

YU ISSN 0350-2457
UDK 619 (05)

VETERINARSKI GLASNIK

**naučni časopis
scientific journal**

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

VET. GLASNIK Vol. 64 Br. 1-2 Str. 1 - 156 Beograd, 2010.



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

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

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

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

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Jadranka Tijanić*

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 za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije
Publication of this journal is financially supported by:
Ministry of Science and Technological Development of Republic Serbia

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

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



VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK

Vol. 64

Br. 1 - 2

str. 1 - 156 Beograd, 2010.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Kurćubić V., Ilić Z., Đoković R., Jevtić S., Petrović T.: Utvrđivanje prisustva i statusa infekcije virusom goveda dijareje u zapatima goveda u centralnoj Srbiji – mogućnosti za kontrolu
Establishing Presence and Status of Infection with Bovine Diarrhoea Virus in Cattle Herds in Central Serbia – Possibilities for Control
Утверждение присутствия и статуса инфекции вирусом говяжьей диареи в пременных приплодах крупного рогатого скота в центральной Сербии - возможности для контроля **3**
- Savić Đ., Matarugić D., Delić N., Kasagić D., Stojanović M.: Određivanje organskih sastojaka mleka kao metoda ocene energetskeg statusa mlečnih krava
Determination of Organic Components of Milk as Method for Evaluating Energy Status of Dairy Cows
Определение органических компонентов молока как метода оценки энергетического статуса молочных коров **21**
- Lazić S., Rogan D., Petrović T., Bugarski D., Lupulović Diana, Lazarević M.: Ispitivanje prisustva antitela protiv govedeg herpesvirusa-1 u krvnom serumu teladi pre ishrane kolostrumom
Investigations of Presence of Antibodies Against Bovine Herpesvirus-1 in Blood Serum of Calves Prior to Colostrum Diet
Результаты антител против говяжьего герпесвируса-1 в кровяном сыворотке теллят до кормления молозивом. **33**
- Prodanović R., Kirovski Danijela, Jakić-Dimić Dobrila, Vujanac I., Kureljušić B.: Telesna kondicija i pokazatelji energetskeg statusa krava u visokom graviditetu i ranoj fazi laktacije
Body Condition and Indicators of Energy Status of Cows in Advanced Gravidity and Early Stage of Lactation
Кондиция тела и показатели энергетического статуса коров в высокой беременности и ранней фазе лактации. **43**
- Vujanac I., Kirovski Danijela, Bojkovski J., Prodanović R., Savić B., Šamanc H.: Uticaj toplotnog stresa na vrednosti trijasa kod visokomlečnih krava
Effect of Heat Stress on Vital Signs in High-Yield Dairy Cows
Влияние теплового стресса на показатели триаса у высоко молочных коров . . . **53**

■ Mišić D., Žižović Irena, Ivanović Jasna: Antibakterijsko delovanje mešavina ekstrakata usnee, timijana i anđelike dobijenih različitim tehnološkim procesima protiv nekih vrsta bakterija značajnih za veterinarsku medicinu Antibacterial Effects of Mixtures of Extracts of Usnea, Thyme and Angelica Obtained Using Different Technological Processes Against Certain Types of Bacteria of Importance in Veterinary Medicine Антибактериальное действие смесей экстрактов губного лишая, тимьяна и анжелики, полученных различными технологическими процессами против некоторых видов бактерий значительных для ветеринарной медицины	65
■ Šefer D., Marković Radmila, Šperanda Marcela, Petrujkić B.: Hranljiva vrednost krmnih smeša za ishranu goveda na teritoriji Republike Srbije Nutritive Value of Fodder Mixes for Nutrition of Cattle in Territory of Republic of Serbia Питательная стоимость кормовых смесей для кормления крупного рогатого скота на территории Республики Сербии	75
■ Marković Radmila, Šefer D., Radulović S., Šperanda Marcela: Prisustvo i značaj mikotoksina u hrani za svinje Presence and Importance of Mycotoxins in Pig Feed Присутствие и значение микотоксинов в корме для свиней	83
PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ	
■ Lauš S., Trailović D., Đoković S.: Neonatalna septikemija ždrebadi: etiopatogeneza, dijagnostika i terapija Ethiopathogenesis, Diagnostics and Therapy of Foal Neonatal Septicemia Неонатальная септицемия жеребят: этиопатогенез, диагностика и терапия . .	93
■ Valčić M. A., Radojičić Sonja: Grip – influenza Influenza – Flu Грипп – инфлюэнца	109
■ Dakić Zorica, Indjić N., Milošević B., Poluga Jasmina, Kulišić Z., Korać M., Stajković N., Ofori-Belić Irena, Pavlović M.: Epidemiologija i dijagnostika fascioleze ljudi Epidemiology and Diagnostics of Human Fasciolosis Эпидемиология и диагностика фасциолеза людей	127
STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ	
■ Trailović D., Lauš S., Đoković S.: Transfuzija krvi kod konja Blood Transfusion in Horses Трансфузия крови у лошадей	137
■ Kobal Silvestra: Homeopatski proizvodi i homeopatsko lečenje u veterinarskoj medicini u Republici Sloveniji Homeopathic Products and Homeopathic Treatment in Veterinary Medicine in Republic of Slovenia Гомеопатические продукты и гомеопатическое лечение в ветеринарной медицине в Республике Словении	143
DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE - ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	
UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS	153

UTVRĐIVANJE PRISUSTVA I STATUSA INFEKCIJE UZROKOVANE VIRUSOM GOVEĐE DIJAREJE U ZAPATIMA GOVEDA U CENTRALNOJ SRBIJI – MOGUĆNOSTI ZA KONTROLU*

ESTABLISHING PRESENCE AND STATUS OF INFECTION WITH BOVINE DIARRHOEA VIRUS IN CATTLE HERDS IN CENTRAL SERBIA – POSSIBILITIES FOR CONTROL

V. Kurćubić, Z. Ilić, R. Đoković, S. Jevtić, T. Petrović**

Cilj našeg ispitivanja je bio da utvrdimo prisustvo i status infekcije uzrokovane virusom goveđe dijareje (BVD) i identifikujemo perzistentno inficirana (PI) goveda u 4 stada (ogledne grupe): 2 sa tovnim junadima (10 i 13 životinja) i 2 sa mlečnim grlima sa podmlatkom starijim od 4 meseca (23 i 16 životinja). Dve serije uzoraka krvi su uzorkovane u intervalu od 4 nedelje (parni uzorci) od svih životinja, iz svake od oglednih grupa. Odvojeni krvni serumi iz obe grupe uzoraka ispitani su indirektnom ELISA metodom (HerdChek BVDV Ab test kit). Dobijeni rezultati u našem ispitivanju ukazuju na prisustvo infekcije uzrokovane virusom BVD kod oglednih životinja. Uzorci krvnih seruma uzetih prvog dana ispitivanja bili su seropozitivni kod 7 oglednih životinja prve grupe, kod svih (n=13) oglednih životinja druge grupe, seropozitivni kod jedne i sumnjivi kod 2 životinje iz treće ogledne grupe i seropozitivni kod jedne i sumnjivi kod 3 ogledne životinje iz četvrte grupe. Uzorci krvnih seruma uzorkovani 28. dana ispitivanja bili su seropozitivni kod jedne, trinaest, dve i tri ogledne životinje u prvoj, drugoj, trećoj i četvrtoj oglednoj grupi.*

Uzorci seruma grla (n=29) koja su bila utvrđena kao seronegativna u oba ispitivanja (1. i 28. dana) ispitani su na moguće prisustvo antigena BVD virusa ELISA metodom (HerdChek BVDV Ag/Serum Plus)*

* Rad primljen za štampu 26. 01. 2010. godine

** Dr Vladimir S Kurćubić, docent, Agronomski fakultet, Čačak, Univerzitet u Kragujevcu, R Srbija; dr sci. Zoran Ilić, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet Priština – Zubin potok, Univerzitet u Prištini, R Srbija; dr sci. med. vet. Radojica Đoković, vanredni profesor, dr sci. med. vet. Slobodan Jevtić, vanredni profesor Agronomski fakultet, Čačak, Univerzitet u Kragujevcu, R Srbija; dr sci. med. vet. Tamaš Petrović, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, R Srbija

u cilju ispitivanja prisustva PI životinja. Kod ispitivanih grla nije utvrđeno prisustvo antigena virusa BVD. Na osnovu rezultata ispitivanja i literaturnih podataka, vlasnicima životinja su preporučene mere kontrole BVDV infekcije.

Ključne reči: BVDV, ELISA, seroprevalenca, PI životinje

Uvod / Introduction

Infekcije virusom goveđe virusne dijareje (BVDV) su endemske u većini zemalja koje se bave govedarstvom širom sveta, uzrokujući značajne ekonomske gubitke u govedarskoj industriji (Houe i sar., 1993). Na osnovu antigenskih i genetskih svojstava, razlikujemo dve vrste virusa uzročnika – BVDV-1 i BVDV-2. Njihova prevalenca varira širom sveta: BVDV-2 predstavlja oko 50% izolata u Severnoj Americi, dok je BVDV-1 dominantan u Evropi, sa preko 90% (Ridpath, 2005; Vilcek i sar., 2005). Znatno skorije, BVDV-1 i BVDV-2 genotipovi su dalje podeljeni u podtipove i to BVDV-1 genotip u 11 podtipova od BVDV-1a do BVDV-1k (Vilcek i sar., 2001), a BVDV-2 genotip u dva podtipa BVDV-2a i BVDV-2b (Flores i sar., 2002; Ridpath i sar., 2000). Pored podele po genotipovima, postoje biotipovi – fenotipovi virusa i to citopatogeni (CP) i necitopatogeni (NCP), zasnovani na prisustvu ili odsustvu vidljivog citopatogenog efekta (CPE) tokom njihovog umnožavanja u ćelijskim kulturama (Baker, 1995).

Najznačajniji izvor infekcije su perzistentno inficirana i bolesna goveda, a mogu biti i druge prijemčive vrste. Osnovni faktori rizika za širenje BVDV infekcije su prodaja i drugo kretanje životinja između zapata, a osim toga i atenuirane (žive) vakcine, seme i embrioni. Preveniranje unošenja inficiranog semena se postiže redovnim serološkim pregledom seronegativnih bikova i/ili testiranjem semena svih seropozitivnih bikova (Lindberg i Alenius, 1999). Propisima za centre za veštačko osemenjavanje u EU uvedena je stroga kontrola bikova u odnosu na infekciju virusom BVD (Bitsch i Ronsholt, 1995). Embrioni predstavljaju opasnost ukoliko nisu pravilno isprani a donor je ili PI ili akutno inficirana životinja. Atenuirane vakcine, takođe, predstavljaju stalnu opasnost usled česte kontaminacije sa BVD virusima oba genotipa (Lindberg i Alenius, 1999).

Infekcija virusom BVD se karakteriše širokim spektrom kliničkih manifestacija uključujući: supkliničku infekciju, prolaznu groznicu, govedu virusnu dijareju, leukopeniju i imunosupresiju, respiratorne poremećaje, pad mlečnosti, izostanak i smanjenu koncepciju plotkinja, probleme upornog pogađanja, rani embrionalni mortalitet, dugi servis periodi, rađanja mrtvih teladi sa kongenitalnim malformacijama, abortuse i mumifikacije, imunitoleranciju i perzistentnu infekciju, kao i akutnu i hroničnu bolest sluznica.

U zavisnosti od vremena infekcije, može doći do značajnog smanjenja u nivou koncepcije, porasta broja abortusa, malformacija, rođenja mrtvorodenih ili perzistentno inficirane (PI) teladi (Done i sar., 1980; Mc Clurkin i sar., 1984; Roe-

der i sar., 1986). PI telad se rađa imunotolerantna na perzistirajući virus, koji se u njihovim organima i tkivima stalno umnožava. Takve životinje doživotno šire virus, i njihovo otkrivanje igra ključnu ulogu u svakom programu kontrole ili eradikacije infekcije virusom BVDV. Mnoge PI životinje uginu od bolesti sluzokoža (MD) ili bivaju izlučene iz zapata usled drugih komplikacija. Međutim, jedan broj ovih životinja može preživeti dugo godina (Houe, 1993; Roeder i Drew, 1984).

Najveće štete koje infekcija virusom BVDV nanosi govedarstvu su direktne posledice transplacentarne infekcije, kao rezultat fetalnih uginuća, kongenitalnih malformacija, neonatalnog i postnatalnog mortaliteta uključujući i bolest sluzokože, slab rast i performanse preživelih životinja (Roeder i Harkness, 1986). Ekonomski gubici prouzrokovani infekcijom virusom BVDV mogu se ispoljavati u zapatu goveda i nekoliko godina nakon infekcije.

Program kontrole i eradikacije infekcije virusom BVDV prvo su u periodu 1993 – 1994. godine primenile skandinavske zemlje – Danska, Finska, Norveška i Švedska, i bio je isključivo zasnovan na utvrđivanju i uklanjanju PI životinja iz zapata (Waage i sar., 1994). Druge skandinavske zemlje su sledile primer Norveške. Program se bazirao na: 1) identifikaciji slobodnih zapata, 2) preveniranju infekcije u ovim zapatima i 3) redukciji broja inficiranih zapata. Redukcija broja inficiranih zapata se postizala utvrđivanjem i otklanjanjem PI jedinki iz zapata, kao i sprečavanjem mogućnosti pojave akutne infekcije (Oirschot i sar., 1999; Bitsch i Ronsholt, 1995).

Bitsch i Ronsholt (1995) smatraju da odstranjivanje PI životinja može rezultirati eradikacijom infekcije virusom BVD. Nakon eradikacije, zapati se mogu smatrati slobodnim od infekcije ukoliko se ispitivanjem 3 teleta starija od 8 meseci ne utvrdi prisustvo specifičnih antitela i virusa u uzorku krvi, a ispitivanje se sprovodi 12 ili više meseci nakon otklanjanja PI jedinki.

Greiser-Wilke (2003) smatra da je u oblastima sa velikom gustinom goveda sa visokom prevalencom, cilj programa kontrole da se ekonomski gubici svedu na najmanju moguću meru. To se, kako smatra Greiser-Wilke, može postići kroz smanjenje pojave PI životinja i cirkulacije virusa u populaciji goveda (Nemački model). Ukoliko bi sve životinje u stadu starosti do 36 meseci bile negativne na prisustvo antigena virusa BVD, stado bi se bez sumnje deklarovalo kao negativno na infekciju virusom BVD.

U programu kontrole i eradikacije infekcije virusom BVDV u Italiji se koristila mogućnost upotrebe vakcinacije. Ferrari i sar. (1999) u zapatima sa visokom seroprevalencom preporučuju vakcinaciju seronegativnih životinja pre koncepcije. Pri tome, osnovni zahtev je bio poznavanje statusa infekcije virusom BVDV u zapatu pre upotrebe vakcine, a radi utvrđivanja adekvatnog programa vakcinacije. Istovremeno su upotrebljavane i mnoge druge profilaktične mere kao što su "sve unutra – sve napolje", česta i detaljna dezinfekcija, korišćenje karantina i izolacija.

Prisustvo infekcije virusom BVDV na području Srbije je do sada potvrđeno od strane većeg broja autora (Kurćubić, 1993; Petrović, 2002; Petrović i

sar., 2002; Molnar i sar., 2003; Petrović i sar., 2004; Milošević i sar., 2004; Petrović i sar., 2004/a; Petrović, 2006). Cilj našeg rada je bio utvrditi prisustvo, prevalencu i trenutni status infekcije virusom BVDV u manjim zapaćima mlećnih i tovnih goveda na području centralne Srbije, a na osnovu dobijenih nalaza, utvrditi mogućnost i predložiti konkretne mere kontrole i eradikacije ove virusne infekcije u tim zapaćima.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogledne životinje

Ispitivanje serološkog statusa oglednih goveda i pokušaj utvrđivanja PI grla sprovedeno je na dve mini-farme tovnje junadi. Oglednu grupu I je sačinjavalo 10 tovnih junadi ženskog pola, simentalke rase. Oglednu grupu II je činilo 13 tovnih junadi ženskog pola, simentalke rase.

Za navedena ispitivanja odabrane su i dve mini-farme mlećnih goveda, koje su, kao i farme tovnje junadi, locirane na teritoriji općtine Čačak. III ogledna grupa je sačinjena od 23 mlećna grla, od čega je 18 odraslih i 5 mladih grla (sav podmladak sa mini farme stariji od 4 meseca). Sva grla su bila ženskog pola, izuzev 2 grla (RS 7183171860 i RS 7113314711), koja pripadaju podmlatku starijem od 4 meseca. Skoro sva grla su simentalke rase, izuzev grla CS 7132191084, koje je holštajn-frizijske rase (HF, CRN-B), i jednog meleza holštajn-frizijske rase sa simentalcem (CS 7131763710, ML, C-B). Oglednu grupu IV je činilo 16 mlećnih grla ženskog pola, simentalke rase (13 odraslih grla i 3 grla podmladka za remont stada). Starost (datum rođenja) svakog od ispitivanih goveda, iz sve četiri ogledne grupe, navedena je u tabelama 1 – 4, uz CS/RS identifikacioni broj.

