Darby Bovine Kidney) ćelije supkultivisane 72 časa, tretirane rastvorom tripsin EDTA i resuspendovane u hranljivom medijumu za rast kultura ćelija (Eagel MEM, SIGMA Aldrich, USA) sa 10% fetalnog telećeg seruma. Koncentracija resuspendovanih ćelija koja je korišćena u radu je iznosila 300.000 ćelija u 1 ml medijuma. Za izvođenje VN korišćen je TN-41 laboratorijski soj virusa BHV-1 (American Bio Research, USA). Titar virusa se kretao između 10^5 i 10^6 TCID₅₀ u mL. Za potrebe VN upotreblja-

vano je 100 – 200 TCID₅₀ radnog virusa u 0,1 mL suspenzije. Uzorci krvnih seruma su inaktivisani na temperaturi od 56°C u trajanju od 30 minuta, zatim titrirani u dvostrukim razređenjima od 1 : 2 do 1 : 256. Ispitivana razređenja seruma su sa dodatim radnim virusom inkubirana tokom 1 sata na 37°C. Nakon isteka ovog perioda na mešavinu virusa i seruma u svaki bazenčić na mikrotitar ploči su dodavane MDBK ćelije u suspenziji od 300.000 u 1 ml i u količini od 100 µl. Nakon ovih postupaka mikrotitar ploča sa uzorcima je inkubirana na 37°C u toku 3 dana. Nakon 3 dana reakcije su očitavane tako što je kao titar VN antitela uzeta recipročna vrednost krajnjeg razređenja ispitivanog seruma koje je u potpunosti neutralisalo aktivnost radnog virusa. Rezultat ispitivanja virus neutralizacionim testom prikazan je kao logaritamska vrednosti titra specifičnih antitela – log₂ (Sjurin, 1966).

Ispitivanje titra specifičnih antitela u nosnoj sluzi obavljeno je istom metodologijom kao što je opisano za ispitivanje titra u krvi. Za ispitivanje specifičnih antitela protiv BHV-1 u nosnoj sluzi korišćen je i komercijalni ELISA set HerdChek* Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)/Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) gB Antibody ELISA Test Kit IDEXX, po uputstvu proizvođača. Rezultat ispitivanja ELISA metodom je iskazivan kao pozitivan ili negativan nalaz prisustva specifičnih antitela.

Statistička ispitivanja / Statistical investigations

Za obradu dobijenih rezultata korišćeni su metodi deskriptivne statistike, Anderson-Darlingov test normalnosti, za ispitivanje značajnosti razlika neparametrijski Mann-Witney-Wilcoxon test, a korelacija između titra antitela u krvi i nosnoj sluzi određivana je neparametrijskim Spirmanovim testom. Statistička obrada podataka je vršena računarskim programom EduStat 2.04. Kao statistički značajna smatrana je vrednost $p < 0.05$.

Rezultati ispitivanja / Investigation results

Nakon imunizacije ni kod jednog teleta se nisu pojavile sistemske promene zdravstvenog stanja, dok se na mestu aplikacije kod pojedinih životinja razvio slab, netemperiran otok koji se spontano povukao kroz nekoliko dana.

U tabeli 1 prikazan je broj životinja sa nalazom antitela protiv BHV-1 posle supkutane imunizacije kod obe ogledne grupe. Primarna vakcinacija je rezultirala pojavom antitela u krvi 14. dana nakon vakcinacije kod ukupno 40% životinja, a 21. dana od vakcinacije u grupi S/c21 antitela u krvi su prisutna kod 90% teladi. Revakcinacija izvršena 14. dana izazvala je jak buster efekat i 17. dana od početka oglada kod sve teladi grupe S/c14 utvrđena su antitela u krvi. Ipak, posle 28. dana kod jednog teleta nije bilo moguće utvrditi titar antitela u krvi sve do kraja oglada. Kod teladi grupe S/c 21, specifična antitela za BHV-1 ustanovljena su 30. dana od početka oglada kod svih jedinki. I u ovoj grupi 120. dana nisu utvrđena antitela u krvi jedne životinje.

Tabela 1. Broj životinja sa nalazom specifičnih antitela u krvnom serumu i nosnoj sluzi re-vakcinisanih 14. odnosno 21. dana./

Table 1. Number of animals with findings of specific antibodies in blood serum and nasal mucus, revaccinated on day 14 or 21

Dani ogleda / Day of experiment	Broj životinja sa utvrđenim specifičnim antitelima / Number of animals with established specific antibodies					
	S/c14 (N10)			S/c21 (N10)		
	Nosna sluz / Nasal mucus		Krv / Blood	Nosna sluz / Nasal mucus		Krv / Blood
	ELISA	VN	VN	ELISA	VN	VN
0.	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0
8.	0	0	0	0	0	0
14.	0	1	4	0	1	4
17.	0	2	0	-	-	-
19.	0	3	10	-	-	-
21.	3	2	10	0	6	9
24.	-	-	-	1	2	8
26.	-	-	-	1	4	8
28.	6	1	9	1	2	9
30.	7	0	9	5	2	10
45.	3	2	9	6	7	10
120.	4	5	9	8	8	9

Dan revakcinacije / Day of revaccination; - - nije vršeno uzorkovanje / no samples were taken

U obe ogleadne grupe, prosečna vrednost titra antitela u krvi raste nakon revakcinacije (tabela 2). Statistički značajan porast titra antitela utvrđen je 5. i 7. dana u grupi S/c14 i 7. dana u grupi S/c21 ($p < 0,05$). Poređenjem vrednosti dve ogleadne grupe, značajna razlika je utvrđena jedino 21. dana ogleda ($p < 0,05$).

Posle primarne vakcinacije, antitela su u nosnoj sluzi prvi put utvrđena VN metodom 14. dana posle imunizacije kod 10% životinja, a u grupi S/c21 do revakcinacije antitela su u nosnoj sluzi prisutna kod 60% teladi (tabela 1). Do revakcinacije ELISA metodom nisu utvrđena antitela u nosnoj sluzi ni u jednoj grupi. Sedam dana posle revakcinacije izvršene 14. dana, ELISA metodom su utvrđena prva antitela u nosnoj sluzi, a u grupi revakcinisanoj 21. dana samo kod jedne životinje sve do 30. dana ogleda. Ni u jednom danu antitela u nosnoj sluzi nisu utvrđena kod svih imunizovanih životinja. Maksimalan broj životinja sa nalazom antitela u nosnoj sluzi utvrđen je u grupi revakcinisanoj 21. dana 120. dana ogleda (80%) primenom obe metode.

Tabela 2. Titar antitela ($\log_2$) u krvnom serumu subkutano imunizovanih i revakcinisanih 14. odnosno 21. dan /

Table 2. Antibody titer ($\log_2$) in blood serum of subcutaneously immunized animals, revaccinated on day 14 or 21

Dani ogleda / Day of experiment	S/c14 (N10)		S/c21 (N10)		Značajnost razlike / Significance of difference
	x	SD	x	SD	
0.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ
4.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ
8.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ
14.	0,5	0,71	0,4	0,52	NZ
17.	0,00	0,00	-	-	NZ
19.	2,5*	1,08	-	-	NZ
21.	2,9*	0,88	1,8	0,92	p<0,05
24.	-	-	1,6	0,97	NZ
26.	-	-	1,6	0,97	NZ
28.	2,9	1,45	2,7*	1,16	NZ
30.	4,0	2,05	3,2	1,23	NZ
45.	3,6	1,71	4,3	1,7	NZ
120.	2,8	1,48	3,9	1,52	NZ

- – nije vršeno uzorkovanje / no samples were taken; * – statistički značajna razlika u odnosu na dan revakcinacije (određivano samo za prva tri uzorkovanja nakon revakcinacije) / statistically significant difference against day of revaccination (determined only for first three samplings following revaccination)

Dan revakcinacije / Day of revaccination; NZ – razlika između dve grupe nije statistički značajna / difference between two groups is not statistically significant

Sedam dana nakon revakcinacije nije utvrđen značajan porast titra antitela u nosnoj sluzi (tabela 3). Povećanje prosečne vrednosti titra antitela u nosnoj sluzi, utvrđeno u grupi S/c21, 45. i 120. dana ogleda, rezultat je povećanja broja jedinki kod kojih su antitela utvrđena u nosnoj sluzi, a ne povećanja vrednosti titra antitela kod pojedine teladi.

Tabela 3. Titar antitela ($\log_2$) u nosnoj sluzi supkutano imunizovanih i revakcinisanih 14. odnosno 21. dana /

Table 3. Antibody titer ($\log_2$) in nasal mucus of subcutaneously immunized animals, revaccinated on day 14 or 21

Dani ogleda / Day of experiment	S/c14 (N10)		S/c21 (N10)		Značajnost razlike / Significance of difference
	x	SD	x	SD	
0.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ
4.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ
8.	0,00	0,00	0,00	0,00	NZ

nastavak tabele 3 / *cont. Table 3*

Dani ogleda / <i>Day of experiment</i>	S/c14 (N10)		S/c21 (N10)		Značajnost razlike / <i>Significance of difference</i>
	x	SD	x	SD	
14.	0,1	0,32	0,1	0,32	NZ
17.	0,2	0,42	-	-	NZ
19.	0,3	0,48	-	-	NZ
21.	0,3	0,67	1,00	1,05	NZ
24.	-	-	0,3	0,67	NZ
26.	-	-	0,7	0,95	NZ
28.	0,2	0,63	0,3	0,67	NZ
30.	0,00	0,00	0,3	0,67	NZ
45.	0,2	0,42	1,50	1,08	p<0,05
120.	1,00	1,15	1,3	1,16	NZ

- – nije vršeno uzorkovanje / *no samples were taken*; **Dan revakcinacije** / *Day of revaccination*; NZ – razlika nije statistički značajna / *difference is not statistically significant*

Između titra antitela u krvi i nosnoj sluzi nije utvrđena statistički značajna korelacija.

Kod teladi kontrolne grupe nisu utvrđena specifična antitela protiv BHV-1.

Diskusija / *Discussion*

Prisustvo BHV-1 infekcije kod goveda u pojedinim područjima i dalje čini imunoprofilaksu protiv ove infekcije opravdanom merom (Kamaraj i sar., 2009). Savremene vakcine stvaraju uglavnom jak humoralni, a slabiji ćelijski imunološki odgovor, te se smatra da je uspeh vakcinacije srazmeran sposobnosti stvorenih neutralizirajućih antitela da pruže zaštitu (van Drunen Littel – van den Hurk, 2006). Ispitivanja sa atenuiranim vakcinama protiv BHV-1 pokazala su da je i jednostruka imunizacija dovoljna da pruži zaštitu od kliničkog razvoja infekcije (Makoschey i sar., 2006), ali za inaktivisane vakcine je neophodna revakcinacija (Patel, 2005). Svojstvo imunološkog pamćenja se koristi u imunoprofilaksi kako bi se sekundarnom imunizacijom pojačao imunološki odgovor i time obezbedio veći stepen zaštite i njena dugotrajnost (Pulendran i Ahmed, 2006).

U ovom ispitivanju, u prvim danima nakon imunizacije nisu utvrđena specifična antitela, što ukazuje na to da pre vakcinacije telad nije bila u dodiru sa BHV-1 i da se po vakcinaciji razvija primarni imunološki odgovor. Prvi nalaz specifičnih antitela u krvi utvrđen je 14. dana posle imunizacije, što je u skladu sa drugim ispitivanjima supkutane imunizacije inaktivisanim BHV-1 vakcinama

(Kaashoek i sar., 1995; Patel, 2005; Del Medico Zajac i sar., 2006), iako su ona pojedinačno dokazivana i 7. dana od vakcinacije (Fulton i sar., 1995).

Jasan buster efekat u ovom ogledu je dobijen 5. dana nakon revakcinacije izvršene 14. dana, odnosno 7. dana u slučaju revakcinacije 21. dana oglada. Prvi nalaz specifičnih antitela u nosnoj sluzi dobijen je VN testom 14. dana, a ELISA metodom tek nakon revakcinacije. Antitela u nosnoj sluzi supkutano imunizovane teladi poreklom su iz krvotoka, odakle dospevaju na površinu sluzokože, a utvrđena su i u drugim ispitivanjima u kojima je vršena imunizacija inaktivisanom vakcinom protiv BHV-1 (Del Medico Zajac i sar., 2006). U grupi revakcinisanoj 21. dana oglada, 45. dana oglada je dobijen statistički značajno viši titar antitela nego u grupi revakcinisanoj 14. dana posle primarne vakcinacije i kod većeg broja jedinki je utvrđeno prisustvo antitela u nosnoj sluzi. Poreklo ovih antitela je iz krvotoka i intenzitet njihovog prelaska na površinu sluzokože je uslovljen uticajem više činilaca (Persson i sar., 1998). Stoga je teško reći da li je tokom oglada na povremene intenzivnije prodore antitela iz krvotoka na površinu sluzokože uticao još neki činilac (koji nije razmatran). Takođe, u literaturi se navode nedoumice oko tehnika uzorkovanja nosne sluzi i kakav je uticaj primenjene tehnike uzorkovanja na nalaz antitela u uzorcima (Jericho i Babiuk, 1983).

Dobijena razlika u detekciji antitela različitim metodama može se tumačiti kao prisustvo različitih klasa imunoglobulina koji se pojavljuju sa razvojem imunološkog odgovora. Virus-neutralizacija dokazuje antitela svih izotipova, dok većina komercijalnih ELISA testova ne otkriva specifična IgM i IgA antitela, koja se prva javljaju (Kramps i sar., 1993). S druge strane, neutralizirajuća antitela čine manju frakciju u odnosu na vezujuća antitela koja se dokazuju ELISA metodom (Pinna i sar., 2009). Time se može objasniti veći broj pozitivnih vezujućih antitela utvrđenih ELISA metodom nego VN testom, što je naročito izraženo 30. dana oglada.

Zaključak / Conclusion

Dobijeni rezultati ukazuju na to da u imunoprofilaksi infekcije BHV-1 inaktivisanim vakcinama revakcinacija izvršene 14. ili 21. dana pružaju sličan imunološki odgovor i da se u praksi, ako se uzima u obzir visina titra antitela, može primenjivati revakcinacija 14. dana. Ipak, za pouzdaniju preporuku ovakvog režima revakcinacije potrebna su dalja ispitivanja kako bi se odredila efikasnost u slučaju infekcije.

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENT:

Ispitivanje je izvršeno u okviru projekta pod evidencionim brojem 31084 finansiranog od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. /
Investigations were performed within Project Number 31084 financed by the Ministry for Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Castrucci G, Frigeri F, Salvatori D, Ferrari M, Sardonini Q, Cassai E, Lo DM, Rotola A, Angelini R. Vaccination of calves against bovine herpes virus-1: assesment of the protective value of eight vaccines. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2002; 25(1): 29-41.
2. Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, Melendi GA, Hernandez JZ, Batalle JP, Diaz L, Trento A, Chang HY, Mitzner W, Rawetch J, Melero JA, Irusta PM, Polack FP. Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. *Nat Med* 2009; 15(1): 34-41.
3. Del Medico Zajac MP, Puntel M, Zamorano PI, Sadir AM, Romera SA. BHV-1 vaccine induces cross-protection against BHV-5 disease in cattle. *Res Vet Sci* 2006; 81: 327-34.
4. Fulton RW, Confer AW, Burge LJ, Perino LJ, d'Offay JM, Payton ME, Mock RE. Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. *Vaccine* 1995; 13: 725-33.
5. Jericho KW, Babiuk LA. The effect of dose, route and virulence of bovine herpesvirus 1 vaccine on experimental respiratory disease in cattle. *Can J Comp Med* 1983; 47: 133-9.
6. Jones C, Chowdhury S. A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines. *Anim Health Res Rev* 2008; 8(2): 187-205.
7. Kaashoek MJ, Moerman A, Madic J, Weerdmeester K, Maris-Veldhuis M, Rijsewijk FAM, van Oirschot JT. An inactivated vaccine based on a glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus 1 induces protective immunity and allows serological differentiation. *Vaccine* 1995; 13(4): 342-6.
8. Kamaraj G, Rana SK, Srinivasan VA. Serological response in cattle immunized with inactivated oil and Algel adjuvant vaccines against infectious bovine rhinotracheitis. *New Microbiol* 2009; 32: 135-41.
9. Kramps JA, Quak S, Weerdmeester K, van Oirschot JT. Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vet Microbiol* 1993; 35(1-2): 11-21.
10. Lazić S, Ašanin R, Šajgalik M, Gagić M, Vidić B, Milanov D. Effects of vaccination of highly pregnant cows with anti BHV-1 vaccines: 2. humoral response on the vaccine 'Borinak'. *Acta Veterinaria* 2001; 1(51): 27-34.
11. Makoschey B, Munoz Bielsa J, Didlick S, Patel J. Results from a controled comparative study of two different vaccination schedules with Bovilis®IBR marker. *Proceedings of 24th World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary, 6-10 July 2006*; 31.
12. Özkul A, Demir B, Karaoglu T, Alkan F, Dincer E, Oncel T, Burgu I. Maturation of immunoglobulin G avidity after inactive gE deleted bovine herpes virus type 1 (BHV-1) marker vaccination. *Viral Immunol* 2008; 21(1): 3-11.
13. Patel JR. Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus-1 (BHV-1) vaccine. *Vaccine* 2005; 23: 4054-61.

14. Persson CGA, Erjefalt JS, Greiff L, Erjefalt I, Korsgren M, Linden M, Sundler F, Andersson M, Svensson C. Contribution of plasma-derived molecules to mucosal immune defence, disease and repair in the airways. *Scand J Immunol* 1998; 47(4): 302-13.
15. Petzhold SA, Reckziegel PE, Prado JAP, Teixeira JC, Wald VB, Esteves PA, Spilki FR, Roehe PM. Neutralizing antibodies to bovine herpesviruses types 1 (BHV-1) and 5 (BHV-5) induced by an experimental, oil-adjuvanted, BHV-1 vaccine. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2001; 38(4): 184-7.
16. Pinna D, Corti D, Jarrossay D, Sallusto F, Lanzavecchia A. Clonal dissection of the human memory B-cell repertoire following infection and vaccination. *Eur J Immunol*, 2009; 39: 1260-70.
17. Pontarollo RA, Babiuk LA, Hecker R, Van Drunen Littel-Van Den Hurk S. Augmentation of cellular immune responses to bovine herpesvirus-1 glycoprotein D by vaccination with CpG-enhanced plasmid vectors. *J Gen Virol*, 2002; 83(Pt 12): 2973-81.
18. Pulendran B, Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. *Cell* 2006; 124: 849-63.
19. Salt JS, Thevasagayam SJ, Wiseman A, Peters AR. Efficacy of a quadrivalent vaccine against respiratory diseases caused by BHV-1, PI3V, BVDV and BRSV in experimentally infected calves. *Vet J* 2007; 174(3): 616-26.
20. Sjurin VN. Rukovodstvo po veterinarnoj virusologiji. Moskva: Izdateljstvo „Kolos“, 1966.
21. Soulebot JP, Guillemin F, Brun A, Dubourget P, Espinasse J, Terre J. Infectious bovine rhinotracheitis: study on the experimentally induced disease and its prevention using an inactivated, adjuvanted vaccine. *Dev Biol Stand* 1982; 52: 463-83.
22. Stilwell G, Matos M, Carolino N, Lima MS. Effect of a quadrivalent vaccine against respiratory virus on the incidence of respiratory disease in weaned beef calves. *Prev Vet Med* 2008; 85(3-4): 151-7.
23. Straub KO. From coital exanthema to BHV-1 infections – a scientist's personal history. In: Infection with bovine herpesvirus type 1. In: Lazić SM, Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad, 2007; 19-25.
24. Van Drunen Littel – Van Den Hurk S, Tikoo SK, Liang X, Babiuk LA. Bovine herpesvirus-1 vaccines. *Immunol Cell Biol* 1993; 71(5): 405-20.
25. Van Drunen Littel – Van den Hurk S. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Vet Microbiol* 2006; 113(3-4): 275-82.

ENGLISH

COMPARATIVE INVESTIGATIONS OF IMMUNE RESPONSE OF CALVES AT DIFFERENT INTERVALS BETWEEN PRIMARY AND SECONDARY IMMUNIZATION USING INACTIVATED BOVINE HERPESVIRUS 1 VACCINE

D. Bugarski, T. Petrović, S. Boboš, Dubravka Milanov, D. Orlić, M. Radinović, S. Lazić

Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) is one of the most significant causes of infections of the respiratory tract of cattle and immunoprophylaxis has a key role in curbing this

infection. The intensity of the immune response against BHV-1 following immunization using inactivated commercial vaccines varies depending on the type of vaccine, but it is generally believed that they provide good protection from the development of the clinical form of the infection, and that they are safe. The paper present the development of the humoral immune response in fattening calves that were immunized against bovine herpesvirus 1 (BHV-1) at different time intervals between the primary and the secondary immunization. Calves were administered a commercial vaccine, and then they were divided into two groups which were revaccinated on days 14 or 21. Over a course of the 120 days of the duration of the experiment, blood and nasal mucus were sampled 11 times. The blood serum samples were examined for antibodies to BHV-1 using the virus neutralization (VN) test, and the nasal mucus samples were analyzed using the VN test and the ELISA method. Following revaccination, it was established that there was an increase in the antibody titer in blood of all experimental animals, and it was maintained at a high level up until the very end of the experiment (day 120). In the blood serums, maximum mean values for the antibody titer were determined on day 30 in the group that was revaccinated on day 14, and on day 45 in the group of calves revaccinated on day 21. In nasal mucus, antibodies were established at the earliest, using the virus neutralization test, on day 14 following vaccination, and using the ELISA method only after revaccination. The highest antibody titer in nasal mucus was established on day 45 in the group revaccinated on day 21, and on day 120 in the group revaccinated on day 14. Based on the established antibody titer values, calves can be revaccinated using the inactivated BHV-1 vaccine already on day 14.

Key words: anti BHV-1 vaccines, revaccination, antibodies

РУССКИЙ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПЫТАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА ТЕЛЯТ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИНТЕРВАЛАХ МЕЖДУ ПЕРВИЧНОЙ И ВТОРИЧНОЙ ИММУНИЗАЦИЕЙ ИНАКТИВАЦИОННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ГОВЯЖЕГО ГЕРПЕС ВИРУСА - I

**Д. Бугарски, Т. Петрович, С. Бобош, Дубравка Миланов, Д. Орлич,
М. Радинович, С. Лазич**

Говяжий герпесвирус-I (ГГВ-I) - один из значительных возбудителей инфекций респираторной системы крупного рогатого скота и в преодолении этой инфекции иммунопрофилактика имеет ключевую роль. Интенсивность иммунного ответа против ГГВ-I после иммунизации инактивационными коммерческими вакцинами варьирует зависимо от вида вакцины, но генерально считается, что оказывают хорошую охрану от развития клинической формы инфекции и что безопасные. В работе показано развитие гуморального иммунного ответа у телят в откорме, иммунизированные против говяжьего герпесвируса-I (ГГВ-I) в различных интервалах между первичной и вторичной иммунизацией. Телята вакцинированы коммерческой вакциной, а затем разделены в двух группах, которые ревакцинированы 14, т.е. 21 дня. Течением 120 дня продолжительности опыта, кровь и носовая слизь образцованы II раз. Образчики кровяных серумов испытаны на антитела для ГГВ-I тестом нейтрализации вируса (ВН), а образчики носовой слизи ВН тестом и ELISA методом. После ревакцинации утверждён рост титра антител в крови всех опытных животных

и он удержался на высоком уровне вплоть до конца испытания (120 день). В кровяных сыворотках, максимальные средние стоимости титра антител утверждены 30 дня у группы ревакцинированной 14 дня, и 45 дня у группы ревакцинированной 21 дня. В носовой слизи, тестом нейтрализации вируса, антитела раньшее всего утверждены 14 дня после вакцинации, а ELISA методом только после ревакцинации. Наибольший титр антител в носовой слизи утверждён 45 дня в группе ревакцинированной 21 дня и 120 дня в группе ревакцинированной 14 дня. В отношении утверждённой стоимости титра антител, ревакцинация телят инактивационно вакциной против ГГВ-1 можно вывести уже 14 дня.

Ключевые слова: анти ГГВ-1, вакцины, ревакцинация, антитела

**PREVALENCIJA ANTITELA KLASA G NA ANTIGENE
UZROČNIKA LAJMSKE BOLESTI KOD PASA
U VOJVODINI, SRBIJA***
*PREVALENCE OF G CLASS ANTIBODIES TO ANTIGENS OF LYME
DISEASE CAUSES IN DOGS IN VOJVODINA, SERBIA*

A. Potkonjak, Sara Savić, V. Vračar, D. Rnjak, M. Tikvicki,
Sonja Obrenović, B. Lako**

*Lajmska bolest je multisistemska oboljenje, zoonoznog karaktera, izazvano uzročnikom *Borrelia burgdorferi sensu lato complex*. Ove spirohete se na evropskom kontinentu dominantno prenose krpeljima iz roda *Ixodes*. Poseban epidemiološki zančaj imaju mali sisari i ptice kao rezervoari uzročnika lajmske bolesti. Cilj ovog epidemiološkog istraživanja je da se utvrdi vrednost seroprevalencije IgG na *Borrelia burgdorferi* i sagleda geografska distribucija seropozitivnih pasa u Vojvodini.*

*U ispitivanje je bilo uključeno 135 pasa koji nisu vakcinisani protiv lajmske bolesti. Za utvrđivanje prevalencije IgG na antigene *Borrelia burgdorferi* korišćen je indirektni ELISA test. Reaktivni krvni serumi pasa su ponovo testirani primenom brzog imunohromatografskog i imunoblot testa.*

*Ustanovljena je seroprevalencija antitela klase G na antigene uzročnika lajmske bolesti od 8,1% (11/135) u populaciji pasa na području Vojvodine. Najveći broj pozitivnih rezultata je zabeležen u Južnobackom okrugu. Navedena vrednost seroprevalencije anti-*Borrelia burgdorferi* antitela u populaciji pasa ukazuje na postojanje značajnog*

* Rad primljen za štampu 26. 03. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Aleksandar Potkonjak, docent, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; dr sc. med. vet. Sara Savić, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; Vuk Vračar, dipl. vet., pripravnik na stažu, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; Dušan Rnjak, dr med., kordinator projekta, Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Klinika za infektivne bolesti, Novi Sad; Mario Tikvicki, dr. vet., student doktorskih studija, Veterinarska stanica „Veterinar“, Subotica; dr sc. med. vet. Sonja Obrenović, asistent, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr sc. med. vet. Branislav Lako, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad

rizika za infekciju kod ljudi izazvanu uzročnikom lajmske bolesti u Vojvodini.

Ključne reči: Borrelia burgdorferi, lajmska bolest, seroprevalencija, psi, Vojvodina

Uvod / Introduction

Lajmska bolest je multisistemsko oboljenje, zoonoznog karaktera, izazvano uzročnikom *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex. U ovom kompleksu se nalaze genospecijesi *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. afzelii* koji su značajni za infekciju ljudi i životinja u Evropi (Steere i sar., 2004; Stanek i sar., 2012). Nedavno je ustanovljen novi genospecijes, označen kao *B. spielmanii*, koji je patogen za ljude (Richter i sar., 2004; Maraspin i sar., 2006). Ove spirohete se na evropskom kontinentu dominantno prenose krpeljima iz roda *Ixodes* (Steere i sar., 2004). Poseban epidemiološki značaj imaju mali sisari i ptice kao rezervoari uzročnika lajmske bolesti (Steere i sar., 2004). Klinička slika ove infekcije zapažena je kod pasa, konja, goveda i ovaca (Levy 1989; Fridriksdottir i sar., 1992; Bushmick 1994; Nadelman i sar., 1998; Stefancikova i sar., 2008). Kod životinja inficiranih uzročnikom lajmske bolesti, klinička slika se ispolji samo kod 5% do 10% životinja (Bushmick, 1994; Salinas-Melendez i sar., 1999). Kod pasa se najčešće javljaju hromost, otekline kod zglobova, groznica i depresija. Ređe se registruju promene u ponašanju sa neurološkim ispadima, encefalitis, renalna disfunkcija, aritmija i reproduktivni poremećaji (Bushmick 1994; Fritz i sar., 2003). Kod pasa se veoma retko javlja erythema migrans, što je suprotno kliničkoj slici kod ljudi inficiranih uzročnikom lajmske bolesti, kod kojih se u prvom stadijumu često registruje ova kožna promena (Little i sar., 2010). Za serološku dijagnostiku lajmske bolesti koriste se različiti testovi: brzi imunohromatografski test, reakcija vezivanja komplementa, indirektni imunoenzimski test, indirektni imunofluorescentni test i Western blot test (Artsob i sar., 1990; Greene 1990; Gomes-Solecki i sar., 2001; Christova 2003; Wilske i sar., 2007).

Lajmska bolest je registrovana u mnogim američkim, evropskim i azijskim zemljama u kojima se poslednjih decenija sprovode brojna epidemiološka i klinička istraživanja (Handa i sar., 1999; Githeko i sar., 2000; Hercogova i sar., 2001; Naleway i sar., 2002; Gunes i sar., 2005; Steere 2006; Hashimoto i sar., 2007). Prva epidemiološka, klinička i laboratorijska istraživanja lajmske bolesti u Srbiji, pre više od 20 godina, obavili su istraživači iz Zavoda za preventivnu medicinu Vojnomedicinske akademije u Beogradu (Đorđević i sar., 1990; Stajković i sar., 1993). Hrnjaković-Cvjetković i sar. (2011) navode da u Vojvodini, kao i u celoj Srbiji postoji trend porasta broja registrovanih slučajeva i incidencije lajmske bolesti kod ljudi u periodu od 2005. do 2009. godine. Isti autori prikazuju podatke koji se odnose na broj prijavljenih slučajeva koji je rastao od 164 u 2005. do 294 u 2009. godini, kao i vrednosti incidencije lajmske bolesti koja se kretala od 8,07 u

2005. do 14,85 slučajeva na 100.000 stanovnika u 2009. godini, u Vojvodini. Kako su sistematska, radnomizirana epidemiološka istraživanja lajmske bolesti u populaciji ljudi kompleksna i zahtevna, alternativni pristup se odnosi na sprovođenje ovih istraživanja u populaciji pasa, koja mogu da ukažu na indeks rizika za infekciju ljudi (Smith i sar., 2012). Po našim prethodnim ispitivanjima, kod pasa u Južnobačkom okrugu utvrđena je srednja vrednost prevalencije antitela klase G na antigene uzročnika lajmske bolesti od 25,8% (Savić i sar., 2010).

S obzirom na to da se svake godine registruju novi slučajevi lajmske bolesti kod ljudi u Vojvodini, kao i da psi mogu da budu indikatori prisustva uzročnika u pojedinim regionima, cilj ovog epidemiološkog istraživanja je da se utvrdi vrednost seroprevalencije IgG na *Borrelia burgdorferi* i sagleda geografska distribucija seropozitivnih pasa u Vojvodini.

Materijal i metode rada / Material and methods

Istraživanjem je obuhvaćena populacija pasa na području Vojvodine, Srbija. U ispitivanje je bilo uključeno 135 pasa koji nisu vakcinisani protiv lajmske bolesti (Južnobački okrug 52 psa, Severnobački okrug 13 pasa, Zapadnobački okrug 10 pasa, Sremski okrug 30 pasa, Srednjobanatski okrug 10 pasa, Severnobačanski okrug 10 pasa i Južnobačanski okrug 10 pasa). Uzimanje uzoraka pune venske krvi obavljeno je u veterinarskim ambulantama i azilima za pse u toku 2011. i 2012. godine. Uzorci pune venske krvi su uzeti aseptičnom venepunkcijom v. *cephalica antebrachii*, u sterilne vakutajnere sa aktivatorom koagulacije po 3 mL radi izdvajanja krvnog seruma. U laboratoriji je iz uzoraka pune venske krvi, nakon retrakcije koaguluma, obavljeno sterilno izdvajanje uzoraka krvnog seruma centrifugovanjem na 3000 obrtaja tokom 10 minuta.

Za utvrđivanje prevalencije IgG na antigene *Borrelia burgdorferi* korišćen je indirektni ELISA test sa rekombinantnim proteinima uzročnika (*recom-Well Borrelia canis IgG*), a interpretacija rezultata je učinjena prema uputstvu proizvođača Mikrogen Diagnostik. Reaktivni krvni serumi pasa su ponovo testirani primenom brzog imunohromatografskog testa (FASTest®LYME, Megacor Diagnostik) i imunoblot testa sa rekombinantnim proteinima *Borrelia burgdorferi* (*recomBlot Borrelia canis IgG*, Mikrogen Diagnostik). Interpretacija rezultata ovih testova je učinjena prema uputstvu proizvođača.

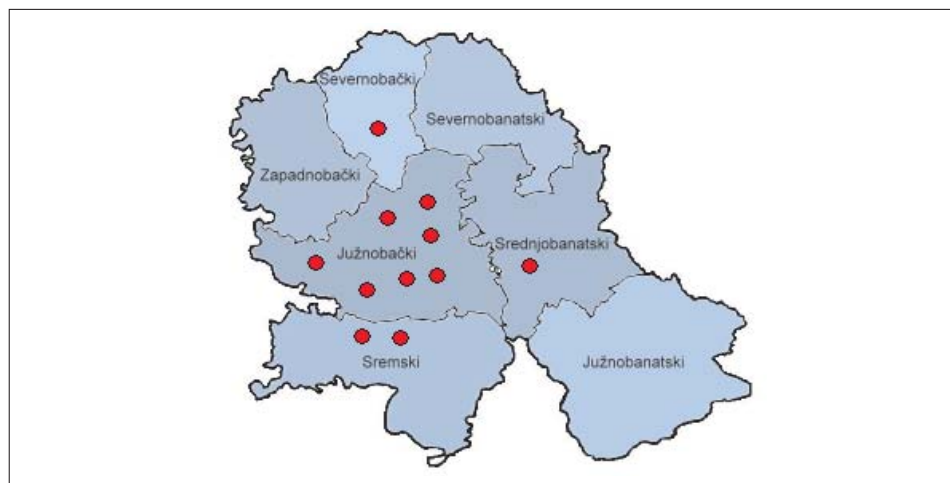
Rezultati / Results

Primenom ELISA testa ustanovljena je seroprevalencija antitela klase G na antigene uzročnika lajmske bolesti od 8,1% u populaciji pasa na području Vojvodine, odnosno registrovano je ukupno 11 pozitivnih od 135 pregledanih krvnih seruma pasa. Najveći broj pozitivnih rezultata je zabeležen u Južnobačkom okrugu, gde je bilo 7 pozitivnih od 52 testirana krvna seruma psa (13,4%). U Srednjobanatskom okrugu identifikovan je jedan reaktivan uzorak krvnog seruma psa na uzročnika lajmske bolesti od 10 pregledanih (10%). Primenom ELISA

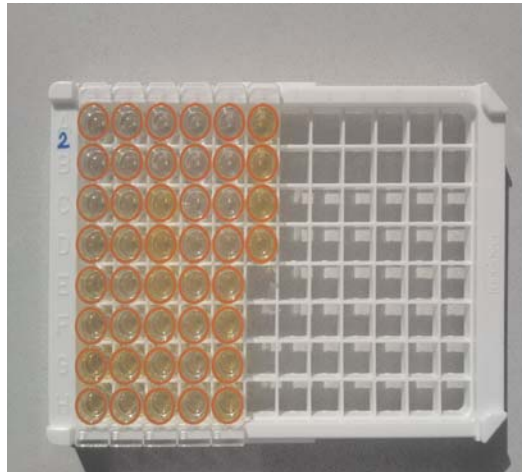
testa, utvrđena je prevalencija IgG na antigene *Borrelia burgdorferi*, u populaciji pasa od 7,6% (1/13) za Severnobački okrug. Antitela klase G na *Borrelia burgdorferi* registrovana su kod 2 psa (6,6%) od pregledanih 30 krvnih seruma pasa sa područja Sremskog okruga, primenom ELISA testa. U Zapadnobačkom, Severnobačkom i Južnobačkom okrugu nisu registrovani reaktivni krvni serumi pasa (0/30) na antigene uzročnika lajmske bolesti, primenom ELISA testa. Rezultati prevalencije antitela klase G na antigene *Borrelia burgdorferi* u krvnim serumima pasa sa područja Vojvodine su prikazani u tabeli 1, dok je geografska distribucija reaktivnih seruma pasa na uzročnika lajmske bolesti prikazana na karti 1. Na slici 1 su prikazane reakcije u ELISA testu za dokazivanje IgG na *B. burgdorferi*.

Tabela 1. Rezultati prevalencije IgG na *B. burgdorferi* u krvnim serumima pasa iz Vojvodine
Table 1. Results for IgG prevalence to *B. burgdorferi* in blood serums of dogs in Vojvodina

Okrug / District	Krvni serumi / Blood serums		
	Broj pregledanih / Number examined	Broj pozitivnih / Number positive	Procenat pozitivnih / Percent positive
Južnobački / South Bačka	52	7	13,4
Severnobački / North Bačka	13	1	7,6
Zapadnobački / West Bačka	10	0	0
Sremski / Srem	30	2	6,6
Srednjobanatski / Central Banat	10	1	10,0
Severnobačanski / North Banat	10	0	0
Južnobačanski / South Banat	10	0	0
Ukupno / Total	135	11	8,1



Karta 1. Geografska distribucija reaktivnih seruma pasa na uzročnika lajmske bolesti /
Map 1. Geographic distribution of dog serums reactive to the cause of lyme disease



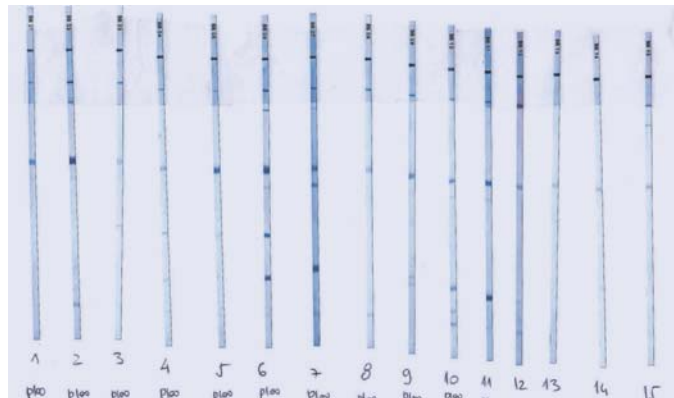
Slika 1. Prikaz izgleda reakcija u ELISA testu za dokazivanje IgG na *B. burgdorferi*
Figure 1. Reaction in ELISA test for proving IgG to *B. burgdorferi*

Primenom brzog imunohromatografskog testa za detekciju anti-*Borrelia burgdorferi* antitela klase G, od 11 reaktivnih seruma u ELISA testu, 8 je bilo pozitivno, dok su 3 seruma bila negativna. Na slici 2 prikazan je izgled pozitivnog imunohromatografskog testa sa antigenima uzročnika lajmske bolesti.



Slika 2. Prikaz izgleda pozitivnog imunohromatografskog testa
Figure 2. Positive immunochromatographic test

U imunoblot testu za dokazivanje antitela klase G na antigene *Borrelia burgdorferi* svi serumi pasa koji su bili reaktivni u ELISA testa su dali pozitivnu reakciju. Pozitivna reakcija sa proteinima p100 i p41 je registrovana kod svih seruma koji su bili pozitivni u ELISA testu. Kod 7 krvnih seruma je bio pozitivan p39, dok je kod 4 seruma bio pozitivan OspA i p41/i. Tri seruma su pozitivno reagovala sa proteinom VlsE, kao i proteinom OspC (*B. burgdorferi* sensu stricto i *B. afzelii*). Linije za proteine OspC (*B. garinii* 1), OspC (*B. garinii* 2) i p41/i (*B. garinii*) su bile pozitivne kod dva seruma. Nijedan krvni serum pasa nije dao pozitivnu reakciju sa proteinom p18 uzročnika lajmske bolesti. Na slici 3 prikazane su reakcije u Western blot testu za dokazivanje IgG na *B. burgdorferi*.



Slika 3. Prikaz izgleda reakcija u western blot testu za dokazivanje IgG na *B. burgdorferi*
Figure 3. Reaction in western blot test for proving IgG to *B. burgdorferi*

Diskusija / Discussion

Širom sveta se izvode brojna epidemiološka istraživanja u cilju bolje prostorne karakterizacije lajmske bolesti, kao prirodnožarišne zoonoze. U ovom istraživanju, primenom ELISA i WB testa, utvrđeno je prisustvo specifičnih antitela klase IgG na *Borrelia burgdorferi* u krvnim serumima kod 8,1% ispitivanih pasa sa područja Vojvodine.

Vrednosti seroprevalencije na antigene uzročnika lajmske bolesti kod pasa u Vojvodini, dobijene u ovoj studiji su više u odnosu na podatke saopštene za Rumuniju, Francusku, Španiju i Češku. Rumunski autori su registrovali 6,52% reaktivnih seruma pasa na *B. burgdorferi*, od pregledanih 276 seruma imunoenzimskim i imunofluorescentnim testom (Kiss i sar., 2011). Za populaciju pasa u Francuskoj, Pantchev navodi vrednost seroprevalencije na uzročnika lajmske bolesti od 1,09% (Pantchev i sar., 2009). Od pregledanih 479 seruma pasa u Španiji, autori su u svom istraživanju registrovali 6,26% reaktivnih seruma na antigene uzročnika lajmske bolesti (Amusatogui i sar., 2008). Pejchalova navodi seroprevalenciju IgG na *B. burgdorferi* kod pasa u Češkoj od 6,5% (Pejchalova i sar., 2006). Više vrednosti seroprevalencije na antigene uzročnika lajmske bolesti koda pasa u odnosu na ovo istraživanje su saopštene za Holandiju 17% (Goossens i sar., 2001), Bugarsku 22,6% (Zarkov i sar., 2003), Nemačku 35,5% (Weber i sar., 1991), Hrvatsku 40% (Poljak i sar., 2000) i Slovačku, gde se vrednosti seroprevalencije IgG kreću od 28,9% do 50% u zavisnosti od vrste antigena *B. burgdorferi* u ELISA testu (Stefancikova i sar., 1998).

Izvan Evropskog kontinenta, vrednosti seroprevalencije na antigene lajmske bolesti se takođe razlikuju u populacijama pasa. U Turskoj kod 23,2% pasa su dokazana anti-*Borrelia burgdorferi* antitela primenom ELISA testa (Bhide i sar., 2008). Beall i saradnici u Minesoti su primenom ELISA testa ustanovili sero-

prevalenciju kod pasa na antigene *Borrelia burgdorferi* od 11% (Beall i sar., 2008). Bowman i saradnici za SAD navode srednju vrednost seroprevalencije na antigene uzročnika lajmske bolesti, u populaciji pasa od 5,1% (49,817/982,336) sa značajnim razlikama u odnosu na pojedine regione (Bowman i sar., 2009).

Mead i sar. (2011) navode da podaci o vrednosti seroprevalencije na antigene uzročnika lajmske bolesti u populaciji pasa mogu da posluže za praćenje ove infekcije kod ljudi. Ovi autori smatraju da postoji značajan rizik za nastanak infekcije kod ljudi izazvane uzročnikom lajmske bolesti, kada je vrednost seroprevalencije na antigene *B. burgdorferi* u populaciji pasa veća od 5%, dok je rizik minimalan kada su vrednosti prevalencije anti-*Borrelia burgdorferi* antitela ispod 1%. Mada se radi o osetljivom, ali nespecifičnom markeru, vrednosti seroprevalencije IgG na *B. burgdorferi* od 8,1% u populaciji pasa, ipak ukazuju na postojanje značajnog rizika za infekciju kod ljudi izazvanu uzročnikom lajmske bolesti na području Vojvodine.

U ovom istraživanju ustanovili smo apsolutno poklapanje između pozitivnih nalaza dobijenih primenom indirektnog imunoenzimskog testa i imunoblot testa. Sheets i sar. (2000) su u svojoj studiji ustanovili da komercijalni ELISA test za serološku dijagnostiku ne poseduje adekvatnu osetljivost za dokazivanje svih slučajeva obolevanja, kao i da ovaj test nije sposoban da razlikuje prirodnu infekciju i postvakcinalni imuni odgovor, što otežava interpretaciju seroloških rezultata. Magnarelli navodi da je ELISA test sa rekombinantnim antigenima uzročnika lajmske bolesti od značaja u identifikaciji prirodne infekcije nevakcinisanih pasa uzročnikom *Borrelia burgdorferi* (Magnarelli i sar., 2001). Kasbohrer i sar. (1994) navode da je ELISA test sasvim dovoljan za potvrdu lajmske bolesti kod pasa, kao i da je samo u pojedinim slučajevima potrebno koristiti imunoblot test. Za Western blot test skoro svi autori navode da je potvrdni metod za serološku dijagnostiku lajm-borelioze kod pasa i ljudi (Luft i sar., 1991; Jacobson i sar., 1996). Wilske i sar. (2007) navode da se najbolja strategija serološke dijagnostike lajmske bolesti odnosi na dvostepenu dijagnostiku. U prvom koraku treba da se koristi ELISA test i ukoliko je dobijen pozitivan nalaz, on potom treba da se potvrdi Western blot testom.

U ovom istraživanju ustanovili smo razliku u serološkim nalazima između brzog imunohromatografskog testa sa jedne strane i ELISA i imunoblot testa sa druge strane. Ova razlika potiče od smanjene specifičnosti brzih testova, iako oni imaju svoj značaj u brzom, orijentacionom dijagnostici u svakodnevnoj rutinskoj kliničkoj praksi (Borowska i sar., 1991).

Zaključak / Conclusion

Primenom indirektnog imunoenzimskog i imunoblot testa ustanovljeno je prisustvo specifičnih antitela klase IgG na *Borrelia burgdorferi* u krvnim serumima kod 8,1% ispitivanih pasa sa područja Vojvodine.

Najveći broj pozitivnih rezultata je zabeležen u Južnobačkom okrugu, gde je bilo 7 pozitivnih od 52 testirana krvna seruma psa (13,4%). U Zapadnobačkom, Severnobačkom i Južnobačkom okrugu nisu registrovani reaktivni krvni serumi pasa (0/30) na antigene uzročnika lajmske bolesti.

Navedena vrednost seroprevalencije anti-*Borrelia burgdorferi* antitela u populaciji pasa, ukazuje na postojanje značajnog rizika za infekciju ljudi uzročnikom lajmske bolesti na području Vojvodine.

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENTS:

Ovo istraživanje je finansirao Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj AP Vojvodine (naziv projekta: Istraživanje lajmske bolesti i drugih vektorski prenosivih zoonoza u Vojvodini, broj projekta: 114-451-1892/2011).

These investigations were financed by the Provincial Secretariat for Science and Technological Development of AP Vojvodina within Project Number 114-451-1892/2011 Investigations of lyme disease and other vector transmitted zoonoses in Vojvodina.

Literatura / References

1. Amusatogui I, Tesouro MA, Kakoma I, Sainz A. Serological reactivity to Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Neorickettsia risticii, Borrelia burgdorferi and Rickettsia conorii in dogs from northwestern Spain. Vector Borne Zoonotic Dis 2008; 8: 797-803.
2. Artsob H, Huibner S. Complement fixation test for the diagnosis of Lyme disease. J Clin Microbiol 1990; 28: 637-8.
3. Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD, Cyr KE, Diniz PP, Mainville C, Hegarty BC, Crawford JM, Breitschwerdt EB. Serological and molecular prevalence of Borrelia burgdorferi, Anaplasma phagocytophilum, and Ehrlichia species in dogs from Minnesota. Vector Borne Zoonotic Dis 2008; 8: 455-64.
4. Bhide M, Yilmaz Z, Golcu E, Torun S, Mikula I. Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in dogs and horses in Turkey. Ann Agric Environ Med 2008; 15: 85-90.
5. Borowska SC, Szymanski W, Rogalewska A, Michalska I, Kowal K. Usefulness of the 3M Fast-Lyme test in the early diagnosis of borreliosis. Pneumonol Alergol Pol 1991; 59 Suppl 1: 65-8.
6. Bowman D, Little SE, Lorentzen L, Shields J, Sullivan MP, Carlin EP. Prevalence and geographic distribution of Dirofilaria immitis, Borrelia burgdorferi, Ehrlichia canis, and Anaplasma phagocytophilum in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. Vet Parasitol 2009; 160: 138-48.
7. Bushmick SL. Lyme borreliosis in domestic animals. J Spirochetal & Tick-Borne Dis 1994; 1: 24-30.
8. Christova I. Enzyme-linked immunosorbent assay, immunofluorescent assay, and recombinant immunoblotting in the serodiagnosis of early Lyme borreliosis. Int J Immunopathol Pharmacol 2003; 16: 261-8.
9. Dordevic D, Dmitrovic R, Derkovic V, Drndarevic D, Lako B, Obradovic M, Cekanac R, Stajkovic N, Pokorni D. Lyme disease in Yugoslavia. Vojnosanit Pregl 1990; 47: 249-53.
10. Fridrikstad V, Nesse LL, Gudding R. Seroepidemiological studies of Borrelia burgdorferi infection in sheep in Norway. J Clin Microbiol 1992; 30: 1271-7.

11. Fritz CL, Kjemtrup AM. Lyme borreliosis. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223: 1261-70.
12. Githeko AK, Lindsay SW, Confalonieri UE, Patz JA. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ* 2000; 78: 1136-47.
13. Gomes-Solecki MJ, Wormser GP, Persing DH, Berger BW, Glass JD, Yang X, Dattwyler RJ. A first-tier rapid assay for the serodiagnosis of *Borrelia burgdorferi* infection. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2015-20.
14. Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK. Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 844-8.
15. Greene RT. An update on the serodiagnosis of canine Lyme borreliosis. *J Vet Intern Med* 1990; 4: 167-71.
16. Gunes T, Poyraz O, Kaya S, Gencer L, Alim A. Investigation of vectors for *Borrelia burgdorferi* and Lyme seropositivity in Sivas region. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39: 503-8.
17. Handa R, Wali JP, Singh S, Aggarwal P. A prospective study of Lyme arthritis in north India. *Indian J Med Res* 1999; 110: 107-9.
18. Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K, Nagai M. Epidemics of vector-borne diseases observed in infectious disease surveillance in Japan, 2000-2005. *J Epidemiol* 2007; 17 Suppl: S48-55.
19. Hercogova J, Brzonova I. Lyme disease in central Europe. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14: 133-7.
20. Hrnjaković-Cvjetković I, Milošević V, Jerant-Patić V, Stefan-Mikić S, Cvjetković D, Radovanov J, G. K. Najčešće bakterijske zoonoze u ljudi u Vojvodini u periodu 2005-2009. *Arhiv veterinarske medicine* 2011; 4: 11-8.
21. Jacobson RH, Chang YF, Shin SJ. Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1996; 11: 172-82.
22. Kasbohrer A, Liebisch G, Schonberg A, Liebisch A. Serodiagnosis of Lyme borreliosis: development and evaluation of a test system for epidemiological studies in the dog. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 1994; 101: 476-81.
23. Kiss T, Cadar D, Krupaci AF, Bordeanu A, Brudasca GF, Mihalca AD, Mircean V, Gliga L, Dumitrache MO, Spinu M. Serological reactivity to *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs and horses from distinct areas in Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11: 1259-62.
24. Levy SA. Lyme borreliosis in domestic animals. *Conn Med* 1989; 53: 352-3.
25. Little SE, Heise SR, Blagburn BL, Callister SM, Mead PS. Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. *Trends Parasitol* 2010; 26: 213-8.
26. Luft BJ, Gorevic PD, Jiang W, Munoz P, Dattwyler RJ. Immunologic and structural characterization of the dominant 66- to 73-kDa antigens of *Borrelia burgdorferi*. *J Immunol* 1991; 146: 2776-82.
27. Magnarelli LA, Levy SA, Ijdo JW, Wu C, Padula SJ, Fikrig E. Reactivity of dog sera to whole-cell or recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* by ELISA and immunoblot analysis. *J Med Microbiol* 2001; 50: 889-95.
28. Maraspin V, Ruzic-Sabljic E, Strle F. Lyme borreliosis and *Borrelia spielmanii*. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1177.
29. Mead P, Goel R, Kugeler K. Canine serology as adjunct to human Lyme disease surveillance. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1710-2.
30. Nadelman RB, Wormser GP. Lyme borreliosis. *Lancet* 1998; 352: 557-65.

31. Naleway AL, Belongia EA, Kazmierczak JJ, Greenlee RT, Davis JP. Lyme disease incidence in Wisconsin: a comparison of state-reported rates and rates from a population-based cohort. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 1120-7.
32. Pantchev N, Schaper R, Limousin S, Norden N, Weise M, Lorentzen L. Occurrence of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections caused by *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* in domestic dogs in France: results of a countrywide serologic survey. *Parasitol Res* 2009; 105 Suppl 1: S101-14.
33. Pejchalova K, Zakovska A, Fucik K, Schanilec P. Serological confirmation of *Borrelia burgdorferi* infection in dogs in the Czech Republic. *Vet Res Commun* 2006; 30: 231-8.
34. Poljak I, Troselj-Vukic B, Miletic B, Morovic M, Ruzic-Sabljic E, Vucemilovic A, Materljan E. Low sero-prevalence of Lyme borreliosis in the forested mountainous area of Gorski Kotar, Croatia. *Croat Med J* 2000; 41: 433-6.
35. Richter D, Schlee DB, Allgower R, Matuschka FR. Relationships of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmani* sp. nov., with its hosts in Central Europe. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 6414-9.
36. Salinas-Melendez JA, Avalos-Ramirez R, Riojas-Valdez VM, Martinez-Munoz A. Serological survey of canine borreliosis. *Rev Latinoam Microbiol* 1999; 41: 1-3.
37. Savic S, Vidic B, Lazic S, Lako B, Potkonjak A, Lepsanovic Z. *Borrelia burgdorferi* in ticks and dogs in the province of Vojvodina, Serbia. *Parasite* 2010; 17: 357-61.
38. Sheets JT, Rossi CA, Kearney BJ, Moore GE. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Borrelia burgdorferi* exposure in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216: 1418-22.
39. Smith FD, Ballantyne R, Morgan ER, Wall R. Estimating Lyme disease risk using pet dogs as sentinels. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2012; 35: 163-7.
40. Stajkovic N, Obradovic M, Lako B, Drndarevic D, Dmitrovic R, Djerkovic V, Djordjevic D. The first isolation of *Borrelia burgdorferi* in *Apodemus flavicollis* in Yugoslavia. *Glas Srp Akad Nauka Med* 1993; 99-105.
41. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet* 2012; 379: 461-73.
42. Steere AC. Lyme borreliosis in 2005, 30 years after initial observations in Lyme Connecticut. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118: 625-33.
43. Steere AC, Coburn J, Glickstein L. The emergence of Lyme disease. *J Clin Invest* 2004; 113: 1093-101.
44. Stefancikova A, Adaszek L, Pet'ko B, Winiarczyk S, Dudinak V. Serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann Agric Environ Med* 2008; 15: 37-43.
45. Stefancikova A, Tresova G, Pet'ko B, Skardova I, Sesztakova E. Elisa comparison of three whole-cell antigens of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in serological study of dogs from area of Kosice, eastern Slovakia. *Ann Agric Environ Med* 1998; 5: 25-30.
46. Weber A, Heim U, Schafer R. Incidence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs in small animal practice in North Bavaria. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1991; 104: 384-6.
47. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 49: 13-21.
48. Zarkov IS, Marinov MM. The lyme disease: results of a serological study in sheep cows and dogs in Bulgaria. *Rev Med Vet* 2003; 154: 363-6.

ENGLISH

PREVALENCE OF G CLASS ANTIBODIES TO ANTIGENS OF LYME DISEASE CAUSES IN DOGS IN VOJVODINA, SERBIA

A. Potkonjak, Sara Savić, V. Vračar, D. Rnjak, M. Tikvicki, Sonja Obrenović, B. Lako

Lyme disease is a multisystemic disease, zoonotic in nature, caused by the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex. In the continent of Europe, these spirochetes are predominantly transmitted by ticks of the genus *Ixodes*. Small mammals and birds have particular significance as reservoirs of the cause of lyme disease. The objective of these epidemiological investigations was to determine the value of IgG seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* and to secure the geographic distribution of seropositive dogs in Vojvodina.

The investigations covered 135 dogs that were not vaccinated against lyme disease. The indirect ELISA test was used to determine IgG prevalence to *Borrelia burgdorferi* antigens. Reactive blood serums of dogs were tested again using the rapid immunochromatographic and immunoblot test.

A seroprevalence of G class antibodies to antigens of lyme disease causes of 8.1% (11/135) was established in the examined dog population of Vojvodina. The biggest number of positive results was recorded for the South Bačka District. The presented value for the seroprevalence of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in the dog population indicates the existence of a significant risk of humans becoming infected with the cause of lyme disease in Vojvodina.

Key words: *Borrelia burgdorferi*, lyme disease, seroprevalence, dogs, Vojvodina

РУССКИЙ

ПРЕВАЛЕНТНОСТЬ АНТИТЕЛ КЛАССА Г НА АНТИГЕНЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ БОЛЕЗНИ ЛАЙМА У СОБАК В ВОЕВОДИНЕ, СЕРБИЯ

А. Потконяк, Сара Савич, В. Врачар, Д. Рняк, М. Тиквицки, Б. Лако, Соня Обренович

Болезнь Лайма-мультисистемное заболевание, зоонозного характера, вызванное возбудителем *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex. Эти спирохеты на Европейском континенте доминантно переносятся клещами из рода *Ixodes*. Отдельное эпидемиологическое значение имеют маленькие млекопитающие и птицы как резервуары возбудителя болезни Лайма. Цель этого эпидемиологического исследования утвердить стоимость серпревалентности IgG на *Borrelia burgdorferi* и обозреть географическую дистрибуцию сероположительных собак в Воеводине.

В испытание было включено 135 собак, которые не вакцинированы против болезни Лайма. Для утверждения превалентности IgG на антигены *Borrelia burgdorferi* пользован косвенный ELISA тест. Реактивные кровяные сыворотки собак снова тестированы применением быстрого иммунохроматографического и иммуноблот теста.

Установлена серопревалентность антител класса G на антигены возбудителя болезни Лайма от 8,1% (11/135) в популяции собак на подведомственной

области Воеводины. Наибольшее число положительных результатов записано в Южнобачком округе. Приведённая стоимость серопревалентности анти-*Borrelia burgdorferi* антител в популяции собак, указывает на существование значительного риска для инфекции людей возбудителем болезни Лайма в Воеводине.

Ключевые слова: *Borrelia burgdorferi*, болезнь Лайма, серопревалентность, собаки, Воеводина

**SIGNIFICANCE OF pH-VALUE FOR MEAT QUALITY OF
BROILERS – INFLUENCE OF BREED LINES******ZNAČAJ pH VREDNOSTI ZA KVALITET MESA BROJLERA –
UTICAJ GENOTIPOVA*****M. Ristic, K. Damme****

For determination of poultry quality shortly after slaughtering, physical criteria (pH-value, conductivity, colour, juice retention) are of importance. However, they are affected by breeding, transport, cooling and the storage period. PH-values of breast meat (genetically structured material) were recorded shortly after slaughtering (15 min p.m.) and differences between breeding line and gender were found ($n=5109$). The pH_1 -values ranged from 5.50 to 6.79. Male broilers showed significantly lower pH_1 -values than female ones (6.02:6.10). There were also significant differences concerning breeding line and gender. Meat quality (PSE, DFD) of broilers can be recorded quickly and accurately determining the pH_1 -value of breast meat. Threshold ranges to be considered are ≤ 5.8 (PSE), 5.9-6.2 (standard meat properties) and ≥ 6.3 (DFD). This classification is not to be compared to the deviation of pork.

Key words: meat quality, broiler, pH-value, breed lines

Introduction / Uvod

The quality of poultry is determined using biochemical, physico-chemical and bacteriological data. Physical criteria shortly after slaughtering (pH-value, conductivity, colour, juice retention) are of importance (Honikel, 2006; Petracci and Baeza, 2007).

Poultry quality is related to genetics, livestock husbandry, feeding, transport, slaughtering methods, storage period and storage temperature. Depending on the post-mortem glycolysis in the muscle tissue, normal or abnormal meat properties are considered. First approaches concerning this topic were

* Rad primljen za štampu 19. 04. 2012. godine

** Milan Ristic, Klaus Damme

done 1968-1971 for pork (Scheper and Schön, 1971) and poultry (Trojan and Niewiarowicz, 1971; Ristic and Schön, 1977).

The aim of this study was the determination of meat quality of broilers shortly after slaughtering depending on breeding.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Broilers of well-known Lohmann origins were fed for 41 to 45 days (free run; n=5109), transported for 4-10 km under controlled conditions after fasting for 12-16 h within 3 days and slaughtered in an industrial slaughterhouse. Slaughtering took 15 min and pH₁-values were recorded in the muscle tissue of the breast shortly after. The core temperature of the carcass was +38°C. The applied methods are described elsewhere (Ristic and Hechelmann, 1990; Ristic *et al.*, 1994). Experimental data of different origins were first checked for normal distribution, and afterwards statistical analysis was done using one-factor analysis of variance and least square-analysis according to Harvey. Statistical significance was calculated using the F-test and t-test.

Results and Discussion / *Rezultati i diskusija*

The distribution of pH₁-values was 5.50-6.79 (Tab. 1). Applying the classification according to Niewiarowicz (1978), 6.7% (male) and 4.3% (female) of the carcass showed a PSE-condition (Scheme 1). Fixing a threshold of 5.8, PSE increases (18.6% male carcass, 11.6% female carcass) according to Ristic and Schön (1977) and Scheper and Schön (1971). A standard meat quality could be found for 65% of male and 66.8% of female carcasses. Following Niewiarowicz, this would mean DFD-condition for the rest (16.4% and 21.6%, resp.). Male broilers showed lower mean pH₁-values (n=2376, 6.02) than female ones (n=2682, 6.10). The pH-values were subjected to the breeding lines tested (Table 2). The lowest pH₁-values were stated for line B of male and female broilers (5.92, 5.99) whereas Lines C and D showed extremely high pH₁-values. There were no significant differences between lines C and D of male broilers (6.29:6.27), but there were for female ones. Information on the end-pH-values (24 h p.m.) of the pectoral muscle of different broiler origins is presented in Table 3. Measurements ranged from 5.71 to 5.84 and showed differences between the origins.

Since the sixties there has been a set of problems concerning composition of pork as an increasing pork/fat ratio enhances the importance of meat composition. The feasibility of determining changes in meat composition objectively and in a reproducible manner is a prerequisite in choosing the feature and the method to be applied. SCHEPER and SCHÖN (1971) suggested recording of pH-value, lightness of colour (Göfo-value) and juice retention. Considering the

glycolytic process (measurement of pH decreases 1 h p.m.), pH₁-value provides the best information. Highly accelerated (pH₁<5.6) as well as accelerated pH-decline (pH₁ 5.6-5.8) are related to a light meat colour and poor juice retention, which in the majority of cases is the same for pH₁-values ranging from 5.8 to 6.0 concerning exudative meat composition.

Scheme 1. Limits of different authors for the determination of meat quality using pH-measurement /

Shema 1. Granične vrednosti za određivanje kvaliteta mesa merenjem pH, po različitim autorima

Testing time breast meat / Vreme testiranja belog mesa (min p.m.)	Species / Vrsta	Meat quality / Kvalitet mesa			Author / Autor
		PSE	Normal	DFD	
15	Broiler / Brojleri	<5.8		>6.3	Trojan and Niewiarowicz, 1971
15	Broiler / Brojleri	<5.8	>6.0	>6.2	Ristic and Schön, 1977
15	Broiler / Brojleri	5.4-5.7			Niewiarowicz, 1978
15	Broiler / Brojleri	≤5.7	5.8-6.3	≥6.4	Niewiarowicz and Pikol, 1979
15	Broiler / Brojleri	5.63	5.7	5.81	Fletcher, 1999
90	Turkey hen / Ćurka	5.72	6.09		Owens <i>et al.</i> , 2000
15	Broiler / Brojleri	5.77	5.89	6.04	Petracci <i>et al.</i> , 2004
15	Broiler / Brojleri	<5.7	>6.0		Ristic <i>et al.</i> , 2004
15	Broiler / Brojleri	5.54	5.91	6.23	Zhang and Barbut, 2005
180	Broiler / Brojleri	<5.7	5.7-6.1	>6.1	Lesiow <i>et al.</i> , 2009
45 bzw. 60 (chop)	Pork / Svinjetina				Scheper and Schön, 1971
45 bzw. 60 (chop)	Pork / Svinjetina	<5.8			Scheper, 1973
45 bzw. 60 (chop)	Pork / Svinjetina	≤5.9 bzw. ≤5.79			Augustini and Fischer, 1981
45 bzw. 60 (chop)	Pork / Svinjetina	≤5.8			Fischer, 2001

Table 1. pH₁-values for male and female broilers – pectoral muscle (n=5058) /
Tabela 1. pH₁-vrednosti za grudnu muskulaturu ženki i mužjaka brojlera (n=5058)

pH-value / pH-vrednost	Male / Mužjaci			Female / Ženke		
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s
5.50-5.59	35	5.56	0.03	22	5.55	0.03
5.60-5.69	125	5.66	0.03	93	5.64	0.03
5.70-5.79	281	5.75	0.03	195	5.75	0.03
5.80-5.89	425	5.85	0.03	366	5.85	0.03
5.90-5.99	412	5.94	0.03	395	5.95	0.03
6.00-6.09	325	6.04	0.03	415	6.04	0.03
6.10-6.19	205	6.14	0.03	346	6.14	0.03
6.20-6.29	178	6.24	0.03	270	6.24	0.03
6.30-6.39	121	6.34	0.03	192	6.34	0.03
6.40-6.49	116	6.43	0.03	139	6.44	0.03
6.50-6.59	76	6.54	0.03	123	6.54	0.03
6.60-6.69	55	6.64	0.03	85	6.63	0.03
6.70-6.79	22	6.74	0.03	41	6.74	0.03
Total / Ukupno	2376	6.02	0.26	2682	6.10	0.28

Table 2. pH₁-values of different breeding lines of male and female broilers – breast muscle (n=5109) /
Tabela 2. pH₁-vrednosti grudne muskulature različitih uzgojnih linija ženki i mužjaka brojlera (n=5109)

Breeding line / Uzgojna linija	Male / Mužjaci			Female / Ženke		
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s
A	851	5.94 ^a	0.18	995	6.02 ^a	0.20
B	883	5.92 ^b	0.19	901	5.99 ^b	0.21
C	338	6.29 ^{cd}	0.26	483	6.36 ^c	0.29
D	318	6.27 ^d	0.28	340	6.24 ^d	0.28
Total / Ukupno	2390	6.02	0.26	2719	6.10	0.28
F-value / F-vrednosti	450.94***			341.71***		

a, b, c, d: significance for $p \leq 0.05$ / značajnost za $p \leq 0.05$

Table 3. pH₂₄-values of different origins of broilers – pectoral muscle /
Tabela 3. pH₂₄-vrednosti za grudnu muskulaturu brojlera različite rase (n=5058)

Origin / Rasa	ASA	AA	Redbro	Lohmann	Ross	Pilch	Peterson	Cobb	Total / Ukupno
n	210	370	330	30	175	60	40	40	1575
$\bar{x}$	5.72	5.79	5.75	5.79	5.71	5.73	5.81	5.84	5.77
s	0.12	0.11	0.13	0.13	0.12	0.14	0.12	0.13	0.13

During the last years, deviations in meat quality which did not show typical characteristics of PSE and DFD have been reported time and again. There was acceptable colour and increased wateriness („RSE“-reddish, soft, exudative) as well as pale colour and good juice retention („PFN“-pale, firm, non-exudative). RSE is especially of interest, as drip loss means a loss in weight and therefore economic losses (Fischer, 2001). Besides, conductivity and Ph-value are recorded in order to determine poor meat quality, both of them based on passive electrical properties of meat (Altmann *et al.*, 2005). Data show a PSE-condition for pork considering a measurement range from 5.6 to 5.8 for chops after 45 and 60 min., resp. (see Scheme 1). The threshold range for the pH-value of breast meat of broilers was 5.4 to 5.8 for PSE-condition and 5.8 to 6.3 for standard meat quality (Niewiarowicz, 1978; Niewiarowicz and Pikul, 1979). Scheme 1 displays the opinion of different authors on the variation of these limit ranges. Fletcher (2006) states threshold ranges referring to brightness of colour (L^*) and pH-value using the terms PSE-like and DFD-like showing that the terms assumed from pork quality and poultry quality are different. According to his opinion, pH_1 -values <5.7 stand for PSE, 5.7-6.1 for standard quality and >6.1 for DFD. Barbut *et al.* (2008) published a comprehensive paper on this topic for pork and poultry. Breeding is the main reason for deviant meat quality, although stress, slaughtering and cooling are of importance, too.

In order to shorten ripening time, electric stimulation is applied not only for pork and beef carcasses, but also for poultry („Rapid Rigor“). There are different ways of cooling for beef and pork (fast/shock cooling, ultra chilling, fog cooling). Niewiarowicz *et al.* (1979) investigated the pH-value of the surface of the plain breast skin prior to slaughtering (a.m.) for PSE and DFD meat. PSE meat has to be expected when pH_0 -values range from 6.5 to 6.6 (standard meat composition 6.6:6.9, DFD-condition 7.0:7.1). A correlation (0.73) could be found for pH_0 and pH_1 . For pork, measurements 15 min p.m. would be 5.4 to 5.8 for PSE, 5.8 to 6.3 for standard meat quality and 6.0/ >6.3 for DFD (Scheme 1).

Literatura / References

1. Augustini C, Fischer K. Behandlung der Schlachtschweine und Fleischbeschaffenheit – eine Felduntersuchung. Fleischwirtschaft 1981; 61: 775-83.
2. Altmann M, Kirchheim U, Schöberlein L, Wähner M, Wicke M, Fischer K. PSE-Status bei marktkonformen Schweinen. Fleischwirtschaft 2005; 85: (H7) 101-4.
3. Barbut S, Sosniki AA, Lonergan SM, Knapp T, Ciobanu DC, Gatcliffe LJ, Huff-Lonergan E, Wilson EW. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. Meat Science 2008; 79: 46-63.
4. Fischer K. Bedingungen für die Produktion von Schweinefleisch guter sensorischer und technologischer Qualität. Mitteilungsblatt BAFF Kulmbach 2001; 40(151): 7-22.
5. Fletcher DL. Broiler Breast Meat colour Variation, pH and Texture. Poultry Sci 1999; 78: 1323-7.

6. Fletcher D. The relationship between breast muscle colour variation and meat functionality. Proceedings 12. European Poultry Conference. Verona, Italy, 10-14 September 2006.
7. Honikel KO. Physikalische Messmethoden zur Erfassung der Fleischqualität. In: Qualität von Fleisch und Fleischwaren. Frankfurt, a. M., Fleischerfachverlag, 2006: 855-81.
8. Lesiow T, Szmanko T, Korzeniowska M, Bobak L, Oziembowski M. Influence of the season of the year on some technological parameters and ultrastructure of PSE, normal and DFD chicken breast muscles. *Proceedings XIX. European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Turku, Finland, 21-25. June 2009.
9. Niewiarowicz A. Meat Anomalies in Broilers. *Poultry International* 1978; 17: 50-1.
10. Niewiarowicz A, Pikul J. pH-Wert der Hautoberfläche vor der Schlachtung als Indikator für PSE- und DFD-Fleisch bei Broilern. *Fleischwirtschaft* 1979; 59: 405-7.
11. Owens CM, Hirschler EM, McKee SR, Martinez-Dawson R, Sams AR. The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a commercial plant. *Poultry Science* 2000; 79: 553-8.
12. Petracci M, Bianchi M, Betti M, Cavani C. Colour Variation and Characterization of Broiler Breast Meat during Processing in Italy. *Poultry Science* 2004; 83: 2086-92.
13. Petracci M, Baeza E. Harmonization of methodology of assessment of meat quality features. *Proceedings XVIII European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Prague, 2007; 175-80.
14. Ristic M, Schön L. Verlauf des pH-Niveaus von Broilern in Abhängigkeit von den Jahresproduktionen. *Archiv für Geflügelkunde* 1977; 41: 253-5.
15. Ristic M, Hechelmann H. Einflüsse der Lagertemperatur und der Lagerdauer: Lagerfähigkeit von gekühlten Broilern. *Fleischerei* 1990; 41: 504-8.
16. Ristic M, Freudenreich P, Erhardt S. Einfluss der Produktionsbedingungen auf Geflügelfleisch und Eier. Ein Überblick über 30 Jahre Qualitätsforschung. *Fleischwirtschaft* 2004; 84(9): 127-30.
17. Ristic M, Kreuzer M, Roth FX, Kichgessner M. Mastleistung, Schlachtkörperwert und Fleischqualität von Broilern bei Anwendung unterschiedlicher Variationen der Zufütterung von ganzen Weizenkörnern. *Archiv für Geflügelkunde* 1994; 58: 8-17.
18. Scheper J, Schön L. Zur Aussagekraft von pH, Farbhelligkeit und Safthaltevermögen über die Beschaffenheit von Schweinefleisch. *Züchtungskunde* 1971; 43: 49-54.
19. Scheper J. Was sagt der pH-Wert über erblich bedingte Veränderungen in der Beschaffenheit von Schweinefleisch aus? *Fleischwirtschaft* 1973; 53: 647-50.
20. Trojan M, Niewiarowicz A. Blasses, weiches und exsudatives Fleisch (PSE-Fleisch) bei Hühnern. *Poczniki Technologii i Chemii Żywności* 21, S. 61; ref. *Food Science and Technology* 1971; 3: 12, 1490.
21. Zhang L, Barbut S. Rheological Characteristics of fresh and frozen PSE, normal and DFD Chicken Breast Meat. *British Poultry Science* 2005; 46, 687-93.

SRPSKI

ZNAČAJ pH VREDNOSTI ZA KVALITET MESA BROJLERA – UTICAJ GENOTIPOVA

Milan Ristić, Klaus Damme

Za određivanje kvaliteta živinskog mesa nakon klanja, od značaja su fizički kriterijumi (pH vrednost, provodljivost, boja, sočnost/zadržavanje sokova). Međutim, fizički kriterijumi su takođe pod uticajem odgajivanja, transporta, hlađenja i dužine transporta. pH vrednosti mesa grudi (genetski struktuiran materijal) su evidentirane odmah nakon klanja (15 min p.m.) i utvrđene su razlike između genotipa i pola ($n=5109$). pH₁-vrednosti su bile u opsegu od 5.50 do 6.79. Brojleri muskog pola su pokazivali signifikantno niže pH₁-vrednosti u poređenju sa ženskim brojlerima (6.02:6.10). Utvrđene su takođe signifikantne razlike u odnosu na genotip i pol (5.92 tj. 5.99:6.29 tj. 6.36). Kvalitet mesa (PSE, DFD) brojlera se može brzo i tačno evidentirati merenjem pH vrednosti mesa grudi. Granični opsezi su ≤ 5.8 (PSE), 5.9-6.2 (standardne osobine mesa) i ≥ 6.3 (DFD). Ova klasifikacija se ne može porediti sa devijacijom kod svinjskog mesa.