Anamnestički podaci o zdravstvenom stanju oglednih grla (iz sve 4 ogledne grupe) nisu ukazivali na klinički manifestnu govedu virusnu dijareju (BVD). Vlasnici svih gore navedenih farmi su članovi Udruženja odgajivaća goveda "Gradina" Čačak.

Uzorkovanje materijala

Uzorci krvi su od svih ispitivanih goveda ($n = 62$) uzeti iz repne vene (v. *coccygica*) uz pomoć vacutainera (TERUMO® Venoject). Radi što taćnijeg utvrđivanja statusa životinja i pojedinaćnih zapaća, oglednih grupa, u odnosu na infekciju virusom BVD, krv je uzorkovana prvog i 28. dana ogleda (parni uzorci krvnih seruma). Nakon spontane koagulacije na sobnoj temperaturi, dobijeni krvni serumi su ocedeni, centrifugovani na 3.000 obrtaja/minuti i pipetama prenošeni u sterilne boćice, a zatim ćuvani na temperaturi od -20°C do ispitivanja.

Metode ispitivanja

Za utvrđivanje prisustva specifićnih antitela protiv virusa BVD, kao i za dokazivanje prisustva antigena virusa BVD u krvnom serumu ispitanih životinja

korišćen je ELISA test, ĉiji su rezultati oćitavani na ELISA ĉitaću, model KINETIC-QCL, proizvođać BIO-WHITTAKER, Austria.

Indirektni Elisa test

Za ispitivanje krvnih seruma eksperimentalnih goveda, radi utvrđivanja prisustva specifićnih antitela protiv virusa BVD, korišćen je komercijalni indirektni ELISA test "Antibody Test Kit HerdChek*BVDV Ab", proizvođaćke kuće IDEXX Laboratories Inc., prema uputstvima proizvođaća, a u skladu sa OIE Manual, poglavlje 2.4.8, 2008.

Elisa test za dokazivanje antigena virusa BVD

Za ispitivanje krvnih seruma eksperimentalnih goveda (krava), radi utvrđivanja prisustva antigena virusa BVD, primenjena je imunološka proba (ELISA), komercijalni test Herd Chek* BVDV Ag/Serum Plus) proizvođaćke kuće IDEXX Laboratories Inc., prema uputstvima proizvođaća, a u skladu sa OIE Manual, poglavlje 2.4.8, 2008.

Rezultati / Results

Rezultati našeg rada prikazani su tabelarno (tabele 1-5), sa pratećim komentarima, koji se nalaze ispod tabela.

Tabela 1. *Ispitivanje prisustva antitela na virus BVD, I ogledna grupa: tovna junad / Table 1. Examination of presence of antibodies to BVD virus, experimental group I: fattening heifers*

Br / No	CS/RS broj / number	Datum rođenja / Date of birth	ELISA S/P		ELISA +/-	
			1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations	1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations
1.	RS 7183171501	08.12.2008.	1,413	1,290	+	+
2.	RS 7183200508	23.12.2008.	0,227	0,346	-	S
3.	RS 7163167920	25.12.2008.	0,259	0,372	-	S
4.	RS 7153167925	30.12.2008.	0,685	0,705	+	+
5.	RS 7153167671	30.01.2009.	0,287	0,649	-	+
6.	RS 7173167571	18.04.2009.	0,460	0,535	+	+
7.	RS 7163080347	31.12.2008.	0,683	0,488	+	+
8.	RS 7183190854	30.03.2009.	0,599	0,627	+	+
9.	RS 7163401310	01.06.2009.	0,681	0,564	+	+
10.	RS 7183401309	01.06.2009.	1,108	1,015	+	+

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 1. dana (POS) 0,908, negativne (NEG) 0,237, razlika 0,672 /

* Mean value of positive control on the 1st day (POS) 0.908, negative (NEG) 0.237, difference 0.672

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 28. dana (POS) 0,781, negativne (NEG) 0,224, razlika 0,558 /

* Mean value of positive control on the 28th day (POS) 0.781, negative (NEG) 0.224, difference 0.558

U oglednoj grupi I utvrdili smo prvog dana ispitivanja 7 seropozitivnih i 3 seronegativna grla (RS 7183200508, RS 7163167920 i RS 7153167671). Ispitivanjem parnih uzoraka seruma 28 dana nakon početka ispitivanja ustanovili smo 8 seropozitivnih i 2 sumnjiva grla (na prisustvo antitela sumnjive životinje RS 7183200508 i RS 7163167920). U odnosu na prvi dan ispitivanja, 28. dana ispitivanja serokonvertovalo je točno june broj RS 7153167671. Oba grla sumnjiva 28. dana ispitivanja bila su seronegativna prvog dana ispitivanja. Dakle, prvog dana ispitivanja bilo je 7 seropozitivnih oglednih grla (70%), a 28. dana ispitivanja smo utvrdili 8 seropozitivnih grla (80%).

Tabela 2. Ispitivanje prisustva antitela na virus BVD, II ogledna grupa: tovnja junad /
Table 2. Examination of presence of antibodies to BVD virus, experimental group II: fattening heifers

Br / No	CS/RS broj / number	Datum rođenja / Date of birth	ELISA S/P		ELISA +/-	
			1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations	1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations
1.	RS 7182682193	05.05.2008.	1,565	1,425	+	+
2.	RS 7132682360	10.09.2008.	1,327	1,185	+	+
3.	RS 7102924718	20.09.2008.	1,076	1,013	+	+
4.	RS 7122924717	01.10.2008.	0,553	0,418	+	+
5.	RS 7113171528	31.10.2008.	1,237	1,102	+	+
6.	RS 7113083796	05.11.2008.	1,487	1,239	+	+
7.	RS 7142764553	07.11.2008.	1,404	1,244	+	+
8.	RS 7173080295	08.11.2008.	1,510	1,422	+	+
9.	RS 7183080233	19.11.2008.	1,244	1,027	+	+
10.	RS 7143171517	23.11.2008.	1,311	1,247	+	+
11.	RS 7163171502	14.12.2008.	1,426	1,162	+	+
12.	RS 7163169146	20.02.2009.	1,307	1,157	+	+
13.	RS 7153191398	09.03.2009.	1,126	0,916	+	+

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 1. dana (POS) 0,908, negativne (NEG) 0,237, razlika 0,672 /

* Mean value of positive control on the 1st day (POS) 0.908, negative (NEG) 0.237, difference 0.672

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 28. dana (POS) 0,781, negativne (NEG) 0,224, razlika 0,558 /

* Mean value of positive control on the 28th day (POS) 0.781, negative (NEG) 0.224, difference 0.558

U oglednoj grupi III koju čine 23 goveda (18 krava i junica i 5 grla podmlatka – 3 ženskog i 2 muškog pola), prvog dana ispitivanja smo utvrdili jednu seropozitivnu životinju (4,35% – CS 7182191072) i dve sumnjive (8,69% – brojevi CS 7102021093 i CS 7132039505). Kada je ispitivanje ponovljeno na uzorcima uzetim 28. dana, utvrđena su 2 seropozitivna grla (broj CS 7182191072 i CS

7112191056 – 8,69%), jedno sumnjivo grlo (4,35% – CS 7131763710), koje je bilo seronegativno prvog dana ispitivanja. Muzna grla koja su bila sumnjiva, potvrđena su kao seronegativna. U oglednoj grupi III jedna životinja (CS 7112191056) je serokonvertovala (tabela 3).

Tabela 3. *Ispitivanje prisustva antitela na virus BVD, III ogledna grupa: mlećna grla sa podmlatkom /*

Table 3. Examination of presence of antibodies to BVD virus, experimental group III: dairy cows with offspring

Br / No	CS/RS broj / number	Datum rođenja / Date of birth	ELISA S/P		ELISA +/-	
			1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations	1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations
1.	CS 7132196487	01.01.2000.	0,205	0,218	-	-
2.	CS 7192191076	16.08.2001.	0,355	0,227	-	-
3.	CS 7152191083	16.11.2001.	0,244	0,210	-	-
4.	CS 7132191084	06.07.2002.	0,311	0,205	-	-
5.	CS 7172191077	24.09.2002.	0,238	0,259	-	-
6.	CS 7152191078	05.09.2003.	0,207	0,225	-	-
7.	CS 7142196496	01.01.2004.	0,281	0,187	-	-
8.	CS 7122191070	23.04.2004.	0,192	0,225	-	-
9.	CS 7182191072	28.05.2004.	0,484	0,434	+	+
10.	CS 7112191056	30.07.2005.	0,214	0,490	-	+
11.	CS 7122191065	27.11.2005.	0,323	0,192	-	-
12.	CS 7102021093	01.04.2006	0,373	0,198	S	-
13.	CS 7121906413	05.09.2006.	0,257	0,221	-	-
14.	CS 7121906823	30.11.2006.	0,238	0,208	-	-
15.	CS 7131763710	25.01.2007.	0,226	0,339	-	S
16.	CS 7132039505	15.04.2007.	0,414	0,188	S	-
17.	RS 7182627663	22.12.2007.	0,205	0,196	-	-
18.	RS 7192817484	09.06.2008.	0,353	0,203	-	-
19.	RS 7123081018	20.09.2008.	0,178	0,328	-	-
20.	RS 7163171861	29.10.2008.	0,201	0,286	-	-
21.	RS 7183171860	03.12.2008.	0,281	0,320	-	-
22.	RS 7153314714	15.01.2009.	0,231	0,274	-	-
23.	RS 7113314711	10.03.2009.	0,359	0,207	-	-

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 1. dana (POS) 0,908, negativne (NEG) 0,237, razlika 0,672 /

* Mean value of postive control on the 1st day (POS) 0.908, negative (NEG) 0.237, difference 0.672

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 28. dana (POS) 0,781, negativne (NEG) 0,224, razlika 0,558 /

* Mean value of positive control on the 28th day (POS) 0.781, negative (NEG) 0.224, difference 0.558

U oglednoj grupi IV koju čini 16 goveda (13 krava i junica i 3 grla podmlatka ženskog pola), prvog dana ispitivanja smo evidentirali jednu seropozitivnu životinju (6,25% – CS 7180427920) i tri sumnjive (18,75% – CS 7160427921, RS 7113314551 i RS 7103314580). Kada je ispitivanje ponovljeno na uzorcima uzetim 28. dana, registrovana su 3 seropozitivna grla (17,65% – CS 7160427921, CS 7180427920 i RS 7113314551), što znači da su od 3 sumnjiva grla prvog dana ispitivanja dva (CS 7160427921 i RS 7113314551) potvrđena kao seropozitivna (tabela broj 4).

Tabela 4. *Ispitivanje prisustva antitela na virus BVD, IV ogledna grupa: mlečna grla sa podmlatkom*

Table 4. *Examination of presence of antibodies to BVD virus, experimental group IV: dairy cows with offspring*

Br / No	CS/RS broj / number	Datum rođenja / Date of birth	ELISA S/P		ELISA +/-	
			1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations	1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations
1.	CS 7160427921	23.09.2001.	0,433	0,430	S	+
2.	CS 7180427920	25.04.2003.	0,527	0,435	+	+
3.	CS 7160427940	26.10.2003.	0,178	0,183	-	-
4.	CS 7180427944	18.04.2004.	0,231	0,187	-	-
5.	CS 7170427949	08.11.2004.	0,299	0,329	-	-
6.	CS 7190427905	16.11.2004.	0,208	0,190	-	-
7.	CS 7190427948	14.03.2005.	0,235	0,313	-	-
8.	CS 7130427946	23.04.2005.	0,198	0,191	-	-
9.	CS 7110427947	04.05.2005.	0,193	0,220	-	-
10.	CS 7132019084	07.04.2006.	0,172	0,218	-	-
11.	CS 7121906578	10.07.2006.	0,237	0,198	-	-
12.	RS 7113314551	04.08.2006.	0,416	0,455	S	+
13.	RS 7193314552	19.12.2006.	0,204	0,190	-	-
14.	RS 7102858539	20.11.2008.	0,218	0,235	-	-
15.	RS 7122858538	20.11.2008.	0,210	0,188	-	-
16.	RS 7103314580	27.04.2009.	0,430	0,199	S	-

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 1 dana (POS) 0,908, negativne (NEG) 0,237, razlika 0,672 /

* Mean value of positive control on the 1st day (POS) 0.908, negative (NEG) 0.237, difference 0.672

* Srednja vrednost pozitivne kontrole 28. dana (POS) 0,781, negativne (NEG) 0,224, razlika 0,558 /

* Mean value of positive control on the 28th day (POS) 0.781, negative (NEG) 0.224, difference 0.558

Ako posmatramo zbirno (62 ogledne životinje, iz sve 4 ogledne grupe) možemo zaključiti da je prvog dana ispitivanja utvrđeno da je 19 oglednih životinja seropozitivno (30,64%), a 28. dana ispitivanja su registrovane 23 seropozitivne ogledne životinje (37,10%).

Tabela 5. Utvrđivanje prisustva perzistentno inficiranih jedinki (PI) virusom BVD, među životinjama koje su bile seronegativne u oba ispitivanja (prvog i 28. dana) u prvom testu, ispitivanjem krvnih seruma BVDV Ag ELISA metodom /

Table 5. Establishing presence of animals persistently infected (PI) with the BVD virus among those that were seronegative in both examinations (on the 1st and the 28th day) in the first test, by examinations of blood serums for BVDV using the Ag ELISA method

Br / No	CS/RS broj / number	S-N vrednosti / S-N values		+/-
		1. dan ispitivanja / 1st day of examinations	28. dan ispitivanja / 28th day of examinations	
1.	CS 7132196487	0,191	0,199	-
2.	CS 7192191076	0,226	0,226	-
3.	CS 7152191083	0,186	0,224	-
4.	CS 7172191077	0,203	0,221	-
5.	CS 7152191078	0,207	0,176	-
6.	CS 7142196496	0,190	0,198	-
7.	CS 7122191070	0,181	0,233	-
8.	CS 7122191065	0,210	0,186	-
9.	CS 7121906413	0,199	0,203	-
10.	CS 7121906823	0,229	0,206	-
11.	RS 7182627663	0,185	0,228	-
12.	RS 7192817484	0,217	0,203	-
13.	RS 7123081018	0,179	0,234	-
14.	RS 7163171861	0,194	0,275	-
15.	RS 7183171860	0,183	0,232	-
16.	RS 7153314714	0,201	0,195	-
17.	RS 7113314711	0,215	0,222	-
18.	CS 7160427940	0,190	0,216	-
19.	CS 7180427944	0,220	0,209	-
20.	CS 7170427949	0,183	0,273	-
21.	CS 7190427905	0,192	0,220	-
22.	CS 7190427948	0,200	0,231	-
23.	CS 7130427946	0,205	0,208	-
24.	CS 7110427947	0,193	0,223	-
25.	CS 7132019084	0,184	0,192	-
26.	CS 7121906578	0,227	0,212	-
27.	RS 7193314552	0,214	0,180	-
28.	RS 7102858539	0,219	0,229	-
29.	RS 7122858538	0,240	0,190	-
30.	Nc	0,223	0,240	
31.	Pc	1,067	1,054	

*POS 1,061 NEG 0,232 0,829

Utvrđivanje prisustva perzistentno inficiranih jedinki (PI) među govedima koja su bila seronegativna u oba ispitivanja (prvog i 28. dana) u prvom testu vršeno je ispitivanjem ELISA testom za utvrđivanje antigena virusa BVD u serumu). Ukupno je ispitano 29 grla goveda (krvni serum), a virusni antigen nije potvrđen ni u jednom slučaju – tabela broj 5.

Diskusija / Discussion

Ispitivanjem smo utvrdili prisustvo specifičnih antitela protiv virusa BVD kod životinja u sva četiri ispitivana zapata (ogledne grupe). U oglednoj grupi I (tovna junad), u odnosu na prvi dan ispitivanja (7 seropozitivnih i 3 seronegativna grla), 28. dana ispitivanja je utvrđeno 8 seropozitivnih i 2 sumnjiva grla. Oba sumnjiva grla 28. dana ispitivanja bila su seronegativna prvog dana ispitivanja. Serokonvertovalo je jedno june, što sa velikom verovatnoćom ukazuje na trenutno prisustvo infekcije virusom BVD u tom zapatu – oglednoj grupi. Prisustvo specifičnih antitela protiv virusa BVD koje je utvrđeno kod svih životinja u oglednoj grupi II (tovna junad) govori u prilog činjenici da su sve životinje bile inficirane virusom BVD u periodu pre ispitivanja. Pri tome, s obzirom na to da su sve životinje u ovom zapatu – oglednoj grupi bile seropozitivne u oba ispitivanja, a time i neprijemčive za infekciju, najverovatnije je da u oglednoj grupi II u trenutku ispitivanja nije bilo prisustva i širenja virusa BVD. U oglednoj grupi III zabeležena serokonverzija (u prvom ispitivanju jedno, a u drugom dva serološki pozitivna grla) sa velikom verovatnoćom ukazuje na trenutno prisustvo infekcije virusom BVD. Iz preuzetih podataka o zdravstvenom stanju grla, evidentiran je abortus tokom 2007. godine kod grla broj CS 7122191070. Pojave dijareje nisu bile zabeležene kod goveda iz III ogledne grupe. Slična situacija je i kod životinja u oglednoj grupi IV. Od 3 grla koja su pokazala sumnjivu reakciju na prisustvo antitela u prvom ispitivanju, dva su potvrđena kao seropozitivna, što takođe ukazuje na prisustvo infekcije virusom BVD u trenutku ispitivanja.