Ključne reči: kvalitet mesa, brojler, pH-vrednost, genotipovi

РУССКИЙ

ЗНАЧЕНИЕ pH-СТОИМОСТИ ДЛЯ КАЧЕСТВА МЯСА БРОЙЛЕРОВ - ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПОВ

М. Ристич, К. Данме

Для определения качества мяса домашней птицы после убоя, важны физические критерии (pH-стоимость, проводимость, цвет, сочность (задержка соков)). Между тем, физические критерии также под влиянием разведения, транспорта, охлаждения и длины транспорта. pH-стоимости мяса грудей (генетически структурированный материал) взяты на учёт сразу после убоя (15 мин п.м.) и утверждены разницы между генотипом и полом ($n=5109$). pH-стоимости были в объёме от 5.50 до 6.79. Бройлеры мужского пола показывали сигнификантно ниже pH₁-стоимости в сравнении с женскими бройлерами (6.02:6.10). Утверждены также сигнификантные разницы в отношении генотипа и пол (5.92 т.е. 5.96:6.29 т.е. 6.36). Качество мяса (ПСЕ, ДФД) бройлеров может быстро и точно вести учёт измерением pH-стоимости мяса грудей. Пограничные объёмы ≤ 5.8 (ПСЕ), 5.9-6.2 (стандартные свойства мяса) и ≥ 6.3 (ДФД). Эта классификация не может сравниваться с девиацией у свиного мяса.

Ключевые слова: качество мяса, бройлер, pH-стоимость, генотипы

UTICAJ OKSIDATIVNOG STRESA NA RAZVOJ BOLESTI* *INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS ON DISEASE DEVELOPMENT*

Tatjana Božić, Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, S. Jović,
B. Dimitrijević, I. Ignjatović**

Sve više podataka ukazuje na veliki doprinos oksidativnog stresa patogenezi brojnih bolesti (aterosklerozi, hipertenziji, srčanoj insuficijenciji, šećernoj bolesti, moždanom udaru, reumatoidnom artritisu i dr.). Tako, u patogenezi ateroskleroze primarno mesto zauzimaju reaktivne kiseonične vrste koje sintetišu endotelne ćelije arterijskih krvnih sudova, leukociti i makrofagi. Uz to, native čestice lipoproteina male gustine postaju aterogene, oksidacijom izazvanom reaktivnim kiseoničnim vrstama. Oksidacija lipoproteina male gustine stimuliše zapaljenjski proces, a on pojačava adheziju i dotok monocita i utiče na sintezu i oslobađanje brojnih proinflamatornih citokina uključenih u dalji tok procesa.

Jedan od razloga za razvoj arterijske hipertenzije je istovremena aktivacija NAD(P)H oksidaza i 12/15-lipoksigenaze, jer rezultira pojačanom proizvodnjom reaktivnih kiseoničnih vrsta. One podstiču proizvodnju metaloproteinaza-2 matriksa, koje dovode do vaskularnog remodeliranja i do pojačane apoptoze srčanih mišićnih ćelija. Pojačana apoptoza je povezana sa infarktom miokarda, kardiomiopatijama i razvojem srčane insuficijencije.

Osetljivosti β -ćelija endokrinog dela pankreasa na reaktivne kiseonične vrste pogoduju prirodno niske koncentracije skupljača slobodnih radikala u njima, kao i porast koncentracije proinflamatornih citokina, glukoze i lipida koji indukuju smanjenje mase i funkcije β -ćelija. Hiperglikemija kod šećerne bolesti izaziva oštećenja tkiva neenzimskim glikozilovanjem intracelularnih i ekstracelularnih proteina, usled čega se smanjuje enzimska aktivnost, oštećuju nukleinske kiseline, re-

* Rad primljen za štampu 20. 05. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Tatjana Božić, redovni profesor, dr sc. med. vet. Jelka Stevanović, redovni profesor, dr sc. Sunčica Borozan, redovni profesor, dr sc. med. vet. Slavoljub Jović, docent, mr sc. med. vet. Blagoje Dimitrijević, asistent, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine; mr. sc. med. Igor Ignjatović, hirur, KCS, Institut za bolesti digestivnog sistema – Klinika za digestivnu hirurgiju, Beograd

meti prirodna razgradnja proteina i aktiviraju citotoksični putevi. Ovi procesi su i osnova patogeneze mnogih komplikacija šećerne bolesti.

S obzirom na to da inducibilna azot-oksida sintaza pokreće procese koji podstiču apoptozu cerebralnih endotelnih ćelija, a super-oksida-anjon radikal, hipohlorna kiselina i vodonik-peroksid oštećuju parenhim ishemičnog mozga i biomakromolekule (izazivaju peroksidaciju lipida, oksidaciju proteina i dezoksiribonukleinske kiseline), tokom cerebralne ishemije i reperfuzije nastaju oštećenja mozga.

Ključne reči: oksidativni stres, ateroskleroza, hipertenzija, šećerna bolest, srčana insuficijencija, moždani udar i reumatoidni artritis

Uvod / Introduction

Niske i umerene koncentracije slobodnih radikala imaju višestruko značajne uloge u mnogim intracelularnim reakcijama, kao što su normalan rast ćelija, održavanje i promena položaja i oblika ćelija, pomoć tokom adaptacije i oporavka ćelija od oštećenja izazvanih fizičkim radom, učešće u programiranoj ćelijskoj smrti – apoptozi (Aikawa i sar., 2000), ćelijskom starenju, regulaciji najrazličitijih signalnih puteva (Movat, 1985), podešavanju snage kontrakcija skeletnih mišića, sintezi esencijalnih bioloških jedinjenja (Halliwell i Gutteridge, 1999), proizvodnji energije, indukciji migracije leukocita i stimulaciji antimikrobne aktivnosti fagocitnih ćelija tokom respiratornog praska (Gilmour i sar., 1993; Božić i sar., 2003a; 2003b; 2004).

Ravnoteža između povoljnih i štetnih efekata slobodnih radikala je veoma značajana sa gledišta biologije življenja. Njihovo neprekidno uklanjanje je neminovno, jer visoke koncentracije vode ka oksidativnom stresu. On obuhvata oštećenja ćelija i patološke promene koje prate neuravnoteženost oksidanasa nad antioksidansima u organizmu (Adams i sar., 1983; Sies, 1991). Sve veći broj podataka ukazuje na to da hronično i akutno povećanje koncentracije reaktivnih kiseoničnih vrsta ima značajnu ulogu u patogenezi starenja i brojnih bolesti, kao što su ateroskleroza, šećerna bolest, moždani udar, reumatoidni artritis, srčana slabost, arterijska hipertenzija i druga kardiovaskularna oboljenja. Uz to, većina kardiovaskularnih bolesti nastaje upravo kao komplikacija ateroskleroze (Sam-path i sar., 2001).

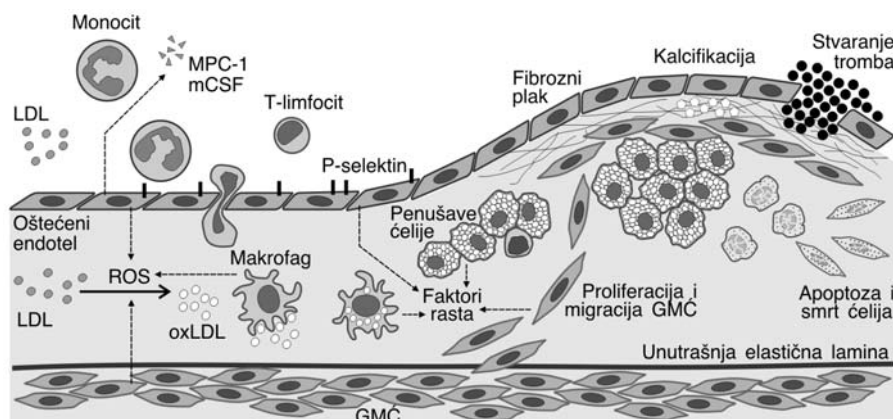
Ateroskleroza / Atherosclerosis

Ateroskleroza je kompleksan hronični inflamatorni proces. U njenom razvoju učestvuju brojni faktori, kao što su citokini i hiperholesterolemija. Međutim, primarno mesto zauzimaju reaktivne kiseonične vrste (engl. *Reactive oxygen species*, ROS), nastale u endotelnim ćelijama arterijskih krvnih sudova, leukocitima i makrofagima. Prema tzv. oksidativno modifikacionoj hipotezi, nativne čes-

tice lipoproteina male gustine (eng. *Low Density Lipoproteins*, LDL) nisu atero-gene, ali to postaju oksidativnom modifikacijom, pod uticajem svih najvažnijih ćelija arterijskog zida (Keaney, 2005). I minimalno oksidativno modifikovani LDL molekuli (MM-LDL), koji dolaze u subendotel, sadrže holesterol. Oksidacija LDL indukuje inflamaciju, a ona stimuliše adheziju i pojačani dotok monocita i utiče na sintezu i oslobađanje brojnih proinflamatornih citokina, kao što su interleukin-1 β , interleukin-6 i tumor nekrotični faktor- α .

Pri ishrani bogatoj holesterolom, kada se velika količina holesterola i njegovih estara hilomikronskim ostacima doprema do jetre, blokira se sinteza LDL receptora na hepatocitima. Zato se LDL čestice nagomilavaju u cirkulaciji. Značajan deo nezasićenih lanaca masnih kiselina holesterolskih estara i fosfolipida u oksidisanomodifikovanim LDL oksiduje se u hidroperokside, izoprostane i kratkolančane aldehide, koji imaju jake biološke efekte. Čak i minimalno modifikovani LDL stimulišu proizvodnju monocitnog hemotaksičnog proteina-1. On olakšava vezivanje monocita za endotel i njihovu migraciju u subendotelni prostor, u kome MM-LDL stimulišu generisanje monocitnog faktora stimulacije kolonija (M-CSF). On podstiče proliferaciju i diferencijaciju monocita u makrofage (Singh, 2005). Tokom oksidacije LDL-a čak do 50% holesterola se konvertuje u 7-ketoholesterol i druge oksisterole. Dalje, mnoge nezasićene masne kiseline estara holesterola i fosfolipida ćelijskih membrana se oksiduju u kompleksne smeše produkata, a apoB protein LDL čestica se intenzivno fragmentuje, uz pojavu aldehidnih modifikacija koje dovode do stvaranja malondildehida (MDA) i hidroksinonenala (HNE).

Razvoju ateroskleroze pogoduju i proizvodi peroksidacije ω -6 polinezasićenih masnih kiselina (ω -6 PUFA), hidroksialkenal i 4-hidroksinonenal. Oni su izrazito toksični jer izazivaju promene LDL molekula (Leonarduzzi i sar., 2005). S obzirom na to da se, osim lipidnog, menja i proteinski deo LDL čestica, LDL re-



Slika 1. Shematski prikaz razvoja ateroskleroze
Figure 1. Schematic presentation of atherosclerosis development

ceptori ih više ne mogu prepoznati, već ih fagocituju monociti diferentovani u zrele makrofage. Dok razlažu oksidisane lipoproteine makrofagi se transformišu u tzv. penušave ćelije (Witzum i Steinberg, 1991). One se spajaju i povezuju sa leukocitima, obrazujući masne trakaste naslage. Kako se proces nastavlja, penušave ćelije počinju da sekretuju faktore rasta koji izazivaju migraciju glatkomišićnih ćelija (GMC) arterijskog zida u intimu (sl. 1). Proliferacija glatkomišićnih ćelija, zajedno sa stalnim dotokom i nakupljanjem monocita i makrofaga, zamenjuje masne trake vezivno-tkivnim strukturama (fibroznim lezijama) koje se isturaju u lumen arterije (sl. 1). Proces fibroze se nastavlja, a može doći i do kalcifikacije tako stvorenih aterosklerotičnih ploča. Ove formacije, pored mrtvih penušavih ćelija u kojima su akumulirani oksidovani LDL, mogu da sadrže i mrtve glatke mišićne ćelije (Singh, 2005).

Hipertenzija / *Hypertension*

Sistolna hipertenzija je faktor rizika za mnoge vaskularne bolesti, uključujući aterosklerozu i moždani udar (Chobanian, 2003). Molekularna osnova ovog poremećaja je veoma složena, jer je više od 50 gena uključeno u regulaciju krvnog pritiska (Garbers, 1999). Pojačano istezanje zidova arterijskih krvnih sudova tokom arterijske hipertenzije i aktiviranje njihovih angiotenzinskih receptora tipa 1 indukuju aktivaciju i promenu položaja subjedinica (p47phox i rac1) multi-enzimskog kompleksa NADPH oksidaze u endotelu i u glatkomišićnim ćelijama arterijskih krvnih sudova (Wassmann, 2001). Oksidaza NAD(P)H se aktivira istovremeno sa 12/15-lipoksigenazom, uz pojačanu proizvodnju ROS-a, što sve zajedno dovodi do hipertenzije. Osim toga, NADPH oksidaza, koju aktivira angiotenzin II, glavni je izvor vaskularnog superoksidnog radikala ($O_2^{\cdot-}$), koji takođe, kao vrlo invazivan predstavnik ROS-a, izaziva značajna oštećenja. Na opisani način, oksidativni stres predstavlja mehanizam koji učestvuje u patogenezi, ne samo hipertenzije, nego i ateroskleroze (Zalba, 2001).

Srčana insuficijencija / *Heart failure*

Reaktivne kiseonične vrste mogu se oslobađati iz mitohondrija mišićnih ćelija srca, iz neutrofilnih granulocita (zbog aktivnosti ksantin-oksidaze i NAD(P)H oksidaza), iz makrofaga, endotelnih ćelija, glatkomišićnih ćelija arterijskih krvnih sudova, trombocita i drugih ćelija organizma. Hronično pojačano stvaranje ROS-a je povezano sa hipertrofijom leve srčane komore i razvojem srčane insuficijencije. Kontinuirano oslobađanje ROS-a, tokom srčane hipertrofije, najverovatnije ne potiče od NAD(P)H-oksidaza fagocitnih ćelija, već iz mitohondrija trombocita i ksantin-oksidaze. Aktivacija NAD(P)H oksidaze, kao odgovor na angiotenzin II, norepinefrin (NOR) i tumor nekrotični faktor-alfa (TNF-a), takođe doprinosi hipertrofiji miokarda. Osim toga, u remodeliranju insuficijentnog miokarda se uključuju i fibroza, deponovanje kolagena i aktivacija matriks-metallo-

proteinaza (MMP), a sve pod dejstvom reaktivnih kiseoničnih vrsta koje ih aktiviraju (Sorescu, 2002).

Reaktivne kiseonične vrste, sintetisane tokom ishemije i reperfuzije, indukuju apoptozu srčanih mišićnih ćelija (Aikawa i sar., 2000). Ona je povezana sa razvojem infarkta miokarda i sa kardiomiopatijama (Gottlieb, 1994; Olivetti, 1997), a pojačani gubitak srčanih mišićnih ćelija apoptozom vodi u srčanu insuficijenciju (Olivetti, 1997).

Šećerna bolest / *Diabetes mellitus*

Danas je sve jasnije da oksidativni stres značajno utiče na razvoj šećerne bolesti (lat. *Diabetes mellitus*). Prooksidativne promene koje se javljaju u redoks sistemu tiol/disulfid, ukazuju da su mitohondrije skeletnih mišićnih ćelija glavno mesto pojačanog stvaranja ROS-a kod ove bolesti. Opisano stanje bi moglo da se označi i kao mitohondrijski oksidativni stres. Ukoliko se ne primeni odgovarajuća terapija dolazi do masivnog trošenja skeletne muskulature (podseća na sarkopeniju tokom starenja).

Glavne biohemijske karakteristike šećerne bolesti su hiperglikemija i povećana koncentracija slobodnih masnih kiselina (eng. *Free Fatty Acids*, FFA) u krvi. Velika količina metabolita, posebno FFA, razgrađuje se i proizvodi se mnogo više elektronskih donora (NADH i FADH) nego pod fiziološkim uslovima. Da bi se zadovoljio pojačani dotok elektrona povećava se aktivnost respiratornog lanca. Na kraju se sistem zasiti i dolazi do inhibicije elektronskog prenosa na nivou mitohondrijskog kompleksa III (ubihinon – citochrom c reduktaza), što je praćeno intenzivnim stvaranjem superoksid-anjon radikala (Nishikawa i sar., 2000).

Razvoju ove bolesti doprinose i vrlo niska aktivnost sakupljača ROS-a u β -ćelijama endokrinog dela pankreasa (Lenzen i sar., 1996). Hiperglikemija, porast koncentracije proinflammatoryh citokina i lipida imaju glikolipotoksični efekat (Poitout i Robertson, 2008) i izazivaju smanjenje mase β ćelija, što takođe pogoduje razvoju šećerne bolesti. Hiperglikemija, nastala usled insulinske rezistencije, aktivira metaloproteinaze matriksa koje razlažu kolagen. Ovaj efekat je posebno izražen u aterosklerotičnim pločama, što direktno povezuje šećernu bolest i aterosklerozu (Kadoglou i sar., 2005).

Hiperglikemija može da izazove oštećenja tkiva na nekoliko načina. Jedan je neenzimsko glikozilovanje intracelularnih i ekstracelularnih proteina. Naime, glukoza ima reaktivne karbonilne grupe koje neenzimski reaguju sa aminogrupama proteina, formirajući reverzibilne proizvode („karbonilni stres“). Zatim se odigravaju reakcije, tokom kojih se preuređuju molekuli i formiraju hemijski srodne grupe, tzv. uznapredovali glikozilovani završni proizvodi (eng. *advanced glycation end products* -AGEs). Oni ostaju ireverzibilno vezani za proteine (Bucala i sar., 1992) i mogu da prouzrokuju promene kao što su smanjenje enzimске aktivnosti, oštećenje nukleinskih kiselina, unakrsno vezivanje i poremećaji u razlaganju proteina, kao i indukcija citotoksičnih puteva. Navedeni procesi su osnova patogeneze mnogih komplikacija šećerne bolesti (Thornalley i sar., 1998).

Moždani udar / *Stroke*

Mozak je u metaboličkom smislu jedan od najaktivnijih organa, ali uprkos tome ima malu rezervu energenata (glikogena i glukoze) i kiseonika. Stoga, njegov metabolizam potpuno zavisi od stalnog i pravovremenog snabdevanja neophodnim hranljivim materijama i kiseonikom, putem krvi. Da bi se to omogućilo, mozak ima dobro razvijenu mrežu krvnih sudova i veoma je osetljiv na ishemiju/reperfuziju.

Reaktivne kiseonične vrste imaju značajnu ulogu u patofiziologiji moždanog udara i drugih neuroloških poremećaja (Chan, 1994). U cerebralnoj ishemiji učestvuju tri glavne klase prooksidativnih enzima: (1) azot(II)-oksid sintaza; (2) ciklooksigenaza, ksantin-dehidrogenaza, ksantin-oksidaza i NAD(P)H-oksidaza; i (3) mijeloperoksidaza i monoamino-oksidaza. Reaktivne kiseonične vrste su uključene u oštećenja mozga tokom cerebralne ishemije i reperfuzije. Tako na primer, inducibilna azot(II)-oksid sintaza podstiče procese koji podstiču cerebralne endotelne ćelije na apoptozu (Xu i sar., 2000). Druga grupa enzima, uključujući ciklooksigenazu1 i visokoinducibilnu ciklooksigenazu2, omogućava nastanak superoksid-anjon radikal, u različitim tipovima ćelija parenhima ishemičnog mozga. Treća grupa enzima podstiče stvaranje hipohlorne kiseline i H₂O₂, kao glavnih oksidanasa u leukocitima i u ćelijama moždanog parenhima.

Poznato je da ROS oštećuju velike molekule jer izazivaju peroksidaciju lipida, oksidaciju proteina i DNK, što sve doprinosi ishemičnim moždanim oštećenjima i odumiranju neurona (Hall i Braugher, 1989; Chan, 1994; 1996). Iako kiseonični radikali mogu direktno da oštete neurone i druge ćelije mozga, postoje eksperimentalni dokazi o njihovoj ulozi u redoks signalizaciji. Njoj su prvenstveno izložene mitohondrije, u kojima kiseonični radikali utiču na oslobađanje citohroma-c kojim se remeti respiratorni lanac, enzime za popravku DNK i transkripcioni nuklearni faktor-κB, koji mogu da podstaknu neurone na apoptozu. Smatra se da bi bolje razumevanje navedenih biohemijskih mehanizma signalizacije u mitohondrijama, tokom oksidativnog stresa, moglo da se koristi kao terapijska mogućnost kod moždanog udara (Chan, 2001).

Reumatoidni artritis / *Rheumatoid arthritis*

Reumatoidni artritis, kao hronični autoimunski proces, još uvek je nepoznatog porekla. Primarno napada zglobove i dovodi do njihove destrukcije. Ovo sistemsko autoimuno oboljenje se karakteriše hroničnim zapaljenjskim procesima, praćenim infiltracijom zglobova makrofagima i T-limfocitima. Značajnu ulogu u patogenezi reumatoidnog artritisa ima proizvodnja slobodnih radikala (reaktivnih kiseoničnih i azotovih vrsta), na mestu inflamacije (Mapp i sar., 1995; Valko, 2007). Migracija i aktivacija monocita i limfocita u hipoksičnu sinovijalnu tečnost, kod reumatoidnog artritisa, omogućena je pojačanom ekspresijom odgovarajućih adhezivnih molekula (Mapp i sar., 1995).

Ispitivanja sprovedena poslednjih godina ukazuju na to da u razvoju reumatoidnog artritisa učestvuje i populacija sinovijalnih fibroblasta, tipična za reumatoidni artritis. Naime, posle aktivacije, ove ćelije proizvode citokine, hemokine, matriks metaloproteaze, koji reaguju sa okolnim zapaljenjskim i endotelnim ćelijama, podstičući razaranje zglobne hrskavice i kosti. Kao i u svakom drugom inflamatornom procesu, oslobođeni citokini i hemokini privlače T-limfocite, makrofage i neutrofilne granulocite (značajne proizvođače ROS-a) u reumatoidnu sinovijalnu tečnost. Usled toga se pojačava aktivnost fibroblasta, osteoklasta i drugih proinflamatornih ćelija (Huber, 2006).

Zaključak / Conclusion

Imajući u vidu ulogu slobodnih kiseoničnih radikala u nastanku brojnih oštećenja koja doprinose razvoju mnogih bolesti, prooksidativni enzimi i antioksidativne supstance su postali značajni objekti kliničkih ispitivanja. Tako se, u cilju ublažavanja prejakog oksidativnog stresa, praktikuje primena antioksidativnih supstanci, koje se unose hranom (vitamina C i E, folne kiseline i sl.). Odgovarajuće doze vitamina C omogućavaju obnavljanje funkcije endotela pacijenata obolelih od diabetes melitus-a. Međutim, u većini drugih kliničkih ispitivanja, efikasnost primene vitaminskih dodataka (kombinacija vitamina E i C) kod kardiovaskularnih bolesti nije dala zadovoljavajuće rezultate. To ne znači da u patogenezi vaskularnih bolesti ne učestvuju reaktivne kiseonične vrste, već neuspeh vitaminskih terapija navodi na zaključak da u budućnosti ispitivanja treba usmeriti prema izvoru ROS-a, a ne prema njihovim sakupljačima. Iz tog razloga se sve više pažnje posvećuje inhibiciji enzima koji učestvuju u proizvodnji slobodnih kiseoničnih radikala. Tako se danas koriste SOD-mimetici, koji eliminišu superoksidanjon radikal, a kod ishemičnih i vaskularnih oštećenja se primenjuju inhibitori ksantin-oksidaza, alopurinol (Pacher, 2006), inhibitori NAD(P)H-oksidaze – antihipertenzivne materije i sl. Trenutno dostupna antihipertenzivna sredstva, kao što su angiotenzin-konvertujući enzim inhibitor (ACE-inhibitor) i blokator angiotenzinskih receptora, takođe efikasno smanjuju aktivaciju NADPH-oksidaze. Slično tome, dokazano je da lekovi koji snižavaju koncentraciju LDL-holesterola (statini) smanjuju aktivaciju NADPH-oksidaze. Sve ovo omogućava doktorima humane i veterinarske medicine dodatne pristupe u lečenju kardiovaskularnih bolesti, a osnovni cilj svih navedenih kliničkih pristupa je smanjivanje oksidativnog stresa (Landmesser, 2002).

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENT:

Ovaj rad je deo naučno istraživačkih projekata u oblasti osnovnih istraživanja, evidencioni broj: 173034, 175061 i 31085, finansiranih od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. /

This work is a part of scientific research projects in the area of elementary research, numbers 173034, 175061 and 31085, financed by the Ministry for Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Adams JD, Lauterberg BH, Mitchell JR. Plasma glutathione and glutathione disulphide in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1983; 227: 749-54.
2. Aikawa R, Nawano M, Gu Y, Katagiri H, Asano T, Zhu W, Nagai R, Komuro I. Insulin Prevents Cardiomyocytes From Oxidative Stress-Induced Apoptosis Through Activation of PI3 Kinase/Akt. *Circulation*. 2000; 102: 2873-9.
3. Božić T, Stevanović J, Kovačević M, Jović S, Lukić S, Petakov M, Borozan S, Mijačević Z, Knežević M, Bulajić S. Toluene mediated oxidative stress and granulo-monocytogenesis. *Acta Veterinaria* 2003a; 53(4): 201-10.
4. Božić T, Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Borozan S, Popović D, Todorović D. Possible effects of depleted uranium (du): changes in cellular and biochemical values in peripheral blood of ruminants in exposed areas. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2003b; 9(4): 267-71.
5. Božić T, Stevanović J, Popović D, Vlaški M, Fišter S, Kovačević-Filipović M. Possible health effects of depleted uranium (du): examination of peripheral blood of ruminants in exposed areas. 22nd Meeting of the European Society of Veterinary Pathology. Olsztyn, Poland, 15-18 Sept, 2004: 56.
6. Bucala A, Cerami A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. *Adv Pharmacol* 1992; 23: 1-34.
7. Chan PH. Oxygen radicals in focal cerebral ischemia. *Brain Pathol* 1994; 4: 59-65.
8. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996; 27: 1124-9.
9. Chan PH. Reactive Oxygen Radicals in Signaling and Damage in the Ischemic Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2001; 21: 2-14.
10. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JLJ, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JTJ, Roccella EJ. Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee: Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42(6): 1206-52.
11. Garbers DL, Dubois SK. The molecular basis of hypertension. *Annu Rev Biochem*. 1999; 68: 127-55.
12. Gilmour MI, Park P, Selgrade MK. Ozone-enhanced pulmonary infection with *Streptococcus zooepidemicus* in mice. *American Review of Respiratory Diseases* 1993; 147: 753-60.
13. Gottlieb RA, Bureson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994; 94: 1621-8.
14. Hall ED, Braugher JM. Central nervous system trauma and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 303-13.
15. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press, Oxford 1999: 140-84.
16. Huber LC, Distler O, Turner I, Gay RE, Gay S, T. Pap. Synovial fibroblasts: key players in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2006; 45(6): 669-75.
17. Kadoglou NP, Daskalopoulou SS, Perrea D, Liapis CD. Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications. *Angiology* 2005; 56(2): 173-89.

18. Keaney JF. Oxidative stress and the vascular wall: NADPH oxidases take center stage. *Circulation* 2005; 112: 2585-858.
19. Landmesser U, Cai H, Dikalov S, McCann L, Hwang J, Jo H, Holland SM, Harrison DG. Role of p47phox in Vascular Oxidative Stress and Hypertension Caused by Angiotensin II. *Hypertension*. 2002; 40: 511-5.
20. Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 463-6.
21. Leonarduzzi G, Chiarpotto E, Biasi F, Poli G. 4-Hydroxynonenal and cholesterol oxidation products in atherosclerosis. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49(11): 1044-9.
22. Mapp PI, Grootveld MC, Blake DR. Hypoxia, oxidative stress and rheumatoid arthritis. *Br Med Bull* 1995; 51(2): 419-36.
23. Movat HZ. *The inflammatory Reaction*. Amsterdam, Oxford: Elsevier Scientific Publications, 1985.
24. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404(6779): 787-90.
25. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, Di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, Reed JC, Anversa P. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 1997; 336: 1131-41.
26. Pacher P, Nivorozhkin A, Csaba S. Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews* March 2006; 58, 1: 87-114.
27. Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev* 2008; 29: 351-66.
28. Sampath P, Khan-Merchant N, Penumetcha M, Santanam N. Oxidative stress in cardiovascular disease. *J Nuclear Cardiology* 2001; 8(3): 379-89.
29. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91: 31S-8S.
30. Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress and inflammation. *Annu Rev Nutr* 2005; 25: 151-74.
31. Sorescu D, Griendling KK. Reactive oxygen species, mitochondria, and NAD(P)H oxidases in the development and progression of heart failure. *Congest Heart Fail*. 2002; 8: 132-40.
32. Thornalley PJ. Cell activation by glycated proteins: AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol* 1998; 44: 1013-23.
33. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *Int J Biochem and C Biol* 2007; 39: 44-84.
34. Wassmann S, Laufs U, Bäumer AT, Müller K, Konkol C, Sauer H, Böhm M, Nickenig G. Inhibition of geranylgeranylation reduces angiotensin II-mediated free radical production in vascular smooth muscle cells: involvement of angiotensin AT1 receptor expression and Rac1 GTPase. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 646-54.
35. Witztum J, Steinberg D. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-92.

36. Xu J, He L, Ahmed SH, Chen SW, Goldberg MP, Beckman JS, Hsu CY. Oxygen-glucose deprivation induces inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine expression in cerebral endothelial cells. *Stroke* 2000; 31: 1744-51.
37. Zalba G, San Jose G, Moreno M, Fortuno M, Fortuno A, Beaumont F, Diez J. Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension*. 2001; 38: 1395-9.

ENGLISH

INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS ON DISEASE DEVELOPMENT

Tatjana Božić, Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, S. Jović, B. Dimitrijević, I. Ignjatović

There is ever increasing data indicating the vmost contribution of oxidative stress to the pathogenesis of numerous diseases (atherosclerosis, hypertension, heart failure, diabetes mellitus, stroke, rheumatoid arthritis, and others). Thus, in the pathogenesis of atherosclerosis the primary role is held by reactive oxygen species that are synthesized by endothelial cells of arterial blood vessels, leukocytes and macrophages. Furthermore, native particles of lipoproteins of small density become atherogenic through oxidation caused by reactive oxygen species. The oxidation of small-density lipoproteins stimulates the inflammatory process, and it in turn steps up adhesion and the inflow of monocytes and affects the synthesis and release of numerous proinflammatory cytokines involved in the further course of the process.

One of the reasons for the development of arterial hypertension is the simultaneous activation of NAD(P)H oxidase and 12/15-lipoxygenase, since it results in the stepped up production of reactive oxygen species. These stimulate the production of matrix metalloproteinase 2, which lead to vascular remodelling and to increased apoptosis of heart muscle cells. Stepped up apoptosis is linked with myocardial infarction, cardiomyopathies and the development of heart failure.

The sensitivity of β -cells of the endocrine part of the pancreas to reactive oxygen species favor the naturally low concentrations of the collectors of free radicals in them, as well as an increase in the concentration of proinflammatory cytokines, glucosis and lipids that induce a reduction in the mass and function of β -cells. Hyperglycemia in diabetes mellitus causes tissue damage through non-enzyme glycosylation of intracellular and extracellular proteins, which results in: reduced enzyme activity, damaged nucleic acid, disrupted natural decomposition of proteins, and activation of cytotoxic pathways. These processes are the basis of the pathogenesis of numerous complications of diabetes mellitus.

Since inducible nitrogen-oxide synthesis launches processes that stimulate apoptosis of cerebral endothelial cells, and superoxide-anion radicals, hypochloric acid and hydrogen peroxide damage the parenchyma of an ischemic brain and biomacromolecules (causing lipid peroxidation, oxidation of proteins and deoxyribonucleic acid), brain damage occurs during cerebral ischemia and reperfusion.

Key words: oxidative stress, atherosclerosis, hypertension, Diabetes mellitus, heart failure, stroke, rheumatoid arthritis.

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ

Татьяна Божиц, **Елка Стеванович**, Сунчица Борозан, С. Йович,
Б. Димитриевич, И. Игнатович

Всё больше данных указывает на большой вклад окислительного стресса патогенеза численных болезней (атеросклерозу, гипертензии, сердечной недостаточности, сахарной болезни, апоплексическому удару, ревматоидному артриту и пр.). Так, в патогенезе атеросклероза первичное место занимают реактивные кислородные виды, синтезирующие эндотельные клетки артериальных кровеносных сосудов, лейкоциты и макрофаги. При этом, нативные частицы липопротеинов малenькой густоты становятся атерогенные, окислением, вызванным реактивными кислородными видами. Окисление липопротеинов малenькой густоты стимулирует воспалительный процесс, а он усиливает адгезию и приток моноцитов и влияет на синтез и освобождение численных проинфламаторных цитокинов, включенных в дальнейшее течение процесса.

Одна из причин для развития артериальной гипертензии - одновременная активация НАД(П)Х оксидаз и 12/15-липоксигеназа, ибо происходит усиленным производством реактивных кислородных видов. Они пробуждают производство металлопротеиназа - 2 матрицы, приводящие до сосудистого ремоделирования и до усиленного апоптоза сердечных мышечных клеток и развитием сердечной недостаточности.

Чувствительности β -клеток эндокринной части поджелудочной железы на реактивные кислородные виды благоприятствуют природно низкие концентрации сборщиков свободных радикалов в них, словно и рост концентрации сборщиков свободных радикалов в них, словно и рост концентрации проинфламаторных цитокинов, глюкозы и липидов, индуцирующие уменьшение массы и функции β -клеток. Гипергликемия у сахарной болезни вызывает повреждение тканей неэнзимным гликозированием интрацеллюлярных и экстрацеллюлярных протеинов, вследствие чего: уменьшается энзимная активность, повреждают нуклеиновые кислоты, нарушается природное расщепление протеинов и активируются цитотоксические пути. Эти процессы и основа патогенеза многих осложнений сахарной болезни.

Принимая во внимание на это, что индуцибельная азот-окись синтаза двигает процессы, побуждающие апоптоз церебральных эндотельных клеток, а супероксид-анион радикал, гипохлорная кислота и в одород-пероксид повреждают паренхиму ишемического мозга и биомакромолекулы (вызывают перекисление липидов, окисление протеинов и дезоксирибонуклеиновой кислоты), в течение церебральной ишемии и реперфузии становятся повреждения мозга.

Ключевые слова: окислительный стресс, атеросклероз, гипертензия, сахарная болезнь, сердечная недостаточность, апоплексический удар и ревматоидный артрит

REZISTENCIJA SALMONELA NA ANTIBAKTERIJSKE LEKOVE I MERE KONTROLE U ŽIVINARSKOJ PROIZVODNJI*

RESISTANCE TO ANTIMICROBIALS DRUGS AND CONTROL MEASURES OF SALMONELLA SPP IN THE POULTRY INDUSTRY

Maja Velhner, Dubravka Potkonjak, Dragica Stojanović, D. Mitevski,
I. Stojanov, Jelena Petrović**

U radu je opisana prevalencija multiplo-rezistentnih salmonela od kojih su najpatogenije za ljude Salmonella enteritidis PT4 i Salmonella typhimurium DT104. U nekim zemljama saopštava se pojava novog soja S. typhimurium, koji je označen kao monofazni 4(5),12:i. Istaknuto je da namirnice animalnog porekla treba da budu bezbedne i bez rizika od pojave rezistentnih bakterija na antimikrobne lekove. Za smanjenje infekcija salmonelama neophodna je primena dobrog menadžmenta na farmama i primena HACCP-a u fabrikama hrane za životinje. U radu su opisane mere kontrole koje se primenjuju da bi se smanjila pojava salmoneloze, primenom vakcinacije i terapije antimikrobnim lekovima. Proizvođači pilića u razvijenim zemljama su motivisani da participiraju u programima mera za suzbijanje ili iskorenjivanje salmoneloze, zato što je javnost informisana o rizicima koji su prisutni u lancu proizvodnje hrane i njenoj bezbednosti. Pored toga, izvoz živine i proizvoda od živine je bolji u regionima gde Salmonella enteritidis i Salmonella typhimurium više nisu dominantne na farmama za uzgoj živine.

Ključne reči: salmonela, živinarstvo, rezistencija, vakcinacija, terapija

Uvod / Introduction

Mikroorganizmi su stekli mehanizme za rezistenciju pre primene antimikrobnih preparata, međutim njihova upotreba uslovlila je da se genetička kon-

* Rad primljen za štampu 09. 03. 2012. godine

** Maja Velhner, naučni savetnik, Dubravka Potkonjak, istraživač saradnik, Dragica Stojanović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Srbija; Darko Mitevski, DVM MSc MAM Dipl ACPV, Poultry Health Services Airdrie, Alberta; Igor Stojanov, naučni saradnik, Jelena Petrović, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Srbija

strukcija bakterija menja, odnosno prilagođava novim uslovima. Svakodnevna upotreba lekova samim tim doprinosi da se u prirodi održe bakterije koje su sposobne da prežive u prisustvu antibiotika u raznim ekološkim nišama i da prenesu mobilne genetičke elemente na srodne vrste. U cilju kontrole i praćenja načina upotrebe antimikrobnih agenasa u poljoprivredi, potreban je redovan monitoring na rezistenciju u laboratorijama humane i veterinarske medicine (Stojanov i sar., 2005; 2006; Jelesić i sar., 2007). Institut za kliničke i laboratorijske standarde (Clinical and Laboratory Standard Institute – CLSI) izdao je preporuku o standardnim laboratorijskim testovima koji se koriste za izvođenje antibiograma i utvrđivanje minimalnih inhibitornih koncentracija (MIK) za ispitivanje antibiotike i hemioterapeutike. Takođe, u mnogim zemljama su formirane referentne laboratorije koje prate pojavu rezistencije bakterija na antibiotike i utvrđuju rizike kojima je populacija ljudi svakodnevno izložena. Prema Programu mera publikovanom u Službenom glasniku broj 24/2011, i veterinarske laboratorije u našoj zemlji treba da prate i na godišnjem nivou prijavljuju rezistenciju i vrednosti MIK antibiotika za salmonelu prema preporukama CLSI.

O vrstama, uzrocima, načinima i kontroli širenja rezistentnih populacija mikroorganizama u prirodi, publikuje se godišnje veoma velik broj naučnih radova. Gotovo svakodnevno se otkrivaju nove mutacije na genima odgovornim za rezistenciju u zavisnosti od vrste bakterije i vrste antibiotika kojima su bakterije izložene. Rezistencija bakterija na stare lekove nastala u životnoj sredini kao posledica dugogodišnje primene antibiotika i dalje je aktuelna. Izučavanje nastanka rezistencije i načina postanka novih genetičkih varijacija kod bakterija, omogućava da se utvrdi na koji način rezistentne bakterije uspevaju da opstanu u sredini koju je čovek promenio upotrebom lekova.