Ogledna tova junad pokazuju značajno višu prevalencu infekcije virusom BVD (70%/80%, 100%/100%), iako su u pitanju mlađe kategorije, u odnosu na mlečna grla (4,35%/8,69%, 6,25%/17,65%). Objašnjenje za ovu pojavu nalazimo u činjenici da su tova junad na obe farme stigla sa različitih terena i u različitoj starosti, kao i da su zapati bili podložni infekciji virusom BVD. Obe farme mlečnih grla "zatvorenog" tipa – gde se potomstvo za priplod ostavlja za remont stada i gde nije bilo uvođenja u zapat novih životinja, nepoznatog serološkog statusa, nisu bile podložne širenju ove infekcije.

Rezultati do kojih smo došli tokom našeg ispitivanja ne iznenađuju i u skladu su sa objavljenim podacima drugih autora, jer seroprevalenca može varirati u širem opsegu, u zavisnosti od načina upravljanja stadom. Petrović (2006) je tokom 2003. i 2004. godine izvršio opsežna ispitivanja prisustva virus neutralizacionih (VN) antitela protiv virusa BVD u krvnim serumima goveda starijih od 6 me-

seci. Ukupno je ispitano 12.083 uzoraka krvnih seruma (12,88% ukupne populacije goveda). Pri tome je 4.506 uzoraka poticalo od goveda iz 32 velika zapata farmskog načina držanja sa područja Južnobačkog, Zapadnobačkog, Sremskog okruga i okoline Beograda, a 7.577 uzoraka je poticalo od životinja iz malih zapata goveda u individualnom načinu držanja sa područja 9 opština Južnobačkog (3.457 uzoraka) i 8 opština Sremskog okruga (4.120 uzoraka). Ispitivanjem su na ovaj način obuhvaćene životinje iz svih naseljenih mesta (156) na ispitivanom području. Prisustvo specifičnih antitela protiv virusa BVD je utvrđeno kod 4.647 (38,46%) ispitanih životinja. Pri tome, kod životinja iz malih zapata goveda u individualnom načinu držanja prisustvo VN antitela protiv virusa BVD je ustanovljeno u 1.833 (24,19%) ispitanih uzoraka – 1.082 (31,30%) u Južnobačkom i 751 (18,53%) u Sremskom okrugu. Kod goveda iz velikih zapata farmskog načina držanja sa područja Južnobačkog, Sremskog, Zapadnobačkog i Beogradskog okruga, prisustvo VN antitela protiv virusa BVD je ustanovljeno u 2.814 (62,45%) ispitanih uzoraka – 1.500 (55,13%) u Južnobačkom, 167 (56,04%) u Sremskom, 589 (74,47%) u Zapadnobačkom i 558 (81,58%) u Beogradskom okrugu.

Molnar i sar. (2003) su ustanovili serološki pozitivne životinje na području svih 5 ispitivanih opština Severnobačkog okruga. U ispitivanjima koja su Petrović i sar. (2002) sprovedi na Niškom i Južnomoravskom regionu, a koja su obuhvatila manji broj životinja sa područja 9 opština, ustanovljeno je prisustvo serološkog odgovora na virus BVD kod životinja iz 5 opština. Utvrđen procenat serološki pozitivnih životinja se kretao od 3,8% do 45%.

U ispitivanjima koje smo ranije sprovedi na dve farme goveda, na farmi mlečnih krava od ukupno 178 grla, procenat seropozitivnih životinja se kretao, u zavisnosti od starosne kategorije, između 30,55% i 52,24%. Na farmi tovne junadi (uzrasta od 6 do 7 meseci) od ispitanih 86 utvrđeno je 48 ili 55,81% seropozitivnih seruma (Kurćubić, 1993).

S obzirom na dobijene rezultate seroloških ispitivanja koja su ukazivala na trenutno prisustvo infekcije virusima BVD u ispitanim oglednim grupama I, II i IV, kod serološki negativnih životinja, sprovedena su ispitivanja mogućeg prisustva PI životinja, kao najvećih i najvažnijih izvora virusa BVD. Pošto smo utvrdili da u 4 ispitivana zapata nije bilo prisutnih PI goveda (niti u kategorijama odraslih niti u kategorijama priplodnog podmlatka), možemo sa velikom sigurnošću pretpostaviti da je u ispitanim grupama goveda I, III i IV širenje infekcije virusima BVD bilo rezultat prisustva akutno a ne perzistentno inficiranih životinja, što je epizootiološki mnogo povoljnija situacija (sporije širenje infekcije).

Objašnjenje za nemogućnost dokazivanja PI oglednih grla može se naći u činjenici da je prevalenca PI životinja izuzetno niska (0,75%-2%). Houe i sar. (2003) utvrdili su da u zemljama gde nije uspostavljena sistematska kontrola infekcija virusom BVD oko 50% svih stada imaju prisutne PI životinje. Billinis i sar. (2005) su ispitivali 39 stada (ukupno 6.333 krave) u Grčkoj. Cilj ispitivanja je bio da izračunaju prevalencu životinja pozitivnih na prisustvo antigena BVD i PI životinja, kao i da istraže značajnost povezanosti između prevalencije i veličine stada. Sve

životinje su pregledane antigen ELISA testom. Drugi uzorak je uziman od pozitivnih životinja posle perioda od 3 nedelje. Životinje koje su i u drugom ispitivanju bile pozitivne, klasifikovane su kao PI. U svim stadima su utvrdili antigen pozitivne i PI životinje. Srednja prevalenca PI životinja bila je 1.3% (0,80-1,80%). Veličina stada nije bila povezana sa prevalencom PI životinja.

Letellier i sar. (2005) su u Belgiji su kao strategiju za otkrivanje PI životinja primenili BVD-antigen ELISA metod na životinjama koje su komercijalno kupovane, u cilju smanjivanja cirkulacije virusa BVD, i kombinaciju PCR analiza iz zbirnih uzoraka krvi i BVD-antigen ELISA na individualnim uzorcima, u slučajevima kliničke sumnje. Nešto manje od 4% kupljenih životinja je ispitano 2003. godine. Izračunata prevalenca virusa BVD antigen pozitivnih životinja je bila 1% u severnim delovima i 0,75% u južnom delovima zemlje. Ozkul i sar. (1995) su u Turskoj utvrdili PI životinje u nivou od 0,50%, 0,12% i 0,12% u 3 od 5 mlečnih farmi goveda.

Roeder i Harkness (1986) smatraju da je u merama kontrole, prvi neophodan korak utvrđivanje prisustva PI jedinki u zapatu i njihovo uklanjanje. To često zahteva pregled svih životinja u zapatu na prisustvo virusa, što predstavlja prilično skup postupak (Baker, 1987).

Lindberg i sar. (2006) ukazuju na to da grupa naučnika koja je uključena u kontrolu virusa BVD na nivou EU smatra da su tri centralna elementa prilaza sistematskoj kontroli infekcije virusom BVD: 1) biosigurnost u cilju preveniranja ponovnog uvođenja infekcije u stada koja su slobodna od infekcije; 2) eliminacija PI životinja iz inficiranih stada i 3) prikaz praćenja napretka preduzetih mera i brzo utvrđivanje novih infekcija.

Na osnovu prevalencije i utvrđenog statusa infekcije virusom BVD, kao i saznanja iz literature, vlasnicima farmi su preporučene adekvatne mere biosigurnosti. Na obe ogledne farme muznih grla utvrđena je niska prevalenca virusa BVD, i to kod odraslih goveda (datum rođenja 28.05.2004, 30.07.2005. u oglednoj grupi III i 23.09.2001, 25.04.2003. i 04.08.2006. u oglednoj grupi IV). Na obe farme je bilo sporadičnih slučajeva kupovine novih životinja, nepoznatog zdravstvenog statusa, bez izolacije, a remont stada se obavljao, najvećim delom, od sopstvenog podmlatka. Preporučeno je da vlasnici prihvate viši nivo biosigurnosti – da nove životinje, dovedene sa drugih farmi, budu poznatog zdravstvenog statusa, uz mere karantina (izolacija) od 30 dana. Takva grla se obavezno moraju pregledati na prisustvo virusa, a ako su steona, da bi bili sigurni da fetus nije inficiran, treba pregledati tele nakon rođenja uzimanjem uzorka krvi pre napajanja kolostrumom. Nakon svih sprovedenih postupaka, da bi se prekinuo lanac infekcije i sprečili dalji gubici, pažnju treba posvetiti sprečavanju pojave transplacentarne infekcije (Baker, 1987). Pošto su seropozitivna bila starija goveda, neophodno ih je postupno izlučiti iz zapata, kako bi se oslobodio od infekcije virusom BVD. Poželjno je da mlađe kategorije (priplodni podmladak) budu fizički odvojene od starijih goveda. Waage i sar. (1996) smatraju da bi zapati bili proglašeni slobodnim od infekcije virusom BVD moraju imati dva uzastopna serološki negativna rezultata, i to

prvi u uzorku zbirnog mleka iz tanka sa farne, zbirnom mleku prvotelkinja i zbirnom uzorku seruma mladih životinja, a drugi u zbirnom uzorku seruma mladih životinja pregledanih barem 4 meseca kasnije. Preporučene su i adekvatne DDD mere i rigorozna kontrola transporta.

Vlasnici farmi za tov junadi (ogledna grupa I i II) su informisani o značajnom prisustvu infekcije virusom BVD i statusu infekcije u njihovim zapaćima. Predloženo im je da moraju poznavati zdravstveno stanje, programe vakcinacije i suzbijanja parazita u zapaćima iz kojih kupuju tovni materijal i da obavezno sprovode karantin u trajanju od najmanje 30 dana pri nabavci novih grla. Za vreme karantina, u saradnji sa nadležnim veterinarima, vrše se specifićna ispitivanja (izolacija ili identifikacija virusa BVD), i formira banka seruma, koja služi za retestiranje ili potrebna naknadna ispitivanja. Upoznati su i sa mogućnostima za sprovođenje programa vakcinacije u svojim zapaćima.

Ukazuje se potreba za nastavkom naših istraživanja na identifikaciji PI životinja. Naćin ispitivanja je predložen i od strane drugih autora kao rentabilan – Deregt i Loewen (1995) smatraju da je mnogo praktićnije prvo izvršiti serološka ispitivanja svih životinja u zapaću serum neutralizacionim (VN) testom, a zatim vršiti utvrđivanje virusa kod životinja koje nemaju ili imaju nizak VN titar antitela. PI životinja je viremićna i po pravilu seronegativna. PI životinje mogu biti i seropozitivne i to u slućaju kada je u pitanju maternalni imunitet kod mladih životinja (zato se pregledaju životinje starije od 4 meseca), i u slućaju postojanja niskog VN titra antitela na heterologni soj BVD virusa.

Potvrda viremije kod takvih životinja je neophodna, nakon ponovnog pregleda posle 3 do 4 nedelje, da bi se proglasile za PI. Ukoliko se viremija u ponovnom pregledu ne dokaže, u pitanju je bila akutno, a ne perzistentno inficirana životinja, koju ne treba izlućivati iz zapaća.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je realizovan po projektu Tehnološkog razvoja broj 20015: "Primena savremenih trendova u proizvodnji, reprodukciji, preventivi i zdravstvenoj zaštiti preživara u cilju njihove dobrobiti i biosigurnosti", finansiran od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Literatura / References

1. Baker JC. Bovine viral diarrhea virus: A review; JAVMA 1987; 190(11): 1449-58.
2. Baker JC. The clinical manifestation of bovine viral diarrhea infection. Vet Clin N A Food Anim Pract 1995; 11: 425-45.
3. Billinis C, Leontides L, Amiridis GS, Spyrou V, Kostoulas P, Sofia M. Prevalence of BVDV infection in greek dairy herds. Prev vet Med 2005; 72(1-2): 75-9.
4. Bitsch V, Ronsholt L. Control of bovine viral diarrhea virus infection without vaccines. Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice 1995; 11(3): 627-40.
5. Deregt D, Loewen KG. Bovine viral diarrhoea virus: Biotypes and disease. Can Vet J 1995; 36: 371-8.

6. Done JT, Terlecki S, Richardson C, Harkness JW, Sands JJ, Patterson DS, Sweasey D, Shaw IG, Winkler, CE, Duffell SJ. Bovine virus diarrhoea – mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Vet Rec* 1980; 106(23): 473-9.
7. Ferrari G, Scicluna MT, Bonvicini D, Gobbi C, Della Ferita F, Valentini A, Autorino GL. Bovine virus diarrhoea (BVD) control programme in an area in the Rome province (Italy). *Vet Microbiol* 1999; 64: 237-245.
8. Flores EF, Ridpath JF, Weiblen R, Vogel FSF, Gil Laura HVG. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhoea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus Res* 2002; 87: 51-60.
9. Greiser-Wilke I, Wilke, WB, Moennig V. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. Detecting and Controlling BVDV Infections. *Biologicals* 2003; 31(2): 113-8.
10. Houe H, Pedersen KM, Meyling A. A computerized spreadsheet model for calculating total annual losses due sensitivity analysis of selected parameters. In *Proc. 10th International Symposium for Veterinary Epidemiology and Economics*, 17-21 November 1993, Vina del mar, Chile. International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (available at: www.sciquest.org.nz).
11. Houe H. Survivorship of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV). *Prev Vet Med* 1993; 15(4): 275-83.
12. Houe H, Kjær Ersbøll A, Lindberg A. Metaanalysis for establishing the association between prevalence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) and demographic risk factors. In *Proc. 10th International Symposium for Veterinary Epidemiology and Economics*, 17-21 November 2003, Viña del Mar, Chile. International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (available at: www.sciquest.org.nz).
13. Kurćubić V. Serološka ispitivanja goveda na infekciju virusom bovine virusne dijareje. Magistarski rad, Veterinarski fakultet Univerziteta u Beogradu, Katedra za Mikrobiologiju i imunologiju, Beograd 1993.
14. Letellier C, De Meulemeester L, Lomba M, Mijten E, Kerkhofs P. Detection of BVDV persistently infected animals in Belgium: Evaluation of the strategy implemented. *Prev Vet Med* 2005; 72: 121-5.
15. Lindberg ALE, Alenius S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus infections in cattle populations. *Vet Microbiol* 1999; 64: 197-222.
16. Lindberg A, Brownlie J, Gunn GJ, Houe H, Moennig V, Saatkamp HW, Sandvik T, Valle PS. The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2006; 25(3): 961-79.
17. Mc Clurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Can J Comp Med* 1984; 48(2): 156-61.
18. Milošević B, Petrović T, Jermolenko G, Stanojević S. Rasprostranjenost infekcije virusom bovine virusne dijareje kod goveda u beogradskom epizootiološkom području; Simpozijum VI epizootiološki dani, Vlasinsko jezero, 31. mart - 2.april 2004. Zbornik kratkih sadržaja, 167.
19. Molnar T, Kiškarolj F, Molnar O. Bovina virusna dijareja – prva serološka ispitivanja na epizootiološkom području VSI "Subotica". 5. jugoslovenski epizootiološki dani, Palić, Subotica, 3.-5. Aprila 2003, Zbornik referata i kratkih sadržaja, 56-9, 2003.

20. Oirschot JT, Bruschke CJM, van Rijn PA. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. *Vet Microbiol* 1999; 64: 169-83.
21. Özkul, A, Çabalar, M, Bilge, S, Akça, Y, Burgu, I. Süt sigirciligi isletmelerinde rastlanan IBR/IPV ve BVD virus enfeksiyonlannin infertilite olgulanndaki rolü. *Ankara Üniv. Vet Fak Derg* 1995; 42: 381-7.
22. Petrović MM, Đurić B, Ignjatović R, Stojanović G, Petreski I. Ispitivanje raširenosti virusne dijareje goveda/bolesti sluzokoža (BVD/MD) ELISA testom kod mlečnih krava Niškog i južnomoravskog epizootiološkog područja. IV jugoslovenski epizootiološki dani, Mataruška Banja, Zbornik referata i kratkih sadržaja 3-6. April, 224-6, 2002.
23. Petrović T. Ispitivanje raširenosti infekcije izazvane virusom goveđe dijareje (BVD) kod priplodnih goveda. Magistarska teza, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, 2002.
24. Petrović T, Đurić B, Toplak I, Lazić S, Barlić Maganja D, Hostnik P, Grom J, Sandvik T. Isolation and confirmation of bovine viral diarrhoea virus in Serbia and comparative typing with recent Slovenian isolates. *Acta Veterinaria (Beograd)* 2004; 1-2: 299-312.
25. Petrović T, Molnar T, Milošević B, Kurćubić V, Petrović MM, Bojanić M, Lazić S, Đurić B. Some examinations of prevalence of BVD infection in Serbia and Montenegro; Second European Symposium on: BVDV Control, Porto, Portugal, October 20 – 22, 2004/a. Book of Abstracts, 80.
26. Petrović T. Identifikacija i genetska analiza izolovanih sojeva virusa goveđe dijareje (BVD) na području Republike Srbije. Doktorska disertacija. Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela. Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2006.
27. Ridpath JF, Neill, JD, Frey, M. Phylogenetic antigenic and clinical characterization of type 2 BVDV from North America. *Vet Microbiol* 2000; 77: 145-55.
28. Ridpath JF. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: impact of biotype and genotype 1 and genotype 2 BVDV. *Virology* 2005; 212(1): 259-62.
29. Roeder PL and Drew TW. Mucosal disease of cattle: a late sequel to fetal infection. *Vet Rec* 1984; 114(13): 309-13.
30. Roeder PL, Harkness JW. Prospects for control. *Vet Rec* 1986; 118: 143-7.
31. Roeder PL, Jeffrey M, Cranwell MP. Pestivirus fetopathogenicity in cattle: changing sequelae with fetal maturation. *Vet Rec* 1986; 118(2): 44-8.
32. Vilcek S, Durkovic B, Kolesarova M and Paton DJ. Genetic diversity of BVDV: consequences for classification and molecular epidemiology. *Prev vet Med* 2005; 72(1-2): 31-5.
33. Waage S, Krogsrud J, Nyberg O. The Norwegian programme for eradication of bovine viral diarrhoea/mucosal disease. In Proc. 18th World Buiatrics Congress: 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics, Bologna, Italy, 1994; 773-6.
34. Waage S, Krogsrud J, Nyberg O, Sandvik T. Result achieved by a national programme for the eradication of bovine virus diarrhoea, In: Edwards S, Paton DJ, Wensvoort G. Ed., Proc. Third ESVV Symposium on Pestivirus Infections, 19-20 September 1996, Lelystad, The Netherlands, Central Veterinary Laboratory, 170-2.

ENGLISH

ESTABLISHING PRESENCE AND STATUS OF INFECTION WITH BOVINE DIARRHOEA VIRUS IN CATTLE HERDS IN CENTRAL SERBIA – POSSIBILITIES FOR CONTROL

V. Kurćubić, Z. Ilić, R. Đoković, S. Jevtić, T. Petrović

The objective of our investigations was to determine the presence and status of infection with the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and to identify persistently infected (PI) cattle in 4 herds (experimental groups): 2 with fattening heifers (10 and 13 animals) and 2 with dairy animals with offspring older than 4 months (23 and 16 animals). Two series of blood samples were taken in an interval of 4 weeks (even samples) from all the animals, from each experimental group. Separate blood serums from both groups of samples were examined using the indirect ELISA method (HerdChek* BVDV Ab test kit). The results obtained in our investigations indicate the presence of infection with the BVD virus in the experimental animals. Blood serum samples taken on the first day of investigation were seropositive in 7 experimental animals of the first group, in all (n=13) experimental animals of the second group, seropositive in one and suspect in 2 animals of the third experimental group, and seropositive in one and suspect in 3 experimental animals of the fourth group. Blood serum samples taken on the 28th day of the examinations were seropositive in one, thirteen, two, and three experimental animals of the first, second, third, and fourth experimental groups.

Serum samples of animals (n=29) that were established as seronegative in both investigations (on the first and the 28th day) were examined for the possible presence of antigen to the BVD virus using the ELISA method (HerdChek* BVDV Ag/Serum Plus) with the objective of investigating the presence of PI animals. The presence of antigen to the BVD virus was not established in the examined cattle. On the grounds of the results of the investigations and data in literature, measures for controlling BVDV infections were recommended to animal owners.

Key words: BVDV, ELISA, seroprevalence, PI animals

РУССКИЙ

УТВЕРЖДЕНИЕ ПРИСУТСТВИЯ И СТАТУСА ИНФЕКЦИИ ВИРУСОМ ГОВЯЖЕЙ ДИАРЕИ В ПРЕМЕННЫХ ПРИПРЛОДАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ СЕРБИИ - ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ

В. Курчубич, З. Илич, Р. Джокович, С. Евтич, Т. Петрович

Цель нашего испытания была, чтобы утвердить нами присутствие и статус инфекции вирусом говяжьей диареи (БГД) и идентифицировать нами персис-тентно инфицированный (ПИ) крупный рогатый скот в стада (опытные группы): 2 с откормочными бычками (10 и 13 животных) и 2 с молочными головами с молодняком старшим 4 месяца (23 и 16 животных). Две серии образчиков крови образчик-ованные в интервале от 4 недели (парные образчики) из всех животных, из каждой от опытных групп. Отдельные кровяные сыворотки из обеих групп образчиков ис-

пытанные косвенным *ELISA* методом (HerdChek BVDV Ab test kit). Полученные результаты в нашем испытании указывают на присутствие инфекции вирусом (ВГД) у опытных животных. Образчики кровяных сывороток взятых первого дня испытания были сероположительные у 7 опытных животных первой группы, у всех (n=13) опытных животных второй группы, сероположительные у одной и сомнительные у 2 животного из третьей опытной группы и сероположительные у одной и сомнительные у 3 опытных животного из четвертой группы. Образчики кровяных сывороток образчикованные 28 дня испытания были сероположительные у одной, тринадцать, две и три опытные животные в первой, второй, третьей и четвертой опытной группе.

Образчики сыворотки головы (n=29), которые были утверждены как серонегативные в оба испытания (первого и 28 дня) испытанные на возможное присутствие антигенов ГВД вируса *ELISA* методом (HerdChek* BVDV Ag/Serum Plus) с целью испытания присутствия ПИ животных. У испытываемых голов не утверждено присутствие антигенов вируса ГВД. На основе результатов испытания и литературных данных, владельцам животных рекомендованы меры контроля ВГД инфекции.

Ключевые слова: ВГД, *ELISA*, серопреваленца, ПИ животные

**ODREĐIVANJE ORGANSKIH SASSTOJAKA MLEKA
KAO METODA OCENE ENERGETSKOG STATUSA
MLEČNIH KRAVA******DETERMINATION OF ORGANIC COMPONENTS OF MILK AS METHOD
FOR EVALUATING ENERGY STATUS OF DAIRY COWS*****Đ. Savić, D. Matarugić, N. Delić, D. Kasagić, M. Stojanović****

Cilj istraživanja u ovom radu je bio da se na farmi visokomlečnih krava, na osnovu vrednosti za koncentraciju organskih sastojaka mleka i njihovog odnosa u pojedinačnim uzorcima mleka, utvrdi energetski status i daju preporuke za korekciju ishrane krava. Ukupno je ispitano 147 krava, od kojih je 97 bilo u prvoj, a 50 u drugoj laktaciji. Prosečne koncentracije mlečne masti i ureje bile su unutar fizioloških vrednosti. Naime, koncentracija mlečne masti kod krava u prvoj laktaciji bila je $38,88 \pm 5,07$ g/l, a kod krava u drugoj laktaciji $36,47 \pm 4,82$ g/l. Koncentracija ureje kod krava u prvoj laktaciji bila je $3,16 \pm 0,58$ mmol/l, a kod krava u drugoj laktaciji $3,72 \pm 0,64$ mmol/l. Koncentracija proteina kod obe grupe krava je bila ispod fiziološke vrednosti, jer je kod krava koje su bile u prvoj laktaciji bila $30,33 \pm 2,35$ g/l, a kod krava koje su bile u drugoj laktaciji $30,17 \pm 2,27$ g/l. Na osnovu odnosa koncentracija ureje i proteina, kao i masti i proteina u pojedinačnim uzorcima mleka zaključeno je da kod većine ispitanih krava, kako onih koje su bile u prvoj tako i onih u drugoj laktaciji, postoji deficit energije, uz deficit ili relativni suficit proteina. Na osnovu dobijenih rezultata date su preporuke za korekciju obroka u narednom periodu.

Ključne reči: krava, energetski metabolizam, mleko

* Rad primljen za štampu 13. 01. 2010. godine

** Đorđe Savić, D. Matarugić, Poljoprivredni fakultet Banjaluka, R Srpska; N. Delić, Institut za stočarstvo, Beograd, R Srbija; D. Kasagić, Veterinarski institut Republike Srpske "Dr Vaso Butozan" Banjaluka; M. Stojanović, Agencija za uzgoj u selekciju u stočarstvu Republike Srpske, Banjaluka

Uvod / Introduction

Najkritičniji period u proizvodno-reproduktivnom ciklusu visokomlečnih krava je prelazak iz perioda zasušenja u period rane laktacije. U ovom periodu dešava se niz fizioloških promena, a pre svega prelazak iz pozitivnog u negativan bilans energije, karakterističan za period rane laktacije. Gledano sa zdravstvenog aspekta, ovo je i period sa najvećom učestalošću poremećaja zdravlja, među kojima prednjače oni vezani za negativan bilans energije. Pojavi zdravstvenih poremećaja najpodložnije su životinje sa izraženim genetskim potencijalom za visoku mlečnost, dakle one najproduktivnije (Drackley, 1999; Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2005a; Horvat i sar. 2007).

S obzirom na činjenicu da se svaka visokomlečna krava na početku laktacije nalazi u stanju negativnog bilansa energije, nakupljanje masti u jetri se smatra fiziološkim procesom. U slučaju izrazite lipomobilizacije (kada je zastupljenost triglicerida u jetri iznad 20%) dolazi do razvoja masne degeneracije jetre, odnosno patološkog procesa (Kampl, 2005; Goff, 2006). Imajući u vidu ove činjenice, kod visokomlečnih krava je veoma važno da se u svim fazama proizvodno-reproduktivnog ciklusa odredi energetskeg status. Validni pokazatelji energetskeg statusa krava su telesna kondicija, parametri metaboličkog profila, hormonalni status i organski sastojci mleka (Ivanov i sar., 2005; Jovičin i sar., 2005; Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2005).

Telesna kondicija krava holštajn rase procenjuje se na osnovu količine potkožnog masnog tkiva na određenim anatomskim regijama. Sprovodi se na nivou cele farme, nekoliko puta u toku proizvodnog ciklusa. Za potrebe procene energetskeg statusa u peripartalnom periodu, ova metoda nije uvek pouzdana zato što u kratkom vremenu nastaju nagle promene u energetskeg stanju životinja, pri čemu ih promene u telesnoj kondiciji ne prate istom brzinom. Takođe, individualne varijacije mogu značajno da utiču na rezultate procene, te se ova metoda smatra nedovoljno osetljivom za potrebe peripartalnog perioda (Jovičin i sar., 2005; Šamanc i sar., 2005a; Horvat i sar., 2009).

Parametri metaboličkog profila daju dosta precizan uvid u funkcionalno stanje organizma, prvenstveno jetre, ali je njihovo dobijanje povezano sa uzimanjem uzoraka krvi što predstavlja stres za životinju. Pored toga, određivanje ovih parametara na većem broju životinja ekonomski opterećuje proizvodnju. Zbog toga se preporučuje da se parametri metaboličkog profila određuju na reprezentativnom uzorku krava na ulasku u period zasušenja, 2-3 nedelje pred očekivano telenje, te kod krava u ranoj laktaciji. Na osnovu rezultata je moguće doneti konačan sud o stanju krava i izvršiti potrebne korekcije obroka (Radojičić i Kasagić, 2000; Ivanov i sar., 2005; Jovičin i sar., 2005; Kasagić, 2005; Horvat i sar., 2007).

Pored parametara metaboličkog profila, preciznu sliku o stanju organizma i snabdevenosti energijom daju i analize koncentracija pojedinih hormona (insulina, glukagona, leptina, IGF, trijodtironina i tiroksina) u krvi. Metaboličke

promene i adaptacija na povećane potrebe u energiji su pod kontrolom endokrinih mehanizama, te je iz koncentracije pojedinih hormona i njihovih međusobnih odnosa moguće izvesti zaključak o funkcionalnom stanju organizma. Slično metaboličkom profilu, i određivanje koncentracije hormona je dosta skupo i opterećuje proizvodnju, pa se u rutinskoj praksi ne koristi često (Šamanc i sar., 2005b).

Određivanje koncentracije i odnosa organskih sastojaka mleka (masti, proteina i ureje) je metoda koja se sve češće koristi, zbog svoje jednostavnosti, pouzdanosti i ekonomičnosti. Prednost ove metode je i to što se uzimanje uzoraka sprovodi u toku redovne muže, pa nije stresogeno za životinju. Takođe, praćeni parametri se određuju u okviru rutinskih analiza hemijskog sastava mleka, tako da nema potrebe da se sprovode posebna ispitivanja. Da bi se koncentracije i odnosi pojedinih sastojaka mleka mogli pravilno interpretirati, potrebno je poznavati složene metaboličke procese koji se odvijaju pri sintezi mleka (Jonker i Kohn, 2001; Marenjak i sar., 2004; Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2006; Horvat i sar., 2009).

Ureja se u organizmu stvara detoksikacijom amonijaka u jetri. Kod preživala, amonijak je glavni produkt razlaganja proteina unetih hranom pod dejstvom mikroflore predželudaca. Mikroflora predželudaca unete proteine razlaže preko aminokiselina do ketokiselina i amonijaka, koji koriste za sintezu svojih proteina. Da bi se stvoreni amonijak mogao iskoristiti, mikroorganizmi moraju biti snabdeveni dovoljnom količinom lako svarljivih ugljenih hidrata kao izvora energije. Kao jedinjenje male molekulske mase, ureja lako prolazi kroz epitel mlečne žlezde i dospeva u mleko. Proteini mikroorganizama predželudaca predstavljaju važan izvor aminokiselina za sintezu proteina mleka. Deficit lako iskoristljive energije u obroku dovodi do njihove smanjene sinteze i posledično smanjenja koncentracije proteina u mleku (Jonker i Kohn, 2001; Jenkins i McGuire, 2006; Šamanc i sar. 2006; Horvat i sar. 2009).

Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku predstavlja pouzdan pokazatelj snabdevenosti životinja energijom. Koncentracija ureje ispod 4,0 mmol/l i proteina iznad 32,0 g/l govori da je krava hranjena primereno proizvodnim potrebama. Nagli prelazak na drugu hranu, naročito u letnjem periodu (zelena hrana sa visokim procentom lako svarljivih proteina, uz nizak sadržaj sirovih vlakana) uzrokuje porast koncentracije ureje iznad 4,0 mmol/l, dok će sadržaj proteina ostati isti. Ovakav nalaz ukazuje na nedovoljno snabdevanje životinja lako iskoristljivom energijom. Pri jače izraženom deficitu energije, koncentracija ureje se povećava i kreće u opsegu od 5 do 10 mmol/l, a koncentracija proteina opada ispod 30,0g/l. Ako je koncentracija ureje iznad 4 mmol/l, uz koncentraciju proteina ispod 32,0 g/l, može se reći da postoji istovremeni deficit energije i proteina, koji će za posledicu imati razvoj teških metaboličkih poremećaja. Pored odnosa koncentracija ureje i proteina, snabdevenost krava energijom može se uspešno proceniti i na osnovu odnosa koncentracija mlečne masti i proteina. Kod krava kod kojih postoji intenzivan proces lipomobilizacije, nivo slobodnih masnih kiselina u krvi je

povišen. To dovodi do povećanja njihovog usvajanja od strane mlečne žlezde i povišenja koncentracije mlečne masti. Smatra se da su krave optimalno snabdevene energijom ako im je koncentracija mlečne masti ispod 45 g/l, a proteina iznad 32,0g/l. Smanjenje koncentracije proteina, uz povećanje koncentracije masti ukazuje na energetske deficit (Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2006; Jenkins i sar., 2006; Horvat i sar., 2009).

Na osnovu iznetih činjenica može se zaključiti da određivanje organskih sastojaka mleka može da posluži kao osnova za procenu energetskeg statusa visoko-mlečnih krava kako bi se izvršile neophodne korekcije u ishrani i prevenirali mnogobrojni poremećaji zdravlja.

Cilj istraživanja izloženog u ovom radu je bio da se na farmi visokomlečnih krava, na osnovu vrednosti za koncentraciju organskih sastojaka mleka i njihovog odnosa u pojedinačnim uzorcima mleka, utvrdi energetske status i daju preporuke za korekciju ishrane krava.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Istraživanje je obavljeno na farmi visokomlečnih krava holštajn rase industrijskog tipa. Ukupno je ispitano 147 krava od 15. do 60. dana laktacije. Krave su bile u prvoj (n=97), odnosno drugoj (n=50) laktaciji. Prosečna mlečnost u ranoj fazi laktacije za prvotelke iznosila je 27,12 litara, a za drugotelke 35,60 litara mleka. Sve krave su držane u slobodnom sistemu i hranjene obrocima za datu proizvodnu kategoriju.