U poljoprivrednoj proizvodnji veoma značajno mesto zauzimaju bakterije iz familije *Enterobacteriaceae*, odnosno najčešće rodovi *Salmonella* i *Escherichia*. Osim *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*, salmonelu retko uzrokuju kliničke probleme kod domaćih životinja. Infekcije ovim bakterijama su uglavnom latentne, dok bakterije poput *E. coli* u zavisnosti od toga kojoj grupi pripadaju mogu da izazovu oboljenja koja su praćena velikim brojem obolelih i uginulih životinja, a posledično mogu nastati veliki gubici u stočarstvu. Zahvaljujući tome što su infekcije salmonelama uglavnom skrivene, ljudi širom sveta su izloženi permanentnoj opasnosti od alimentarnih infekcija. Rod salmonela obuhvata oko 2500 vrsta koje se serološki razlikuju i gotovo sve su patogene za čoveka. Zbog široke rasprostranjenosti ovih bakterija u prirodi tretman životinja antimikrobnim lekovima je uobičajen. Posledično tome razvija se rezistencija na različite lekove, a rezistentni fenotip bakterije prenose na potomstvo, što može da dovede do njihovog perzistentnog širenja. Prevalenca rezistentnih bakterija zavisi od oblasti stočarske proizvodnje, od podneblja i kontinenta, a monitoring na rezistenciju je obavezan za sve bakterije koje uzrokuju zoonoze, kao i za indikatorske komensalne bakterije (EC 2003/99).

Klonalna i interkontinentalna rasprostranjenost salmonela / *Clonal and intercontinental spread of salmonella*

Salmonele pokazuju tendenciju stvaranja klonova koja je potvrđena genotipizacijom i rezistotipom. Poslednje decenije su obeležile pojave alimentarnih toksikoinfekcija uzrokovanih *Salmonellom enteritidis* fagotip PT4 i multiplo rezistentnom *Salmonellom typhimurium* DT104. *Salmonella enteritidis* PT4 poreklom je iz jata konzumnih nosilja i prenosi se na ljude uglavnom preko jaja. *Salmonella* Typhimurium DT104 (STDT104) je dokazana na farmi goveda i vrlo brzo je izolovana i iz živine i svinja. I jedan i drugi serotip su vrlo patogeni za ljude, zahvaljujući tvrdokornoj prevalenci u raznim ekološkim nišama. Za STDT104 se smatra da perzistira ne samo zahvaljujući upotrebi antibiotika u stočarskoj proizvodnji nego i zahvaljujući često nekontrolisanoj upotrebi lekova u humanoj medicini. U razvijene zemlje se multiplo rezistentne salmonele (MTR) „uvoze” uglavnom posle putovanja u Aziju i zemlje Mediterana, tako da su turisti najčešći vektor za multiplorezistentne sojeve. Epidemiološke veze kojima bi objasnili klonalni diverzitet je teško naći i stoga nema u literaturi nedvosmislenih dokaza da su klonalno rasprostranjene bakterije potekle isključivo iz domaćih životinja ili da su se prenele sa ljudi na farmske životinje (Davis i sar., 1999). U Irskoj je ustanovljena klonalna ekspanzija *Salmonella enteritidis* PT1 koja je ispoljila povećanu rezistenciju na nalidiksinsku kiselinu (MIK >128 µg/mL) sa jedinstvenom tačkastom mutacijom na *gyrA* i to Asp 87 → Tyr (aspartatne kiseline na kodonu 87 u tirozin), Kilmartin i sar 2005. Međutim i drugi serotipovi salmonela pokazali su tendenciju klonalne ekspanzije manje više vezane za pojedine regione, a ređe su prisutni kao interkontinentalno rašireni. *Salmonella virchow* rezistentna na nalidiksinsku kiselinu i sa jednom jedinom tačkastom mutacijom na *gyrA* genu (Asp 87 → Tyr), godinama se izoluje kod živine i ljudi u Izraelu (Solnik-Isaac i sar., 2007). U Mađarskoj je ustanovljena klonalna ekspanzija vrste *Salmonella* Infantis, multiplo rezistentne na nalidiksinsku kiselinu, streptomycin, sulfonamide i tetraciklin. Klonalna raširenost sojeva je potvrđena genotipizacijom, odnosno metodom elektroforeze u pulsnom polju (PFGE, pulsed field gel electrophoresis), na osnovu plazmidskog profila i detekcije integrona (855 bp), (Nógrády i sar 2007). Molekularna tipizacija *S. enteritidis* izolovane iz hrane i stolice ljudi (iz kolekcije izolata Instituta za javno zdravlje Vojvodine) kao i pilića (iz kolekcije izolata Naučnog instituta za veterinarstvo Novi Sad), metodom RAPD, pokazala je da se genotipski visoko srodne salmonele mogu naći kod ljudi i namirnica kao i kod živine. Utvrđivanje rezistencije na antibiotike i hemioterapeutike u navedenom istraživanju, pokazalo je da od 60 nasumice odabranih izolata samo 3 imaju multiplorezistentni fenotip. Jedan izolat iz pilića pokazao je rezistenciju na ampicilin (AMP), cefalotin (CFT), tetraciklin (TET) i nalidiksinsku kiselinu (NAL). Druga dva izolata iz stolice obolelih ljudi bila su rezistentna na tetraciklin, ampicilin i kombinaciju trimetoprim-sulfametoksazola (Kozoderović i sar., 2011). U našoj zemlji, među izolatima *S. infantis* koji su rezistentni na nalidiksinsku kiselinu (MIK 1024 i >1024 µg/mL (2010. i 2011. godina),

vrednosti MIK na ciprofloksacin pokazuju porast, ali rezistenciju na fluorohinolone ($\text{MIK} \geq 4 \mu\text{g/ml}$) još uvek nismo utvrdili. Trenutno u zemljama Evropske unije dominira salmonela pod serološkom oznakom 4 (5),12:i:- koja je monofazna i slična serotipu *S. typhimurium* od koje je najverovatnije potekla, ali kod koje ne može da se identifikuje fazni antigen 2. Ima više fagotipova monofaznog varijeteta serotipa *S. typhimurium* i nije ga lako dijagnostikovati. I pored toga u većim referentnim laboratorijama u razvijenim evropskim državama utvrđeni su razni fagotipovi (DT 120, DT 193) monofaznih salmonela koje su našle put do ljudi i najverovatnije potiču od svinja (Echeita i sar., 1999; Hauser i sar., 2010; Hopkins i sar., 2010 <http://www.eurosurveillance.org/>). Serološkom tipizacijom i PCR tehnikom je ustanovljeno da se kod monofaznih sojeva identifikovanih kao 4(5),12:i:- ne može PCR-om detektovati H1 antigeni kompleks (Echeita i sar., 1999; Hopkins i sar., <http://www.eurosurveillance.org/>). Pretpostavka je da je na *fljB* ili susednim genima došlo do tačkastih mutacija ili delecija. Ukoliko se fazni antigen 2 ne detektuje serološki, ali se detektuje PCR-om, smatra se da je do mutacija na *fljB* došlo mimo mesta vezivanja prajmera za H:1,2. Pošto je identifikacija serotipa 4 (5),12:i:- često otežana, suspekti izolati se šalju u referentne laboratorije koje su bolje opremljene. U pojedinim zemljama se monofazni sojevi salmonela pojavljuju sa različitim tipom rezistencije. U EU je najčešći antimikrobni profil za serotip 4(5),12:i:-, rezistencija na ampicilin, streptomycin, sulfonamide i tetracikline, dok se na Tajlandu i u Španiji, dodatno javlja rezistencija na gentamicin, kombinaciju trimetoprim-sulfametoksazola i/ili hloramfenikol. Izolati multiplo rezistentih monofaznih „*S. typhimurium* like“ salmonela nemaju integron klase 1, a geni za rezistenciju su locirani na hromozomu. Izuzetak su izolati iz Španije koji na plazmidu imaju integron sa genskim kasetama za streptomycin, sulfonamide i tetracikline. Metodom PFGE izolata sa fenotipom 4(5),12:i:-, dokazano je da potiču od *S. typhimurium* i to u više klonskih varijeteta nastalih nezavisno jedni od drugih. U prilog tome govori njihova geografska zastupljenost i genotipsko-fenotipska osobenost kao i diverzitet (Hopkins i sar <http://www.eurosurveillance.org/>).

Kontrola salmonela u žvinarstvu i praćenje rezistencije na antibiotike / *Salmonella control in the poultry industry and antimicrobial resistance*

U žvinarскоj proizvodnji salmonele predstavljaju veliki problem, prvenstveno zbog mogućnosti infekcije ljudi. Jednom kontaminirana farma teško može da se sanira, što je takođe povezano sa troškovima za dezinfekciju i dodatno, veće angažovanje radne snage. Salmonele se lako i brzo prenose unutar populacije životinja na farmi. U industrijskom žvinarstvu u našem regionu često u praksi, prilikom nalaza salmonela, primenjuju se antimikrobni lekovi i posle toga vrši kontrola nakon izvršene terapije. Ukoliko je uzorkovanje izvršio farmer i nađena je salmonela vrši se ponovna kontrola od strane veterinarske inspekcije. Međutim ukoliko je nalaz na salmonele pozitivan posle uzorkovanja od strane ovlašćenog veterinarskog inspektora rezultat se smatra zvaničnim. Stav autora

ovog rada je da pozitivan nalaz ne treba osporavati. Primenom antibiotika u stočarstvu potencira se šansa za razvoj multiple rezistencije bakterija na antimikrobne lekove. Rezistencija kod salmonela može da dovede do komplikacija u lečenju obolelih ljudi, posebno starih osoba, imunokompromitovanih bolesnika ili dece. Saniranje infekcija uzrokovanih salmonelama i minimiziranje njenog opstanaka u lancu proizvodnje hrane je važan zadatak cele zajednice, a u stočarskoj proizvodnji jedan je od glavnih ciljeva (Velhner i sar., 2005b; Stojanov i sar., 2007). Infekcije pilića uzrokovane salmonelama se mogu smanjiti primenom stamping out metode, i primenom adekvatnog menadžmenta, čak i bez upotrebe antibiotika, vakcina i probiotika. Ipak, navedeni pristup je bio uspešan samo u malom broju zemalja, odnosno uglavnom u skandinavskim zemljama i Danskoj (Bisgaard, 1992), i to isključivo zbog primene stamping out metode. U kontroli salmonela u stočarskoj proizvodnji putem dobrog menadžmenta primenjuje se piramidalni program. Prvo se saniraju farme koje služe za odgoj reproduktivnog materijala na kojima su izolovane salmonele i sva inficirana jata moraju se poslati na klanje iz nužde. Potrebno je više godina učestalih kontrola, da bi se postigao cilj, kojim su sva jata za reprodukciju slobodna od salmonela. Prema regulativi EU (EC 1003/2003) za svih 5 najučestalijih serotipova, trenutno *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. hadar*, *S. virchow* i *S. infantis*, prevalencija ne sme biti veća od 1%. Međutim, potrebno je da se i drugi serotipovi registruju, prijave i da se prati njihova zastupljenost u celokupnoj živinarskoj proizvodnji (EC 2160/2003). Paralelno sa programom sanacije jata koje služi za reprodukciju, sanira se problem i u inkubatorskim stanicama i zaoštrava kontrola stočne hrane. Tek na kraju programskog rada na više nivoa, dolaze na red farme za uzgoj tovnog materijala i za odgoj konzumnih nosilja. U razvijenim zemljama su Programi kontrole salmonela bili subvencionisani od strane države samo nekoliko godina. Posle toga, ceo finansijski teret kontrole i sanacije, snosili su proizvođači. Motivacija za uspešniju i bezbedniju proizvodnju je potekla od više cene gotovih proizvoda, veće šanse za izvoz, bolje reklame i bila je svakako vezana i za smanjenje troškova sanacije. Veća svest potrošača o kvalitetu namirnica uticala je na to da se permanentno primenjuje program eradikacije salmonela u živinarstvu razvijenih zemalja. Etiketa „Salmonela free“ (proizvod slobodan od salmonela) postala je stvar prestiža i jedan od bitnih ciljeva u razvijenim stočarskim zemljama (Bisgaard 1992).

Vakcinacija i dijagnostika / *Vaccination and diagnostic*

Vakcinacija protiv salmonela se sprovodi primenom atenuiranih i inaktivisanih vakcina ili kombinacijom jednih i drugih. Nezavisno od izbora modela vakcinacije, uspeh je delimičan, jer iako je nalaz salmonela u parenhimatoznim organima manji, salmonele se ne eliminišu u potpunosti. Serološki testovi (poput ELISA testa) mogu se koristiti kao dopuna dijagnostici salmonela. Naime, infekcija se teže otkriva ukoliko su jata vakcinisana. Ipak, naša iskustva u dijagnostici salmonela govore u prilog bakteriološkoj kontroli, a serološka testiranja treba da

budu po slobodnom izboru. Nismo imali uspeha u ranoj detekciji antitela na salmonele kod mladih jata koja su bila pred pronošanjem, ali smo, sa druge strane, u jatima kokoši nosilja koja su prošla špic proizvodnje, serološkim kontrolama mogli da utvrdimo nivo infekcije u jatima (Velhner i sar., 2004; Potkonjak i sar., 2007; Potkonjak i sar., 2009). Naše mišljenje je da bakteriološke analize imaju nedvosmislen prednost zato što izolati salmonela mogu da se ispituju na prisustva rezistencije na antibiotike, a takođe je moguća i tipizacija radi epidemioloških ispitivanja (Velhner i sar., 2005a; Potkonjak i sar., 2010). Salmonele iz živinarskih farmi i pilića se u suštini lako izoluju na kvalitetnim bakteriološkim podlogama ako je uzorak pravilno inokulisan. Bakteriološke analize nisu skupe, ako se ima u vidu da se u laboratoriju može dostaviti zbirni uzorak i da bris sa površina i opreme ili nazuvaka, ukoliko je pozitivan, predstavlja siguran pokazatelj o prisustvu salmonela u jatima pilića. S obzirom na invazivnost salmonela (Velhner i sar., 2005) i na činjenicu da ih je zapravo teško eliminisati sa kontaminiranih farmi, bakteriološka kontrola je neizostavna i treba da se sprovodi barem prema zahtevima važećeg zakona (Službeni glasnik RS, br. 91/05 i 30/10) i prema programu mera (Službeni glasnik RS 21/12).

Antimikrobna terapija / *Antimicrobial therapy*

Primena antimikrobnih lekova u živinarskoj proizvodnji se može smatrati samo privremenom merom, naročito kada su u pitanju roditeljska jata pilića i eksploatacija roditeljskih pilića. Antibiotici će samo privremeno eliminisati salmonele iz intestinalnog trakta. Kao posledica njenog naknadnog izlučivanja salmonele će se i dalje uspešno diseminirati u lancu primarne proizvodnje i naći put do trpeze. Za sada se ipak mora primenjivati tretman antibioticima kako bi se smanjilo izlučivanje salmonela i izbegli veliki gubici koje bi živinarstvu nanela primena *stamping out* metode. Prelazni period koji nam je dat od strane zakonodavca treba da se upotrebi tako da se živinarska industrija osavremeni, uz primenu metode dobre prakse menadžmenta i HACCP sistema u fabrikama stočne hrane. Dobar menadžment podrazumeva da su farme i svi prilazni putevi pod intenzivnom kontrolom od strane farmera, da je pranje ruku i presvlačenje radnika obavezno, a farma pripremljena za useljenje pilića tek posle intenzivnog čišćenja, pranja i sušenja, a dezinfikovana najsavremenijim tehnikama i dezinficijensima. Ukoliko se u živinarskoj industriji u Srbiji ne bude sprovodila striktna kontrola ulaska i izlaska radnika, vozila i opreme i ne bude sprovodio program kontrole glodara, teško je predvideti teškoće i finansijski krah koji čeka ovu granu stočarske proizvodnje. Primena antibiotika u poslednjoj trećini tova pilića je veoma rizična i treba da se izbegava. Savezna administracija za lekove i lekovita sredstva u SAD (FDA) je u septembru 2005. godine zabranila upotrebu preparata Baytril (enrofloksacin) u živinarskoj industriji u SAD. Lek se i dalje preporučuje za lečenje pasa, mačaka i goveda. Enrofloksacin je u SAD zabranjen za tretman živine zbog rizika od nastanka rezistencije *Campylobacter* vrsta na hinolone. Kompanija Bayer koja proiz-

vodi Baytril je vodila višegodišnji spor sa ciljem da lek ostane na tržištu i za tretman pilića, ali je on ipak zabranjen. U SAD za lečenje respiratornih infekcija i problema uzrokovanih vrstom *E. coli* od 2005. godine moraju da se koriste drugi lekovi. Rezistentne salmonele predstavljaju dodatni rizik za ljude. Pošto je terapija antimikrobnim lekovima samo privremeno rešenje, dobar menadžment će uvek predstavljati najbolji metod za prevenciju svih infektivnih agenasa, koji mogu štetno uticati na proizvodne rezultate u stočarstvu. Prema iznetom, antibiotici takođe predstavljaju hazard, a u najboljem slučaju samo privremenu meru, kojom se ne mogu rešiti problemi u primarnoj proizvodnji. Za sada u Republici Srbiji podatke o jatima živine inficirane salmonelama treba koristiti za planiranje preventivnih mera, a kontrolu na farmi vršiti po važećem zakonu (Službeni glasnik RS, br. 7/10 i 76/10). Višestruka korist za farmere i celokupnu zajednicu ostvarila bi se angažovanjem epizootiologa i veterinarskih inspektora u otkrivanju izvora infekcije i puteva njenog širenja na druge lokacije.

Da li je eradikacija salmonela moguća? / *Is eradication of salmonella possible?*

Potpuna eradikacija salmonela prema našem mišljenju nije moguća. Ekspanzija *S. Enteritidis* i *S. typhimurum* uzrokovala je u Evropi najveći broj slučajeva salmoneloze kod ljudi početkom devedesetih godina prošlog veka (77,1%). I dalje su u vrhu broja epidemija u EU, što je dovelo do zaoštavanja zakonskih propisa u pogledu SE i ST u razvijenim zemljama Evropske unije i šire (Forshell i Wierup, 2006; Council Directive 92/117/EEC). U zemljama u kojima *S. Enteritidis* i *S. typhimurum* nisu više u vrhu liste najčešćih serotipova, javljaju se drugi serotipovi koji takođe uzrokuju tvrdokorne infekcije kod pilića koje je teško sanirati. Najupečatljiviji primeri su ekspanzija *Salmonella java* u Holandiji početkom 2000. godine i takođe u Nemačkoj i Luksemburgu. Od ukupnog broja izolata u oblasti živinarstva u Holandiji *S. java* je izolovana u odnosu na druge serotipove čak 61% u 2002. godini. *Salmonella java* je multirezistentna i to na trimetoprim, kanamicin, neomicin i nalidiksinsku kiselinu. Takođe, *S. java* pokazuje povećanu rezistenciju na flumekvin, a MIK za ciprofloksacin je povećana i iznosi 1 µg/mL (van Pelt i sar., 2003).

NAPOMENA / ACKNOWLEDGMENTS:

Rad je finasiran od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, Projekat broj TR31071 i od strane Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj, AP Vojvodine, Projekat broj APV 3802/2011-12. /

This work has been financially supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia, Project number TR31071 and by a grant from the Provincial Secretariat for Science and Technological Development, Project number APV 3802/2011-12.

Literatura / References

1. Bisgaard M. A voluntary Salmonella control programme for the broiler industry, implemented by the Danish Poultry Council. *Int J Food Microbiol* 1992; 15: 219-24.
2. Commission Regulation (EC) No 1003/2003.
3. Council Directive 92/117/EEC of December 1992 concerning measures for protection against specified zoonoses and specified zoonotic agents in animals and products of animal origin in order to prevent outbreaks of food-borne infections and intoxications.
4. Davis MA, Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Gay JM, Gay C, Gearhart L., DiGiacome R. Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from humans and cattle in Northwestern United States, 1982-1997. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 802-6.
5. Echeita MA, Aladuena A, Cruchaga S, Usera MA. Emergence and spread of an atypical *Salmonella enterica* subsp *enterica* serotype 4,5,12:i:-strain in Spain. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3425.
6. Forshell LP, Wierup M. Salmonella contamination as significant challenge to the global marketing of animal food products. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2006; 25:541-54.
7. Jelesić Z, Kozoderović G, Velhner M, Mihajlović-Ukropina M. Quinolone-resistance in human and poultry isolates of salmonella enteritidis. *Microbiologia Balcanica*, 5th Balcan Congress of Microbiology, 24-27 October 2007, Budva, 2007: 103.
8. Kilmartin D, Morris D, O'Hare C, Corbett-Feeney G, Cormican M. Clonal expansion may account for high levels of quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Appl Environ Microb* 2005; 71: 2587-91.
9. Kozoderović G, Velhner M, Jelesić Z, Stojanović I, Petrović T, Stojanović D, Golić N. Molecular typing and antimicrobial resistance of *Salmonella Enteritidis* isolated from poultry, food and humans in Serbia. *Folia Microbiol* 2011; 56 : 66-71.
10. Hauser E, Tietze E, Helmut R, Junker E, Blank K, Prager R, Rabsch W, Appel B, Fruth A, Malorny B. Pork contaminated with *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:-, an emerging health risk for humans. *Appl Environ Microb* 2010; 76: 4601-10.
11. Hopkins KL, Kirchner M, Guerra B, Granier SA, Lucarelli C, Porrero MC, Jakubczak A, Threlfall EJ, Mevius DJ. Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Europe: a new pandemic strain. *Euro Surveill*. 2010;15(22):pii=19580. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19580>
12. Nógrády N, Tóth Á, Kostyák Á, Pászti J, Nagy B. Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonella infantis* in broiler chickens and humans in Hungary. *J Antimicrob Chemoth* 2007; 60: 645-8.
13. van Pelt W., van der Zee H., Wannet WJB, van de Giessen AW, Mevius DJ, Bolder NM, Komijn RE, van Duynhoven YTHP. Explosive increase of *Salmonella* Java in poultry in the Netherlands: consequences for public health. *Eurosurveillance* 2003; 8(2):pii=398. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=398>
14. Potkonjak D, Velhner M, Orlić D, Kapetanov M, Živkov-Baloš M, Stojanović D. Serological control on salmonella in some poultry flocks in Vojvodina region. *Lucrari Stiintifice* 2007; 40: 740-4.

15. Potkonjak D. Monitoring roditeljskih jata Gallus gallus na prisustvo paratifusnih salmonela. Magistarska teza, Novi Sad, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, 2009.
16. Potkonjak D, Velhner M, Kapetanov M, Stojanović D, Orlić D. Značaj biosigurnosti i vakcinacije za prevenciju i kontrolu infekcija salmonelama paratifikus grupe u jatima živine. Zbornik kratkih sadržaja simpozijuma Stočarstvo, veterinarska medicina i ekonomika u ruralnom razvoju i proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane sa međunarodnim učešćem. Divčibare, 20-27. jun, 2010. Novi Sad, Poljoprivredni fakultet, 2010: 33.
17. Pravilnik o utvrđivanju mera za rano otkrivanje, dijagnostiku, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje infekcija živine određenim serotipovima salmonela. Sl. glasnik RS br. 7/2010.
18. Pravilnik o izmenama i dopunama Pravilnika o utvrđivanju mera za rano otkrivanje, dijagnostiku, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje infekcija živine određenim serotipovima salmonela. Sl. glasnik RS br. 76/2010.
19. Pravilnik o utvrđivanju Programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2011. godinu. Sl. glasnik RS 24/2011.
20. Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council on the control of Salmonella and other specified food-borne zoonotic agents.
21. Solnik-Isaac H, Weinberger M, Tabak M, Ben-David A, Shachar D, Yaron S. Quinolone resistance of Salmonella enterica serovar Virchow isolates from human and poultry in Israel: Evidence for clonal expansion. J Clin Microbiol 2007; 45: 2575-9.
22. Stojanov I, Velhner M, Orlić D. Uticaj izbora vrste uzorka na izolaciju *Salmonella* spp. iz materijala koji potiče od živine. Veterinarski glasnik 2005; 59(Dodatak 1-2): 289-96.
23. Stojanov I, Kapetanov M, Grgić Ž, Potkonjak D. Osetljivost na antibiotike izolata salmonella enterica iz živinskih materijala. Savremena poljoprivreda 2006; 55(3-4): 152-6.
24. Stojanov I, Orlić D, Kapetanov M, Velhner M. Značaj vrste materijala za izolaciju salmonella spp. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2007; 7(2): 173-7.
25. Velhner M, Orlić D, Potkonjak D, Kapetanov M, Lazić S. Utvrđivanje titra specifičnih antitela na Salmonella Enteritidis ELISA tehnikom u nekoliko odabranih jata kokoši nosilja. Veterinarski glasnik 2004; 58: 319-26.
26. Velhner M, Plavša N, Rackov O, Orlić D. Analiza opasnosti i faktora rizika od infekcije izazvane salmonelama i determinacija kritičnih kontrolnih tačaka u lancu proizvodnje u industrijskom živinarstvu. Veterinarski glasnik 2005a; 59: 453-61.
27. Velhner M, Potkonjak D, Kapetanov M, Orlić D. Bakteriološko ispitivanje pilića iz Južnobačkog i Sremskog okruga na prisustvo salmonela. Veterinarski glasnik 2005b; 59: 297-303.
28. Velhner M, Stojanov I, Potkonjak D, Kapetanov M, Orlić D, Rašić Z. Salmonella enteritidis isolation from broiler chickens infected with low doses. Acta Veterinaria 2005, 55: 183-91.
29. Zakon o veterinarstvu. Sl. glasnik RS, br. 91/2005.
30. Zakon o izmenama i dopunama Zakona o veterinarstvu. Sl. glasnik RS, br. 30/2010.

ENGLISH

RESISTANCE TO ANTIMICROBIALS DRUGS AND CONTROL MEASURES OF *SALMONELLA* SPP IN THE POULTRY INDUSTRY

Maja Velhner, Dubravka Potkonjak, Dragica Stojanović, D. Mitevski, I. Stojanov, Jelena Petrović

The worldwide prevalence of multiple resistant *Salmonella* spp is described. Clonally distributed *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium DT104 are among the most pathogenic strains for humans. Recently there have been reports on the prevalence of ST "like" monophasic 4(5),12:i strains in some countries. Vaccination strategy and antimicrobial agent therapy is also briefly discussed. Products of animal origin must be safe and without the risk of antimicrobial resistance. Subsequently, the good management practice at farm level and HACCP in feed factories are required to cope with salmonella infections. Poultry producers in developed countries have been motivated to participate in salmonella control programs, because of public awareness on safe food and risks in the food chain. Export of poultry and poultry products is more successful in the regions where *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium have been eradicated.

Key words: salmonella, poultry, resistance, vaccination, therapy

РУССКИЙ

СОПРОТИВЛЕНИЕ САЛЬМОНЕЛЛ НА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВА И МЕРЫ КОНТРОЛЯ В ПТИЦЕВОДЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Мая Велхнер, Дубравка Потконяк, Драгица Стоянович, Д. Митевски, Игор Стоянов, Елена Петрович

В работе описана превалентность мультиплло-сопротивляемых сальмонелл из которых самые патогенные для людей *Salmonella Enteritis PT4* и *Salmonella Typhimurium DT104* обозначенный как монофазовый 4(5), 12:i. Выдвинуто, что пищевые продукты животного происхождения должны быть безопасные и без риска от явления сопротивляемых бактерий на антимикробные лекарства. Для уменьшения инфекций сальмонеллами необходимо применение хорошего менеджмента на фермах и применение HACCP-а в звюдах корма. В работе описаны меры контроля, применяемые, чтобы уменьшилось явление сальмонеллёза, применением вакцинации и терапии антимикробными лекарствами. Производители цыплят в развитых странах мотивированы (частично) денежно участвовать в программах мер для преодоления или искоренения сальмонеллёза, потому, что общественность информирована о рисках, присутствующие в цепи производства пищи и её безопасности. При этом, вывоз домашней птицы и продуктов из домашней птицы лучший в регионах, где *Salmonella Enteritis* и *Salmonella Typhimurium* больше не доминантные на фермах для разведения домашней птицы.

Ключевые слова: сальмонелла, птицеводство, сопротивление, вакцинация, терапия

**PRIOLOG SAGLEDAVANJU POTENCIJALA PRIRODNIH
RESURSA SJENIČKO – PEŠTERSKE VISORAVNI ZA
ORGANIZOVANJE ORGANSKE OVČARSKE PROIZVODNJE***
*CONTRIBUTION TO REVIEWING POTENTIALS OF NATURAL
RESOURCES OF THE SJENICA-PEŠTER PLATEAU FOR ORGANIZING
ORGANIC SHEEP PRODUCTION*

Mila Savić, S. Vučković, S. Jovanović**

U radu su prikazani rezultati ispitivanja mogućnosti za organizovanje i razvoj organske proizvodnje u ovčarstvu, na području Sjeničko-pešterske visoravni. Rezultati ispitivanja prinosa, sastava flore i hemijskog sastava, kao i nivo štetnih materija pokazuju da postoje uslovi za razvoj organske proizvodnje, naročito organskog jagnječeg mesa. Na osnovu poznatih osobina sjeničko-pešterski soj pramenke predstavlja najpogodniji soj za organizovanje ovčarske organske proizvodnje. Organska ovčarska proizvodnja može umnogome da doprinese ruralnom razvoju i promociji ovog područja.

Ključne reči: organska proizvodnja, ovčarstvo, biljni resursi, ruralni razvoj

Uvod / Introduction

Intenzifikacija poljoprivredne proizvodnje, kako ratarske tako i stočarske, donela je mnogo koristi ljudskoj zajednici, međutim, uočeni su negativni efekti ove proizvodnje. Osnovni negativni efekti koji prate konvencionalnu, intenzivnu poljoprivrednu proizvodnju ogledaju se u eroziji zemljišta i smanjenju biodiverziteta, animalnim proizvodima koji se dobijaju od životinja koje se gaje u uslovima hroničnog stresa, prisustvu rezidua antibiotika i hemijskih proizvoda za zaštitu bilja.

* Rad primljen za štampu 27. 03. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Mila Savić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; dr sc. Savo Vučković, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu; dr sc. med. vet. Slobodan Jovanović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Nasuprot intenzivnoj proizvodnji, organska proizvodnja se oslanja na poluintenzivne sisteme proizvodnje, rotaciju kultura, prirodne biljne resurse, ispašu i korišćenje skloništa za životinje u slučaju nepogoda. Ovakva proizvodnja je u osnovi agroekološka. Osnovna ideja uvođenja organskih sistema proizvodnje je prilagođavanje proizvodnje prirodnim uslovima, što omogućava oporavak staništa, biodinamičku poljoprivredu i samoodrživo stočarstvo. Ovakva proizvodnja zahteva veće angažovanje radne snage za 10% – 15%, što unekoliko povećava troškove, ali u isto vreme, obezbeđuje i veću zaposlenost na selu, umanjujući depopulacione efekte intenzifikacije u poljoprivredi i doprinosi razvoju ruralnih sredina.

Prema definiciji koju je dala FAO organizacija organska poljoprivreda podrazumeva „proces održivog razvoja ruralne sredine u skladu sa raspoloživim resursima, tradicijom, biodegradabilnim potencijalom staništa i predstavlja zao kruženu i celovitu farmsku proizvodnju, ratarsku i stočarsku, čime je obuhvaćeno očuvanje i obnova prirodnih resursa kao i povratak tradicionalnim vrednostima i znanjima”. Drugim rečima, organska poljoprivreda podrazumeva izbegavanje i restrikciju upotrebe mineralnih đubriva, herbicida i uopšte pesticida, kao i hemoterapeutika u cilju smanjenja njihove koncentracije u biljnim i animalnim proizvodima (Hoste, 2011). Da bi se uz redukovanu primenu hemizacije i povećanje radne snage očuvala ekonomska dobit, neophodno je da se pažljivo koriste prirodni resursi, naročito pašnjaci i livade, da se racionalno iskorišćavaju animalni genetički resursi i promovišu tradicionalni proizvodi karakteristični za region.

Organska proizvodnja i strategija održivog razvoja ruralnih oblasti u Srbiji / *Organic production and strategy for sustainable development of rural areas in Serbia*

Najvažniji dokument koji se odnosi na ruralni razvoj za period 2007–2013. godine u EU je Uredba ECbr. 1698/2005. Ovom uredbom se politika ruralnog razvoja fokusira na poboljšanje konkurentnosti poljoprivrednog sektora, unapređenje životne sredine i ambijenta, poboljšanje kvaliteta života u ruralnim oblastima i podsticanje raznovrsnosti u ruralnim ekonomijama. Ruralne oblasti pokrivaju 85% ukupne teritorije Srbije. Ove oblasti obuhvataju uglavnom planinske regione, koji se karakterišu sa malom gustinom naseljenosti (ispod 150 stanovnika po km²), negativnim demografskim promenama, nedovoljno razvijenom infrastrukturom. Ekstenzivna i mešovita poljoprivreda sa niskom produktivnošću, malim tržišnim viškovima, nizak stepen diverzifikacije su dominantne u većini ruralnih oblasti.

U ruralnim oblastima je koncentrisana većina prirodnih resursa sa bogatim ekosistemima i bogatim biodiverzitetom. Organizovanje ovčarske proizvodnje na organskim principima u mnogome može doprineti racionalnom korišćenju prirodnih resursa, kao i dopunjavanju strategije održivog razvoja lokalnih ruralnih zajednica (Savić i sar., 2007).

Veći broj studija ukazuje na razlike u kvalitetu jagnječeg mesa iz organske i konvencionalne proizvodnje. To bitno utiče na veću potražnju za mesom iz organske proizvodnje, čini ga konkurentnim proizvodom na međunarodnom tržištu i direktno doprinosi razvoju i promociji regiona (Angood i sar., 2008; Leifert i sar., 2007). S obzirom na to, započeta su ispitivanja prirodnih resursa Sjeničko-peštarske visoravni sa ciljem da se ispita mogućnost za organizovanje organske proizvodnje u ovčarstvu. Ispitivanjima su obuhvaćene geografske i klimatske karakteristike regiona, mogućnost korišćenja hraniva iz zaokružene proizvodnje, kao i izbor rase ovaca za organsku proizvodnju.

Geografske i klimatske karakteristike Sjeničko-peštarske visoravni / *Geographic and climatic characteristics of the Sjenica-Pešter plateau*

Sjeničko-peštarska visoravan je prostrana zaravan u jugozapadnoj Srbiji, u centralnom području Starog Vlaha. Njene granice sa zapadne strane su na ušću reke Kladnice u Uvac, dalje se pruža dolinom reke Valjušnice, pa preko Velike Ravni, Visokog Brda i Suhobora (1453 m) izlazi na Krst (1253 m), odakle se spušta na Karaulu i silazi u reku Uvac. Tu napušta Uvac, pa preko grebena Ozren planine izbija do Jelenka (1617 m) na Giljevi, odakle produžava na jug do izvorišta reke Crnče, pa preko Goduše izlazi na Dobru Vodu (1394 m) gde se završava.

Klima je znatno oštija, a u nekim elementima i ekstremnija od klime drugih područja Srbije, sličnih nadmorskih visina. Zime su po pravilu oštre, duge i sa velikim snežnim pokrivačem, mada se povremeno javljaju i golomrazice sa veoma niskim temperaturama, koje mogu da utiču nepovoljno na gajene biljke, pa i trave, naročito sejanih travnjaka u mlađim fazama razvika, na njihovo prezimljavanje i proizvodnost. Pored temperature, jedan od bitnih faktora klime čiji se uticaj odražava na vegetaciju, jeste količina padavina i njen raspored tokom godine, kao i relativna vlažnost vazduha. Količine padavina (višegodišnji proseki 727 mm) znatno variraju po godinama, sa tendencijom opadanja. Ovakvi klimatski uslovi otežavaju, a u nekim godinama i ugrožavaju biljnu proizvodnju. Ograničen je izbor gajenih biljaka, pa i krmnih, koje ovde mogu uspevati. Ne gaji se kukuruz, ozima strna žita (ovas i ječam), ozime krmne leguminoze (stočni grašak i grahorice), krmni sirkovi, retko uspevaju deteline, posebno lucerka. U ovakvim ekološkim uslovima izrazito dominiraju travnjaci, odnosno prirodne livade i pašnjaci (Vučković i sar., 2004).

Mogućnost korišćenja hraniva iz zaokružene proizvodnje / *Possibilities for using feed from closed-cycle production*

Ishrana životinja u samoodrživim organskim sistemima proizvodnje se zasniva na korišćenju hraniva iz zaokružene proizvodnje. Kada se radi o ishrani preživara prihvaćeno je više modela, pri čemu se sve više naglašava pozitivan efekat gajenja životinja na paši i ishrana senom u staji (Haas i sar., 2007). Kao

prednosti ovog modela uzgoja, navode se pozitivni efekti na zdravlje životinja, životnu sredinu, kvalitet i zdravstvenu bezbednost proizvoda, kao i odnos potrošača prema tako proizvedenoj hrani (Marius i sar., 2008). Standardima je definirana zabrana upotrebe stimulatora rasta, kao i upotreba genetički modifikovanih organizama i njihovih derivata u celom proizvodnom lancu. U organskoj proizvodnji posebno se ističe uticaj određenog botaničkog i hemijskog sastava hraniva na kvalitet mleka i mesa (Bonanno i sar., 2012; Revilla i sar., 2009; Jovanović i sar., 2011).

Pošto se najveći deo prirodnih livada i pašnjaka Srbije nalazi u brdsko-planinskim regionima, vrše se intenzivna ispitivanja odlika biljnih resursa za organizovanje organske proizvodnje na Sjeničko-peštarskoj visoravni.