Uzorci su uzimani tokom muže, pri uzorkovanju za određivanje hemijskog sastava mleka. Koncentracija mlečne masti i proteina je određivana na aparatu firme Bentley, Bentley 150 Infrared Milk Analyzer, a ureja na analizatoru Chemspec 150 Urea Analyzer for Milk istog proizvođača.

Rezultati su obrađeni standardnim statističkim metodama pomoću parametara deskriptivne statistike (srednje vrednosti – M, standardne devijacije – SD, standardne greške – SE, koeficijenta varijacije – CV i intervala varijacije – IV). Odnosi koncentracija ureje i proteina, kao i koncentracija masti i proteina u ispitanim uzorcima prikazani su tabelarno i grafički.

Rezultati istraživanja i diskusija / *Results and Discussion*

Srednje vrednosti koncentracija organskih sastojaka mleka za krave prve i druge laktacije i zbirni rezultati za sve krave prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. *Koncentracija organskih sastojaka u mleku ispitanih krava /*
Table 1. Concentration of organic contents in milk of examined cows

		Mlečna mast / <i>Milk fat</i> (g/l)	Proteini / <i>Proteins</i> (g/l)	Urea / <i>Urea</i> (mmol/l)
Krave u prvoj laktaciji / <i>Cows in first lactation</i> (n=97)	M	38,88	30,33	3,16
	SD	5,07	2,35	0,58
	SE	0,51	0,24	0,06
	CV	13,00	7,74	18,35
	IV	26,60-52,70	23,00-36,30	1,73-4,43
Krave druge laktacije / <i>Cows in second lactation</i> (n=50)	M	36,47	30,17	3,72
	SD	4,82	2,27	0,64
	SE	0,68	0,32	0,09
	CV	13,22	7,52	17,20
	IV	24,30-47,30	23,90-35,00	2,23-4,76
Zbirno / <i>Total</i> (n=147)	M	38,06	30,28	3,35
	SD	5,10	2,31	0,66
	SE	0,42	0,19	0,05
	CV	13,40	7,63	19,70
	IV	24,30-52,70	23,00-36,30	1,73-4,76

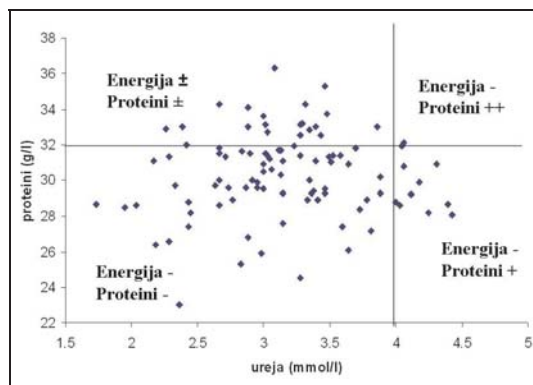
M – srednja vrednost; SD – standardna devijacija; SE – standardna greška; CV – koeficijent varijacije; IV – interval varijacije / *M – mean value, SD – standard deviation, SE – standard error, CV – coefficient of variation, IV – interval of variation*

Iz podataka prikazanih u tabeli 1 može se videti da je prosečna koncentracija mlečne masti kod svih ispitanih grla bila u okviru fizioloških granica (kod krava u prvoj laktaciji $38,88 \pm 5,07$ g/l, a kod krava u drugoj laktaciji $36,47 \pm 4,82$ g/l). Kod manjeg broja krava ustanovljene su koncentracije mlečne masti koje su ispod ili iznad fizioloških granica, što pokazuje da je kod njih postojala velika razlika u energetskeg bilansu. Odstupanja u sadržaju masti su najčešće posledica grešaka u ishrani, što je naročito izraženo u ranoj fazi laktacije, kada životinje koriste masti iz telesnih depoa kao dopunu energetskeg potreba (Drackley, 1999; Kampl, 2005; Goff, 2006; Šamanc i sar., 2006).

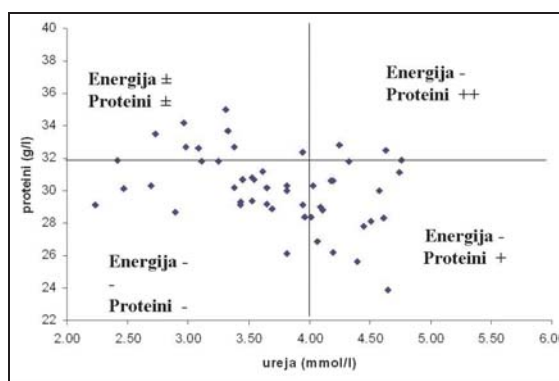
Prosečna koncentracija proteina kod krava u prvoj laktaciji iznosila je $30,33 \pm 2,35$ g/l, a kod krava u drugoj laktaciji $30,17 \pm 2,27$ g/l. Obe vrednosti su nešto niže od optimalnih, a veliki broj krava sa koncentracijom proteina ispod 32 g/l ukazuje na to da su one hranjene obrokom koji ne zadovoljava njihove potrebe u proteinima. Detaljnija analiza snabdevenosti krava proteinima u obroku data je u tumačenju grafikona odnosa koncentracija ureje i proteina.

Kod svih ispitanih krava prosečna koncentracija ureje bila je unutar fizioloških okvira (za krave u prvoj laktaciji $3,16 \pm 0,58$ mmol/l i krave u drugoj laktaciji $3,72 \pm 0,64$ mmol/l). Ipak, analizom pojedinačnih rezultata može se zaključiti da je kod značajnog broja krava koncentracija ureje bila iznad fiziološke granice, što ukazuje na to da obrok nije sadržavao dovoljnu količinu energije. Nedovoljan sadržaj energije u obroku uslovljava smanjenu aktivnost mikroflora buraga, što znači da amonijak, nastao u buragu, ne može u celosti da se upotrebi za sintezu mikrobijalnih proteina (Kampl i Stolla, 1995). Do sličnih rezultata su došli Šamanc i saradnici (2006), ispitujući ove parametre na četiri farme visokomlečnih krava.

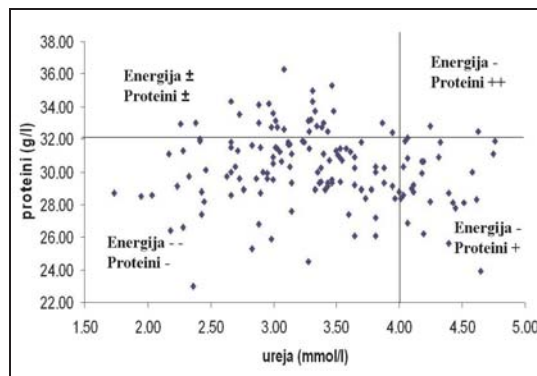
Dobijeni rezultati su prikazani grafički. Na grafikonima 1, 2 i 3 su prikazani odnosi koncentracija ureje i proteina u mleku krava u prvoj i onih u drugoj laktaciji.



Grafikon 1. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava u prvoj laktaciji /
Graph 1. Concentration ratio of urea and proteins in milk of cows in the first lactation

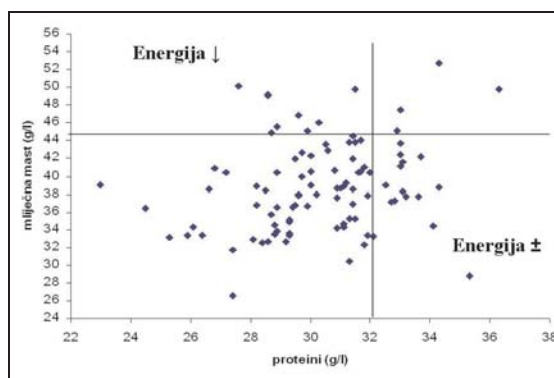


Grafikon 2. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava u drugoj laktaciji /
Graph 2. Concentration ratio of urea and proteins in milk of cows in the second lactation

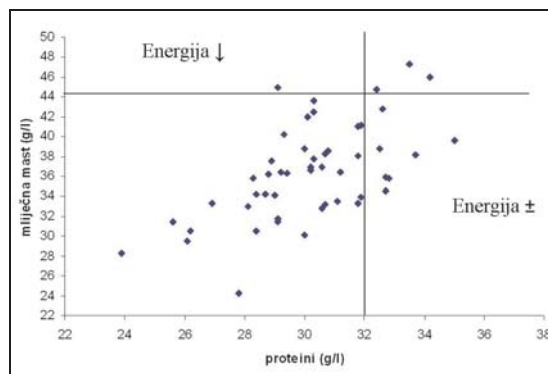


Grafikon 3. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku svih ispitanih krava
Graph 3. Concentration ratio of urea and proteins in milk of all cows

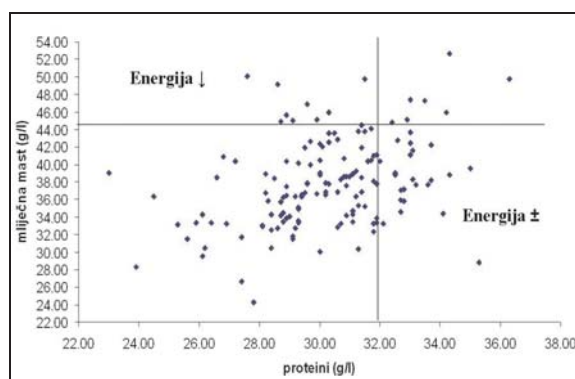
Analizom podataka prikazanih u grafikonima 1, 2 i 3 može se zaključiti da je kod većine krava istovremeno bio izražen deficit energije i proteina u obroku. Naime, zapaža se da se većina tačaka nalazi u donjem levom kvadrantu, što ukazuje na izražen deficit u snabdevanju energijom i proteinima. Izvestan broj krava dao je rezultate na osnovu kojih se može izvesti zaključak da je kod njih postojao deficit energije i relativni suficit proteina. Kod manjeg broja krava snabdevenost energijom i proteinima je bila zadovoljavajuća. Na osnovu ovog nalaza može se pretpostaviti da obroci ne zadovoljavaju potrebe u energiji i proteinima za najveći broj krava uključenih u ovaj ogled. Osim toga, životinje u bolesnom stanju (subakutna acidoza buraga) ne mogu da pojedu dovoljno hrane, te to može da bude jedan od razloga deficita energije i proteina (Šamanc i sar., 2006). U prilog tome go-



Grafikon 4. Odnos koncentracija mlečne masti i proteina u mleku krava u prvoj laktaciji
Graph 4. Concentration ratio of milk fat and protein in milk of cows in the first lactation



Grafikon 5. Odnos koncentracija mlečne masti i proteina u mleku krava u drugoj laktaciji
Graph 5. Concentration ratio of milk fat and protein in milk of cows in the second lactation



Grafikon 6. Odnos koncentracija mlečne masti i proteina u mleku svih ispitanih krava
Graph 6. Concentration ratio of milk fat and protein in milk of all cows

vori podatak da je ishrana krava na ovoj farmi bila nedovoljno izbalansirana u pogledu odnosa koncentrovanog i kabaog dela obroka. To je bilo izraženo u obe ispitivane grupe. Stanje određenog broja krava sa deficitom energije i relativnim suficitom proteina može se protumačiti sastavom obroka kojim su krave hranjene u vreme uzimanja uzoraka mleka. Naime, uzorci su uzimani u periodu kada su se krave hranile obrokom sa povećanim udelom zelene mase, koja, kako je poznato, sadrži veliku količinu lako svarljivih proteina i malu količinu sirovih vlakana.

Na grafikonima 4, 5 i 6 su prikazani odnosi koncentracija mlečne masti i proteina u ispitanim uzorcima mleka.

Na osnovu podataka prikazanih u grafikonima 4, 5 i 6 može se videti da je kod najvećeg broja krava postojao deficit energije, što se manifestovalo

smanjenjem koncentracije proteina ispod 32 g/l. Pri tome je koncentracija mlečne masti uglavnom bila ispod granice od 45 g/l. Kod manjeg broja krava ustanovljena je povišena koncentracija mlečne masti, koja ukazuje na to da je kod tih jedinki proces lipomobilizacije bio intenzivan. Optimalna snabdevenost energijom ustanovljena je kod manjeg broja krava.

Poređenjem ispitanih grupa krava može se izvesti zaključak da je deficit energije bio izraženiji kod krava u prvoj laktaciji. To pokazuje da na ovoj farmi obrok za steone junice u poslednjoj fazi graviditeta nije bio optimalan i prilagođen njihovim potrebama, te su one nakon telenja bile podložnije pojavi poremećaja energetskeg metabolizma.

Pri tumačenju podataka dobijenih sa ove farme treba imati na umu da su varijacije u snabdevenosti energijom, između ostalog, posledica vremena uzimanja uzoraka mleka unutar avansnog perioda. Naime, od određenog broja krava uzorci mleka su uzimani na početku, a kod drugih na kraju avansnog perioda. Tome svakako treba pridodati i individualne razlike, koje se mogu tumačiti na isti način, mada određenu ulogu u tome može imati i genetski potencijal životinja za proizvodnju mleka.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu analize podataka o koncentraciji organskih sastojaka mleka dobijenih sa ispitivane farme može se zaključiti da postoje propusti u sastavljanju obroka za krave u zasušenju i prvoj fazi laktacije. Za rešavanje ovog problema preporučuje se optimiziranje sastava obroka prema normativima nauke o ishrani, kao i formiranje podgrupa krava, koje bi bile što približnije po mlečnosti, kako bi obrok u potpunosti zadovoljio njihove potrebe za proizvodnjom. Posebnu pažnju na ovoj farmi trebalo bi posvetiti odgoju priplodnih junica, a naročito njihovoj ishrani u poslednjoj fazi graviditeta. Imajući u vidu da se analize sastava mleka na ovoj farmi sprovode redovno, nakon optimizacije obroka bilo bi moguće pratiti postignute rezultate. Na taj način bi se potencijal za proizvodnju mleka mogao u potpunosti iskoristiti, uz očuvanje zdravlja proizvodnog stada.

Literatura / References

1. Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? J Dairy Sci 1999; 82: 2259-73.
2. Goff JP. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. J Dairy Sci 2006; 89: 1292-301.
3. Horvat J, Kirovski Danijela, Šamanc H, Dimitrijević B, Kiškarolj F, Bečkei Ž, Kilibarda Nataša. Procena energetskeg statusa krava sa područja Subotice određivanjem koncentracije organskih sastojaka mleka. Zbornik radova XI regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja "Clinica Veterinaria 2009", Subotica, 2009.

4. Horvat J, Šamanc H, Kirovski Danijela, Katić Vera. Zdravstveni poremećaji visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije i uticaj na higijensku ispravnost sirovog mleka. Veterinarski specijalistički institut Subotica, 2007.
5. Ivanov I, Šamanc H, Vujanac I, Dimitrijević B. Metabolički profil krava. Zbornik radova IV simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda", Subotica, 2005.
6. Jenkins TC, McGuire MA. Major advances in nutrition: impact on milk composition. J Dairy Sci 2006; 89: 1302-10.
7. Jonker JS, Kohn RA. Using milk urea nitrogen to evaluate diet formulation and environmental impact on dairy farms. Sci World J 2001; 18(2): 852-9.
8. Jovičin M, Šamanc H, Milovanović A, Kovačević Mira. Određivanje telesne kondicije životinja. Zbornik radova IV simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda", Subotica, 2005.
9. Kampl B. Pokazatelji energetskeg deficita mlečnih krava u mleku i njihovo korišćenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije. Zbornik radova IV simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda", Subotica, 2005.
10. Kampl B, Stolla R. Pokazatelji energetskeg deficita mliječnih krava u mlijeku i njihovo korišćenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije. Praxis veterinaria 1995; 42(3): 189-97.
11. Kasagić D. Koncentracija trijodtironina, tiroksina, insulinu sličnog faktora rasta I i biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu junica pre i posle partusa. Magistrska teza. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2005.
12. Marenjak TS, Poljičak-Milas N, Stojić Z. Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku. Praxis veterinaria 2004; 52: 233-41.
13. Radojičić Biljana, Kasagić D. Endokrini i metabolički parametri u krvi krava u kasnom graviditetu i ranoj laktaciji. Zbornik radova 7. savjetovanja veterinara Republike Srpske, Teslić, 2000.
14. Šamanc H, Kirovski Danijela, Dimitrijević B, Vujanac I, Damnjanović Z, Polovina M. Procena energetskeg statusa krava u laktaciji određivanjem koncentracije organskih sastojaka mleka. Vet glasnik 2006; 60(5-6): 283-97.
15. Šamanc H, Sinovec Z, Cernescu H. Osnovi poremećaja energije visoko-mlečnih krava, Zbornik radova IV simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda", Subotica, 2005a.
16. Šamanc H, Stojić V, Kovačević B, Vujanac I. Hormonalni status visokomlečnih krava, Zbornik radova IV simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda", Subotica, 2005b.