U dosadašnjim rezultatima ispitivanja flore prirodnih travnjaka registrovane su vrste iz familije Poaceae – *Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Briza media*, *Danthonia calycina*, *Bromus raceomorus*, *Agrostis vulgaris*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Festuca ovina*, *Phleum pratense*, i prisustvo biljke iz familije Fabaceae – *Genista sagittalis*, *Lathyrus latifolius*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium pratense*, *Vicia cracca*, *Trifolium alpestre*, *Trifolium panonicum*, *Trifolium montanum*.

Takođe, utvrđen je veliki broj vrsta koje pripadaju drugim familijama kao što su: *Achillea millefolium*, *Alectorolophus minor*, *Cirsium acaule*, *Dianthus deltoids*, *Filipendula hexapetala*, *Galium verum*, *Leucanthemum vulgare*, *Moenchia mantica*, *Potentilla recta*, *Ranunculus sp. (sp.)*, *Rumex acetosa*, *Stellaria graminea*, *Thymus serpyllum*, *Leontodon autumnalis*, *Silene vulgaris*, *Stachys officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Campanula patula* i dr.

Botanička analiza je pokazala visok stepen diverziteta. Na ispitivanim prirodnim pašnjacima utvrđena je zastupljenost vrsta iz familije Poaceae – trava 48,40%, leptirnjača 9,60% i ostalih biljnih vrsta 42%. Analiza vrsta trava pokazuje da najveći udeo čine trave dobrog i srednjeg kvaliteta. Od leptirnjača dominiraju odlične i dobre. Od zeljanica dominiraju uglavnom beznačajne i loše vrste (Vučković i sar., 2005).

Prosečan prinos sena sa ispitivanih prirodnih travnjaka u dva otkosa kreće se 4,0 t/ha. Seno dobijeno sa livada istraživanog područja je prijatne arome, odgovarajuće zelene boje, bez značajnog prisustva prašine i trunja (trine). Prema izgledu i hranljivoj vrednosti svrstava se u I klasu (klasa vrlo dobrog sena). Određen je sadržaj osnovnih hranljivih materija u senu – pepela (55,3 g/kg SM), proteina (81,8 g/kg SM), masti (15,9 g/kg SM) i celuloze (332,6 g/kg SM). Utvrđeni nivo štetnih materija, mikotoksina i pesticida bio je u dozvoljenim granicama za bezbednost životinja.

Rezultati ispitivanja sejanih travnjaka pokazuju značajnu razliku u odnosu na prirodne travnjake. Dosadašnjim ispitivanjima je određena struktura sejanih travnjaka: Poaceae – trave (45 %) i leptirnjače (55 %). Botaničkom analizom je utvrđeno prisustvo vrsta *Medicago sativa* (35%), *Lolium italicum* (30%), *Trifolium pratense* (15%), *Lotus corniculatus* (5%) i *Dactylis glomerata* (15%). Na sejanim

travnjacima uglavnom dominiraju vrste sejanih trava i leptirnjača odličnog kvaliteta. U travno-leguminoznim smešama u velikoj meri je zastupljena lucerka, jedna od najkvalitetnijih krmnih biljaka, koja značajno doprinosi hranljivoj vrednosti hrane iz zaokružene proizvodnje. Prosečan prinos sena sa ispitivanog lokaliteta u dva otkosa kreće se oko 7,0 t/ha (Vučković i sar., 2010).

Izbor animalnih genetičkih resursa / *Selection of animal genetic resources*

Sve veći broj studija naglašava značaj autohtonih rasa ovaca, kao važnih elemenata za razvoj agrobiodiverziteta u jednom regionu, uticaj na agroekosisteme, kao i istorijsko-kulturološki značaj za region (Smal, 2011). Pod pritiskom novopridošlih visokoproduktivnih rasa životinja sve brže su nestajale autohtone populacije, a zajedno sa njima i genetički potencijal za korišćenje onih resursa koje prirodni ambijent pruža (Marguerat, 2011). U Srbiji postoji veliki broj lokalno adaptiranih sojeva pramenke (sjenička, svrljiška, lipska, pirotka, vlaška vitoroga), koje su pogodne za proizvodnju mesa i mleka u uslovima organske proizvodnje (Savić i sar., 2009).

Sjeničko-peštarski soj je najkrupniji soj pramenke, tradicionalno gajen na Sjeničko-peštarskoj visoravni. Prema klasifikaciji rasa (DAD-IS, 2012) sjeničko-peštarski soj pripada regionalnim graničnim sojevima pramenke. Izvorni oblici ove ovce mogu se naći u oblasti Sjeničko-peštarske visoravni, na kojoj se tradicionalno gaji, u potpunosti adaptirana na izazove okruženja (Savić, 2012). Sjenička ovca se gaji u slobodnom sistemu držanja, a kako dobro koristi prirodne pašnjake i livade njihova ishrana je bazirana na postojećim biljnim resursima i ne zahteva intenzifikaciju biljne proizvodnje (Jovanović i sar., 2010). Dobra adaptiranost i izražena otpornost sjeničke rase ovaca omogućava njihovo gajenje bez većih ulaganja u zdravstvenu zaštitu i lečenje pa se na ovaj način dobijaju animalni proizvodi posebnog kvaliteta za ishranu ljudi, koji ne sadrže rezidue različitih antibiotika i sredstava za zaštitu bilja (Jovanović i sar., 2009).

U organskoj proizvodnji životinje treba da budu što je moguće manje izložene stresnim faktorima biotičke i abiotičke prirode. Od abiotičkih faktora najveći uticaj na zdravlje i proizvodnju imaju ekstremne temperature i neadekvatna ishrana. Od biotičkih faktora, parazitske infekcije imaju presudan uticaj na zdravlje, dobrobit i proizvodne osobine životinja. Negativni uticaj navedenih stresnih faktora može se značajno smanjiti odgovarajućim načinom držanja i negom životinja kao i pravilnim iskorišćavanjem pašnjaka. Takođe, izborom lokalno adaptiranih i otpornih rasa i sojeva životinja može se u znatnoj meri smanjiti negativni uticaj stresnih faktora. Imajući u vidu značaj genetičke rezistencije na bolesti neophodno je izabrati jedinke snažne konstitucije, dobrog zdravlja i plodnosti.

Treba imati u vidu da regulativa koja se sprovodi u okviru veterinarskog nadzora životinja koje se gaje u organskim sistemima proizvodnje zahteva dodatno obrazovanje.

Zaključno razmatranje / *Concluding observations*

Republika Srbija ima velike potencijale za razvoj organskog stočarstva, a naročito za organski uzgoj preživara. Najveći udeo prirodnih livada i pašnjaka se nalazi u brdsko-planinskim regionima gde je zbog depopulacionog trenda došlo do delimičnog „zamiranja” poljoprivredne aktivnosti, tako da nije ni ostvaren razvoj intenzivne proizvodnje. Sjeničko – peštarska visoravan predstavlja jedno od područja sa nedovoljno iskorišćenim prirodnim potencijalom za stočarsku proizvodnju. Rezultati ovih istraživanja pokazuju da postoje dobri uslovi za organizovanje organske proizvodnje u ovčarstvu.

NAPOMENA / *ACKNOWLEDGEMENTS*:

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva nauke Republike Srbije TP 31085 “Organizovanje održive proizvodnje organskog uzgoja jagnjadi kao podrška ruralnom razvoju”. /

This research was conducted within project No: TR 31085 Management of sustainable farming of organic lamb production as support to rural development , financed by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia.

Literatura / *References*

1. Angoda M, Wooda D, Nute R, Whittington M, Hughes I., Shepard R. A comparison of organic and conventionally-produced lamb purchased from three major UK supermarkets: Price, eating quality and fatty acid composition. *Meat Science* 2008; 78(3): 176-84.
2. Bonanno A, Tornambè G, Di Grigoli A, Genna V, Bellina V, Di Miceli G, Giambalvo D. Effect of legume grains as a source of dietary protein on the quality of organic lamb meat. *J. Sci. Food Agric.* 2012; doi: 10.1002/jsfa.5616.
3. Council Regulation (EC) No 1698/2005. On support for rural development by the European Agricultural Fund for Rural Development 2007-2013.
4. *DAD-IS*, 2012, Domestic Animal Diversity Information System (FAO).
5. Haas G, Deittert C, Köpke U. Impact of feeding pattern and feed purchase on area – and cow related dairy performance of organic farms. *Livestock Science* 2007; 106: 132-44.
6. Hoste H, Torres-Acosta J. Non chemical control of helminthes in ruminants: Adapting solutions for changing worms in shangig world. *Veterinary Parasitology* 2011 180:144-54.
7. Jovanović S, Savić M, Aleksić S, Živković D. Production standards and quality of milk and meat products fom cattle and sheep raised in sustainable production systems. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2011; 27(3): 397-404.
8. Jovanović S, Savić M, Živković D. Genetic variation in diseases resistance among farm animals. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2009; 25(5-6): 339-47.
9. Jovanović S, Savić M, Trailović R. Principi organske proizvodnje u stočarstvu, Simpozijum Tradicija i budućnost stočarstva u brdskom podrucju sa posebnim osvrtom na Sjeničko-peštarsku visoravan, jun 19-22. Sjenica 2010: 117-26.
10. Leiferet C, Rembialkowska E, NielsonH, Cooper M, Butler G, Lueck L. Effects of organic and 'low input' production methods on food quality and safety. In Niggli U. editor *Improving Sustainability in Organic and Low Input Food Production Systems Research*. Institute of Organic Agriculture FiBL 2007.

11. Marius C, Bisig W, Sieber R, Bregy M, Etter L. Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. *International Dairy Journal* 2008; 18: 976-82.
12. Marguerat C. Environmental value of animal genetic resources. *Proceeding of the 62nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*, Stavanger, Norveška, 29 August-3 September, 2011; (17): 17-8.
13. Revilla I, Lurena-Martinez A, Blanco-Loprz A, Vivar-Quintana M, Palacios C, Severiano P. Comparison of the Sensory Characteristics of Suckling Lamb Meat: Organic vs Conventional Production. *Czech J Food Sci* 2009; 267-70.
14. Savić M. The determination of preferable sheep breed for organic production in the hilly-mountainous region of Sjenica. *Proceeding of World Buaitrics Congress*, Lisbon, Portugal, 3-8. jun 2012; 178-9.
15. Savić M, Jovanović S, Vegara M. Stočarstvo – farmske i socijalne životinje, izd. Fakultet veterinarske medicine u Beogradu i Norwegian University of Life Sciences (UMB), 2007.
16. Savić M, Jovanović S, Popović Vranješ A. Sustainable livestock production in Serbia mountain regions. *Proceeding of the 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Barcelona, Španija, 24-28 avgust 2009; 15.
17. Smal W. Potential for conservation of local livestock breeds trough delivery of ecosystem service. *Journal Royal Agricultural Society*, England 2010; 17138-44.
18. Vučković S, Simić A, Čupina B, Stojanović I, Stanisavljević A. Uticaj đubrenja azotom na produktivnost pašnjaka *Cynosuretum cristati* na Sjeničko – peštarskoj visoravni. *Acta Agriculture Serbica* 2004; 4(17): 279-87.
19. Vučković S, Simić A, Čupina B, Krstić, Đ, Duronić G. Effect of mineral fertilization on yield of *Agrostidetum vulgaris* – type meadows in mountainous grasslands in Serbia. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2010; 26: 389-94.
20. Vučković S, Čupina B, Simić A, Prodanović S, Živanović T. Effect of nitrogen fertilization and under sowing on yield and quality of *Cynosuretum cristati*-type meadows in hilly-mountainous grasslands in Serbia. *Journal of Central European Agriculture* 2005; 6(4): 515-20.

ENGLISH

CONTRIBUTION TO REVIEWING POTENTIALS OF NATURAL RESOURCES OF THE SJENICA-PEŠTER PLATEAU FOR ORGANIZING ORGANIC SHEEP PRODUCTION

Mila Savić, S. Vučković, S. Jovanović

The paper presents results of investigating possibilities for organizing and developing organic production in sheep farming, in the territory of the Sjenica-Pešter plateau. The results of investigations on yield, floristic and chemical composition, as well as harmful matter, demonstrate that conditions exist for the development of organic production, in particular of organic lamb meat. On the grounds of its known characteristics, the Sjenica-Pešter Pramenka breed presents the most suitable breed for organizing organic sheep production. Organic sheep production can largely contribute to rural development and the advancement of this region.

Key words: sheep farming, organic production, plant resources, rural development

РУССКИЙ

**ПРИЛОЖЕНИЕ ОБОЗРЕВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ
СЪЕНИЧКО-ПЕШТЕРСКОГО ПЛОСКОГОРЬЯ ДЛЯ ОРГАНИЗОВАНИЯ
ОРГАНИЧЕСКОГО ОВЦЕВОДЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Мила Савич, С. Вучкович, С. Йованович

В работе показаны результаты испытания возможности для организации и развития органического производства в овцеводстве, на подведомственной области Съеничко-пештерского плоскогорья. Результаты испытания урожайности, флористического и химического состава, словно и уровень вредных материй показывают, что существуют условия для развития органического производства, особенно органического ягнячего мяса. На основе знакомых свойств съеничко-пештерский штамм праменки представляет собой самый пригодный штамм для организации овцеводческого органического производства. Органическое овцеводческое производство может во многом содействовать сельскому развитию и промоции этой подведомственной области.

Ключевые слова: овцеводство, органическое производство, растительные ресурсы, сельское развитие

ZNAČAJ POPULACIJA DIVLJIH PTICA I NJIHOVA PARAZITOFUNA*

SIGNIFICANCE OF WILDFOWL POPULATIONS AND THEIR PARASITE FAUNA

Tamara Ilić, T. Petrović, Sanda Dimitrijević**

Populacije divljih ptica su taksonomski kategorisane u pet familija – Phasianidae, Tetraonidae, Scolopacidae, Otidae i Anatidae. One su od posebnog značaja za poljoprivredu, šumarstvo i lovnu privredu, a pojedine vrste imaju važnu ulogu i u epizootiologiji parazitskih infekcija domaćih ptica i riba. Zato je poznavanje etiologije i epizootiologije parazitskih infekcija divljih ptica od izuzetnog značaja za proces unapređenja sistema zaštite zdravlja životinja. Oboljenja divljih ptica prouzrokovana protozoama su histomonoza, trihomonoza, malarija, kokcidioza, kriptosporidioza, sarkocistioza, toksoplazmoza i dardioza. Najzastupljenije helmintoze divljih ptica su singamoza, kapilarioza, trihostrongilidoza, askaridioza, heterakioza, nematodoze žlezdanog želuca, cestodoze i trematodoze. Najznačajniji ektoparaziti divljih ptica su šugarci, buve, pavaši, grinje i krpelji. Smanjenje populacija pojedinih vrsta divljih ptica u prirodi može predstavljati značajan problem, s obzirom na važnu ulogu ovih jedinki u ekosistemima i biocenozama. Pojava, održavanje i širenje parazitskih infekcija divljih ptica su samo neki od činitelja koji utiču na brojnost njihovih populacija.

Ključne reči: divlje ptice, endoparaziti, ektoparaziti, epizootiologija

Uvod / Introduction

Geografska distribucija i osnovne karakteristike divljih ptica / *Geographic distribution and basic characteristics of wildfowl*

Najznačajnije vrste divljih ptica su pripadnici familija Phasianidae, Tetraonidae, Scolopacidae, Otidae i Anatidae. Predstavnici familije Phasianidae su

* Rad primljen za štampu 12. 04. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Tamara Ilić, docent, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sc. med. vet. Tamaš Petrović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr sc. med. vet., Sanda Dimitrijević, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

vrste: fazan (*Phasianus colchicus*), poljska jarebica (*Perdix perdix*), jarebica kamenjarka (*Alectoris graeca*) i prepelica (*Coturnix coturnix*). Dva najvažnija predstavnika familije Tetraonidae su veliki tetreb (*Tetrao urogallus*) i leštarka (*Bonasa bonasia*). Šljuka (*Scolopax rusticola*) je predstavnik familije Scolopacidae, a velika droplja (*Otis tarda*) najznačajnija je vrsta iz familije Otidae. Šest najznačajnijih rodova predstavnika familije Anatidae su: *Anas* i *Aythya* (patke), *Anser* (guske), *Cygnus* (labudovi), *Columba* (golubovi) i *Streptopelia* (grlice i gugutke).

Fazan vodi poreklo iz srednje Azije, što znači da nije deo autohtone evropske faune. U Evropu je prenet još u vreme Rimskog carstva, naseljava svih pet kontinenata i predstavlja najrasprostranjeniju divlju pticu iz reda Galliformes (Williams i sar., 2003). U Srbiju je donet još 1880. godine. Šezdesetih godina prošlog veka, sa prelaskom na gajenje u fazanerijama, proizvodnja fazana u Jugoslaviji je intenzivirana, a njihova brojnost u lovištima se naglo povećavala i u jednom trenutku je prevazišla brojnost populacije zečeva i jarebica. U poslednjih deset godina zabeleženo je smanjenje brojnosti fazana. Jedan od mogućih uzroka može biti gubitak adaptabilnosti u populacijama poreklom iz fazanerija usled parenja u srodstvu, koje ima za posledicu gubitak genetičke varijabilnosti i smanjenje heterozigotnosti (Vapa i sar., 2004).

Poljska jarebica vodi poreklo iz Azije, a rasprostranjena je po ravničarskim predelima srednjeg, istočnog i severnog dela Evrope (Wübbenhorst i Leuschner, 2006). Najzastupljenija je na Apeninskom poluostrvu, Siciliji, Alpima, u Albaniji i Grčkoj (Randi i sar., 2003).

Prepelica je rasprostranjena u svim delovima Evrope sa umerenom klimom, osim na Islandu, Skandinaviji i u severnom delu bivšeg Sovjetskog Saveza. Zimu provodi na primorju, u Grčkoj ili srednjoj Aziji, a ponekad preleće i u severnu Afriku (Sardá-Palomera i Vieites, 2011). U Srbiju dolazi krajem aprila i početkom maja i ostaje do kraja avgusta. Najveća regionalna brojnost prepelice je zabeležena u Banatu i srednjoj Bačkoj, delovima Srema južno od Fruške gore i pojedinim delovima Šumadije (Tucakov i sar., 2003).

Tetreb je najveća lovna ptica Srbije i živi u velikim četinarskim i mešovitim šumama, do preko 2000 m nadmorske visine. Na evropskom kontinentu ova vrsta je najrasprostranjenija na Pirinejskom poluostrvu, u području severnih i jugoistočnih Alpa, u Rumuniji, Škotskoj, Norveškoj i Poljskoj (Segelbacher i Piernay, 2007).

Leštarka je najmanja šumska ptica iz reda kokošaka, koja je najzastupljenija u zemljama severne Evrope (Norveška, Finska, Švedska) i u centralnoj Aziji. Rasprostranjena je i u nekim delovima južne Srbije i pograničnim delovima sa Bugarskom (Rhim i Lee, 2001; Sahlsten i sar., 2010).

Šljuka (*Scolopax rusticola*) je selica i rasprostranjena je po celoj Evropi, u severnoj Africi i većem delu Azije. Nije zastupljena u Severnoj Americi, ali se na ovom području sreće nešto sitnija vrsta označena kao *Scolopax minor*. Tokom zime mnoge od ovih ptica se zadržavaju u južnim primorskim krajevima, ali ih na-

gon za leženjem tera u močvarne tundre severa (Machado i sar., 2008). U Srbiju dolaze u proleće i u jesen.

Velika droplja spada u najveće ptice u Srbiji i još se može naći u manjim jatima samo u severnom Banatu, gde u kasnu jesen dolazi iz ruskih stepa. Zbog malobrojnosti je zaštićena zakonom i uopšte se ne lovi (Stojnić i sar., 2008). U pogledu geografske distribucije u svetu, ova vrsta divljih ptica je najzastupljenija u Španiji, Kini, Mongoliji, jugoistočnoj Rusiji, Portugalu i Mađarskoj (Alonso i Palacin, 2010).

Divlje ptice iz roda *Anas* se sreću u Evropi, Aziji, na Islandu, Grenlandu i u Severnoj Americi. Gnezde se u severnoj Evropi i Skandinaviji, a prezimljavaju u severnoj Africi. Vrste iz roda *Aythya* su rasprostranjene u predelima istočne, zapadne, centralne i južne Evrope. Tokom zime nastanjuju se u Francuskoj, Španiji i severnoj Africi (Bába, 2006). Preko 20 vrsta divljih pataka provode zimu u lovištima Srbije, nakon čega u proleće neke vrste, kao ćubasta plovka (*Aythya fuligula*) i batoglavka (*Bucephala clangula*), odlaze u severne delove Evrope i Azije, gde se gnezde (Puzović i sar., 2001).

Divlja guska (*Anser anser*) živi u severnim i centralnim delovima Evrope i u Aziji. U Srbiji se gnezde lisasta guska i guska glogovnjača. U prirodnim uslovima labud (*Cygnus cygnus*) se gnezdi na većim jezerima i ušćima velikih reka, u severnim delovima Evrope. Ova vrsta divljih ptica se u Srbiji pojavljuje samo za vreme jakih zima. U zapadnoj Evropi se labud u poludivljem stanju privikao na bilo kakve vodene površine, pri čemu u ishrani zavisi od ljudi. Labud grbac (*Cygnus olor*) je jedini labud koji se kod nas od 1980. godine i gnezdi na području Vojvodine i povremeno uz Savu i Dunav, sa južne strane. Zimi se koncentriše po većim vodama (reke, ribnjaci), posebno u Negotinskoj krajini (Puzović i sar., 2001).

Najznačajnije vrste golubova su *Columba livia* (divlji golub), *C. oenas* (golub dupljaš) i *C. palumbus* (golub grivnaš). Divlji golub je predak svih domaćih vrsta golubova i gnezdi se u južnoj Evropi. Grlica (*Streptopelia turtur*) je ptica selica, koja se gnezdi na prostoru Palearktika, a u Evropi naseljava poluotvorena šumska staništa. U Srbiju dolazi u proleće, najbrojnija je u Vojvodini, srednjem delu Srbije i na Kosovu i Metohiji. Na jesen se vraća u krajeve oko Sredozemnog mora i u suptropsku Afriku, gde zimuje (Tucakov i sar., 2003). Gugutka ili kumrija (*Streptopelia decaocto*) je ptica stanarica, potiče iz jugoistočne Azije, živi u skoro svim delovima Evrope, osim severa Rusije i Skandinavije (Lepage, 2007).

Endoparazitoze divljih ptica / *Endoparasitoses of wildfowl*

Gajenje pojedinih vrsta divljih ptica predstavlja veoma značajnu granu lovne privrede. Zato je poznavanje etiologije i epizootiologije parazitskih infekcija ove divljači od izuzetnog značaja za proces unapređenja sistema zaštite zdravlja životinja.

Oboljenja divljih ptica prouzrokovana protozoama su histomonoza, trihomonoza, malarija, kokcidioza, kriptosporidioza, sarkocistioza, toksoplazmoza i dardioza.

Kod divljih ćurki, fazana, paunova, prepelica, jarebica i divljih kokošaka parazitira flagelata *Histomonas meleagridis*. U procesu indirektnog prenošenja ove protozoe važnu ulogu ima nematoda *Heterakis gallinae*, veoma čest parazit cekuma velikog broja divljih ptica. Jaja heterakisa mogu da nose u sebi razvojne oblike ove flagelate, a nakon ingestije ovakvih jaja divlje ptice se istovremeno inficiraju obema vrstama parazita (Brenner i sar., 2006; Park i Shin, 2010). Trihomonoza je uglavnom oboljenje divljih golubova, ali i sokolova, sova i jastrebova, koje prouzrokuje flagelata *Trichomonas gallinae*. Ređe, uzročnik parazitira i kod fazana, prepelica, ptica pevačica i vodenih ptica (Sansano-Maestre i sar., 2009). Divlji golubovi mogu biti izvor infekcije za kokoške i ćurke koje se drže na ispuštima, pošto kontaminiraju njihovu hranu i vodu (Dimitrijević i Ilić, 2011).

Krvne protozoe iz rodova *Plasmodium*, *Haemoproteus* i *Leucocytozoon* su uzročnici malarije kod divljih ptica širom sveta. Prenosioci vrsta iz roda *Plasmodium* (*P. relictum*, *P. elongatum* i *P. circumflexum*) su komarci (*Culicidae*). Vrste iz roda *Haemoproteus* prenose komarci i diptere iz familije Hippoboscidae, dok su diptere iz familije Simuliidae vektori za vrste iz roda *Leucocytozoon*. Kod te treba parazitiraju *L. bonasae* i *L. mansonii*, kod golubova *L. marchouxi*, kod ždralova *L. grusi*, a kod vrana i ostalih vrsta divljih ptica *L. sakharoffi* (Kyeong-Nam i sar., 2008; Knowles i sar., 2011). Navedene hemosporidije parazitiraju kod divljih ptica u jugoistočnoj Evropi i nekim zemljama Balkana (Makedonija, Grčka i Bugarska) (Shurulinkov i Golemansky, 2003).

Od vrsta iz roda *Eimeria* najznačajnije su *E. phasiani*, *E. duodenalis*, *E. tetartooimia* i *E. megalostomata*, koje parazitiraju kod fazana, *E. kofoidi*, koja parazitira kod jarebice i *E. labbeana* i *E. columbarum* dijagnostikovane kod divljeg goluba. Kod divljih gusaka, divljih pataka i ćubastog kormorana (morskog gavrana) parazitira *E. auritusi*, uzročnik renalne kokcidioze. Ova kokcidija kod navedenih vrsta divljih ptica prouzrokuje renomegaliju, multifokalni nefritis i uretritis (Davis, 2007). Kod vrabaca, čvoraka, vrane gakuše, zelentarke, kosa, češljugara i grmuše parazitira *Isospora lacazii*, vrsta koja kod vrabaca i čvoraka može prouzrokovati i uginuća (Keymer i sar., 1962).

Sarkocistioza je uglavnom oboljenje divljih pataka, ali se takođe javlja i kod gusaka, labudova i ptica pevačica. Prouzrokuju ga kokcidije iz roda *Sarcocystis*. Kod vodenih ptica u Severnoj Americi uglavnom parazitira *S. rileyi*. Oboljenje se karakteriše pojavom multiplih, cilindričnih, belih cista u grudnoj muskulaturi i drugim skeletnim mišićima, ponekad sa znacima mineralizacije (Davis, 2007). Kutkiene i sar. (2011) izveštavaju o prvom dokumentovanom slučaju vrste *S. rileyi* kod divljih pataka u Evropi. Intermedijarni domaćini za *S. falcatula* mogu biti fazani i divlji golubovi, ali ova vrsta nije opisana u Evropi (Goldova i sar., 2006). Podaci iz literature ukazuju na mogućnost oboljevanja divljih ćurki i sova od toksoplazmoze. Na parazitološkoj sekciji uginulih ptica karakterističan je nalaz multi-

fokalne nekroze jetre, slezine, bubrega, srca, pluća i pankreasa (Quist i sar., 1995).

Kod divljih pataka, labudova, divljih gusaka, galebova i divljih čurki parazitiraju vrste crevnih protozoa iz roda *Cryptosporidium* (*C. baylei* i *C. meleagridis*) i roda *Giardia*. Kod čaplji parazitira *G. ardeae*, a kod australijskih papiga *G. psittacae*. Kod divljih pataka u Meksiku dokazano je prisustvo *C. parvum* i *G. lamblia* (Kuhn i sar., 2002).

Helmintoze divljih ptica su podeljene u nekoliko grupa, s obzirom na mesto lokalizacije uzročnika. U traheji divljih čurki, tetreba, prepelica i drugih vrsta divljih ptica parazitira *Syngamus trachea*, nematoda koja prouzrokuje kataralni traheitis uz mogućnost nastanka kompletne opstrukcije traheje. U usnoj duplji, jednaku, voljci, tankim crevima i cekumima divljih čurki, tetreba, prepelica, fazana i jarebica parazitiraju *Capillaria contorta* s. *annulata*, *C. caudinflata* i *C. obsignata*, a kod divljih gusaka i pataka *C. anatis* i *C. contorta*. Visok intenzitet infekcije ovim nematodama prouzrokuje hipertrofiju jednjaka i voljke, kao i hiperplaziju sa znacima kataralne do fibrinozne inflamacije (Davis, 2007). Kod fazana i jarebica u Velikoj Britaniji dijagnostikovane su i *C. longicollis* (najčešće kao mešana infekcija izazvana *S. trachea*) i *C. cadovulvata* (Keymer i sar., 1962). Park i Shin (2010) izveštavaju o prvom slučaju udružene infekcije vrstama *C. obsignata* i *H. gallinarum*, kod jarebica u Koreji.

U žlezdanom želucu divljih ptica koje se hrane ribom (čaplja, bela čaplja, veliki ronac) parazitiraju vrste iz roda *Eustrongylus*, koje prodiru u proventrikularni zid, gde se na površini seroze oko nematode formira fibrozni prsten. Kod divljih pataka, gusaka i prepelica parazitiraju vrste iz roda *Tetrameres* (*T. americana*, *T. crami*, *T. fissipina* i *T. pattersoni*). Ove nematode su lokalizovane u mukoznim žlezdama proventrikulusa, a infekcija obično protiče supklinički. Vrsta *T. fissipina* je uglavnom dijagnostikovana kod divljih pataka, gusaka i drugih vodenih ptica u Evropi i Aziji (Kamil i sar., 2011).

U mišićnom želucu divljih gusaka, pataka i labudova parazitiraju vrste nematoda iz rodova *Amidostomum* i *Epomidiostomum*, prouzrokujući fokalni hemoragični ulcerativni ventrikulitis. Kod crvenih tetreba, jarebica i fazana parazitira *Trichostrongylus tenuis*. Nematoda *Cosmocephalus obveolatus* se najčešće sreće kod mladih crnoglavih galebova, i to kao mešana infekcija sa vrstama iz roda *Capillaria* (*C. contorta* i *C. anatis*). Perikloakalna trematoda *Collyriclum faba* prouzrokuje razvoj perikloakalnih cista. U slučajevima infekcija visokog intenziteta može prouzrokovati i opstrukciju kloake kod divljih ptica (Davis, 2007).

Kod divljih ptica parazitiraju i nematode iz roda *Ascaridia* (*A. galli* i *A. compar*), koje su lokalizovane u tankom crevu, a izazivaju hemoragični enteritis. Infekcije visokog intenziteta mogu prouzrokovati delimičnu ili potpunu opstrukciju duodenuma/jejunuma (Millan i sar., 2004b; Goldova i sar., 2006; Taylor i sar., 2007). Od vrsta iz roda *Heterakis* kod divljih čurki, biserki, jarebica, prepelica i divljih golubova parazitira *H. gallinarum*, kod divljih pataka i gusaka *H. dispar*, a kod fazana i drugih vrsta divljih ptica *H. isolonche*. Ove nematode parazitiraju u

cekumu, a *H. gallinarum* ponekad može biti lokalizovan u tankom crevu i kolonu (Brenner i sar., 2006). Najizraženija klinička slika se javlja kod heterakioze fazana, a posledica je endogenog razvoja larvi *H. isolonche* u sluznici i dubljim slojevima zida cekuma, što ima za posledicu razvoj nodularnog tiflitis (Park i Shin, 2010). Martinez-Guerrero i sar. (2010) izveštavaju o prvom nalazu vrste *H. gallinarum* kod divljih ćurki u Meksiku.

Istraživanja parazitskih infekcija divljih ptica sprovedena u Velikoj Britaniji dokazala su postojanje nekoliko vrsta trematoda – *Echinoparyphium recurvatum* i *Psilostomum cygnei* (kod ćubaste patke i labudova), *Diplostomum spathaceum* i *Cryptocotyle lingua* (kod mladih jedinki crnoglavog galeba – *Larus ridibundus*) i *Cotylurus platycephalus* (kod galeba – *Larus argentatus*). Od cestoda su dijagnostikovane *Davainea proglottina* (kod jarebica), *Fimbriaria fasciolaris* i *Hymenolepis gracilis* (kod labuda), *H. microps* (kod crvenog tetreba), *H. columbae* (kod divljeg goluba) i *H. fringillarum*. Kod jedinki ćubaste patke ustanovljene su mešane infekcije cestodama iz roda *Hymenolepis* i trematodom *E. recurvatum*. *Raillietina tetragona* i *R. columbae* parazitiraju u divljem golubu, *R. circumvallata* u jarebici, a mešane infekcije vrstama iz roda *Raillietina* i nematodom *Trichostrongylus tenuis*, dokazane su kod crvenog tetreba (Keymer i sar., 1962).

Cvetković i sar. (1986) su kao uzročnike kokcidioze fazana u veštačkom uzgoju, na području Jugoslavije, determinisali vrste *Eimeria colchici* (najčešće dijagnostikovana vrsta), *E. duodenalis* i *E. phasiani*. Istraživanja sprovedena na epizootiološkom području Srbije pokazuju da se u fazanerijama stacionarno može održavati singamoza, sa eventualnim enzootskim eksplozijama koje su praćene visokim procentom morbiditeta i mortaliteta. Divlje ptice, naročito vrane i čvorci, za koje je ustanovljeno da su obično inficirani u visokom stepenu, predstavljaju izvor infekcije na otvorenim terenima gde se drže fazani (Dimitrijević i sar., 1995).

Dimitrijević i Cvetković (1988) su parazitološkom sekcijom velikog broja uginulih golubova (*Columba livia*) sa područja Beograda dijagnostikovali nematodu *Ornithostrongylus quadiradiatus*, koja parazitira u tankom crevu. Ovaj nalaz predstavlja prvu determinaciju vrste *O. quadiradiatus* u Jugoslaviji.

Kulišić (1989) je na području Beograda izučavao trematode divljih ptica vezanih za vodena staništa. Kod jedinki divlje patke (*Anas platyrhynchos*) je ustanovio prevalenciju infekcije trematodama od 72%, a dijagnostikovane su *Apatemon gracilis juven*, *Cotylurus cornutus*, *Bilharziella polonica*, *Tracheophilus sisowi*, *Hyptiasmus arcuatus*, *Echinochasmus coaxatus*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Echinostoma revolutum*, *Hypoderaeum conoideum*, *Catantropis verrucosa*, *Notocotylus i. imbricatus*, *Eucotyle zakharowi*, *Metagonimus yokogawai* i *Metorchis xanthosomus*. Navedene vrste su bile lokalizovane u želucu, crevu, cekumima, jetri, traheji, bubrezima, krvnim sudovima i sinusima glave. Ustanovljena prevalencija infekcije ispitivanih liski (*Fulica atra*) trematodama bila je 65%. Dijagnostikovane su *Cotylurus hebraicus*, *Bilharziella polonica*, *Cyclocoelum microstomum*, *Transcoelum oculus*, *Echinostoma sarcinum*, *Catantropis pacifera*, *Tanai-*

sia longivitelata i *Metorchis xanthosomus*, sa lokalizacijom u crevu, cekumima, jetri, plućima, bubrezima, krvnim sudovima i sinusima glave. Prevalencija infekcije jedinki galeba (*Larus ridibundus*) trematodama iznosila je 82%. Utvrđene su *Diplostomum spathaceum*, *Psilostomum brevicolle*, *Eucoyle wehri*, *Tanaisia fedtschenkoi*, *Apophalus mühlengi*, *Metorchis xanthosomus*, *Pachytrema calculus* i *P. paniceum*, sa lokalizacijom u želucu, crevu, jetri i bubrezima.

Lepojevi i sar. (1990) su pregledom galebova odstreljenih u okolini Beograda, ustanovili infekciju nematodama kod 34,09% ovih divljih ptica. U žlezdanom želucu su dijagnostikovane vrste *Tetrameres fissispina* (11,36%) i *Cosmocephalus obvelatus* (15,90%). U žlezdanom želucu i jednjaku ustanovljena je kapilarida *Thominox contorta* sa prevalencijom infekcije od 9,09%. Kod 2,27% ispitivanih galebova u infraorbitalnom sinusu je dijagnostikovana *Aprocta turgida*, nematoda koja parazitira kod ptica na svim kontinentima.

Ektoparazitoze divljih ptica / Ectoparasitoses of wildfowl

Najznačajniji ektoparaziti divljih ptica su šugarci (Sarcoptidae), buve (Ceratophyllidae), pavaši (Mallophaga), grinje (Gamasidae) i krpelji (Argasidae).

Najčešći šugarac divljih ptica je sarkoptida *Knemidocoptes mutans*, koja buši kanale u epidermu i izaziva hronični hipertrofični dermatitis. Promene u vidu debelih naslaga distalno od tibio-tarznog zgloba (uključujući i prste), vrše pritisak izazivajući otežanu cirkulaciju, hramanje, artritis, deformacije prstiju i gubitak jednog ili više prstiju. Infekcije visokog intenziteta akarinama izazivaju jak svrab, uznemirenost ptica, koje ponekad ključaju površinu tela, opadanje perja, anemiju, mršavljenje, kaheksiju i uginuće (Goldova i sar., 2006).

Buve se hrane krvlju, a svojim prisustvom i aktivnostima uznemiravaju ptice. Pavaši se hrane perjem (*Menopon* spp), a zbog neprekidnog kretanja izazivaju svrab, uznemirenost i lomljenje perja.

Krpelji nanose štete divljim pticama uzimanjem krvi, prenošenjem uzročnika oboljenja različite etiologije i delovanjem toksina. *Argas (Persicargas) persicus* parazitira kod divljih ptica u različitim delovima Evrope, Azije, Afrike i Australije i vektor je za vrste *Borellia anserina* i *Aegyptianella pullorum* (Swelim i sar., 2003).

Kod fazana u Slovačkoj od ektoparazita dijagnostikovane su akarine *Dermanyssus gallinae* i *Ornithonyssus sylvarum*, šugarac *Knemidocoptes mutans* i četiri vrste pavaši, po prvi put otkrivene na epizootičkom području ove zemlje: *Goniocotes chrysocephalus*, *Goniodes colchici*, *Amyrsidea perdicis* i *Lipeurus maculosus* (Goldova i sar., 2006). Akarine (*D. gallinae* i *O. sylvarum*) i *K. mutans* su rasprostranjene i kod fazana u severnim i južnim delovima Evrope.