ENGLISH

DETERMINATION OF ORGANIC COMPONENTS OF MILK AS METHOD FOR EVALUATING ENERGY STATUS OF DAIRY COWS

Đ. Savić, D. Matarugić, N. Delić, D. Kasagić, M. Stojanović

The objective of the investigations described in this work was to determine the energy status and to make recommendations for correcting the cow diet at a farm of high-yield dairy cows, on the grounds of values for the concentration of organic components of milk and their ratios in individual milk samples. A total of 147 cows were examined, including 97 in the first and 50 in the second lactation. Average concentrations of milk fat and urea were within the physiological values. Namely, the milk fat concentration in cows in the first lactation was 38.88 ± 5.07 g/l, and it was 36.47 ± 4.82 g/l in cows in the second lactation, while the urea concentration in cows in the first lactation 3.16 ± 0.58 mmol/l and it was 3.72 ± 0.64 mmol/l in cows in the second lactation. The protein concentration in both groups of cows was below the physiological values, being 30.33 ± 2.35 g/l in cows in the first lactation and 30.17 ± 2.27 g/l in cows in the second lactation. Based on the ratio of urea and protein concentrations, as well as of fat and proteins in the individual milk samples, it was concluded that in most examined cows, both in those in the first and those in the second lactation, there is a deficit of energy, along with a deficit or relative surplus of proteins. On the grounds of the obtained results, recommendations were given for correcting the feed rations in the coming period.

Key words: cow, energy metabolism, milk

РУССКИЙ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ МОЛОКА КАК МЕТОДА ОЦЕНКИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА МОЛОЧНЫХ КОРОВ

ДЖ. Савич, Д. Матаругич, Н. Делич, Д. Касагич, М. Стоянович

Цель исследования в этой работе была, что на ферме высоко-молочных коров, на основе стоимости для концентрации органических компонентов молока и их отношения в отдельных образчиках молока, утвердить энергетический статус и дать рекомендации для коррекции кормления коров. Совокупно испытано 147 коров, из которых 97 были в первой а 50 во второй лактации. Средние концентрации молочного жира и мочевины были внутри физиологических стоимостей. А именно, концентрация молочного жира у коров первой лактации была $38,88 \pm 5,07$ г/л, а у коров второй лактации $36,47 \pm 4,82$ г/л, пока концентрация мочевины у коров, которые были в первой лактации была $3,16 \pm 0,58$ ммол/л а у коров второй лактации, $3,72 \pm 0,64$ ммол/л. Концентрация протеинов у обеих групп коров была ниже физиологической стоимости, ибо у коров, которые были в первой лактации была $30,33 \pm 2,35$ г/л, а у коров, которые была во второй лактации $30,17 \pm 2,27$ г/л. На основе отношения концентраций мочевины и протеинов, словно и жира и протеина в отдельных образчиках молока сделан вывод, что у большинства испытанных коров, как тех, которые были в первой так и в тех во второй лактации, существует дефицит

энергии, при дефиците или релятивный избышек протеинов. На основе полученных результатов даны рекомендации для коррекции рациона в очередном периоде.

Ключевые слова: корова, энергетический метаболизм, молоко

**ISPITIVANJE PRISUSTVA ANTITELA PROTIV GOVEDEG
HERPESVIRUSA-1 U KRVNOM SERUMU TELADI PRE
ISHRANE KOLOSTRUMOM***

**INVESTIGATIONS OF PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST BOVINE
HERPESVIRUS-1 IN BLOOD SERUM OF CALVES PRIOR TO
COLOSTRUM DIET**

**S. Lazić, D. Rogan, T. Petrović, D. Bugarski, Diana Lupulović,
M. Lazarević****

U radu su prikazani rezultati ispitivanja prisustva antitela protiv govedeg herpesvirusa-1 (BHV-1) u uzorcima krvnih seruma 106 krava i 107 njihove teladi (jedna krava je otelila blizance). Uzorkovanje krvi od krava je vršeno odmah nakon partusa, a od teladi pre ishrane kolostrumom. Ispitivane krave i njihova telad poticali su iz 5 zapata u kojima je ranijim ispitivanjima utvrđena infekcija goveđim herpesvirusom-1. Utvrđivanje antitela protiv BHV-1 vršeno je metodom virus neutralizacije na kulturi MDBK ćelija sa 100 TCID₅₀ virusa (BHV-1, TN-41 Am. Bio Research, USA).

Antitela protiv BHV-1 utvrđena su u svim uzorcima krvnih seruma krava i u 16 uzoraka prekolostrealnih krvnih seruma teladi. Vrednosti titra antitela iznosile su kod krava od 1:4 do 1:512, a kod teladi od 1:2 do 1:16. Rezultati ukazuju na to da krave koje su seropozitivne na BHV-1 mogu da otele telad seropozitivnu na BHV-1 u oko 15% slučajeva. Ovo se mora imati u vidu kada se vrši izbor krava za proizvodnju priplodnog materijala, a posebno bikova za reprocentre, kao i kada se pravi program imunoprofilakse teladi protiv BHV-1.

Ključne reči: antitela, BHV-1, krave, telad, prekolostrealni krvni serum

* Rad primljen za štampu 02. 02. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Sava Lazić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, R Srbija; Dragan Rogan, M.Sc., Ph.D VP R&D, Bioniche Life Sciences Inc., Belleville, Ontario, Kanada; dr sci. med. vet. Tamaš Petrović, naučni saradnik, mr sci. med. vet. Dejan Bugarski, istraživač saradnik, mr sci. med. vet. Diana Lupulović, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad; dr sci. med. vet. Miodrag Lazarević, redovni profesor, Katedra za fiziologiju, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, R Srbija

Uvod / Introduction

Poznavanje imunske reaktivnosti fetusa i novorođene teladi predstavlja značajan faktor u ciklusu gajenja ove životinjske vrste. Verovanje da fetus govečeta nije imunokompetentan i da ne može da odgovori na antigenske podražaje demantovano je brojnim dokazima još šezdesetih godina prošlog veka. Imunska kompetentnost fetusa razvija se uporedno sa razvojem i sazrevanjem organa imunskog sistema i imunokompetentnih ćelija još tokom intrauterinog razvoja. Pojavi imunske reaktivnosti prethodi razvoj limfoidnih organa. U fetusu govečeta timus, slezina i limfni čvorovi se mogu otkriti od 40. do 75. dana, dok se limfociti u perifernoj krvi javljaju već oko 45. dana. Limfociti koji stvaraju imunoglobuline klase M pojavljuju se 59, a IgG B limfociti 135. dana intrauterinog razvoja (Tizard, 2004). U određenom periodu intrauterinog razvoja fetus govečeta može, ukoliko dođe u kontakt sa aktivno replikujućim mikroorganizmima, da reaguje produkcijom efektorskih ćelija i molekula. Zbog toga se u fetalnom serumu, pre svega, mogu naći specifična antitela protiv raznih virusa, što zavisi ne samo od razvoja imunskog sistema fetusa, već i od samog mikroorganizma. Utvrđeno je da fetus govečeta može proizvoditi antitela na: rotavirus 73. dana, parvovirus 93. dana i virus parainfluence između 3. i 120. dana intrauterinog razvoja. Limfociti u krvi fetusa mogu da odgovore na mitogene između 75. i 80. dana, ali ovu sposobnost gube privremeno pred rođenje, zbog visokog nivoa steroidnih hormona u serumu (Tizard, 2004).

Poznato je da goveđi herpesvirus-1 (BHV-1) može biti uzročnik uginuća i abortusa fetusa u različitim periodima gestacije. Abortusi se obično pojavljuju oko 90 dana nakon infekcije, pa se retko dovode u vezu sa njom, posebno ako su simptomi BHV-1 infekcije bili blagi (Stubbings i Cameron, 1981). Fetusi govečeta su prijemčivi na infekciju BHV-1 u svim periodima razvoja, ali se većina abortusa ipak pojavljuje posle petog meseca graviditeta (Babiuk, 2004). Pojavi abortusa najčešće prethodi uginuće fetusa. U ogledima sa veštačkom infekcijom gravidnih jedinki virusom BHV-1 dokazano je, da se ipak mogu roditi živa telad. Rodger i sar. (2007) su kod 9 gravidnih junica na samom početku poslednje trećine graviditeta izvršili veštačku infekciju goveđim herpesvirusom-1 (Cooper soj, titar 2×10^5 TCID₅₀/mL, 2 mL, i/v). Pobačaj je usledio kod 7 jedinki u periodu od dve do šest nedelja posle veštačke infekcije, dok su 3 junice otelile živu telad u očekivanom terminu partusa. Dva teleta su bila zdrava (vitalna), dok je jedno bilo avitalno. U placenti zdrave teladi nije dokazan virus, mada je kod svih junica 28 dana posle sprovedene veštačke infekcije zabeležena serokonverzija na BHV-1. Serokonverzija je zabeležena kod svih junica i u momentu porođaja, osim kod jedne koja je otelila zdravo tele. U placentama ostale teladi (Mejer i sar., 2001), autori su dokazali prisustvo virusa.

Na pobačenim fetusima, patoanatomskim pregledom se zapažaju mnogobrojne ulceracije i nekrotične naslage na sluzokoži gornjih disajnih organa (*pharinx, larynx i trachea*), dok se na jetri, slezini i bubrezima zapažaju sitna krvare-

nja i/ili nekrotična žarišta. Patohistološkim ispitivanjima se kod pobačenih fetusa mogu utvrditi multifokalna koagulativna nekrotična žarišta u jetri i placenti i nekroza endotelijalnih ćelija u kapilarima bubrega, slezine i mozga (Rodger i sar., 2007).

U literaturi postoje podaci koji ukazuju na to da određeni subtipovi goveđeg herpesvirusa ne izazivaju uginuće fetusa, bez obzira na činjenicu da se u njemu aktivno replikuju. Analizom virusne DNK, utvrđeno je od strane Miller-a i sar. (1991) da 2b subtip goveđeg herpesvirusa-1 ne uzrokuje uginuća fetusa i pobačaje. Autori su nakon i/v aplikacije ovog subtipa gravidnim junicama (5 plotkinja) dobili 4 živorođena teleta. Kod mrtvorodenog teleta i u njegovoj placenti nije dokazan virus, ali je u krvi ovog teleta utvrđen titar antitela protiv BHV-1 od 1:512. Kod živorođene teladi, pre ishrane kolostrumom, titar neutralizujućih antitela protiv BHV-1 je iznosio od 1:4 do 1:128. Rogan (1987) je takođe dokazao da se BHV-1 može replikovati u fetusu govečeta, a da ne izazove pobačaj. Ispitivanjima na 20 teladi pre ishrane kolostrumom, on je dokazao antitela protiv BHV-1 kod 4 teleta, a vrednosti titra su se kretale u opsegu od 1:2 do 1:16. Međutim, kod 3 od 4 seropozitivna teleta, autor je dokazao i značajnu inkorporaciju ³H-timidina pri stimulaciji limfocita BHV-1 antigenom. Samo kod teleta, kod koga je vrednost titra antitela iznosila 1:2, nije došlo do povećane inkorporacije ³H-timidina pri stimulaciji limfocita BHV-1 antigenom. Bosch i sar. (2000) su ELISA tehnikom ispitivali titar antitela na BHV-1 kod krava i njihove teladi pre ishrane kolostrumom. Oni su utvrdili da postoji značajna korelacija između vrednosti titra kod krava i njihove teladi. Naime, od 222 pregledane krave i 231 pregledanog teleta (9 krava su otelile blizance) 23,3 % teladi je pre ishrane kolostrumom bilo seropozitivno na BHV-1. Na bazi dobijenih rezultata autori su izrazili sumnju da placenta, ipak, ne predstavlja apsolutnu barijeru za transfer imunoglobulina. Isti autori ukazuju i na mogućnost da tele prilikom porođaja može da proguta manju količinu krvi majke ili alantohorijalne tečnosti pa da tako unese specifična antitela.

Infekcija goveda herpesvirusom-1 je najraširenija infekcija u govedarstvu. Uloženi su brojni naponi i veliki naučnoistraživački rad da bi se upoznali faktori epizootiologije, sam uzročnik, posledice infekcije, postupci dijagnostikovanja, kontrole, profilakse i eradikacije. Zahvaljujući saznanjima sticanim višegodišnjim istraživanjima, može se reći da je ova infekcija ipak stavljena pod kontrolu. U mnogim zemljama u svetu je sproveden ili se sprovodi postupak eradikacije uz prethodno ispitivanu prevalencu infekcije. Tako je tokom 2005. i 2006. godine na celoj teritoriji R Srbije sprovedeno ispitivanje raširenosti ove infekcije. Dokazano je da je infekcija BHV-1 prisutna i u zapaćima individualnog načina odgoja goveda (Lazić i sar., 2008), što se ranije samo pretpostavljalo. Mnogobrojnim istraživanjima dokazan je uticaj ove infekcije na razvoj i unapređenje govedarstva, što je doprinelo objavljivanju mnogobrojnih naučnoistraživačkih rezultata i podataka. Međutim, u literaturi ima malo podataka koji ukazuju na mogućnost nalaza specifičnih antitela protiv BHV-1 kod teladi pre uzimanja kolostruma. Nalaz antitela ukazuje na nepos-

redni kontakt fetusa i virusa, koji ipak ne mora da bude fatalan i da se okonča uginućem.

Osnovni cilj ovoga rada je bio da se ukaže na mogućnost nalaza ovih antitela u krvnom serumu teladi, pre ishrane kolostrumom, koja potiču od krava inficiranih BHV-1.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivane životinje i uzorci krvi:

Ispitivane krave i njihova telad poticali su iz 5 zapata u kojima je ranijim ispitivanjima utvrđena infekcija goveđim herpesvirusom-1. U svim zapatima seroprevalenca ove infekcije je bila veća od 90%. Za ova ispitivanja su metodom slučajnog izbora uzeti uzorci krvi od 106 krava i 107 njihove teladi (jedna krava je otelila blizance). Uzorci krvi su od krava uzimani neposredno posle partusa, a od teladi pre ishrane kolostrumom, oko jedan sat posle rođenja. Uzorkovanje krvi je vršeno punkcijom *v. jugularis*. Izdvajanje krvnog seruma je vršeno uobičajenim postupkom, spontanom koagulacijom i centrifugovanjem. Uzorci krvnog seruma čuvani su na $-20 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ do momenta ispitivanja.

Utvrđivanje antitela protiv BHV-1:

Antitela protiv BHV-1 su utvrđivana metodom virus neutralizacije. Uzorci krvnih seruma su prvo inaktivisani u vodenom kupatilu na temperaturi od $56 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$, a zatim titrirani, dvostrukim serijskim razređenjima. Na razređenja seruma je u istoj zapremini dodato 100 TCID₅₀ BHV-1, (TN-41 Am. Bio Resaarch, USA). Nakon inkubacije od jednog sata, na temperaturi od $37 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$, mešavina razređenih seruma i virusa je prebačena na formirani monosloj MDBK (*Madin Darby Bovine Kidney*) ćelija u mikrotitar ploče. Ploče su inkubirane 5 dana na temperaturi od $37 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$ u prisustvu $5 (\pm 2)\%$ CO₂. Očitavanje rezultata je petog dana, kada je citopatogeni efekat bio potpuno razvijen.

Rezultati istraživanja i diskusija / *Results and Discussion*

Dobijeni rezultati ispitivanja su prikazani tabelarno. Utvrđene vrednosti titra antitela protiv BHV-1 za svaku kravu i njeno tele prikazane su u tabeli broj 1, dok je u tabeli broj 2 dat zbirni prikaz sa distribucijom utvrđenih vrednosti titra antitela.

Na osnovu podataka prikazanih u tabelama broj 1 i 2 može se zaključiti da su specifična antitela protiv BHV-1 utvrđena u krvnom serumu svih ispitivanih krava. Kod 47 (44,34%) krava utvrđene vrednosti titra antitela su bile visoke (1:128 do 1:512), što pokazuje da je kod ovih jedinki u toku visokog graviditeta verovatno došlo do infekcije ili reaktivacije latentne infekcije BHV-1.