Millán i sar. (2004a) su kod jedinki jarebice (*Alectoris rufa*) u Španiji dijagnostikovali prisustvo diptera iz familije Hippoboscidae (*Ornithophila metallica*), dve vrste krpelja (*Ixodes frontalis* i *Hyalomma* sp) i osam vrsta pavaši (*Men-*

acanthus lyali, *M. numidae*, *Menopon pallens*, *Myrsidea picae*, *Goniocotes obscurus*, *G. simillimus*, *Goniodes dispar* i *Cuclotogaster obscurior*).

Značaj populacija divljih ptica / Importance of wildfowl populations

Divlje ptice imaju izuzetan značaj u poljoprivredi, šumarstvu i lovnoj privredi. Smanjenje brojnosti populacija pojedinih vrsta divljih ptica u prirodi, do čega dolazi usled različitih faktora, predstavlja značajan problem, s obzirom na važnu ulogu ovih jedinki u ekosistemima i biocenozama. Kao predatori štetnih insekata i glodara, one predstavljaju važan regulacioni mehanizam koji utiče na brojnost njihovih populacija.

Poljska jarebica je veoma korisna ptica sa poljoprivrednog aspekta, s obzirom na to da se hrani velikim brojem štetnih insekata i semenjem različitog korovskog bilja. Uvidom u njenu ishranu pokazalo se da je 70% hrane biljnog i animalnog porekla koju konzumira, štetno za poljoprivredu. U nekim zemljama Evrope jarebice su spasile pojedine poljoprivredne kulture od uticaja štetnih insekata. Jedan od primera jeste uticaj ove vrste divljih ptica na smanjenje brojnosti populacija krompirove zlatice u Francuskoj i Češkoj (Wübbenhorst i Leuschner, 2006).

Poslednjih godina je primećeno smanjenje brojnosti populacija jarebice kamenjarke, koje se dovodi u vezu sa zabranom držanja koza, smanjenjem broja ovaca i pošumljavanjem. Koze održavaju pojedine drvenaste biljke u vidu zakržljalih žbunova, pored kojih jarebica kamenjarka nalazi hranu i zaklon za izgradnju gnezda. Ova ptica prati stada ovaca na brdsko-planinskim pašnjacima, pošto ispaša i feces ovaca povoljno deluju na razvoj i održavanje nekih vrsta biljaka i životinja, kojima se ova ptica pretežno hrani (Randi i sar., 2003).

Iz godine u godinu broj prepelica se smanjuje, posebno u centralnoj i istočnoj Evropi. Takvo stanje je posledica kombinovanog delovanja različitih nepovoljnih faktora – velike suše na području zimskih boravišta, sprovođenje lova tokom migracije (u Italiji i severnoj Africi) i intenziviranje ratarske proizvodnje. U Srbiji je kvalitet njenog staništa pogoršan upotrebom hemijskih sredstava u poljoprivredi i usled primene mehanizacije prilikom kosidbe, čime se uništavaju gnezda ove vrste sitne divljači (Tucakov i sar., 2003).

S obzirom na razmere kretanja i letenja ptica vezanih za vodena staništa, pretpostavlja se da ove jedinke imaju značajnu ulogu u epizootiologiji parazitskih infekcija domaćih ptica. Značajna je i uloga ove vrste divljih ptica u epizootiologiji nekih parazitskih infekcija riba, pošto se deo životnog ciklusa pojedinih trematoda (diplostomatida) odvija u ribama. Na ovaj način divlje ptice vezane za vodena staništa utiču i na razvoj ekstenzivnog živinarstva, ribarstva i pojedinih delova lovne privrede (Kulišić, 1989; Kulišić i sar., 2004).

Zbog intenzivne obrade zemljišta i primene brojnih hemijskih preparata u poljoprivredi i šumarstvu, stvoren je niz nepovoljnih činilaca koji ometaju fiziološko razmnožavanje pernate divljači u prirodi. Zato veštačko razmnožavanje

fazana, prepelice, jarebice i njima srodnih vrsta, predstavlja jedini siguran put povećanja broja ovih životinja u lovištu.

Sa epizootiološkog stanovišta neophodno je razumeti prirodu ponašanja uzročnika koji parazitiraju kod divljih ptica, jer se na taj način mogu bolje predvideti mogućnosti njihovog prenošenja i interakcije sa domaćinom. Za bolje razumevanje pojavljivanja i održavanja neke parazitske infekcije kod divljih ptica na određenom području od izuzetnog značaja je molekularna epizootiologija, koja omogućuje njihovo bolje praćenje i suzbijanje (Petrović i sar., 2006a). Podaci dobijeni tipizacijom uzročnika infekcije mogu da odgovore na pitanja mogućih izvora infekcije i rasprostranjenosti nekog parazita (Petrović i sar., 2006b).

Potreba za kontinuiranim prikupljanjem i publikovanjem novih, pouzdanih podataka o stanju parazitofaune divljih ptica u svetu i Srbiji, uticala je na izbor i obradu ove teme, koja će predstavljati bazu podataka za dalja istraživanja na epizootiološkom području Srbije.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENTS:

Rad je realizovan u okviru projekta „Praćenje zdravstvenog stanja divljači i uvođenje novih biotehnoloških postupaka u detekciji zaraznih i zoonoznih agenasa - analiza rizika za zdravlje ljudi, domaćih i divljih životinja i kontaminaciju životne sredine“ (broj TR31084) i projekta „Primena EIIP/ISM bioinformatičke platforme u otkrivanju novih terapijskih targeta i potencijalnih terapijskih molekula“ (broj 173001), koje je finansiralo Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije.

Literatura / References

1. Alonso CJ, Palacin C. The world status and population trends of the Great Bustard (*Otis tarda*). Chinese Birds 2010; 1 (2): 141-7.
2. Bába K. Living gastropod species collected from birds feathers. Tiscia 2006; 35: 91-3.
3. Brener B, Tortelly R, Meneze CR, Muniz-Pereira CL, Pinto MR. Prevalence and pathology of the nematode *Heterakis gallinarum*, the trematode *Paratanaisia bragai*, and the protozoan *Histomonas meleagridis* in the turkey, *Meleagris gallopavo*. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101 (6): 677-81.
4. Cvetković LJ, Panajotović V, Dimitrijević Sanda. Kokcidioza fazana u veštačkom uzgoju. Praxis Vet 1986; 5-6: 361-9.
5. Davis LC. Diseases and pathology of wild birds. Symposium on diagnostic pathology of diseases of aerial, terrestrial and aquatic wildlife. Wisconsin, April 6, 2007: 1-7.
6. Dimitrijević Sanda, Aleksić Nevenka, Marjanović Slavica, Banovčanin B. Preventiva i terapija singamoze fazanskih pilića u volijerama. Zbornik radova savetovanja u Novom Sadu (Muflon, fazan, srna, divlja svinja), Novi Sad, 1995: 125-6.
7. Dimitrijević S, Cvetković LJ. The first determination of *Ornithostrongylus quadricolatus* (Stevenson, 1904 Travassos 1914) in Yugoslavia. Acta Vet 1988; 38: 281-6.
8. Dimitrijević S, Ilić T. Klinička parazitologija. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Izdanje autora i Interprint d.o.o. Beograd. Beograd, 2011: 1-337.
9. Goldova M, Paluš V, Letková V, Kočišová A, Čurlik J, Mojžišová J. Parasitoses in pheasants (*Phasianus colchicus*) in confined systems. Veterinarski arhiv 2006; 76 (Supl.): 83-9.

10. Kamil SA, Darzi MM, Mir MS, Shah SA, Khan FA. *Tetrameres fissipina* infection in duck from Bandipora area of Kashmir Valley. Israel J Vet Med 2011; 66 (2): 43-8.
11. Keymer FI, Rose HJ, Beesley NW, Davies MFS. A survey and review of parasitic diseases of wild and game birds in Great Britain. Vet Rec 1962; 74 (33): 887-94.
12. Knowles SCI, Wood MJ, Alves R, Wilkin AT, Bensch S, Sheldon CB. Molecular epidemiology of malaria prevalence and parasitemia in a wild bird population. Molec Ecol 2011; 20: 1062-76.
13. Kulišić Z, Lepojević O, Aleksić-Bakrač N, Jakić-Dimić D, Pavlović I, Milutinović JM, Mišić BZ. Trematode liski (*Fulica atra* L.) na području Beograda. Acta Vet 2004; 54(5-6): 447-56.
14. Kulišić Z. Izučavanje trematoda ptica vezanih za vodena staništa. Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet Univerziteta u Beogradu. Beograd, 1989: 1-150.
15. Kuhn CR, Rock MC, Oshima HK. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande river valley in southern New Mexico. Appl Environ Microbiol 2002; 68 (1): 161-5.
16. Kutkiene L, Prakas P, Sruoga A, Butkauskas D. Identification of *Sarcocystis rileyi* from the mallard duck (*Anas platyrhynchos*) in Europe: cyst morphology and results of DNA analysis. Parasitol Res 2011; 3: 709-14.
17. Kyeong-Nam Ko, Sang-Chul Kang, Ji-Youl Jung, Jong-Hee Bae, Jae-Hoon Kim. Avian malaria associated with *Plasmodium* spp. infection in a penguin in Jeju Island. Korean J Vet Res 2008; 48(2): 197-201.
18. Lepage D. Checklist of birds of Serbia and Montenegro. Bird checklists of the world. Avibase. <http://www.bsceoc.org/avibase/avibase.jsp?region=yusm&pg=checklist&list=clements>. Retrieved 26 April 2007.
19. Lepojević O, Kulišić Z, Aleksić N, Dimitrijević S. Nematodes of gulls (*Larus ridibundus* L.). Acta Vet 1990, 40: 159-62.
20. Machado LA, Brito CJ, Medeiros V, Leitão M, Moutinho C, Jesus A, Ferrand Y, Gonçalves D. Distribution and habitat preferences of Eurasian woodcock *Scolopax rusticola* in S. Miguel island (Azores) during the breeding season. Wildl Biol 2008; 14(1): 129-37.
21. Martinez-Guerrero HJ, Pereda Solis M, Alferez RF, Herrera Casio MH. First report of *Heterakis gallinarum* in Goulds wild turkeys (*Meleagris gallopavo mexicana*) in Mexico. J Anim Vet Advan 2010; 9(21): 2671-3.
22. Millan J, Gortazar C, Martin-Mateo PM, Villafuerte R. Comparative survey of the ectoparasite fauna of wild and farm-reared red-legged partridges (*Alectoris rufa*), with an ecological study in wild populations. Parasitol Res 2004a; 93: 79-85.
23. Millan J, Gortazar C, Villafuerte R. A comparison of the helminth faunas of wild and farm-reared red-legged partridge. J Wild Manag 2004b; 68(3): 701-7.
24. Park SI, Shin SS. Concurrent *Capillaria* and *Heterakis* infections in zoo rock partridges, *Alectoris graeca*. Korean J Parasitol 2010; 48(3): 253-7.
25. Petrović T, Lazić S, Kapetanov M, Velhner M. Molekularna dijagnostika virusa avijarne influence. Veterinarski glasnik 2006a; 60(5-6): 385-96.
26. Petrović T, Lazić S, Lupulović D, Velhner M. Ispitivanje praga osetljivosti RT-PCR i rRT-PCR u detekciji influenza A-virusa i virusa avijarne influence podtipa H5. Zbornik radova i kratkih sadržaja, 18. savetovanja veterinara Srbije. Zlatibor 21-24. septembar 2006b: 216-7.
27. Puzović S, Simić D, Saveljić D, Gergelj J, Tucakov M, Stojnić N, Hulo I, Ham I, Vizi O, Šćiban M, Ružić M, Vučanović M, Jovanović T. Ptice Srbije i Crne Gore –

- veličine gnezdilišnih populacija i trendovi: 1990–2002. Faunistika-studije 2001; Ciconia 1: 105-9.
28. Quist FC, Dubey PJ, Luttrell PM, Davidson RW. Toxoplasmosis in wild turkeys: A case report and serologic survey. J Wild Dis 1995; 31(2): 255-8.
 29. Randi E, Tabarroni C, Rimondi S, Lucchini V, Sfougaris A. Phylogeography of the rock partridge (*Alectoris graeca*). Molecular Ecology 2003; 12(8): 2201-14.
 30. Rhim SJ, Lee WS. Characteristics of hazel grouse *Bonasa bonasia* distribution in southern Korea. Wildl Biol 2001; 7: 257-61.
 31. Sahlsten J, Wickström F, Höglund J. Hazel grouse *Bonasa bonasia* population dynamics in a fragmented landscape: a metapopulation approach. Wildl Biol 2010; 16(1): 35-46.
 32. Sansano-Maestre J, Garijo-Toledo MM, Gómez-Muñoz TM. Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. Avian Pathol 2009; 38(3): 201-7.
 33. Sardá-Palomera F, Vieites RD. Modelling species climatic distribution under habitat constraints: a case study with *Coturnix coturnix*. Ann Zool Fennici 2011; 48: 147-60.
 34. Segelbacher G, Pieltney S. Phylogeography of the European capercaillie (*Tetrao urogallus*) and its implications for conservation. J Ornithol 2007; 148 (Suppl 2): 269–74.
 35. Shurulinkov P, Golemansky V. Plasmodium and Leucocytozoon (Sporozoa: Haemosporida) of wild birds in Bulgaria. Acta Protozool 2003; 42: 205-14.
 36. Stojnić N, Puzović S, Habijan-Mikeš V. Present status, threatening factors and conservation measures of great bustard (*Otis tarda*) in Serbia. Symposium Nature Conservation in Serbia, Protection of Nature, 2008; 60(1-2): 285-94.
 37. Swelim HH, Marzouk SA, Montasser MAA. Ultrastructural and histological changes induced by ivermectin in the ovary of *Argas persicus* after feeding. Egypt J Hosp Med 2003; 10: 154-72.
 38. Tucakov M, Simić D, Đapić D. Initiative for permanent hunting ban of Quail *Coturnix coturnix* and Tuttle Dove *Streptopelia turtur* and their inclusion in the List of Natural Rarities. Ciconia 2003; 12: 25-30.
 39. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Parasites of poultry and gamebirds. In: Veterinary Parasitology (third edition). Blackwell Pub 2007; 467-8.
 40. Vapa BLj, Djan RM, Obreht RD, Tošović-Marić MB, Vapa MM, Beuković TM. Genetic variability of pheasant (*Phasianus* spp) in breeding station Ristovaca. Proc Nat Sci Matica Srpska Novi Sad 2004; 107: 5-11.
 41. Williams KC, Ives RA, Applegate DR. Population dynamics across geographical ranges time-series analyses of three small game species. Ecology 2003; 84(10): 2654-67.
 42. Wübbenhorst D, Leuschner C. Vegetation structure at the breeding sites of the partridge (*Perdix perdix* L.) in central Europe and its possible importance for population density. Pol J Ecol 2006; 54(1): 57-67.

ENGLISH

SIGNIFICANCE OF WILDFOWL POPULATIONS AND THEIR PARASITE FAUNA

Tamara Ilić, T. Petrović, Sanda Dimitrijević

Populations of wildfowl have been categorised taxonomically into five families: *Phasianidae*, *Tetraonidae*, *Scolopacidae*, *Otididae* and *Anatidae*. They are of particular importance for agriculture, forestry and the game economy, and certain species also have an important role in the epizootiology of parasitic infections in domestic fowl and fish. That is why it is extremely important for the process of promoting the system of animal health protection to have knowledge regarding the etiology and epizootiology of parasitic infections in wildfowl. Diseases in wildfowl caused by protozoa are histomoniasis, trichomoniasis, malaria, coccidiosis, cryptosporidiosis, sarcocystosis, toxoplasmosis, and giardiasis. The most represented helminthiasis in wildfowl are singamosis, capillariasis, trichostongyliasis, ascaridiosis, heteraciosis, nematodosis of the glandular stomach, cestodosis and trematodosis. The most significant ectoparasites in wildfowl are mites, ticks, and fleas. The reduction of populations of certain wildfowl species in nature could present a major problem, having in mind the important role of these birds in ecosystems and biocenosis. The incidence, maintaining and spreading of parasitic infections among wildfowl are just some of the factors that affect the numbers of their populations.

Key words: wildfowl, endoparasites, ectoparasites, epizootiology

РУССКИЙ

ЗНАЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ ДИКИХ ПТИЦ И ИХ ПАРАЗИТОФАУНА

Тамара Илич, Т. Петрович, Санда Димитриевич

Популяции диких птиц-таксономически распределены по категориям в пяти семейств: *Phasianidae*, *Tetraonidae*, *Scolopacidae*, *Otididae* и *Anatidae*. Они особенно важны для сельского хозяйства, лесного хозяйства и охотничьего хозяйства, а некоторые виды имеют важную роль и в эпизоотологии паразитических инфекций домашних птиц и рыб. Поэтому познание этиологии и эпизоотологии паразитических инфекций диких птиц исключительно важны для процесса улучшения системы охраны здоровья животных. Заболевания диких птиц, вызванные простейшими суть гистомоноз, трихомоноз, малярия, кокцидиоз, криптоспоририоз, саркоцистоз, токсоплазмоз и дариоз. Наиболее представленные гельминтозы диких птиц суть сингамоз, капилляриоз, трихостронгилоидоз, аскаридиоз, гетеракидоз, нематодозы железистого желудка, цестодозы и трематодозы. Наиболее значительные эктопаразиты диких птиц суть часточные паразиты, блохи, павши и клещи. Уменьшение популяций некоторых видов диких птиц в природе может представлять собой значительную проблему, принимая во внимание на важную роль этих отдельных животных в экосистемах и биоценозах, явление, содержание и расширение паразитических инфекций диких птиц только некоторые из факторов, влияющие на численность их популяций.

Ключевые слова: дикие птицы, эндопаразиты, эктопаразиты, эпизоотология

RETROSPEKTIVNA ANALIZA KLINIČKOPATOLOŠKOG NALAZA KOD OPSTRUKCIJE DONJIH MOKRAĆNIH PUTEVA MAČAKA*

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF CLINICAL PATHOLOGICAL FINDINGS IN OBSTRUCTION OF LOWER URINARY PATHWAYS IN CATS

Jelena Francuski, N. Andrić, V. Ilić, M. Jovanović,
Mirjana Lazarević-Macanović, V. Krstić, Milica Kovačević-Filipović**

Oboljenja donjih mokraćnih puteva sa opstrukcijom uretre su česta urološka urgentna stanja koja dovode do pojave postrenalne azotemije zbog otežane ili onemogućene eliminacije urina. Cilj ovog ispitivanja je bio da se utvrde najčešći uzroci nastanka opstrukcije donjih mokraćnih puteva kod mačaka, najčešći klinički znaci, kao i promene u hematološkim i biohemijskim parametrima krvi i urina. Rezultati pokazuju da je najčešći uzrok opstrukcije uretre kod mačaka prisustvo uretralnog kamenja, peska i uretralnih čepova nastalih agregacijom struvitnih kristala na organski matriks. Laboratorijski nalazi su pokazali da su sve životinje dehidrirale. Azotemija je utvrđena kod polovine životinja, a znaci uremije kod 10 % mačaka. Preko 90% mačaka je imalo poremećaj funkcije tubula, a svega 50% jasne znake inflamacije. Iz prikazanih rezultata se može zaključiti da sve mačke sa opstrukcijom uretre pokazuju određeni stepen poremećaja funkcije bubrega, koji je uz pravovremenu i adekvatnu terapiju, u najvećem broju slučajeva reverzibilna patološka promena.

Ključne reči: mačka, opstrukcija uretre, azotemija

Uvod / Introduction

Oboljenja donjih mokraćnih puteva kod mačaka (engleski *Feline low urinary tract disease, FLUTD*) obuhvataju etiološki različite promene koje se javljaju na uretri i mokraćnoj bešici. Ona mogu biti opstruktivne i neopstruktivne

* Rad primljen za štampu 08. 03. 2012. godine

** Jelena Francuski, dvm; dr sc. med. vet. Nenad Andrić, docent, dr sc. med. vet. Vojislav Ilić, profesor, dr sc. med. vet. Milan Jovanović, docent, Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači; dr sc. med. vet. Mirjana Lazarević-Macanović, docent, Katedra za radiologiju i radijacionu higijenu; dr sc. med. vet. Vanja Krstić, profesor, Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači; dr sc. med. vet. Milica Kovačević-Filipović, profesor, Katedra za patološku fiziologiju, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

prirode, a manifestuju se apatijom, anoreksijom, disurijom, periurijom (mokrenje na neuobičajenim mestima u kući), polakiurijom, anurijom i često, makroskopskom hematurijom. Uzroci opstrukcije donjih mokraćnih puteva mogu biti uroliti, uretralni čepovi i pesak, sterilna ili infektivna inflamacija urinarnih puteva, tumori, traume i malformacije (Lekcharoensuk i sar., 2001; Gunn-Moore i sar., 2003; Gilad i sar., 2011). FLUTD neopstruktivne prirode često nastaje zbog idiopatskog cistitisa (Kruger, 2009; Bente, 2011), a retko zbog bakterijskih infekcija (Gunn-Moore, 2003).

Dijagnoza opstruktivnog FLUTD-a se postavlja na osnovu anamnestičkih podataka, opšteg kliničkog, ultrazvučnog i radiološkog pregleda. Ultrazvučni i radiološki pregled su od značaja kada treba utvrditi da li je opstrukcija izazvana urolitijazom, neoplazijama ili kongenitalnim anomalijama ili kada treba utvrditi da li postoji ruptura mokraćne bešike. Opstrukcija uretre urolitima ili uretralnim čepovima se češće javlja kod mužjaka zbog anatomske specifičnosti građe njihove uretre (DiBartola, 2010). Smatra se da uroliti ili uretralni čepovi imaju organsku osnovu na koju se talože soli amonijum-magnezijum fosfata ili kalcijum-oksalata (Gunn-Moore, 2003; Houston i Moor, 2008).

Mačke sa opstrukcijom uretre mogu imati slabije ili jače izražene kliničke znake opstrukcije i poremećaja opšteg zdravstvenog stanja u zavisnosti od toga da li je opstrukcija delimična ili kompletna, koliko dugo traje i da li životinja paralelno sa opstrukcijom ima još neki zdravstveni problem. Provera opšteg zdravstvenog stanja pacijenta, status hidriranosti, kao i poremećaj funkcije bubrega ili drugih organskih sistema se sprovodi analizom hematoloških i biohemijskih parametara, kao i pregledom urina. Kompletna ili delimična opstrukcija uretere dovodi do postrenalne azotemije i brojnih hematoloških i biohemijskih promena od kojih se najčešće navode hiperfosfatemija, hipokalcemija, hiperkalijemija, anemija i metabolička acidoza. Veći broj studija pokazuje da je između 70% i 80% mačaka azotemično, da hiperfosfatemija nastaje kasnije u toku bolesti i kod manjeg broja životinja, a da je hiperkalijemija najčešće povezana sa kompletnom opstrukcijom (Kruger i sar. 1991; Kyles i sar., 2005; Ross i sar., 2007). Od hematoloških parametara, najčešće se beleži normocitno-normohromna anemija (Kyles i sar., 2005; Ross i sar., 2007). Pregled urina je važan sa aspekta procene poremećaja funkcije bubrega, ali i drugih organskih sistema. Pregledom sedimenta urina se može utvrditi koji tip kristala se nalazi u urinu. Ipak, različite studije pokazuju da nalaz urolita nije uvek praćen nalazom kristala u mokraći, kao i da nalaz kristala nije uvek praćen nalazom urolita (Kyles i sar., 2005).

Na klinici Katedre za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, FLUTD sa opstrukcijom donjih mokraćnih puteva predstavlja relativno čestu dijagnozu u ukupnoj kliničkoj patologiji mačaka. Cilj ovog rada je bio da se prikažu rezultati opšteg kliničkog pregleda, radiološkog i ultrazvučnog pregleda i hematoloških i biohemijskih analiza krvi kao i rezultati analize urina kod mačaka sa opstruktivnom formom FLUTD-a koja je dijagnostikovana na našoj klinici tokom proleća 2011. godine.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

U periodu od početka februara do kraja aprila 2011. godine kod 30 mačaka je dijagnostikovana opstrukcija donjih mokraćnih puteva. Među pregledanim životinjama dve trećine su pripadale domaćoj rasi, a trećina drugim rasama. Prosečna težina mačaka je bila $4 \pm 0,3$ kg, a starost između 1,5 i 10 godina (medijana 5,5 godina). Od pregledanih životinja 90% su bili mužjaci, 10% ženke. Način držanja većine mačaka je bio u kućnim uslovima (43%) i mešovito, u kući i van kuće (47%). Svega deset posto je držano van kuće. Sve su prošle opšti klinički i ultrazvučni ili radiološki pregled, a krv i urin su uzorkovani za dalju laboratorijsku analizu. Tokom procesa kateterizacije uočeno je prisustvo uretralnih čepova u uretri koji su samom kateterizacijom uklonjeni, a nakon postavljanja dijagnoze opstrukcije uretre preduzeta je odgovarajuća terapija.

Krv je uzorkovana iz v. *saphena* prvo za analizu krvne slike, a potom za biohemijski pregled u komercijalne epruvete (BD Vacutainer). Analize su izvršene na automatskom hematološkom analizatoru *Abacus Junior Vet*[®], Nemačka. Za biohemijski pregled krv je centrifugovana na 3200 obrtaja 5 minuta, serum je odvojen i analize su urađene na biohemijskom analizatoru *Vet Evolution Automatic Biochemical Analyser*[®], Italija. Krv uzorkovana za hematološki i biohemijski pregled analizirana je neposredno po uzimanju uzoraka. Od hematoloških analiza urađena je krvna slika, a od biohemijskih parametara koncentracija glukoze, uree, kreatinina, neorganskih fosfata, ukupnih proteina, albumina i globulina. Vrednosti za globuline su dobijene oduzimanjem vrednosti za albumine od ukupnih proteina.

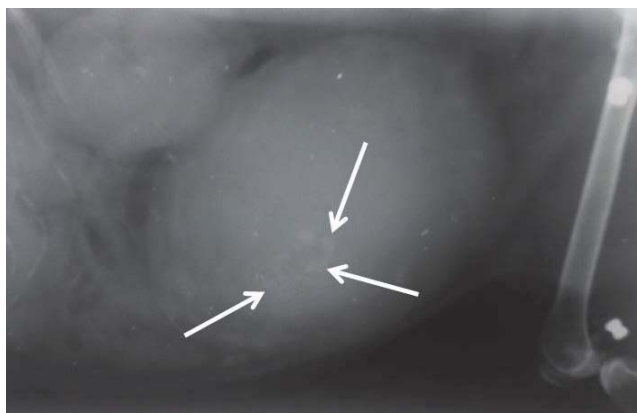
Urin je prikupljen cisticentezom ili kateterizacijom, a odmah potom analiziran pomoću traka za urin (*Urilux Roche*[®] Nemačka). Specifična težina urina određivana je refraktrometrom (*Link*[®] operation manual ATC handheld clinical refractometer, Kina). Sediment je pregledan nakon petominutnog centrifugiranja na 1500 obrtaja/minuti. Rezultati laboratorijskih ispitivanja tumačeni su u odnosu na referentne vrednosti kliničke laboratorije Katedre za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu.

Statistička analiza dobijenih rezultata urađena je u statističkom paketu Excel i Med Calc. Rezultati su obrađeni deskriptivnom statistikom i tabelarno su prikazane aritmetička sredina, standardna devijacija i minimalne i maksimalne vrednosti. Utvrđivanje statistički značajnih razlika određeno je Studentovim t-testom. Za određivanje stepena korelacije između pojedinih parametara korišćen je Pirsonov koeficijent korelacije. Nivoi verovatnoće značajnosti razlika su predstavljeni sa $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Rezultati ispitivanja / *Results*

Rezultati ispitivanja pokazuju da je kod svih 30 mačaka uzrok otežanog mokrenja ili anurije bila opstrukcija uretre usled prisustva urolita ili uretralnih

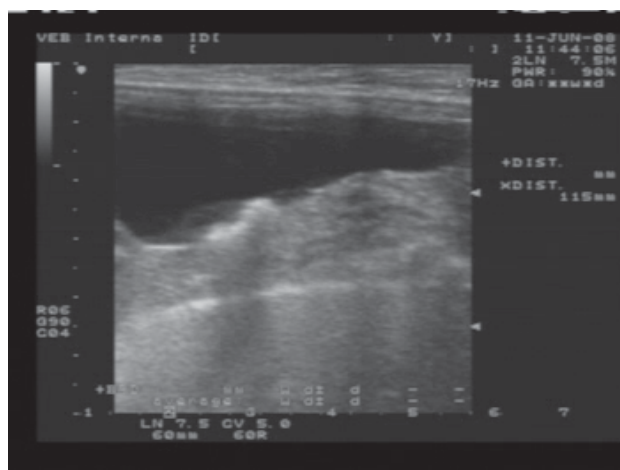
čepova. Opstrukcija uretre je pretežno nastajala kod mužjaka, što se slaže sa navodima drugih studija. Na slici 1A je prikazana slika radiološkog nalaza uretralnog kamenja u mokraćnoj bešici, a na slici 1B ultrazvučni nalaz uretralnog peska i kamenja.



Slika 1A. Nativni rendgenogram mokraćne bešike mačke

Na nativnom rendgenogramu mokraćne bešike mačke jasno se vidi nakupljanje veće količine urina u lumenu kao i prisustvo brojnih kalkulusa

Figure 1A. Native X-ray of cat bladder



Slika 1B. Ehasonogram mokraćne bešike mačke. Uroliti u mokraćnoj bešici (vidljiva posteriorna senka ispod hiperehogene površine urolita) /

Figure 1B. Echasonogram of cat bladder. Uroliths in bladder (visible posterior shadow below hyperechogenic surface of urolith)

Prva opstrukcija uretre je zabeležena kod 83% životinja, a druga kod 17% mačaka. Obradom podataka iz anamneze utvrđeno je da je 90% mačaka od 120

znakova bolesti pokazivalo disuriju, a 10% anuriju. Povraćalo je 17% mačaka, a anoreksiju je imalo 10% životinja. Kliničkim pregledom je utvrđeno da su sve mačke imale hematuriju, a da je 10% bilo apatično. Afebrilno je bilo 60% životinja, febrilno 26%, a hipotermično 17% životinja. Dve trećine mačaka je imalo tahikardiju, a jedna trećina tahiponiju. Bradikardiju je imalo 7% životinja, a bradiponiju 13%. Ostale mačke su imale normalan broj otkucaja srca i respiracija u minuti.

Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i hematokritska vrednost su kod najvećeg broja životinja bili u okviru referentnih vrednosti. Mali broj mačaka je bio anemičan ili policitemičan (tabela 1). Broj trombocita određen u automatskom hematološkom analizatoru nije uziman u obzir zbog sklonosti trombocita mačaka ka stvaranju mikro i makro agregata (Bush, 1993). Analizom bele krvne slike utvrđeno je da je veliki broj životinja imao vrednosti u okviru referentnih za ukupan broj leukocita i apsolutan broj neutrofilnih granulocita. Zanimljivo je da je polovina mačaka imala limfopeniju (tabela 1).

Tabela 1. Zastupljenost mačaka sa opstrukcijom uretre koje su imale vrednosti parametra crvene i bele krvne loze u okviru referentnih vrednosti, iznad i ispod njih

Table 1. Percent cats with urethra obstruction that had red and white blood count parameters within, above and below reference values

	Ukupni leukociti / <i>Total leukocytes</i>	Neutrofilni granulociti / <i>Neutrophil granulocytes</i>	Limfociti / <i>Lymphocytes</i>	Eritrociti / <i>Erythrocytes</i>	Hemoglobin / <i>Hemoglobin</i>	Hematokrit / <i>Hematocrit</i>
RV	67 %	67 %	47 %	70%	87%	87%
RV↑	27 %	27 %	6 %	23%	3%	–
RV↓	6 %	6 %	47 %	6%	10%	13%

RV – referentne vrednosti, RV↓ – ispod referentnih vrednosti, RV↑ – iznad referentnih vrednosti

Rezultati biohemijskog pregleda seruma krvi pokazuju da je koncentracija uree bila iznad fizioloških vrednosti kod svih mačaka, koncentracija kreatinina kod polovine, a koncentracija fosfata kod trećine mačaka (tabela 2). Osim toga, koncentracija albumina je bila povećana kod 70% životinja, dok je koncentracija ukupnih proteina bila povećana kod trećine mačaka (tabela 2).

Tabela 2. Zastupljenost mačaka sa opstrukcijom uretre koje su imale vrednosti biohemijskog pregleda seruma u okviru, iznad i ispod referentnih vrednosti /

Table 2. Percent cats with urethra obstruction that had serum biochemical results within, above and below reference values

	Urea / <i>Urea</i>	Kreatinin / <i>Creatinine</i>	Neorganski fosfati / <i>Nonorganic phosphates</i>	Albumini / <i>Albumins</i>	Ukupni proteini / <i>Total proteins</i>
RV	4%	39%	65%	30 %	53 %
RV↑	96%	50%	35%	70%	27%
RV↓	–	11%	–	–	20%

RV – referentne vrednosti, RV↓ – ispod referentnih vrednosti, RV↑ – iznad referentnih vrednosti

Analiza urina pokazuje da su sve životinje imale hematuriju, a samo jedna mačka u isto vreme značajnu proteinuriju, glukozuriju i bilirubinuriju, dok je analiza sedimenta pokazala prisustvo različitih kristala soli fosfata (tabela 3). Većina mačaka je imala izostenuriju i hipostenuriju, dok su svega dve mačke imale koncentrovan urin (tabela 3).

Tabela 3. Prikaz rezultata pregleda urina kod mačaka sa opstrukcijom uretre. U tabeli je naveden procenat mačaka koji je imao pojedine promene /

Table 3. Results of urine examination in cats with urethra obstruction. Table shows percent cats with certain changes

Pregled urina / Urine examination	Zastupljenost / Percent			Pregled sedimenta urina / Urinary sediment examination	Zastupljenost / Percent
pH	pH<7	pH=7	pH>7	Masa eritrocita i peska / Erythrocyte and sand mass	100%
	13,3%	46,7%	40%		
Hematurija / Hematuria	100%			Kristali / Crystals	
Proteinurija / Proteinuria	3.30%			Dikalcijum fosfat / Dicalcium phosphate	26,70 %
Glukozurija / Glycosuria	3.30%			Tripel fosfat / Triple phosphate	73,30%
Bilirubinurija / Bilirubinuria	3.30%				
Specifična težina / Specific weight	<1,008	1,008-1,012	>1,035	Leukociti / Leukocytes	6,60%
	26,70%	66,60%	6,70%	Epitelne ćelije / Epithelial cells	6,60%

Od 30 pregledanih životinja, jedna šestina je povraćala. Poređenjem rezultata bele krvne loze utvrđeno je da je ukupan broj leukocita i apsolutan broj neutrofilnih granulocita bio sličan kod dve grupe životinja, ali da su mačke koje su povraćale imale značajno niži broj limfocita (tabela 4A). Analizom crvene krvne slike utvrđeno je da su sve osnovne vrednosti bile nešto niže kod mačaka koje su povraćale dok je ukupan broj eritrocita bio značajno niži (tabela 4A). Poređenjem biohemijskih parametara između grupe mačaka koja je povraćala i grupe mačaka koja nije povraćala uočava se da je koncentracija uree, kreatinina, neorganskih fosfata i albumina bila viša kod životinja koje su povraćale, ali da se samo koncentracija kreatinina značajno razlikovala (tabela 4B). Zanimljivo je da su prosečna koncentracija glukoze, kao i njene minimalne i maksimalne vrednosti kod dve grupe bila istovetne (tabela 4B).

Dobijeni rezultati takođe pokazuju da je povećanje koncentracije uree u serumu praćeno padom svih osnovnih parametara crvene krvne slike, a povećanjem koncentracije kreatinina i fosfata (tabela 5). Povećanje broja leukocita bilo je u negativnoj korelaciji sa osnovnim parametrima crvene krvne slike, a u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom fosfata, kreatinina, ukupnih proteina i globulina (tabela 5).

Tabela 4A i B. Prikaz hematoloških i biohemijskih parametara kod mačaka sa opstrukcijom uretre koje su kao dominantni klinički znak imale povraćanje u poređenju sa životinjama koje nisu povraćale. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija i minimalne i maksimalne vrednosti /

Table 4A and B. Hematological and biochemical parameters in cats with urethra obstruction whose dominant clinical sign was vomiting in comparison with cats that did not vomit. Results are presented as mean value $\pm$ standard deviation and minimal and maximal values

A

Klinički znak / Clinical sign	n	Ukupni leukociti / Total leukocytes $\times 10^9/l$	Neutrofilni granulociti / Neutrophil granulocytes $\times 10^9/l$	Limfociti / Lymphocytes $\times 10^9/l$	Eritrociti / Erythrocytes $\times 10^{12}/l$	Hemoglobin / Hemoglobin g/l	Hematokrit / Hematocrit %
Povraćanje / Vomiting	5	19,3 $\pm$ 17,6 ^{NS} (5,3–44,6)	17,8 $\pm$ 16,5 ^{NS} (4–40)	0,6 $\pm$ 0,5*** (0,2–1,1)	6,8 $\pm$ 1,4* (4,4–7,8)	97 $\pm$ 24 ^{NS} (64–123)	30 $\pm$ 8 ^{NS} (20–36)
Nema povraćanja / No vomiting	25	14,6 $\pm$ 7,6 (5,3–30,5)	11,2 $\pm$ 6,5 (1,4–24,7)	2,8 $\pm$ 2,5 (0,1–10,4)	8,6 $\pm$ 2 (1–12,3)	114 $\pm$ 27 (38–151)	33 $\pm$ 8 (8–43)

B

Klinički znak / Clinical sign	n	Urea / Urea mmol/l	Kreatinin / Creatinine μ mol/l	Neorganski fosfati / Nonorganic phosphates mmol/l	Ukupni proteini / Total proteins g/l	Albumini / Albumins g/l	Globulini / Globulins g/l	Glukoza / Glucose mmol/l
Povraćanje / Vomiting	5	48 $\pm$ 39 ^{NS} (12–98)	387 $\pm$ 173* (131–598)	3,5 $\pm$ 1,9 ^{NS} (1,7–5,6)	80 $\pm$ 16 ^{NS} (62–101)	44 $\pm$ 8 ^{NS} (30–52)	36 $\pm$ 15 ^{NS} (24–58)	7,3 $\pm$ 2,7 ^{NS} (4,6–11,3)
Nema povraćanja / No vomiting	25	27 $\pm$ 26 (9–89)	150 $\pm$ 104 (15 – 453)	2,5 $\pm$ 1,6 (1,3 – 5,9)	72 $\pm$ 17 (49–101)	36 $\pm$ 6 (27 – 45)	36 $\pm$ 13 (22–63)	7,7 $\pm$ 2,8 (4,2–13,6)

NS – nema statističku značajnost; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ /

NS – not statistically significant; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

Tabela 5. Koeficijenti korelacije između poređenih parametara kod mačaka sa opstrukcijom uretre /

Table 5. Correlation coefficient between certain parameters in cats with urethra obstruction

	Urea / Urea	Ukupan broj leukocita / Total leukocyte count
Ukupan broj leukocita / Total leukocyte count	0,37 ^{NS}	-0,53**
Hemoglobin / Hemoglobin	-0,43*	-0,6**
Hematokrit / Hematocrit	-0,41*	-0,47**
Ukupan broj eritrocita / Total erythrocyte count	-0,32*	0,4*
Kreatinin / Creatinine	0,62***	0,39*
Neorganski fosfati / Nonorganic phosphates	0,9***	0,086 ^{NS}
Albumini / Albumins	-0,03 ^{NS}	0,6**
Globulini / Globulins	0,18 ^{NS}	0,5*
Ukupni proteini / Total proteins	0,16 ^{NS}	-0,53**

NS – nema statističku značajnost; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ /

NS – not statistically significant; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

Posle primenjene terapije došlo je do oporavka svih pacijenata, osim mačke koja je kao nalaz imala bilirubinuriju i glukozuriju i koja je tokom terapije uginula.

Diskusija / Discussion

Dobijeni rezultati pokazuju da su sve mačke sa opstrukcijom donjih mokraćnih puteva imale urolite i pesak u mokraćnoj bešici ili uretralne čepove koji su doveli do opstrukcije uretre i kliničke slike otežanog mokrenja ili anurije. Kod svih životinja je u sedimentu mokraće uočeno prisustvo pravih ili amorfnih kristala različitih soli fosfata, pri čemu je dominirao nalaz struvitnih kristala. Uroliti i uretralni čepovi koji su detektovani u svim slučajevima opstrukcije, formiraju se od organske supstance na koju se talože kristali različitih soli, a najčešće struvitni kristali (Osborne i sar, 2009). Različiti autori upravo i navode da su struvitni uroliti jedan od dva vodeća uzroka (drugi je prisustvo urolita poreklom od kalcijum-ok-sala) opstrukcije donjih mokraćnih puteva kod mačaka u poslednjih 30 godina (Cannon i sar, 2007; Osborne i sar., 2009).

Post renalna azotemija nastaje već posle 24 sata od kompletne opstrukcije uretre (Bush, 2003; DiBartola, 2010). Usled opstrukcije dolazi do povećanja pritiska u mokraćnoj bešici i povratno do tubula, što dovodi do smanjenja intenziteta glomerularne filtracije (GFR – *glomerular filtration rate*) i posledične azotemije, kao i povećanja koncentracije neorganskih fosfata u serumu. Rezultati dobijeni u ovom ispitivanju su upravo i pokazali da se kod polovine mačaka mogla utvrditi azotemija, kao i pozitivna korelacija koncentracije uree i kreatinina i uree i neorganskih fosfata. Sve pregledane mačke su imale povećanu koncentraciju uree. Povećanje koncentracije uree, a bez povećanja koncentracije kreatinina se može očekivati kod akutne dehidracije (Mehta, 2008), ali i kod ubrzanog katabolizma proteina usled gladovanja, stresa i/ili inflamacije (Bush, 1993). Osim azotemije, većina mačaka (28/30) je imala izostenuriju ili hipostenuriju, što uz prisutnu dehidraciju pokazuje da je osim pada GFR došlo i do poremećaja funkcije tubula. U eksperimentima na pacovima je pokazano da je već posle 15 minuta od potpune opstrukcije uretera dolazilo do gubitka četkastog pokrova na epitelnim ćelijama tubula, a da je težina promena bila u korelaciji sa dužinom opstrukcije (Zager, 1982). Zbog toga možemo da pretpostavimo da i delimična opstrukcija uretre, koja je bila prisutna kod najvećeg broja mačaka tokom nekoliko dana, zapravo dovodi do određenog povećanja pritiska u tubulima i posledičnog poremećaja funkcije epitelnih ćelija, što se može manifestovati gubitkom njihove koncentracione sposobnosti i pojave izostenurije ili hipostenurije.

Sva stanja koja dovode do pojave prerenalne kao i postrenalne azotemije ukoliko se na vreme ne dijagnostikuju i ne koriguju dovešće do oštećenja parenhima bubrega i pojave renalne azotemije sa mogućim nastankom uremije. Znaci uremije ukazuju na poremećaj funkcije drugih organskih sistema osim bubrega – uremični gastroenteritis praćen povraćanjem, erozije na sluznici usne du-

plje i depresija centralnog nervnog sistema (DiBartola, 2010). Petina mačaka sa opstrukcijom donjih mokraćnih puteva kao klinički znak bolesti je imala povraćanje i te životinje su imale značajno niži broj limfocita, što bi moglo da ukaže na to da su duže bile izložene stresu, odnosno, da su imale duži tok bolesti. Te mačke su imale višu koncentraciju uree, kreatinina i fosfata u odnosu na mačke koje nisu povraćale. Najviša zabeležena koncentracija kreatinina među ispitivanim mačkama je bila oko 5 puta viša od gornjih fizioloških vrednosti, dok su u proseku vrednosti kreatinina bile svega dva do tri puta više od fizioloških. Pojedini autori su u nekim slučajevima postrenalne azotemije beležili i 20 puta veću vrednost od fiziološke uz oporavak životinje posle primenjene terapije (DiBartola, 2010). Iz navedenih podataka bi se mogao izvući zaključak da mačke pregledane u ovoj studiji nisu imale tešku azotemiju. Ovom retrospektivnom analizom nije bilo moguće utvrditi da li su životinje sa opstrukcijom uretre imale i neki drugi poremećaj koji bi izazvao povraćanje, kao ni da li je bio prisutan uremijski gastritis, pa se ne može sa sigurnošću tvrditi da li je povraćanje uzrok višeg stepena azotemije ili njena posledica. Iako ispitivanje koncentracije kalijuma nije bilo obuhvaćeno našim istraživanjem, hiperkalijemija je jedan od najtežih poremećaja elektrolita koji se može javiti tokom uretralne opstrukcije, jer zajedno sa hipokalcijemijom i acidozom dovodi do fibrilacije komora i prestanka rada srca (DiBartola, 2010). Među slučajevima prikazanim u ovom ispitivanju samo jedna mačka je uginula tokom terapije. Međutim, osim azotemije i hipostenurije, kod te životinje je zabeležena i bilirubinurija, tako da je osim afekcije urinarnog trakta sigurno postojao i poremećaj funkcije jetre, koji je doprineo uginuću životinje.

Rezultati ispitivanja pokazuju da se sa povećanjem koncentracije uree smanjuju vrednosti osnovnih parametara crvene krvne slike, ali je svega 10% životinja bilo anemično. Na osnovu činjenice da su sve pregledane mačke imale određeni stepen dehidracije (povećana urea), možemo pretpostaviti da su zapravo sve vrednosti crvene krvne slike niže od navedenih i da bi nakon rehidracije životinja bilo više onih koje bi se mogle svrstati u anemične. Taj nalaz je u skladu sa literaturnim podacima (Justine i sar., 2003) jer nagomilavanje toksičnih proizvoda usled poremećenog GFR-a dovodi do blažeg stepena hemolize. Azotemija i uremija dovode i do supresije eritropoeze posredstvom proinflammatoryh citokina i uremijskih toksina. Ipak, da bi se efekti supresije odrazili na krvnu sliku, tok bolesti mora biti subakutan ili hroničan. Zbog toga ne možemo sa sigurnošću tvrditi da je anemija koja je zabeležena kod pregledanih životinja posledica samo azotemije i uremije, već uzrok zabeležene anemije zapravo može biti nezavistan od prisutnog akutnog poremećaja.

Opstrukcija donjih mokraćnih puteva povezana je sa nastankom lokalne inflamacije (lezije sluznice bešike i uretre zbog prisustva peska i urolita ili ishemija zida mokraćne bešike zbog obima distenzije). Osim toga, nagomilavanje uremijskih toksina zbog pada GFR-a, dovodi do sistemske inflamacije (Mezzano i sar., 2001). Iako su sve mačke imale lokalno oštećenje tkiva koje je potvrđeno kroz nalaz hematurije, a polovina životinja i azotemiju, svega je trećina pre-

gledanih pacijenata imala leukocitozu, dok je dve trećine imalo broj leukocita u okviru fizioloških vrednosti. Osim toga, skoro dve trećine životinja je bilo afebrilno. Ovi rezultati nisu neuobičajeni jer je poznato da kod oko 50% mačaka reakcija na oštećenje tkiva ne mora biti praćena leukocitozom, a ukoliko je inflamacija samo lokalnog karaktera ne razvija se ni hipertermija (Paltrinieri, 2008). Osim inflamacije, uzrok leukocitoze može biti i stres koji nastaje zbog bolova usled distenzije uretre ili dovođenja kod veterinara. Kod pregledanih životinja, postojanje leukocitoze je bilo povezano sa smanjenjem vrednosti crvene krvne loze, što se može objasniti inflamacijom jačeg stepena i padom osnovnih parametra crvene krvne slike usled anemije „povezane sa urgentnim stanjima“ koja nastaje kombinacijom smanjenog stvaranja i ubrzane razgradnje eritrocita kao i zbog gubitka krvi (Corwin i Krantz, 2000). Gubitak krvi putem urinarnog trakta je zabeležen kao makroskopska hematurija kod svih ispitivanih životinja. Osim toga, leukocitoza je bila povezana sa povećanjem koncentracije uree, kreatinina, ukupnih proteina i globulina. Ovaj nalaz ukazuje da je viši stepen azotemije povezan sa jačom inflamatornom reakcijom. Sve navedene hematološke i biohemijske promene su u skladu sa rezultatima drugih autora i širim retrospektivnim analizama ovog oboljenja (Justine i sar., 2003; Gilad i sar., 2003; Kyles i sar., 2005; Fischer i sar., 2009).

Zaključak / Conclusion

Dobijeni rezultati pokazuju da su sve životinje sa opstrukcijom uretre imale urolite ili uretralni pesak i uretralne čepove i pretežno struvitne kristale. Sve mačke su dehidrirane, polovina je imala azotemiju, dok je znake uremije pokazivalo oko 10% mačaka. Više od 90% mačaka je pokazivalo i poremećaj funkcije tubula, a svega 50% jasne znake inflamacije. Sve mačke osim jedne su se uspešno oporavile, što pokazuje da je poremećaj funkcije bubrega kod opstrukcije uretre uz pravovremenu i adekvatnu terapiju reverzibilna patološka promena.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Izvođenje ovog kliničkog ispitivanja je izvedeno u okviru projekta broj 175061 koje finansira Ministarstvo za prosvetu i nauku Republike Srbije. /
These clinical investigations were performed within Project Number 175061 which is financed by the Ministry for Education and Science of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Bente KS, Trangerud C, Ottesen N, Henning S, Eggertsdo AV. Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 410-7.
2. Bush BM. Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993.
3. Cannon AB, Westropp JL, Ruby AL, Kass PH. Evaluation of trends in urolith composition in cats: 5,230 cases (1985-2004). *J Am Vet Med Assoc* 2007; 231: 570-6.
4. Corwin HL, Krantz SB. Anemia of the critically ill: "acute" anemia of chronic disease. *Crit Care Med* 2000; 28: 3098-9

5. DiBartola SP Urinary system. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine 7th edn. Philadelphia: Saunders 2010: 1755-2036.
6. Fischer J, Lane I, Stokes J. Acute postrenal azotemia: etiology, clinicopathology, and pathophysiology. *Compend Contin Educ Vet* 2009; 31: 520-33.
7. Gunn-Moore DA. Feline lower urinary tract disease. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 133-8.
8. Gilad S, Hofit L, Eyal R, Eran L. Urethral obstruction in cats: predisposing factors, clinical, clinicopathological characteristics and prognosis. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 101-8.
9. Houston DM, Moore AE. Canine and feline urolithiasis: examination of over 50 000 urolith submissions to the Canadian veterinary urolith centre from 1998 to 2008. *Can Vet J* 2009; 50: 1263-8.
10. Justine AL, Kenneth J. Characterization of the clinical characteristics, electrolytes, acid base, and renal parameters in male cats with urethral obstruction. *J Vet Emerg Crit Care* 2003; 13(4): 227-33.
11. Kruger JM, Osborne CA, Goyal SM, Wickstrom SL, Johnston GR, Fletcher TF, Brown PA. Clinical evaluation of cats with lower urinary tract disease. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199: 211-6.
12. Kruger JM, Osborne CA, Lulich JP. Changing paradigms of feline idiopathic cystitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009; 39: 15-40.
13. Kyles EA, Elizabeth MH, Wooden GB, Adin AC, Elizabeth AS, Clare RG, Mathews GK, Cowgill DL, Shelly V, Nyland GT, Ling VG. Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in cats with ureteral calculi: 163 cases (1984–2002). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 932-6.
14. Lekcharoensuk C, Osborne CA, Lulich JP. Epidemiologic study of risk factors for lower urinary tract diseases in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 1429-35.
15. Mehta AR. Why does the plasma urea concentration increase in acute dehydration? *Physiol educ* 2008, 32 (4): 336.
16. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, Tagle R, González F, Quiroga T, Caceres MS, Leighton F, Pereira J. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int.* 2001; 60: 1844-50.
17. Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, Ulrich LK, Koehler LA. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: perspectives from the Minnesota Urolith Center. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009; 39:183-97.
18. Paltrinieri S. The feline acute phase reaction. *Vet J* 2008; 177: 26-35.
19. Ross SJ, Osborne CA, Lekcharoensuk C, Koehler LA, Polzin DJ. A case-control study of the effects of nephrolithiasis in cats with chronic kidney disease. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230:1854-9.
20. Zager RA. Susceptibility of the proximal tubular brush border to acute obstructive injury. *J Urol* 1982; 127: 383-6.

ENGLISH

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF CLINICAL PATHOLOGICAL FINDINGS IN OBSTRUCTION OF LOWER URINARY PATHWAYS IN CATS

**Jelena Francuski, N. Andrić, V. Ilić, M. Jovanović,
Mirjana Lazarević-Macanović, V. Krstić, Milica Kovačević-Filipović**

Diseases of the lower urinary pathways with urethral obstruction are frequent urological conditions demanding urgent treatment that lead to the occurrence of post renal azotemia due to difficult or disabled urine elimination. The aim of these investigations was to establish the most frequent causes for the occurrence of obstructions of the lower urinary pathways in cats, the most frequent clinical signs, as well as the changes in the hematological and biochemical blood and urine parameters. The obtained results indicate that the most frequent cause of urethral obstruction in cats is the presence of urethra stones, sand, and urethra plugs caused by the aggregation of struvite crystals on organic matrix. The laboratory findings showed that all animals were dehydrated, azotemia was established in half the animals, and signs of uremia were evident in 10% cats. Over 90% cats had disrupted tubular function, and only 50% had clear laboratory signs of inflammation. It can be concluded from the presented results that all cats with urethra obstruction exhibit a certain degree of disrupted kidney function, which is, in most cases, a reversible pathological change when treated with timely and adequate therapy.

Key words: cat, urethra obstruction, azotemia

РУССКИЙ

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКОГО ПАТОЛОГИЧЕСКИХ РЕЗУЛЬТАТОВ У ОБСТРУКЦИИ НИЖНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ КОШЕК

**Елена Француски, Н. Андрич, В. Илич, М. Йованович,
Миряна Лазаревич-Мацанвич, В. Крстич, Милица Ковачевич-Филипович**

Заболевания нижних мочевых путей с обструкцией уретры - частые урологические срочные состояния, приводящие до явления после почечной азотемии из-за затрудненной или сделанной невозможной элиминации мочи. Цель этого исследования была утвердить самые частые причины возникновения обструкции нижних мочевых путей у кошек, самые частые признаки, словно и изменения в гематологических и биохимических параметрах крови и мочи. Результаты указывают, что самая частая причина обструкции, уретры у кошек присутствие уретральных камней, песка и уретральных тампонов наступивших агрегацией струвитных кристаллов на органическую матрицу. Лабораторные результаты показали, что все животные были дегидрированные, азотемия утверждена у половины животных, а признаки уремии у 10% кошек. Больше 90% кошек имело расстройство функции трубки, а всего 50% ясные лабораторные признаки инфламации. Из показанных результатов можно сделать вывод, что все кошки с обструкцией уретры показывают определённую степень расстройства функции почек, которое при своевременной и адекватной терапии, в наибольшем числе случаев обратимое патологическое изменение.

Ключевые слова: кошка, обструкция уретры, азотемия

**KONTAMINACIJA HRANE ZA GOVEDA PLESNIMA I
MIKOTOKSINIMA***
*CONTAMINATION OF CATTLE FEED WITH MOLDS AND
MYCOTOXINS*

Vesna Krnjaja, Ž. Novaković, Ljiljana Stojanović, Dušica Ostojić-Andrić,
N. Stanišić, D. Nikšić, Violeta Mandić**

Ukupan broj potencijalno toksigenih gljivica (plesni), ukupni aflatoksini, zearalenon (ZON) i deoksinivalenol (DON) kao i združena pojava ZON i DON ispitivani su u 67 uzoraka hrane za goveda (koncentrat (n=21), silaža od cele biljke kukuruza (n=18), repinih rezanaca (n=4), pivskog trebera (n=2) i lucerke i trava (n=1), lucerkino seno (n=12), livadsko seno (n=7), seno od stočnog graška i ovsa (n=1) i seno od crvene deteline (n=1)) poreklom sa privatnih farmi iz 10 okruga u Republici Srbiji. Ukupan broj gljivica po 1 g hrane je bio od 0 (silaža od pivskog trebera) do 12×10^4 (koncentrat). Identifikovane su vrste iz osam rodova gljiva: Acremonium, Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Mucor, Penicillium, Rhizopus i Trichoderma. U svim ispitivanim uzorcima hrane za goveda ustanovljeno je prisustvo ZON (100%), dok je 98,5% uzoraka bilo kontaminirano ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je bilo DON pozitivno. Združena pojava ZON i DON ustanovljena je u 92,5% uzoraka. ZON je prisutan u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorku silaže od lucerke i trava ($2.477,5 \mu\text{g kg}^{-1}$), a u najmanjoj u uzorcima silaže od repinih rezanaca ($64,9 \mu\text{g kg}^{-1}$). Ukupni aflatoksini su konstatovani u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorku sena od stočnog graška i ovsa ($7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$), a u najmanjoj prosečnoj koncentraciji u uzorcima silaže od repinih rezanaca ($1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$). DON je detektovan u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorcima koncentrata ($694,2 \mu\text{g kg}^{-1}$), a u najmanjoj prosečnoj koncentraciji u uzorku sena od crvene deteline ($11,0 \mu\text{g kg}^{-1}$), dok u uzorcima silaže od pivskog trebera DON nije detektovan ($0,0 \mu\text{g kg}^{-1}$). U svim ispitivanim uzorcima hrane za goveda između sadržaja vlage (do 20%) i koncentracija ispiti-

* Rad primljen za štampu 24. 02. 2012. godine

** Dr sc. Vesna Krnjaja, viši naučni saradnik, dr sc. Željko Novaković, naučni saradnik, Ljiljana Stojanović, dvm, mr sc. Dušica Ostojić-Andrić, istraživač-saradnik, dipl. inž. Nikola Stanišić, istraživač saradnik, dipl. inž. Dragan Nikšić, istraživač-saradnik, mr sc. Violeta Mandić, istraživač saradnik, Institut za stočarstvo Beograd-Zemun, Republika Srbija

vanih mikotoksina ustanovljena je negativna korelacija ($r=-0,26$) sa ukupnim aflatoksinima i pozitivna korelacija sa ZON ($r=0,36$) i DON ($r=0,60$). Isto tako, pozitivna korelacija ($r=0,22$) ustanovljena je između koncentracija ZON i DON.

Ključne reči: hrana za goveda, toksigene gljive (plesni), ukupni aflatoksini, zearalenon, deoksinivalenol

Uvod / Introduction

Kontaminacija poljoprivrednih proizvoda gljivicama (plesnima) koje proizvode toksične metabolite je često neizbežna i predstavlja problem širom sveta. Relativno visok unos svežih komponenti u ishrani može dovesti do gubitaka hranljive vrednosti i imati štetan uticaj na zdravlje životinja i na produktivnost (Biagi, 2009). Smeše lošijeg hemijskog sastava će usloviti slabije proizvodne rezultate, a time i dovesti do ekonomskih gubitaka u proizvodnji (Šefer i sar., 2010).

Mikotoksini su toksične, hemijski različite sekundarne supstance ili metaboliti proizvedeni od brojnih gljivica. Postoji preko 100 vrsta gljivica koje inficiraju biljke i proizvode mikotoksine. Mikotoksini su uglavnom proizvedeni od *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* rodova gljiva. Infekcije plesnima i proizvodnja mikotoksina mogu se razvijati u različitim fazama proizvodnje useva – u polju, u vreme žetve/berbe i transporta ili u toku skladištenja (Sultana i Hanif, 2009).

Hrana za životinje je često kontaminirana mikotoksinima, kao što su aflatoksini, deoksinivalenol (DON) i drugi trihoteceni, zearalenon (ZON), fumonizini, ohratoksin A (OTA) i ergot alkaloidi. Od navedenih mikotoksina DON je najzasupljeniji u hrani za životinje (između 20% i 100%) (Driehuis i sar., 2008).

DON proizvode gljive iz roda *Fusarium*, najčešće vrste *F. graminearum* i *F. culmorum*. Ove vrste gljiva, koje prouzrokuju truljenje, najčešće se nalaze u žitima, od kojih su pšenica i kukuruz naročito osetljivi (Abramović i sar., 2005). Kukuruz je jedna od osnovnih komponenti koncentrata za goveda. Zrno kukuruza je veoma dobar supstrat za razvoj mikroorganizama, pa ga pod određenim uslovima temperature i relativne vlage, kao i vlage u samom zrnu, većina patogena prouzrokovaca truleži naseljava još u polju. Patogene vrste gljiva mogu rasti unutar napadnutog zrna stvarajući filamentozne hife i širiti se na ostala zrna tokom berbe, transporta i skladištenja (Stanković i sar., 2007). ZON je estrogenski metabolit nekoliko vrsta iz roda *Fusarium*, od kojih je glavni producent vrsta *F. graminearum*. Širom sveta pojava ZON zabeležena je u kukuruzu i silaži, kao i u drugim žitima i sircu (Sultana i Hanif, 2009). Aflatoksini su produkti gljivica iz roda *Aspergillus*, od vrsta *A. flavus* i *A. parasiticus* (Polovinski-Horvatović i sar., 2009), a OTA je sekundarni metabolit *Aspergillus* (*A. ochraceus*) i *Penicillium* (*P. verrucosum*) vrsta (Milićević i sar., 2007, 2009). Ergot alkaloidi su proizvodi vrsta iz roda *Claviceps* (Scott, 2007).

Iz perspektive govedarstva, mikotoksini imaju dvostruki značaj. Prvo, pojava aflatoksina B1 (AFB1) u hrani za goveda može narušiti bezbednost mleka i mlečnih proizvoda, zato što se AFB1 iz hrane za goveda izlučuje u obliku svog metabolita AFM₁ u mleku. Zato, mnoge države imaju zakonski dozvoljene limite za AFB1 u hrani za životinje i AFM1 u mleku. Kod drugih uobičajenih mikotoksina u hrani za goveda, uključujući DON, ZON, fumonizine i OTA, ne razmatra se praktični značaj sa stanovišta bezbednosti mleka i govedih proizvoda za potrošače zbog niskih doza koje se prenose iz hrane za goveda u mleko. Druga važnost je štetan uticaj mikotoksina na zdravstveno stanje životinja i produktivnost (Driehuis i sar., 2008).

Kod životinja i ljudi mikotoksini izazivaju oboljenja pod nazivom mikotoksikoze. Konzumacija mikotoksinima kontaminirane hrane može prouzrokovati akutne i hronične efekte koji mogu biti teratogeni, karcinogeni, neurotoksični i estrogeni ili imunosupresivni kod ljudi i/ili životinja. Direktne posledice su smanjen unos hrane, gubitak apetita, odbijanje hrane, smanjenje telesne mase i reproduktivnih sposobnosti, niska konverzija hrane i povećana pojava bolesti (Binder i sar., 2007). Promene prouzrokovane mikotoksinima zavise od vrste i količine mikotoksina u hrani, od dužine unošenja u organizam, kao i od genetskih (vrste, rasa, soj životinja), fizioloških (kategorija, doba života, ishrana, oboljenja) i spoljašnjih (klimatski uslovi, držanje životinja) faktora (Sinovec i sar., 2000).

Kontaminacija gljivicama i mikotoksinima useva i hrane za životinje je neizbežna pojava u procesu proizvodnog sistema u stočarstvu. Kako su u ishrani preživara uključene kombinacije različitih vrsta hrane (koncentrat, seno, silaža i dr.) onda je izvesnija mogućnost pojave više toksina. Hrana za životinje proizvedena od komponenti iz različitih lokaliteta, takođe, može biti kontaminirana sa više mikotoksina. Združena pojava mikotoksina može prouzrokovati više toksikoza. Kontaminacija mikotoksinima može biti značajna u mnogim usevima kada su vremenski uslovi pogodni za razvoj gljivica. Mikotoksini mogu prouzrokovati štetan uticaj na performanse kod životinja i prouzrokuju poremećaje u njihovom metabolizmu, čak i pri konzumiranju u ekstremno niskim koncentracijama. Mikotoksini u hrani mogu negativno uticati na imuni sistem čak pre vidljivih simptoma kao što je odbijanje hrane ili redukcija proizvodnje mleka (Wyatt, 2005; Jouany i Diaz, 2005).

Gljivice i njihovi mikotoksini imaju značajan ekonomski i komercijalni uticaj i na proizvodnju i na hranljivu vrednost inficiranih žita i krmnih biljaka. Kontaminacija plesnima menja i hranljive i organoleptičke osobine hrane za životinje i prouzrokuje rizik od toksikoza. Nesumnjivo mikotoksikoze životinja se pojavljuju remeteći zdravstvenu i proizvodnu uspešnost u stočarstvu, međutim teško se mogu proceniti ekonomski gubici kao njihova posledica.

U Republici Srbiji nema puno informacija o mikrobiološkom i mikotoksikološkom kvalitetu krmnih smeša i hrane za goveda. Iz tog razloga, cilj rada bio je proučavanje ukupnog broja potencijalno toksigenih gljivica i prirodne pojave ekonomski najznačajnijih mikotoksina, ukupnih aflatoksina, zearalenona i deoksinivalenola u hrani za goveda poreklom iz različitih regiona (okruga) u Republici Srbiji.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ukupno 67 uzoraka hrane za goveda (koncentrat (n=21), silaža od cele biljke kukuruza (n=18), repinih rezanaca (n=4), pivskog trebera (n=2) i lucerke i trava (n=1), lucerkino seno (n=12), livadsko seno (n=7), seno od stočnog graška i ovsa (n=1) i seno od crvene deteline (n=1) ispitivano je za mikrobiološku i mikotoksikološku analizu. Uzorci težine od 1 kg su prikupljeni sa privatnih govedarskih farmi iz 10 okruga u Republici Srbiji (Beogradski, Podunavski, Južnobanatski, Šumadijski, Mačvanski, Kolubarski, Braničevski, Rasinski i Raški okrug). Do analize uzorci su čuvani u plastičnim kesama u frižideru na temperaturi od 4°C. Za mikrobiološku analizu korišćeni su sveži uzorci s tim da su uzorci silaže i sena iseckani sterilnim makazama, dok su za mikotoksikološku analizu uzorci sušeni na 60°C u toku tri dana, pa su zatim samleveni u mlinu (IKA A11, Nemačka).

Mikrobiološka analiza urađena je prema metodama SRPS ISO 21527-1 (2008) i SRPS ISO 21527-2 (2008). Uzorak je homogenizovan u sterilnom fiziološkom rastvoru (0,85% NaCl) u toku 2 minuta na orbitalnoj mešalici (GFL 3015, Nemačka). Posle homogenizacije pripremljena su razređenja, tako što je 1 ml homogenata sipan u 9 ml sterilnog fiziološkog rastvora da bi se dobilo razređenje 10^{-2} , a od ovog sledeća razređenja. Pomoću mikropipete po 1 ml razređenja 10^{-3} i 10^{-4} presejani su na Dichloran Glycerol agar i Dichloran Rose Bengal agar (za uzorke silaže) u Petri kutijama (Ø100) i tako zasejane Petri kutije inkubirane su na temperaturi od 25°C u toku 5-7 dana a zatim je određivan ukupan broj gljiva.

Na osnovu morfoloških osobina, makroskopskih (izgled kolonije) i mikroskopskih (izgled spora) identifikovani su rodovi gljiva prema Watanabe (1994).

Prisustvo ukupnih aflatoksina, ZON i DON ispitivano je pomoću imunoenzimske (ELISA) metode. Homogenizovano je 5 g uzorka i 1 g NaCl u 25 ml 70% metanola u staklenoj boci od 100 ml na orbitalnoj mešalici (GFL 3015, Nemačka) u toku 30 minuta. Zatim je homogenat filtriran kroz Whatman filter papir 1. Filtrat je dalje analiziran prema uputstvu proizvođača Celer® Techna test ELISA kitova. Apsorbansa je određivana na talasnoj dužini od 450 nm na ELISA čitač spektrofotometru (BioTek EL x 800TM, USA).

Međuodnosi između ukupnog sadržaja vlage (do 20%) u uzorcima i koncentracije ispitivanih mikotoksina, kao i korelacija između koncentracija ZON i DON, određivani su primenom Pearson korelacionog koeficijenta.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Ukupan broj gljivica je jedan od kriterijuma u oceni higijenskog kvaliteta i vrlo je značajan za orijentaciju u većoj i maloj verovatnoći da hrana sadrži mikotoksine. Prema Pravilniku o maksimalnim količinama štetnih materija i sasto-

jaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ, 1990), smeše i sirovine za hranu za životinje ne zadovoljavaju higijenski kvalitet ako sadrže više od 300.000 gljivica u 1 g krmne smeše za starije životinje ili 50.000 za mlade životinje.

Mikrobiološkom analizom ispitivanih uzoraka hrane za goveda ustanovljeno je da broj gljivica po 1 g varira od 0 (silaža od pivskog trebera) do 12×10^4 (koncentrat) (tabela 1). Mikroskopskim ispitivanjima determinisano je 8 rodova gljivica – *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* i *Trichoderma*, od kojih su u većini uzoraka koncentrata i sena bile najzastupljenije vrste iz rodova *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*.

U Srbiji prema podacima Škrinjareve i sar. (2008) 97% uzoraka hrane za ishranu mlečnih krava bilo je kontaminirano gljivicama od $7 \times 10^2 \text{ g}^{-1}$ (peletirani rezanci šećerne repe) do $2 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$ (sveža kukuruzna silaža). Izolovano je 14 rodova gljiva od kojih su najzastupljeniji rodovi bili *Aspergillus* i *Penicillium* (Škrinjar i sar., 2008). Prema ispitivanjima Krnjaja i sar. (2008) kod većine ispitivanih uzoraka hrane za goveda poreklom sa različitih lokaliteta u Srbiji ukupan broj gljiva bio je $2\text{--}8 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$. Od identifikovanih vrsta gljiva najzastupljenije su bile vrste iz roda *Aspergillus* (70,5%), zatim vrste iz rodova *Fusarium* (67,6%) i *Penicillium* (50,5%) (Krnjaja i sar., 2008). U Brazilu su Simas i sar. (2007) u zrnu ječma korišćenom u ishrani goveda izolovali u najvećem procentu vrste iz roda *Aspergillus* (42,5%), zatim *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* i *Fusarium* vrste. U Iranu su iz 186 uzoraka hrane za goveda Ghiasian i Maghsood (2011) izolovali najčešće vrste gljiva iz roda *Aspergillus* (37,4%), zatim vrste iz rodova *Penicillium* (23,7%), *Fusarium* (17,5%), *Cladosporium* (9,1%), *Alternaria* (4,3%), *Rhizopus* (3,9%) i *Mucor* (3,4%).

Mikotoksikološkim ispitivanjem 67 uzoraka hrane za goveda 100% uzoraka je kontaminirano sa ZON, 98,5% uzoraka ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je kontaminirano DON. Združena pojava ZON i DON ustanovljena je u 92,5% uzoraka. Među ispitivanim vrstama hrane za goveda ZON je najzastupljeniji u jednom ispitivanom uzorku silaže od lucerke i trava sa koncentracijom od $2.477,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ a najmanje zastupljen u uzorcima silaže od repinih rezanaca sa prosečnom koncentracijom od $64,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($29,2\text{--}117,0 \mu\text{g kg}^{-1}$). Ukupni aflatoksini su najzastupljeniji u jednom ispitivanom uzorku sena od stočnog graška i ovsa ($7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$), a najmanje zastupljeni u uzorcima silaže od repinih rezanaca sa prosečnom koncentracijom od $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($0,0\text{--}2,5 \mu\text{g kg}^{-1}$). DON je najzastupljeniji u uzorcima koncentrata sa prosečnom koncentracijom od $694,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($52,0\text{--}1.149,0 \mu\text{g kg}^{-1}$), a najmanje detektovan u uzorku sena od crvene deteline ($11,0 \mu\text{g kg}^{-1}$), dok u uzorcima pivskog trebera DON nije detektovan ($0,0 \mu\text{g kg}^{-1}$) (tabela 1).

Ispitivanjem korelacije između ukupnog sadržaja vlage (do 20%) u hrani za goveda i koncentracija ispitivanih mikotoksina, ustanovljena je statistički značajna pozitivna korelacija između sadržaja vlage i koncentracije DON ($r=0,60$), statistički neznačajna pozitivna korelacija između sadržaja vlage i ZON ($r=0,36$) i negativna korelacija ($r=-0,26$) između sadržaja vlage i koncentracije ukupnih aflatoksina. Isto tako, statistički neznačajna pozitivna korelacija ustanovljena je između koncentracija ZON i DON ($r=0,22$).

Tabela 1. Ukupan broj gljivica, sadržaj vlage i koncentracija ukupnih aflatoksina, ZON i DON u ispitivanim uzorcima hrane za goveda
Table 1. Total fungal counts, moisture content and concentration of total aflatoxins, ZON and DON in investigated cattle feed samples

Hraniva / Feed	Broj ispitivanih uzoraka / Number of investigated samples	Opseg vrednosti za ukupan broj gljiva / g Range of total fungal counts / g feed	Sadržaj vlage / Moisture content (%)	Ukupni aflatoksini / Total aflatoxins ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		ZON (mg kg ⁻¹)		DON ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
				Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean	Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean	Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean
Koncentrat / Concentrate	21	1x10 ³ -12x10 ⁴	14,0	0,3-8,7	5,9	29,3-1843,0	372,3	52,0-1149,0	694,2
Silaža od biljke kukuruza / Silage of maize plant	18	0-1x10 ³	66,37	0,0-8,5	4,9	43,9-872,3	304,5	87,0-567,0	362,6
Silaža od repinih rezanaca / Silage of beet pulp	4	1x10 ³ -6x10 ⁴	83,72	0,0-2,5	1,6	29,2-117,0	64,9	0,0-207,0	52,5
Silaža od pivskog trebera / Silage of brewer's malt	2	0	77,89	0,4-5,7	3,1	43,3-101,8	72,6	0,0	0,0
Silaža od lucerke i trava / Silage of alfalfa and grass	1	2x10 ³	52,45	6,9-6,9	6,9	2477,5	2477,5	164,0	164,0
Lucerkino seno / Alfalfa hay	12	1x10 ³ -4x10 ⁴	10,1	0,8-8,8	6,7	169,1-606,2	354,5	0,0-391	150,0
Livadsko seno / Meadow hay	7	1x10 ³ -4x10 ⁴	8,4	5,3-8,7	7,3	49,7-270,2	171,9	2,0-140,0	49,9
Seno od stočnog graška i ovsa / Pea and oat hay	1	1x10 ³	8,1	7,9-7,9	7,9	168,3	168,3	79,0	79,0
Seno od crvene dateline / Red clover hay	1	2x10 ³	10,2	7,7-7,7	7,7	656,4	656,4	11,0	11,0
Ukupan broj uzorka / Number of total samples Broj pozitivnih uzoraka / Number of positive samples				67/66		67/67		67/62	
Učestalost % / Incidence %				98,5		100		92,5	

U Srbiji je mikotoksikološkim ispitivanjima hrane za mlečne krave u svim uzorcima ispitivanim tokom letnjeg, jesenjeg i prolećnog perioda pojava ZON i AFB1 zabeležena u dozvoljenim koncentracijama, izuzev kod jednog uzorka briketiranog pivskog trebera u kojem je detektovano $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ AFB1 (Škrinjar i sar., 2008). U Pakistanu prema podacima Sultana i Hanif (2009) 51,67% uzoraka hrane za goveda je bilo kontaminirano sa AFB1 u nedozvoljenim koncentracijama prema pravilniku Evropske unije ($<20 \mu\text{g kg}^{-1}$). U Brazilu prisustvo aflatoksina je detektovano u 33,75% (27/80) uzoraka ječma korišćenog u ishrani goveda sa koncentracijama između 1 i $3 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Simas i sar., 2007).