Tabela 1. *Prikaz utvrđenih vrednosti titra antitela protiv BHV-1 u krvnom serumu krava, neposredno posle partusa i krvnom serumu njihove teladi pre ishrane kolostrumom / Table 1. Established values for titer of antibodies against BHV-1 in blood serum of cows immediately after parturition and in blood serum of their calves before colostrum intake*

Red. broj / No.	Titir 1: / <i>Titer 1:</i>		Red. broj / No.	Titir 1: / <i>Titer 1:</i>		Red. broj / No.	Titir 1: / <i>Titer 1:</i>	
	Krave / <i>Cows</i>	Telad / <i>Calves</i>		Krave / <i>Cows</i>	Telad / <i>Calves</i>		Krave / <i>Cows</i>	Telad / <i>Calves</i>
1	16	<2	38	128	<2	75	128	<2
2	16	<2	39	128	<2	76	128	<2
3	32	<2	40	32	<2	77	64	<2
4	64	<2	41	128	<2	78	64	<2
5	16	<2	42	256	<2	79	256	<2
6	64	<2	43	64	<2	80	512	<2
7	32	<2	44	128	<2	81	256	<2
8	64	<2	45	32	<2	82	512	<2
9	16	<2	46	128	<2	83	128	<2
10	4	<2	47	256	4	84	512	<2
11	32	<2	48	512	8	85	128	<2
12	2	2	49	8	<2	86	256	<2
13	32	<2	50	256	<2	87	256	<2
14	32	<2	51	256	8	88	256	<2
15	2	<2	52	8	<2	89	256	<2
16	32	<2	53	256	<2	90	32	8
17	8	<2	54	256	<2	91	128	<2
18	8	<2	55	512	16	92	128	<2
19	32	<2	56	64	<2	93	128	<2
20	32	<2	57	64	<2	94	128	<2
21	128	8	58	4	<2	95	256	<2
22	4	<2	59	32	<2	96	128	<2
23	64	16	60	64	<2	97	128	<2
24	8	<2	61	16	<2	98	512	<2
25	16	<2	62	128	<2	99	128	<2
26	16	<2	63	16	4	100	64	<2
27	8	<2	64	32	<2	101	128	<2
28	16	<2	65	32	<2	102	256	<2
29	32	<2	66	4	<2	103	32	16
30	32	<2	67	32	<2	104	32	<2
31	32	<2	68	32	<2			<2
32	16	4	69	8	<2	105	128	<2
33	16	<2	70	128	8	106	128	8
34	16	<2	71	256	<2			
35	32	<2	72	512	<2			
36	128	<2	73	256	<2			
37	32	<2	74	512	<2			

Tabela 2. *Distribucija utvrđenih vrednosti titra antitela protiv BHV-1 u krvnom serumu krava i krvnom serumu njihove teladi pre ishrane kolostrumom /*
Table 2. Distribution of established values for titer of antibodies against BHV-1 in blood serum of cows and in blood serum of their calves before colostrum intake

n = ^a 106/ ^b 107	Titar antitela / <i>Antibody titer</i>									
	<1:2	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Broj krava / <i>Number of cows</i>	0	2	4	7	12	23	11	23	16	8
%	0	1,89	3,77	6,60	11,32	21,70	10,38	21,70	15,09	7,55
Broj teladi / <i>Number of calves</i>	91	4	4	5	3					
%	85,05	3,74	3,74	4,67	2,80					

^a ispitani broj krvnih seruma krava; ^b ispitani broj krvnih seruma teladi /

^a examined number of blood serums of cows; ^b examined number of blood serums of calves

Za ostale krave se, prema nalazu specifičnih antitela, može reći da su latentno inficirane ovim virusom. Međutim, treba istaći da ni kod jedne krave kliničkim pregledom nisu bili zapaženi simptomi koji bi ukazivali na infekciju ovim virusom. U precolostralnom krvnom serumu teladi, specifična antitela protiv BHV-1 utvrđena su kod 16 (14,95%) ispitane teladi. Kod 8 jedinki (7,48%) utvrđene vrednosti titra antitela iznosile su 1:8 i 1:16, što upućuje na razmatranje mogućnosti o intrauterinoj infekciji BHV-1. Uprkos ovoj činjenici, kod ove teladi tokom neonatalnog perioda nisu zapaženi simptomi poremećaja zdravstvenog stanja. Telad su bila vitalna i redovno su konzumirala mleko u ponuđenim količinama.

Ukoliko se posmatraju samo telad, kod kojih su utvrđena antitela protiv BHV-1, sa svojim majkama, kao što je prikazano u tabeli broj 3, zapaža se visoka heterogenost utvrđenih vrednosti titra antitela. U jednom slučaju vrednosti titra antitela bile su iste, kako kod teleta, tako i kod njegove majke (oznaka uzorka 12). U ostalim slučajevima utvrđene vrednosti titra antitela kod teladi su nekoliko puta manje nego kod krava. Ovi podaci ukazuju na različitu reaktivnost krava i teladi ili na reaktivaciju latentne infekcije kod krava, što je uticalo i na vrednosti titra antitela protiv BHV-1 kod fetusa.

Fetusi govečeta mogu da prežive infekciju goveđim herpesvirusom-1, što su dokazali i drugi autori. Ovo preživljavanje se ipak mora samo uslovno prihvatiti, jer zavisi od bioloških karakteristika virusa i drugih nepoznatih faktora. Istraživanjima Milera i sar. (1991) dokazano je da subtip 1 i subtip 2a goveđeg herpesvirusa-1 redovno dovodi do uginuća fetusa i pobačaja, dok se subtip 2b ne može smatrati uzročnikom pobačaja. U ispitivanjima prikazanim u ovom radu nije bila obuhvaćena izolacija i tipizacija virusa iz placente kod seropozitivne teladi, kao verifikacija infekcije fetusa tokom intrauterinog razvoja, što će predstavljati predmet naših budućih ispitivanja.

Tabela 3. *Prkaz utvrđenih vrednosti titra antitela protiv BHV-1 u precolostralnom krvnom serumu teladi i u krvnom serumu njihovih majki*
 Table 3. *Established values for titer of antibodies against BHV-1 in precolostral blood serum of calves and in blood serum of their mothers*

Oznaka uzorka / Sample number	Titar 1: / Titer 1:		Oznaka uzorka / Sample number	Titar 1: / Titer 1:	
	Telad / Calves	Krave / Cows		Telad / Calves	Krave / Cows
12	2	2	55	16	512
21	8	128	63	4	16
23	16	64	69	2	8
27	2	8	70	8	128
32	4	16	78	2	64
47	4	256	80	8	32
48	8	512	102	2	256
51	8	256	103	16	32

Istraživanjima Boscha i sar. (2000) utvrđeno je da krave koje su seropozitivne na BHV-1 mogu da otele seropozitivnu telad u 23,3% slučajeva. Rodger i sar. (2007) su u svojim istraživanjima ustanovili da se ni veštačkom infekcijom BHV-1 visko gravidnih junica ne postiže uvek pobačaj. Navedeni primeri potkrepljuju mišljenje da se infekcija BHV-1 ne završava uvek uginućem i pobačajem fetusa. Prema tome, ostaje i dalje otvoreno pitanje utvrđivanja faktora koji kontrolišu širenje virusa sa placentе do fetusa, kao i utvrđivanje faktora koji određuju da li se infekcija fetusa BHV-1 može okončati bez uginuća i pobačaja. Ne treba zanemariti ni činjenicu da telad prilikom porođaja može da proguta i određenu količinu alantohorijalne tečnosti u kojoj se nalaze antitela protiv BHV-1. Svi ovi elementi će biti predmet naših budućih istraživanja, jer postoji veliki interes odgoja teladi bez infekcije sa BHV-1.

Zaključak / Conclusion

Ispitivanjima u okviru ovog rada je dokazano da krave koje su seropozitivne na BHV-1 mogu, u 14,95% slučajeva, da otele telad koja je seropozitivna na taj virus. Ovaj nalaz se mora imati u vidu kada se vrši odabir potencijalnih bikovskih majki, kao i kada se vrši analiza imunskog statusa teladi sa aspekta transfera kolostralnih antitela i sprovođenja imunoprofilakse teladi protiv infekcije sa BHV-1.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Dobijeni rezultati su deo istraživanja projekta "Izučavanje implementacije programa kontrole i eradicacije herpesvirusne infekcije u priplodnim zapaćima goveda", koji je finansiran od strane Sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj A.P. Vojvodine.

Literatura / References

1. Babiuk AL. Bovine herpesvirus-1: Pathogenesis/Immunity and Control, Infection with bovine herpesvirus type 1 (IBR/IPV). Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", 2004; 265-90.
2. Bosch CJ, van Lieshout AHJ, de Wit JJ, Graat EAM, Somers MJM. The serological BHV1 status of dams determines the precolostral status of their calves. *Vet Quat* 2000; 22(2): 99-102.
3. Lazić S, Petrović T, Lupulović Diana, Bugarski D, Pušić I, Polaček V, Maljković M. Raširenost infekcije herpesvirusom 1 u malim zapaćima goveda na području Južnobačkog i Sremskog okruga. *Arhiv veterinarske medicine* 2008; 1(1): 16-29.
4. Meyer G, Lemaire M, Ros C, Belak K, Gabriel A, Cassart D *et al.* Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with herpesvirus types 1 and 5. *Arch Virol* 2001; 146: 633-52.
5. Miller MJ, Whetstone A, Van der Maaten JM. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *Am J Vet Res* 1991; 52(3) 458-61.
6. Miller MJ, Van der Maaten JM. Early embryonic death in heifers after inoculation with bovine herpesvirus-1 and reactivation of latent virus in reproductive tissues. *Am J Vet Res* 1987; 48(11) 1555-8.
7. Rodger SM, Murray J, Underwood C, Buxton D. Microscopical Lesions and antigen Distribution in Bovine Fetal Tissues and Placentae Following Experimental Infection with Bovine Herpesvirus-1 during Pregnancy. *J Comp Path* 2007; 137: 94-101.
8. Rogan D. Uporedno ispitivanje humoralnog i ćelijskog imuniteta kao pokazatelja ostvarenja kontakta i perzistencije Bovinog herpesvirusa-1 (IBR) u goveda nakon vakcinacije i prirodne infekcije, Doktorska disertacija, 1987. Veterinarski fakultet Beograd.
9. Stubbings DP, Cameron IRD. Bovine abortion associated with infectious bovine rhinotracheitis virus infection. *Vet Rec* 1981; 108: 101-2.
10. Tizard RI. *Veterinary Immunology-an interductuion*. VII edition, 2004, Elsevier, USA.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST BOVINE HERPESVIRUS-1 IN BLOOD SERUM OF CALVES PRIOR TO COLOSTRUM DIET

S. Lazić, D. Rogan, T. Petrović, D. Bugarski, Diana Lupulović, M. Lazarević

The paper presents the results of investigations of the presence of the bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in samples of blood serum from 106 cows and 107 of their calves (one cow had twins). Blood was sampled from the cows immediately after parturition, and from the calves before feeding on colostrum. The examined cows and their calves originated from 5 herds in which previous investigations had shown infection with the bovine herpesvirus-1. The determination of antibodies against BHV-1 was performed using the method of virus neutralization in culture of MDBK cells with 100 TCID₅₀ viruses (BHV-1, TN-41 Am. Bio Research, USA).

Antibodies against BHV-1 were determined in all blood serum samples of cows and in 16 samples of precolostral blood serums of calves. The antibody titer values in cows ranged from 1:4 to 1:512, and in calves the determined values were from 1:2 to 1:16. The results indicate that cows that are seropositive to BHV-1 can deliver calves seropositive to BHV-1 in about 15% cases. This must be kept in mind in selecting cows for the production of breeding material, in particular bulls for reproduction centers, as well as in making a programme for the immunoprophylaxis of calves against BHV-1.

Key words: antibodies, BHV-1, cows, calves, precolostral blood serum

РУССКИЙ

РЕЗУЛЬТАТЫ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ГОВЯЖЕГО ГЕРПЕСВИРУСА-1 В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ ТЕЛЯТ ДО КОРМЛЕНИЯ МОЛОЗИВОМ

С. Лазич, Д. Роган, Т. Петрович, Д. Бугарски, Дияна Лупулович, М. Лазаревич

В работе показаны результаты данных антител против говяжьего герпесвируса-1 (ГГВ-1) в образчиках кровяных серумов 106 коров и 107 их телят (одна корова отелила близнецов). Образчикование крови из коров совершено сразу после родов, а из телят до кормления молозивом. Испытанные коровы и их телята, происходили из 5 племенных приплодов в которых более ранними испытаниями установлена инфекция говяжим герпесвирусом-1. Установление антител против ГГВ-1 совершено методом вирус нейтрализации на культуре МДБК клеток с 100 ТЦИД/50 вируса (ГГВ-1, ТН-41 Am. Bio Research, США).

Антитела против ГГВ-1 установлены во всех образчиках кровяных серумов коров и в 16 образчиков домолочивных кровяных серумов телят. Стоимости титра антител составляли у коров от 1:4 до 1:512, а у телят от 1:2 до 1:16. Результаты указывают, что коровы, которые сероположительные на ГГВ-1 могут отелить сероположительных телят на ГГВ-1 в около 15% случаев. Это должно иметь в виду, когда совершается отбор коров для производства племенного материала, а отдельно быков для репроцентров, словно и когда делается программа иммунопрофилактики телят против ГГВ-1.

Ключевые слова: антитела, ГГВ-1, коровы, телята, домолочивный кровяной серум

**TELESNA KONDICIJA I POKAZATELJI ENERGETSKOG
STATUSA KRAVA U VISOKOM GRAVIDITETU I
RANOJ FAZI LAKTACIJE***

***BODY CONDITION AND INDICATORS OF ENERGY STATUS OF COWS
IN ADVANCED GRAVIDITY AND EARLY STAGE OF LACTATION***

**R. Prodanović, Danijela Kirovski, Dobrila Jakić-Dimić, I. Vujanac,
B. Kureljušić****

Cilj istraživanja bio je da se utvrdi validnost nekih metaboličkih i endokrinih pokazatelja energetskog metabolizma u poređenju sa telesnom kondicijom krava tokom poslednje faze graviditeta i rane faze laktacije. Za ispitivanje su odabrane tri grupe od po osam krava u periodu zasušenja (15 dana pre očekivanog termina teljenja), ranom puerperijumu (15 dana nakon teljenja) i 100. dana laktacije. Sve životinje uključene u ogled bile su prvotelkinje i drugotelkinje. Telesna kondicija krava u visokom graviditetu i laktaciji je ocenjivana prema sistemu Elanco Animal Health Buletin AI 8478. U uzorcima sveže krvi određivana je koncentracija glukoze i beta-hidroksi buterne kiseline (BHB), a u uzorcima krvnog seruma koncentracija ukupnog bilirubina, uree, trijodtironina i tiroksina. Uzorci krvi uzimani su u zasušenju, ranom puerperijumu i 100. dana laktacije. Na osnovu dobijenih rezultata visok stepen korelacije utvrđen je između telesne kondicije krava u ranom puerperijumu i koncentracije BHB u krvi 15 dana pre teljenja ($r = 0,898$; $p < 0,01$). Nasuprot tome, značajna korelacija je utvrđena između telesne kondicije u zasušenju i koncentracije ukupnog bilirubina u krvi krava 15 dana posle teljenja ($r = 0,603$; $p < 0,05$). Dodatno je ustanovljen visok stepen korelacije između razlike u telesnoj kondiciji krava u zasušenju i ranom puerperijumu ($X = 0,49 \pm 0,21$ poena) i koncentracije BHB u krvi krava pre teljenja ($r = 0,800$; $p < 0,02$). Na osnovu dobijenih rezul-

* Rad primljen za štampu 20. 01. 2010. godine

** Radiša Prodanović, dipl. vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, docent, Katedra za fiziologiju i biohemiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, R Srbija; dr sci. med. vet. Dobrila Jakić-Dimić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; mr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, Katedra za bolesti papkara, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, R Srbija; Branislav Kureljušić, dipl. vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

tata može se zaključiti da su promene telesne kondicije krava koje nastaju u peripartalnom periodu u značajnoj korelaciji sa koncentracijom BHB u krvi krava u zasušenju i koncentracijom ukupnog bilirubina u ranoj puerperijumu.

Ključne reči: krava, energetski status, metabolički profil, telesna kondicija

Uvod / Introduction

Ocena telesne kondicije krava holštajn rase je veoma pouzdan pokazatelj energetskog statusa, pogotovo u peripartalnom periodu, kada nastaju najizraženije promene u energetskom metabolizmu (Milovanović i sar., 2005; Šamanc i sar., 2007).

Kao pokazatelji energetskog statusa visokomlečnih krava u periodu oko teljenja mogu da posluže parametri metaboličkog profila, pre svega vrednosti koncentracija glukoze i BHB u krvi (Reist i sar., 2002; Kida, 2003; Kirovski i sar., 2009). Naime, kod krava u laktaciji je ustanovljena značajna negativna korelacija između koncentracije glukoze i BHB u krvnoj plazmi. Za vreme hipoglikemije, koncentracija BHB se povećava proporcionalno smanjenju koncentracije glukoze u krvi, a kod nekih životinja nastaje ketozno stanje (Reist i sar., 2002; Gaál, 2005). Sa druge strane, određivanje koncentracije ukupnog bilirubina daje uvid u funkcionalno stanje jetre i posredno u energetski status jedinke. Smatra se da su vrednosti bilirubinemije od preko 8,55 $\mu\text{mol/l}$ patološke i najčešće su posledica masne infiltracije i degeneracije ćelija jetre. U takvim slučajevima je oslabljena ekskretorna funkcija ovog organa (Rosenberger, 1995).