U Holandiji su Driehuis i sar. (2008) detektovali ZON u 28% uzoraka hrane za goveda i 17% uzoraka silaže sa prosečnom koncentracijom od $125 \mu\text{g kg}^{-1}$, odnosno $80 \mu\text{g kg}^{-1}$. DON je bio prisutan u 54% uzoraka hrane za goveda i 53% uzoraka silaže sa prosečnom koncentracijom od $433 \mu\text{g kg}^{-1}$, odnosno $550 \mu\text{g kg}^{-1}$. Združena pojava ZON i DON je bila 100% u uzorcima hrane za goveda i 75% u uzorcima silaže (Driehuis i sar., 2008).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata u ovim ispitivanjima mikrobiološkog kvaliteta hrane za goveda poreklom iz različitih govedarskih farmi iz Srbije izolovane su i poljske i skladišne gljive. Ove gljivice uključuju na prvom mestu vrste iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Alternaria* koje mogu kontaminirati mnoge poljoprivredne proizvode koji su sastavni deo smeša za ishranu goveda. Ove vrste gljivica su od posebnog značaja zbog toga što su potencijalno toksigene. Rezultat toga je da je 100% ispitivanih uzoraka hrane za goveda bilo ZON pozitivno, 98,5% uzoraka je bilo kontaminirano ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je bilo DON pozitivno. Imajući u vidu visok procenat mikotoksina kontaminiranih uzoraka, može se izvesti zaključak da je neophodno redovno i stalno sprovoditi kontrolu higijenske ispravnosti hrane. Isto tako, ne zaostaje potreba za stalnim razvijanjem i unapređenjem strategije monitoringa gljivica i njihovih mikotoksina u cilju suzbijanja rizika od štetnog uticaja ovih kontaminenata na zdravlje ljudi i životinja.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, projekti TR-31023 i TR-31053 /

This work has been financed by funds of the Ministry for Education and Science and Technological Development of the Republic of Serbia within projects TR-31023 and TR-31053.

Literatura / References

1. Abramović FB, Jajić MI, Jurić BV. Determination of deoxynivalenol in corn. Matica Srpska Proc Nat Sci 2005; 108: 139-46.

2. Biagi G. Dietary supplements for the reduction of mycotoxin intestinal absorption in pigs. *Biotechnol Anim Husb* 2009; 25(5-6): 539-46.
3. Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J, Richard J. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim Feed Sci Technol* 2007; 137(3-4): 265-82.
4. Driehuis F, Spanjer MC, Scholten JM, te Giffel MC. Occurrence of mycotoxins in feed-stuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes. *J Dairy Sci* 2008; 91(11): 4261-71.
5. Ghiasian SA, Maghsood AH. Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds during the summer and winter season in Hamadan, Iran. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(5): 516-21.
6. Jouany J-P, Diaz DE. Effects of mycotoxins in ruminants. In: Diaz DE, editor. *The mycotoxin blue book*. Nottingham: University Press, 2005: 295-323.
7. Krnjaja V, Stojanović Lj, Tomić Z, Nešić Z. The presence of potentially toxigenic fungi in dairy cattle feed with focus on species of genus *Aspergillus*. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans* 2008; 11(4): 621-30.
8. Milićević RD, Jurić BV, Mandić M, Đorđević M. The presence of ochratoxin, a residue in blood plasma of slaughtered swine. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2007; 113: 55-62.
9. Milićević RD, Jurić B, Daković A, Jovanović M, Stefanović MS, Petrović IZ. Mycotoxin porcine nephropathy and spontaneous occurrence of ochratoxin a residues in kidneys of slaughtered swine. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2009; 116: 81-90.
10. Polovinski-Horvatović SM, Jurić BV, Glamović D. The frequency of occurrence of aflatoxin M1 in milk on the territory of Vojvodina. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2009; 116: 75-80.
11. Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ 1990; br. 2).
12. Scott PM. Analysis of ergot alkaloids – a review. *Mycotox Res* 2007; 23(3): 113-21.
13. Simas MMS, Botura MB, Correa B, Sabino M, Mallmann CA, Bitencourt TCBSC, Batatinha MJM. Determination of fungal microbiota and mycotoxins in brewers grain used in dairy cattle feeding in the State of Bahia, Brazil. *Food Control* 2007; 18(5): 404-8.
14. Sinovec Z, Palić T, Ivetić V. Značaj mikotoksikoza u veterinarskoj medicini. II Sav., Budva, 12.-16. jun 2000. godine. *Clinica veterinaria* 2000; 167-77.
15. SRPS ISO 21527-1:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 1: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode većom od 0,95. 2008; 1-12.
16. SRPS ISO 21527-2:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode manjom od 0,95 ili jednakom 0,95. 2008; 1-13.
17. Stanković S, Krnjaja V, Cvijanović G, Stanković G. Zaštita uskladištenog kukuruza od patogenih vrsta gljiva. Međunarodni naučni skup „Multifunkcionalna poljoprivreda i ruralni razvoj II“ – očuvanje ruralnih vrednosti, Beograd-Beočin, Srbija, 6-7 decembar, 2007. godine. *Tematski zbornik* 2007; druga knjiga: 1204-12.
18. Sultana N, Hanif NQ. Mycotoxin contamination in cattle feed and feed ingredients. *Pakistan Vet J* 2009; 29(4): 211-3.

19. Šefer D, Marković R, Šperanda M, Petrujkić B. Hranljiva vrednost krmnih smeša za ishranu goveda na teritoriji Republike Srbije. Vet glasnik 2010; 64(1-2): 75-81.
20. Škrinjar M, Ač M, Krajinović M, Popović-Vranješ A. Zdravstveni i ekonomski značaj prisustva toksigenih plesni i mikotoksina u stočnoj hrani. Savremena poljoprivreda 2008; 57(3-4): 26-34.
21. Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi. In: Morphologies of cultured fungi and key to species. Lewis Publishers, Boca Raton, Boston, London, Washington D.C., 1994.
22. Wyatt RD. Mycotoxin interaction. In: Diaz DE, editor. The mycotoxin blue book. Nottingham: University Press, 2005; 269-79.

ENGLISH

CONTAMINATION OF CATTLE FEED WITH MOLDS AND MYCOTOXINS

Vesna Krnjaja, Ž. Novaković, Ljiljana Stojanović, Dušica Ostojić-Andrić, N. Stanišić, D. Nikšić, Violeta Mandić

The total number of potentially toxigenic molds (fungi), total aflatoxins, zearalenone (ZON), and deoxynivalenol (DON), as well as the joint appearance of ZON and DON have been investigated in 67 samples of cattle feed (concentrate (n=21), silage of whole maize plant (n=18), beet pulp (n=4), brewer's malt (n=2), alfalfa and grass (n=1), alfalfa hay (n=12), meadow hay (n=7), pea and oat hay (n=1), and red clover hay (n=1) originating from private farms from 10 districts of the Republic of Serbia. The total number of fungi per 1 g feed ranged from 0 (silage of brewer's malt) to 12×10^4 (concentrate). Eight fungi genus species have been identified: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Trichoderma*. The presence of ZON (100%) was established in all the examined cattle feed samples, while 98.5% samples were contaminated with total aflatoxins and 92.5% samples were DON positive. The joint appearance of ZON and DON was established in 92.5% samples. ZON was present in the highest average concentration in the sample of alfalfa and grass silage ($2477.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) and in the lowest in beet pulp silage samples ($64.9 \mu\text{g kg}^{-1}$). Total aflatoxins were established in the highest average concentration in the pea and oat hay silage sample ($7.9 \mu\text{g kg}^{-1}$) and in the lowest average concentration in beet pulp silage samples ($1.6 \mu\text{g kg}^{-1}$). DON was detected in the highest average concentration in concentrate samples ($694.2 \mu\text{g kg}^{-1}$) and in the lowest average concentration in the red clover hay sample ($11.0 \mu\text{g kg}^{-1}$), while DON was not detected in brewer's malt silage samples ($0.0 \mu\text{g kg}^{-1}$). In all the examined cattle feed samples, between moisture content (up to 20%) and the concentration of examined mycotoxins, a negative correlation was established ($r=-0.26$) with total aflatoxins and a positive correlation with ZON ($r=0.36$) and DON ($r=0.60$). Furthermore, a positive correlation ($r=0.22$) was established between ZON and DON concentrations.

Key words: cattle feed, toxigenic fungi, total aflatoxins, zearalenone, deoxynivalenol

КОНТАМИНАЦИЯ КОРМА ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПЛЕСНЯМИ И МИКОТОКСИНАМИ

Весна Крня, Ж. Новакович, Лиляна Стаоянович, Душица Остоич-Андрич, Н. Станишич, Дргана Никшич, Виолета Мандич

Совокупное число потенциально токсигенных грибов (плесни), совокупные афлатоксины, зеараленон (ЗОН) и деоксиниваленол (ДОН) словно и соединенное явление ЗОН и ДОН испытаны 67 образчиков корма для крупного рогатого скота (концентрат (n=21), силосование из целого растения кукурузы (n=18), репных лапшей (n=4), пивного зерна (n=2) и люцерны и трав (n=1), сено люцерны (n=12), луговое сено (n=7), сено из кормового гороха и овса (n=1), сено из красного клевера (n=1) происхождением с частных ферм из 10 округов в Республике Сербии. Совокупное число грибов по 1 г корма было от 0 (силосование из пивного зерна) до 12×10^4 (концентрат). Идентифицированы виды из восьми родов грибов: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* и *Trichoderma*. Во всех испытанных образчиках корма для крупного рогатого скота, установленное присутствие ЗОН (100%), пока 98,5% образчиков было загрязнено с совокупными афлатоксинами 92,5% образчиков было ДОН положительно. Соединенное явление ЗОН и ДОН, установленное в 92,5% образчиков. ЗОН присутствующий в наиболее большой средней концентрации в образчике силосования из люцерны и трав ($2.477,5 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$), а в наиболее маленькой в образчиках силосования из репных лапшей ($64,9 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$). Совокупные афлатоксины константированы в наибольшей средней концентрации в образчике сена из кормового гороха и овса ($7,9 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$), а в наиболее маленькой средней концентрации в образчиках силосования из репных лапшей ($1,6 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$). ДОН детектован в наибольшей средней концентрации в образчиках концентрата ($694,2 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) а в наименьшей средней концентрации в образчике сена из красного клевера ($11,0 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$), пока в образчиках силосования из пивного зерна ДОН не детектован ($0,0 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$). Во всех испытанных образчиках корма для крупного рогатого скота между содержанием влаги (до 20%) и концентраций, испытанных микотоксинов установлена отрицательная корреляция ($r=0,26$) с совокупными афлатоксинами и положительная корреляция ($r=0,22$), установленная между концентрациями ЗОН и ДОН.

Ключевые слова: корм для крупного рогатого скота, токсигенные грибы (плесни), совокупные афлатоксины, зеараленон, деоксиниваленол

PROFESOR DR JELKA STEVANOVIĆ
(1959. - 2013.)



Profesor dr Jelka Stevanović je rođena 01. januara 1959. godine u Mladenovcu. Osnovnu školu je završila u Pančevu a srednju Medicinsku školu u Beogradu 1977. godine. Na Veterinarski fakultet u Beogradu upisala se 1977. godine. Studije je završila 1982. godine, sa prosečnom ocenom 9.60. Tokom studija i posle svake završene školske godine za postignut uspeh je bila nagrađivana od strane Univerziteta u Beogradu. Na poslednje dve godine studija dobila je i nagrade iz Fonda profesora Vladete Simića. Od treće godine studija Jelka Stevanović je bila stipendista Univerziteta u Beogradu.

Odmah po diplomiranju se zaposlila u PIK "TAMIŠ" u Pančevu, gde je radila na zdravstvenoj zaštiti živine do 1986. godine, kada se zapošljava kao asistent-pripravnik za predmet Fiziologija, na Katedri za fiziologiju i biohemiju Veterinarskog fakulteta u Beogradu. Tri godine kasnije (1989. god.) unapređena je u zvanje asistenta, a nakon četiri godine (1993. god.) je reizabrana u isto zvanje. Dr Jelka Stevanović je 1994. godine izabrana u zvanje docenta za predmet Fiziologija. U zvanje vanrednog profesora izabrana je 2000. godine, 2005. godine je reizabrana u isto zvanje, a 2008. godine postala je redovni profesor.

Magistarsku tezu pod nazivom "Proteinski i lipoproteinski sistem tečnosti ovarijalnih cista krava", odbranila je 1988. god., a doktorsku disertaciju "Proteini i lipoproteini semene plazme bika", 1994. godine na Veterinarskom fakultetu u Beogradu.

Dr Jelka Stevanović je publikovala i referisala preko 80 naučnih radova, od čega 22 rada u međunarodnim časopisima sa SCI liste, dok je kao istraživač učestvovala i na 7 naučnih projekata.

Autor je ili koautor sedam udžbenika i monografija, i to univerzitetskih udžbenika **Fiziologija organa za varenje kod domaćih životinja (2004)**, **Fiziologija nervnog sistema (2004, 2009)** i koautor univerzitetskih udžbenika **Veterinarska fiziologija (1999)**, **Respiratorne bolesti konja (2004)** i monografija **Digestopatije pasa – klinika, dijagnostika i terapija (2001)**; **Pulmopatije pasa – klinika, dijagnostika i terapija (2002)**; **Značaj slobodnih radikala u veterinarskoj medicini (2012)**.

Dr Jelka Stevanović je učestovala u komisijama za ocenu naučne/stručne zasnovanosti i/ili odbranu 5 doktorskih disertacija, 2 magistarske teza i jednog specijalističkog rada, a bila je i mentor jedne doktorske disertacije.

Od dolaska na fakultet, bila je član Društva fiziologa Srbije, a potom i Srpskog veterinarskog društva. Na fakultetu je bila angažovana u: Komisiji za analizu plana i programa studija, Komisiji za pripremu Pravilnika o kriterijumima za izbor u saradnička i nastavnička zvanja i Komisiji za udžbenike, i kao član Etičkog komiteta za odobravanje eksperimentalnih istraživanja na životinjama. Takođe, bila je i dugogodišnji član Saveta fakulteta (3 mandata) i Komisije za nostrifikaciju diploma.

U toku svoje karijere dr Jelka Stevanović je imala dva kraća studijska boravka u inostranstvu, i to 1989. godine u Institutu za animalnu fiziologiju i genetiku Libehov, Čehoslovačka i 2006. godine na Fakultetu veterinarske medicine u Bolonji, u okviru projekta TEMPUS.

Zahvaljujući kvalitetnom i širokom obrazovanju iz oblasti fiziologije i uopšte, uspevala je da efikasno predaje nastavne sadržaje u okviru predmeta *Fiziologija* na redovnim studijama, kao i veoma heterogene sadržaje u okviru predmeta *Biohemija*, *Imunologija* i *Klinička fiziologija* na doskorašnjim magistarskim studijama i predmeta *Fiziologija* u okviru specijalističkih studija iz Veterinarske farmakologije i toksikologije. Bila je uključena i u nastavi na doktorskim studijama FVM, u okviru predmeta: *Imunologija*, *Nervni i humoralni mehanizmi regulacije*, *Fiziologija i biohemija telesnih tečnosti* i predmetni nastavnik *Integracije metabolizma i funkcije organa domaćih životinja*.

Osoba koja je iskreno, autentično i u potpunosti volela svoj poziv, univerzitetskog profesora. To se videlo u svemu, apsolutno svakoga trenutka, odnosu prema predavanjima, vežbama, kolegama i nadasve studentima! Volela ih je, poštovala i uvažavala u svakom pogledu! Nikada joj ništa nije bilo teško, imala je beskrajno strpljenje za svakog kolegu i studenta, da sasluša, posavetuje, pomogne! Sve je radila nesebično, punim srcem, nikada ne očekujući ni od koga apsolutno ništa za uzvrat. Nesebično je pomagala svima koji bi to zatražili. Generacije studenata pamte je, i pamtiće je, kao nadasve vrhunskog predavača, što je uvek potkrepljivano kroz najviše ocene studenata.

I u najtežim trenucima kroz koje je prolazila poslednjih godina života, osmeh nije silazio sa njenog lica, uvek puna strpljenja i saosećanja, čak i kada joj je bilo najteže, da sasluša druge, pomogne, bez trunke sebičnosti, ne misleći ni

tada na svoje probleme! Dok je fizički mogla nije napuštala studente, predavanja, pisanje radova i monografije.

Bila je jedan od najboljih studenata u istoriji FVM, nagrađivana, i još tada primećena i uvažena od strane starih generacija profesora koji su znali šta je rad i vrednost! Dobitnik je stipendija i nagrada.

Kasnije, kao asistent, briljantno je vodila vežbe, a potom kao profesor držala predavanja, o kojima su svi pričali kao nečem posebnom! Imala je prirodni dar i inteligenciju da i najsloženije stvari predstavi na najjednostavniji i svima razumljiv način, a da pri tome ne dovede do njihove banalizacije! To su svi odmah primećivali a generacije studenata, sada kolega, pamte i prepričavaju ova predavanja!

Vredna, uporna, bistrog uma i nadasve vrhunske inteligencije, širokog obrazovanja u profesionalnom i opštem smislu! Volela je ljude, život, druženje, proputovala je čitavu Evropu i dobar deo sveta.

Tiho, nenametljivo, ali odlučno koračala je kroz život ne štedeći sebe, a uvek u korist drugih.. Svi koji su je poznavali za nju su imali samo reči hvale i znali da je krase jedna od retkih osobina među ljudima, bila je čovek. Dobro namerna, spremna da pomogne i u privatnom životu, svima kojima je to potrebno.

Uvek joj je na prvom mestu bio kvalitet, i samo kvalitet onoga što je radila, nikada kvantitet. Darovita ne samo kao predavač, već isto tako i kao autor, pisac univerzitetskih udžbenika, njeni tekstovi su uvek čitki, briljantno napisani, bez greške, posle njene tačke nikada, ili skoro nikada se nije imalo šta dodati!

I u najtežim trenucima, kroz koje je prolazila, nikada nije odstupala od svojih principa, nije pristajala na neprirodne kompromise. Njena nadprosečna inteligencija i obrazovanje, išli su ispred ljudi i vremena sa kojima je egzistirala. Bila je uvek korak ispred, svakako za neka buduća vremena i nikako za ovaj prostor.

Razgovori sa njom bili su neopterećujući, ali puni u svakom smislu. Umela je i da sluša i da čuje, nije bila sujeta, saslušala bi i najveće besmislice pokušavajući da ukaže na njihovu nesvrishodnost. Kao takva za neke nije mogla biti shvaćena.

Živela je istovremeno, i veoma tiho i burno. Tiho, jer je bila nenametljiva, skromna nesebična, saosećajna. Burno, jer nije dozvoljavala da njen život optoči mahovina, već je uvek koračala uspravno, hrabro, učeći, putujući, družeći se sa puno ljudi u privatnom životu! I svi oni, koji su imali sreću da je i privatno poznaju, u njenom neposrednom okruženju, to su i prepoznavali, i cenili i poštovali. Osoba koju ne možete zaboraviti i da hoćete, koja vam se neizbrisivo, a nenametljivo, tiho i bez namere uvuče pod kožu. Ako i vi umete da slušate i čujete, onda je užitek potpun, neprevaziđen!

Živeće večno u sećanjima onih koji su je iskreno i nesebično voleli, poštovali i cenili, kao i ona njih!

Dr Slavoljub Jović, docent
Dr Sunčica Borozan, profesor

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2012–2013. GODINE

Jevtić M. Đorđe

Rođen 14. 10. 1986. u Šapcu
Diplomirao 22. 01. 2013.
Stalno mesto boravka Badovinci
Karađorđeva 145/b

Ljušković Dž. Zlata

Rođena 06. 12. 1984. u Bijelom Polju,
R. Crna Gora
Diplomirala 28. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Bijelom Polju,
R. Crna Gora
13. jul 35

Milinić S. Snežana

Rođena 28. 02. 1986. u Prokuplju
Diplomirala 25. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Prokuplje
Cara Lazara 65

Klajić M. Živko

Rođen 20. 12. 1985. u Senti
Diplomirao 26. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Bačko Gradište
Školska 7

Mišković S. Dragan

Rođen 03. 09. 1981. u Rumi
Diplomirao 17. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Voganj
Bokićeva 9

Dmitrić P. Marko

Rođen 25. 02. 1987. u Čačku
Diplomirao 24. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Kotraž

Jereminov V. Miloš

Rođen 08. 06. 1987. u Pančevu
Diplomirao 21. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Kovin
Trg Žarka Zrenjanina 8/2

Mladenović Lj. Miloš

Rođen 08. 12. 1982. u Boru
Diplomirao 24. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Bor
Dobrivoja Radosavljevića Bobi 14/6

Simonović Lj. Dušan

Rođen 14. 03. 1981. u Jagodini
Diplomirao 21. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Jagodina
Ive Andrića 4/1

Todorović B. Mina

Rođena 15. 11. 1985. u Beogradu
Diplomirala 12. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Jevrejska 23

Kostić Ž. Vladimir

Rođen 20. 05. 1984. u Beogradu

Diplomirao 13. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Izvorska 42

Ledina M. Tijana

Rođena 05. 01. 1987. u Soko Banji
Diplomirala 08. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Radovana Simića Cige 34

Jarić M. Slađana

Rođena 20. 08. 1983. u Zemunu
Diplomirala 04. 12. 2012.
Stalno mesto boravka Batajnica
Posavska 7

Kukrić R. Vlado

Rođen 05. 10. 1987. u Gradišci BiH
Diplomirao 30. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Slavka Kolara 14/4, Kotež

Petrović V. Goran

Rođen 14. 07. 1977. u Bijeljini,
R. Srpska, BiH
Diplomirao 19. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Bijeljina,
R. Srpska, Račanska 71

Živanović R. Lazar

Rođen 14. 11. 1986. u Šapcu
Diplomirao 28. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Vladimirci
Selo Jalovik

Ramgelov R. Ninoslav

Rođen 04. 01. 1982. u Vranju
Diplomirao 26. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Vranje
Branka Taškovića 10

Damjanović M. Bojan

Rođen 12. 04. 1981. u Požarevcu

Diplomirao 22. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Požarevac
Vojske Jugoslavije 47

Jovanović Č. Bora

Rođen 27. 05. 1973. u Šapcu
Diplomirao 07. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Lazarevački drum 4/2

Vranješ J. Marina

Rođena 12. 11. 1984. u Beogradu
Diplomirala 20. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Sremskih boraca 2-U

Mitić B. Goran

Rođen 04. 09. 1985. u Nišu
Diplomirao 14. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Niš
Justina Popovića 35

Radulović B. Zlatko

Rođen 08. 04. 1979. u Kruševcu
Diplomirao 13. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Aleksandrovac
Željinska 35

Čekan D. Goran

Rođen 02. 04. 1983. u Beogradu
Diplomirao 05. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Kumodraška 113

Jazić J. Zoran

Rođen 25. 05. 1981. u Zemunu
Diplomirao 12. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Belegiš
Svetog Save 57

Kuga M. Branislav

Rođen 22. 11. 1986. u Zvorniku,
R. Srpska, BiH

Diplomirao 06. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Indija
Gavrila Principa 16

Lazarević M. Dalibor

Rođen 31. 08. 1984. u Tuzli, BiH
Diplomirao 06. 11. 2012.
Stalno mesto boravka Tobut-Ljotara
R. Srpska, BiH

Jestrotić T. Dragiša

Rođen 13. 05. 1983. u Šapcu
Diplomirao 30. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Svilejva

Bojić M. Mirjana

Rođena 27. 08. 1976. u Loznici
Diplomirala 26. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Dublje
Katice Čačić 143

Todorović B. Vladimir

Rođen 03. 05. 1981. u Kraljevu
Diplomirao 25. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Kumodraška 181/53

Molnar M. Sandra

Rođena 27. 05. 1975. u Zrenjaninu
Diplomirala 25. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Šerfezi Đure 2

Ilić R. Miroslav

Rođen 03. 12. 1971. u Beogradu
Diplomirao 23. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kralja Milutina 25-A

Kragović Z. Đorđe

Rođen 28. 10. 1987. u Novom Pazaru
Diplomirao 12. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Raška
Rudnica, Mire 47

Jovanović D. Ljubomir

Rođen 05. 09. 1987. u Zaječaru
Diplomirao 08. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Sokobanja
Alekse Morišića 76

Vujin J. Milan

Rođen 18. 12. 1986. u Beogradu
Diplomirao 08. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Aleksandra Ace Simovića 171

Sukara R. Ratko

Rođen 07. 11. 1987. u Jajcu, BiH
Diplomirao 08. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Cerska 33

Gavrić B. Jovana

Rođena 20. 10. 1985. u Beogradu
Diplomirala 03. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Španskih boraca 4

Šiljak N. Nada

Rođena 13. 12. 1980. u Bačkoj Topoli
Diplomirala 01. 10. 2012.
Stalno mesto boravka Bačka Topola
Jovana Mikića 33

Jojić M. Ivan

Rođena 01. 11. 1987. u Beogradu
Diplomirala 28. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Jelezovačka 26/24

Staničkov Č. Nenad

Rođen 23. 06. 1982. u Somboru
Diplomirao 28. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Srpski Miletić
Stojana Ljubića 23

Janjušević M. Jelena

Rođena 17. 05. 1987. u Priboju
Diplomirala 21. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Stevana Musića 2

Čupić J. Dejana

Rođena 30. 12. 1983. u Zemunu
Diplomirala 19. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Zemun
Branka Pešića 20

Bošković D. Marija

Rođena 06. 11. 1987. u Beogradu
Diplomirala 19. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Zemun
Marije Bursać 21

Stević B. Jovana

Rođena 21. 09. 1987. u Požarevcu
Diplomirala 19. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Požarevac
Šumadijska 63/16

Railić M. Ljubiša

Rođen 28. 03. 1975. u Derventi,
R. Srpska, BiH
Diplomirao 20. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Bijeljina
Zmaj Jovina 7/2

Vesković M. Boban

Rođen 27. 09. 1977. u Štipu,
BJR Makedonija
Diplomirao 19. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Rudovci
6. avgusta 21

Nedić N. Sreten

Rođen 12. 06. 1987. u Gradačcu, BiH
Diplomirao 13. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Šamac
BiH, R. Srpska, Gornja Slatina bb

Palamarević R. Milija

Rođen 09. 10. 1988. u Kragujevcu
Diplomirao 13. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Guberevac

Marković D. Danijel

Rođen 20. 05. 1985. u Vranju
Diplomirao 13. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Vranje
Partizanski put 19

Milošević A. Ivan

Rođen 16. 10. 1987. u Beogradu
Diplomirao 12. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Debrč
Šabački put bb

Mitrović B. Marko

Rođen 01. 07. 1987. u Beogradu
Diplomirao 11. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Beograd
Dobrivoja Jovanović 9, V. Moštanica

Vidaković B. Boriša

Rođen 11. 03. 1984. u Tuzli, BiH
Diplomirao 10. 09. 2012.
Stalno mesto boravka Bijeljina,
BiH, R. Srpska, Drinska 39

UPUTSTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RUKOPISA

VETERINARSKI GLASNIK je časopis Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, koji se izdaje u saradnji sa suizdavačem Veterinarskom komorom Srbije. Časopis objavljuje originalne i pregledne radove, izveštaje sa kongresa i stručnih sastanaka, prikaze knjiga, radove iz istorije veterinarske medicine, dopise za rubriku Sećanje, kao i komentare i pisma Uredništvu u vezi sa objavljenim radovima.

Sve prispele rukopise Uređivački odbor, odnosno glavni i odgovorni urednik šalje recenzentima radi stručne procene. Ukoliko recenzenti predlože izmene i dopune, tada se kopija recenziranog rukopisa dostavlja autoru (autorima) s molbom da tražene izmene unesu u tekst ili pak u protivnom da argumentovano izraze svoje neslaganje sa datim primedbama recenzenta. Konačnu odluku o prihvatanju rada za štampu donosi glavni i odgovorni urednik zajedno sa Uređivačkim odborom.

Časopis se štampa na srpskom jeziku, a kratak sadržaj se prevodi na engleski i ruski. Radovi stranih autora, van srpskog, hrvatskog i bošnjačkog govornog područja se štampaju na engleskom jeziku sa kratkim sadržajem na srpskom i ruskom jeziku.

Molimo saradnike da svoje radove za Veterinarski glasnik pišu jasno, koncizno, racionalno, gramatički ispravno i u skladu sa sledećim uputstvima.

OPŠTA UPUTSTVA

Tekst rada se kuca u programu za obradu teksta Word, latinicom, fontom Times New Roman, duplim proredom i veličinom slova 12 tačaka (12 pt). Levu i desnu marginu podesiti na 20 mm, a gornju i donju na 30 mm, veličinu stranice na A₄, sa levim poravnanjem i uvlačenjem svakog pasusa za 10 mm. Ukoliko se u tekstu koriste specijalni znaci (simboli), koristiti font Symbol. Rukopis rada dostaviti odštampan jednostrano na belom papiru formata A₄ u dva primerka, zajedno sa elektronskom verzijom. Stranice numerisati redom u okviru donje margine (sa desne strane) počev od naslovne strane. Podaci o korišćenoj literaturi u tekstu označavaju se u zagradi prezimenom autora, iza kojeg se stavlja zarez i godina. Ukoliko ima više od dva autora, tada se u zagradi piše samo prezime prvog autora uz dodatak "i sar.," pa godina (npr. Petrović i sar., 1987).

NASLOVNA STRANA

Na posebnoj prvoj stranici treba napisati sledeće:

– Naziv članka, odnosno rada, treba pisati velikim slovima bez podvlačenja i bez skraćenica.

– Imena autora pisati ispod naslova punim imenom i prezimenom sa titulom i zvanjem, bez podvlačenja i veznika, već razdvojena samo zarezom. Iznad prezimena se zvezdicom (jednom ili više) označava ustanova u kojoj radi autor (autori). Zvezdice se stavljaju u superskriptum na kraju svakog prezimena.

– Tačan naziv ustanove (i mesta u kojima se nalazi) u kojima autori rade, treba navoditi onim redosledom koji odgovara redosledu autora u radu.

– Na dnu stranice treba navesti ime i prezime (adresu, broj telefona, faksa ili e-mail) jednog od autora, radi korespondencije

KRATAK SADRŽAJ

Na posebnoj stranici uz rad treba priložiti i prošireni kratak sadržaj rada, obima jedne stranice A4 formata. Pored naslova i imena autora, kratak sadržaj treba da sadrži uvod, materijal i metode, rezultate, diskusiju i zaključak. Takođe, ispod kratkog sadržaja treba navesti ključne reči (optimalno tri do šest).

PISANJE TEKSTA

Svi podnaslovi se pišu malim slovima i boldovano. U radu koristiti kratke i jasne rečenice. Sve strane reči za koje postoji odgovarajuće ime u našem jeziku treba zameniti tim nazivom tj. da prevod bude u duhu srpskog jezika. Za nazive lekova koristiti isključivo njihova internacionalna nezaštićena imena (ili kako to još neko naziva generička imena) i pisati ih onako kako se izgovaraju (ne na latinskom ili engleskom jeziku). Ukoliko se pak želi ipak istaći ime nekog preparata, onda se njegovo ime (zajedno sa imenom proizvođača) stavlja u zagradu iza naziva aktivne supstancije. Uređaji ili aparati se takođe označavaju njihovim trgovačkim nazivima, s tim što se i ovde u zagradi mora navesti ime i mesto proizvođača. Određene supstancije ili hemikalije, koje se označavaju slovima i brojkama, moraju se precizno označiti stavljanjem broja iznad (superskriptum) ili ispod slova (subskriptum) (npr. IL-6, H₂O, B₁₂, CD₈). U radu se mogu koristiti određene skraćenice, ali samo kada je to neophodno (npr. kod dugačkih imena hemijskih jedinjenja) ili kada se takve skraćenice već nalaze u literaturi, odnosno kao takve su već prepoznatljive (npr. DNK). Za svaku skraćenicu, koja se prvi put javlja u tekstu treba navesti i pun naziv. Skraćenice nikako ne koristiti u naslovu, a u kratkom sadržaju ih takođe treba izbegavati. Decimalne brojeve pisati sa zarezom. Obim rukopisa bez priloga, ne treba da bude veći od 8 stranica kucanog teksta, izbegavati veliki broj priloga.

Tabele se označavaju arapskim brojevima (iznad tabela) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman i veličinu slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se u tabeli koriste skraćenice, iste treba objasniti u legendi ispod table. Svaku tabelu treba odštampati na posebnom listu papira i za svaki primerak rukopisa dostaviti po jednu.

Grafikoni se takođe označavaju arapskim brojevima (ispod grafikona) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman i veličinu slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se koriste skraćenice, iste treba objasniti u legendi ispod grafikona. Svaki grafikon treba odštampati na posebnom listu papira i za svaki primerak rukopisa dostaviti po jedan.

Sheme (crteži) se označavaju arapskim brojevima (ispod shema) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman i veličinu slova 10 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se koriste skraćenice, iste treba objasniti u legendi ispod sheme. Svaku shemu treba odštampati na posebnom listu papira i za svaki primerak rukopisa dostaviti po jednu.

Fotografije se označavaju arapskim brojevima (ispod fotografije) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Primaju se isključivo originalne fotografije (crno-bele ili u boji). Na poleđini svake fotografije treba napisati redni broj i strelicom označiti gornji deo slike. Zbog kvalitetnije reprodukcije preporučljivo je slike dostavljati u elektronskom obliku (nastavak: jpg, tif ili sl., ne "uvlačiti" ih u "Word" format). U prilogu papirne forme teksta rada treba odštampati fotografiju sa odgovarajućom legendom i oznakom rednog broja.

POGLAVLJA RADA

Poglavlja rada su: **Uvod, Materijal i metode rada, Rezultati, Diskusija (ili Rezultati i diskusija zajedno), Zaključak i Literatura.**

U uvodu treba ukazati na najvažnije, odnosno najnovije činjenice i poglede, vezane za temu rada, sa kratkim obrazloženjem cilja sopstvenih ispitivanja.

Materijal i metode rada – U ovom poglavlju treba opisati uslove pod kojima su ogledi izvedeni, materijal i životinje na kojima su izvedeni, kao i metode koje su korišćene u ogledu.

Rezultati – Rezultate prikazati pregledno uz pomoć tabela ili grafikona. Svuda treba da stoji redni broj i tekst, koji opisuje šta određena slika, tabela, grafikon ili shema prikazuje. Redni broj sa tekstom se stavlja iznad tabela, a kod svih ostalih prezentacija ispod. Autor mora tačno da naznači mesto u tekstu gde želi da bude prikazan određeni prilog.

Diskusija – U ovom poglavlju autor analizira dobijene rezultate i iste upoređuje sa rezultatima i mišljenjima drugih autora, te pokušava istaći njihov teorijski i praktični značaj.

Literatura – Autor treba da navede literaturne podatke, odnosno radove, koje je koristio u toku izrade svog rada. Poželjno je da korišćena literatura bude što novija, ako je moguće da ne bude starija od 5 godina. Reference treba pisati jednu ispod druge, numerisati ih arapskim brojevima i abecednim redom prema prvom slovu prezimena prvog autora. Ukoliko tekst reference ne može da stane u jedan red, tada se red koji sledi uvlači ispod prethodnog, jednim pritiskom na tabulator. Broj referenci nije u principu ograničen ali se preporučuje da ne bude veći od 30. Izbegavati korišćenje abstrakta kao reference. Reference članaka, koji su prihvaćeni za štampu treba označiti kao "u štampi" i priložiti dokaz o prihvatanju rada. Reference se citiraju prema "Vankuverskim pravilima", koja su zasnovana na formatima koja koriste National Library of Medicine i Index Medicus. Naslove časopisa takođe treba skraćivati prema načinu koji koristi Index Medicus (ne stavlјati tačke posle skraćenice). Stranice se citiraju tako što se navode početna

stranica, a krajnja bez cifara koje se ponavljaju (npr. 134-138 se navode kao 134-8).

Primeri:

1. Članak u časopisu:

Petrović M, Rakić L. Uticaj selena na razvoj pilića. *Živinarstvo* 2005; 2(7): 234-9.
Knežević B. Kvantitativni parametri radova u medicini. *Perod Biolog* 1990; 92(2): 241-3.

2. Knjige i druge monografije:

Borojević S. Metodologija eksperimentalnog naučnog rada. 2. izd. Novi Sad: Radnički univerzitet "Radivoje Čirpanov", 1978.
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev. ed. London: S Paul, 1986.
Mihajlov AI, Černyj AI, Giljarevskij PS. Naučne komunikacije i informatika. Moskva: Izdateljstvo "Nauka", 1976.
Plumb DC. Veterinary Drug Handbook. 4th edition. Iowa/Ames: Iowa State University Press, 2002.

3. Poglavlja u knjizi:

Pantelić D. Naučni metod. U: Pantelić D, Vesley-Tanasković I, Radotić M, Savić B, Kuzmanović M, Vojvodić V, i dr. Metodologija naučnoistraživačkog rada u medicinsko-biološkim naukama. Beograd: Vojnoizdavački zavod, 1977: 7-37.
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-72.

4. Rad ili abstrakt u Zborniku radova:

Ćupić V, Trailović D, Dobrić S, Velež R. Značaj racionalne primene lekova u veterinarskoj medicini. *Proceeding of Workshop Clinica Veterinaria Ohrid, Macedonia*, 3-7. September 2005: 207-9.
Ćupić V, Trailović D. Neracionalna primena lekova u veterinarskoj medicini – rizik po zdravlje ljudi. *Zbornik kratkih sadržaja radova 16. savetovanja veterinarima Srbije sa međunarodnim učešćem. Zlatibor, Srbija, 8-10. Septembar, 2004*: 223-34.

NAPOMENA

Rad koji ne ispunjava sve gore navedene uslove neće biti poslat na recenziju i biće vraćen autorima da ga dopune i isprave.

ADRESA ČASOPISA

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