U poslednje vreme sve više se ističe da nedovoljno prilagođavanje endokrinog sistema u peripartalnom periodu predstavlja jedan od ključnih činilaca koji može da naruši metaboličku ravnotežu i dovede do nastanka supkliničkih i kliničkih poremećaja zdravlja krava (Šamanc i sar., 1993; 2005). Tu se, pre svega, misli na aktivnost tireoideje. Sve je više podataka koji ukazuju na to da su kod visokomlečnih krava snabdevanje jodom i funkcija štitaste žlezde od ključnog značaja za pravilno funkcionisanje energetskog metabolizma i prilagođavanje životinja na pojačanu aktivnost mlečne žlezde tokom prve faze laktacije. Više autora je ukazivalo na to da se koncentracije trijodtironina (T3) i tiroksina (T4) u krvi krava značajno snižavaju u periodu oko teljenja. Smanjenje njihove koncentracije u krvi krava u peripartalnom periodu, naročito na početku laktacije, omogućava korišćenje i preusmeravanje telesnih rezervi organizma za potrebe nametnute visokom proizvodnjom mleka. To je ključni proces u adaptaciji perifernih tkiva na smanjen promet energije, koja se u toku laktacije najviše koristi za potrebe mlečne žlezde. Međutim, kada se aktivira mlečna žlezda, kod pojedinih životinja, koncentracija tireoidnih hormona u krvi može da bude suviše niska ($T3 < 1,2 \text{ nmol/l}$, $T4 < 40 \text{ nmol/l}$). To vrlo često može da bude glavni uzrok na-

rušavanja metaboličke ravnoteže i u takvim uslovima kod visokomlečnih krava se često pojavljuje zamašćenje jetre. Kod najtežih oblika zamašćenja jetre su po pravilu i najniže vrednosti koncentracije trijodtironina (T3) i tiroksina (T4) u krvi krava (Rosenberger, 1995; Šamanc i sar., 2000; 2009).

Cilj ovog rada je bio da se utvrdi koji od metaboličkih odnosno endokrinih pokazatelja energetskog metabolizma pokazuje najveći stepen korelacije sa telesnom kondicijom tokom peripartalnog perioda i 100. dana laktacije.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Na farmi visokomlečnih krava holštajn rase odabrane su životinje za ispitivanje telesne kondicije odnosno energetskog statusa u tri faze proizvodno-reproduktivnog ciklusa (zasušenje, rani puerperijum i 100. dana laktacije). Ovim ispitivanjima su obuhvaćene prvotelkinje i drugotelkinje. Ispitivane životinje su bile smeštene u stajama zatvorenog tipa i nisu bile vezane. U svim fazama proizvodno-reproduktivnog ciklusa na farmi, krave su dobijale miksiran obrok dva puta dnevno u razmaku od 12 časova.

Ispitivanje je izvršeno kod 3 grupe od po 8 krava. U prvoj grupi su bile krave u zasušanju (15 dana pre očekivanog termina teljenja), u drugoj grupi krave u ranom puerperijumu (15 dana nakon teljenja), a u trećoj krave 100. dana laktacije.

Telesna kondicija krava je ocenjivana prema sistemu Elanco Animal Health Buletin AL 8478 (Milovanovic i sar., 2005). Od krava uključenih u ogled uzimani su uzorci krvi punkcijom vene jugularis u 10 časova pre podne odnosno 4 časa nakon davanja jutarnjeg obroka. U toku uzimanja krvi određivana je koncentracija glukoze i BHB komercijalnim test trakama (Precision-Xtra plus). U uzorcima krvnog seruma ispitivane su koncentracije uree, ukupnog bilirubina, T3 i T4. Koncentracije biohemijskih sastojaka krvne plazme određivane su fotometrijskom metodom korišćenjem komercijalnih test paketa (Bio-Medica). Koncentracija T3 i T4 je određivana korišćenjem komercijalnih RIA kitova (INEP, Zemun).

Rezultati ispitivanja obrađeni su standardnim statističkim metodama i izračunati su srednje vrednosti i standardna devijacija. Za ocenu statističkih značajnosti razlika srednjih vrednosti primenjen je Studentov t-test. Međusobni odnos posmatranih parametara određen je korelacijom prema Personu.

Rezultati i diskusija / *Results and Discussion*

Srednje vrednosti ocene telesne kondicije, parametara metaboličkog profila i koncentracije tireoidnih hormona u tri različita perioda prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1. Ocena telesne kondicije (OTK), koncentracija tireoidnih hormona i pojedinih biohemijskih parametara, pokazatelja energetskog statusa u krvi krava /
Table 1. Scoring of body condition (BCS), concentration of thyroid hormones and certain biochemical parameters, indicators of energy status in cow blood

	Vrednosti ispitivanih parametara ($\bar{X} \pm SD$) / Value of examined parameter ($\bar{X} \pm SD$)		
	15 dana pre teljenja / 15 days before calving	15 dana posle teljenja / 15 days after calving	100 dana laktacije / 100 days of lactation
OTK (poena) / BCS (score)	3,41 $\pm$ 0,13	3,03 $\pm$ 0,34**	2,91 $\pm$ 0,19***
Glukoza (mmol/l) / Glucose (mmol/l)	3,56 $\pm$ 0,64	2,84 $\pm$ 0,48*	2,69 $\pm$ 0,28**
BHBA (mmol/l) / BHBA (mmol/l)	0,32 $\pm$ 0,11	0,67 $\pm$ 0,19** *	–
Bilirubin (μ mol/l) / Bilirubin (μ mol/l)	7,59 $\pm$ 1,91	14,98 $\pm$ 7,39***aa	6,03 $\pm$ 1,36
Urea (mmol/l) / Urea (mmol/l)	5,97 $\pm$ 0,88	6,05 $\pm$ 2,68	7,02 $\pm$ 1,59
Trijodtironin (nmol/l) / Triiodothyronine (nmol/l)	1,78 $\pm$ 0,53	1,68 $\pm$ 0,70 ^a	1,94 $\pm$ 0,19
Tiroksin (nmol/l) / Thyroxine (nmol/l)	55,25 $\pm$ 21,69	37,12 $\pm$ 16,15	52,89 $\pm$ 7,75

Legenda: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; u odnosu na zasušenje
a $<0,05$; aa $<0,01$; u odnosu na 100. dan laktacije
Legend: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; with respect to dry period
a $<0,05$; aa $<0,01$; with respect to 100th day of lactation

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 1, zapaža se da je telesna kondicija krava u ranom puerperijumu i 100. dana laktacije bila statistički značajno niža ($p < 0,01$; odnosno $p < 0,001$) u odnosu na telesnu kondiciju utvrđenu u periodu zasušenja. Međutim, rezultati ispitivanja telesne kondicije pokazuju da su se u svim ispitivanim fazama dobijene vrednosti kretale u fiziološkim granicama.

Prosečna koncentracija glukoze u zasušenju je bila značajno veća u poređenju sa vrednostima dobijenim u ranom puerperijumu i 100. dana laktacije ($p < 0,05$; odnosno $p < 0,001$). Nasuprot tome, prosečne vrednosti koncentracije BHB i ukupnog bilirubina su bile značajno više u ranom puerperijumu ($p < 0,001$; odnosno $p < 0,01$), a vrednosti za ukupni bilirubin i 100. dana laktacije ($p < 0,01$). Vrednosti dobijene za koncentraciju uree, trijodtironina i tiroksina nisu se statistički značajno razlikovale između ispitivanih perioda. Ipak, neposredno nakon teljenja došlo je do smanjenja koncentracija T3 i T4 u odnosu na period zasušenja, ali dobijena razlika nije bila statistički značajna zbog velike varijabilnosti pojedinačnih rezultata.

Na osnovu dobijenih rezultata za najvažnije parametre metaboličkog profila krava, vidi se da postoje odstupanja od fizioloških vrednosti u koncentraciji

ukupnog bilirubina koja, prema Kaneku (1989) iznosi najviše do 8,55 $\mu\text{mol/l}$. Posebno su interesantni rezultati koncentracije ukupnog bilirubina dobijenih u fazi ranog puerperijuma jer su kod više od 30 % ispitivanih životinja dobijene vrednosti bile značajno veće od fizioloških, što ukazuje na veći stepen opterećenja funkcije jetre. Prosečne vrednosti za koncentraciju uree u krvnom serumu ispitivanih krava su bile na gornjoj fiziološkoj granici koja, prema Jazbecu (1990), iznosi do 6,66 mmol/l. U literaturi postoje podaci koji jasno ukazuju na to da i pri najmanjem stepenu zamašćenja jetre dolazi do povećanja koncentracije ukupnog bilirubina u krvi životinja (Rosenberger, 1995).

Posmatranjem pojedinačnih vrednosti koncentracija ukupnog bilirubina, BHB i glukoze u krvi jasno se vidi da su kod krava sa najvećom bilirubinemijom ustanovljene najveće vrednosti za koncentraciju BHB, a najniže za koncentraciju glukoze. To poklapanje jasno pokazuje da ubrzo nakon teljenja nastaju značajne promene u odnosu koncentracija energetskih i glukogenoplastičnih prekursora sa vidnim uticajem na morfološki i funkcionalni integritet jetre. Za visoko mlečne krave to predstavlja prognostički nepovoljan nalaz jer proces lipomobilizacije tokom laktacije može da dovede do težih oštećenja tkiva jetre, pa i do otkazivanja njenih funkcija (Collins, 1980; Huszenicza i sar., 1999; Šamanc i sar., 2008).

Kada se posmatraju rezultati ispitivanja koncentracija T3 i T4, zapaža se da se u sva tri ispitivana perioda dobijene prosečne vrednosti kreću u fiziološkim granicama (Kaneku, 1989). Međutim, kada se analiziraju pojedinačne vrednosti, onda se vidi da kod 15 % krava na ovoj farmi postoji stanje hipofunkcije tireoideje. Kako je poznato iz literature, takve se životinje teško prilagođavaju u uslovima velikog opterećenja energetskog metabolizma i zbog toga kod njih često dolazi do zamašćenja jetre (Huszenicza i sar., 1999). Posebno je interesantan podatak koji pokazuje da su kod onih životinja kod kojih su utvrđene najniže vrednosti za T3 i T4, u isto vreme utvrđene i najviše vrednosti za koncentraciju ukupnog bilirubina.

U tabeli 2 su prikazani koeficijenti korelacije između ocena telesne kondicije krava u antepartalnom periodu (OTK AP) i postpartalnom periodu (OTK PP) i pojedinih parametara metaboličkog profila određenih 15 dana pre teljenja.

Tabela 2. Koeficijenti korelacije između OTK i koncentracije ispitivanih parametara određenih antepartalno /

Table 2. Correlation coefficient between BCS and concentration of examined parameters determined antepartum

Parametar / Parameter	Glukoza / Glucose	BHB / BHB	Urea / Urea	Bilirubin / Bilirubin	T3	T4
OTK AP / BCS AP	0,468	0,482	0,416	0,000	0,286	-0,512
OTK PP / BCS PP	0,000	0,898 $p < 0,01$	0,325	-0,194	-0,547	-0,404

Iz rezultata se zapaža da značajna pozitivna korelacija postoji između telesne kondicije krava određene postpartalno i koncentracije BHB utvrđene do 15 dana pre teljenja ($r = 0,898$; $p < 0,01$). Ovaj podatak upravo potvrđuje nalaze nekih autora da je gojaznost krava jedan od predisponirajućih činilaca za nastajanje nekontrolisane lipomobilizacije i samim tim intenziviranja procesa ketogeneze, posebno na početku laktacije, što pokazuju i rezultati ovoga rada (Gustafsson i sar., 1995; Gaál i sar., 2005). Preciznije rečeno, kod ugojenih krava ketogeneza može da se intenzivira još pre teljenja, ali je skoro redovno veoma intenzivna posle teljenja, kada se kod životinja naglo menja bilans energije. Stoga, sa kliničkog aspekta koncentracija BHB u krvi i telesna kondicija krava u peripartalnom periodu mogu da imaju kako dijagnostički tako i prognostički značaj.

U tabeli 3 su prikazani koeficijenti korelacije između ocena telesne kondicije krava u antepartalnom periodu (OTK AP) i postpartalnom periodu (OTK PP) i pojedinih parametara metaboličkog profila određenih 15 dana posle teljenja.

Tabela 3. Koeficijenti korelacije između OTK i koncentracije ispitivanih parametara određenih postpartalno /

Table 3. Correlation coefficient between BCS and concentration of examined parameters determined postpartum

Parametar / Parameter	Glukoza / Glucose	BHB / BHB	Urea / Urea	Bilirubin / Bilirubin	T3	T4
OTK AP / BCS AP	0,122	0,180	0,428	0,603 $p < 0,05$	0,000	0,000
OTK PP / BCS PP	0,114	0,000	0,109	0,164	0,454	0,245

Iz rezultata se zapaža da visok stepen korelacije postoji između telesne kondicije krava određene antepartalno i koncentracije ukupnog bilirubina utvrđene petnaest dana posle teljenja ($r = 0,603$; $p < 0,05$). Upravo ovaj nalaz potvrđuje već navedeno gledište da kod ugojenih krava, pri prelasku iz stanja pozitivnog u stanje negativnog bilansa energije (peripartalni period), postoji opasnost od nastajanja nekontrolisane lipomobilizacije. Kod nekih životinja ovaj proces na početku laktacije može da evoluiru u patološko stanje, u čijoj osnovi je skoro uvek manji ili veći stepen zamašćenja jetre. Posledica toga je narušavanje morfološkog i funkcionalnog integriteta jetre. Hiperbilirubinemija je jedan od najpouzdanijih parametara metaboličkog profila, pokazatelja funkcionalnog stanja jetre (Jovanović i sar., 1991; Šamanc i sar., 1992).

Razlike između vrednosti OTK određene prepartalno, u ranom puerperijumu i tokom rane laktacije takođe mogu da posluže kao pokazatelj promena u energetskom statusu životinja u graviditetu i laktaciji. Podaci iz literature ukazuju na to da ta razlika ne bi trebalo da bude veća od 0,5 odnosno najviše 0,7 poena (Milovanović i sar., 2005; Šamanc i sar., 2007). Rezultati naših ispitivanja su pokazali najveću razliku u telesnoj kondiciji krava u peripartalnom periodu ($X = 0,49 \pm$

0,21). Pored toga, ispitivana je i korelacija između ove razlike u OTK i koncentracije parametara energetskog statusa određenih 15 dana pre teljenja (tabela 4) i petnaest dana posle teljenja (tabela 5).

Tabela 4. *Korelacija između OTK i koncentracije ispitivanih parametara određenih antepartalno /*

Table 4. Correlation between BCS and concentration of examined parameters determined antepartum

Parametar / Parameter	Glukoza / Glucose	BHBA / BHB	Urea / Urea	Bilirubin / Bilirubin	T3	T4
OTK razlika / BCS difference	0,000	0,800 $p < 0,02$	-0,268	0,134	0,481	0,241

Tabela 5. *Korelacija između OTK i koncentracije ispitivanih parametara određenih postpartalno /*

Table 5. Correlation between BCS and concentration of examined parameters determined postpartum

Parametar / Parameter	Glukoza / Glucose	BHBA / BHB	Urea / Urea	Bilirubin / Bilirubin	T3	T4
OTD razlika/ BCS difference	0,152	0,217	0,217	0,000	0,274	0,104

Iz rezultata prikazanih u tabeli se zapaža da visok stepen korelacije postoji između utvrđene razlike u OTK i koncentracije BHB prepartalno ($r = 0,800$; $p < 0,02$). To praktično znači da ukoliko su razlike u telesnoj kondiciji krava između pojedinih faza proizvodno-reproduktivnog ciklusa (zasušenje i rani puer-prijum) izraženije, veći su izgledi da se ranije intenzivira ketogeneza i time povećava koncentracija BHB u krvi životinja. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa podacima do kojih su ranije došli i drugi istraživači (Kegl i sar., 1992).

Zaključak / Conclusion

U cilju ranog otkrivanja poremećaja energetskog metabolizma primarni dijagnostički značaj imaju parametri metaboličkog profila. Najpouzdaniji pokazatelji energetskog statusa u antepartalnom periodu su koncentracija BHB, a u postpartalnom periodu koncentracija ukupnog bilirubina u krvi krava. Vrednosti ovih parametara su u značajnoj korelaciji sa telesnom kondicijom životinja u peripartalnom periodu.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je podržan sredstvima projekta TP 20106 iz programa istraživanja tehnološkog razvoja finansiranog od strane Ministarstva nauke Republike Srbije.

Literatura / References

1. Collins AR, Reid M. A correlated biochemical and stereological study of periparturient fatty liver in dairy cows. *Res Vet Sci* 1980; 28: 373-6.
2. Gaál T. Sindrom masne jetre krava. Zbornik radova IV simpozijuma: "Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda", Subotica, 2005.
3. Gustafsson AH, Andersson L, Emanuelson U. Influence of feeding management, concentrate intake and energy intake on the risk of hyperketonaemia in Swedish dairy herds. *Preventive Vet Med* 1995; 22: 237-48.
4. Huszenicza Gy, Kulcsar M, Dieleman SJ, Korodi P, Bartyik J, Rudas P, Ribiczei-Szabo P, Nikolić JA, Šamanc H, Ivanov I. Hormone and metabolite profiles as well as the onset of ovarian cyclicity in dairy cows suffering from various forms of ketosis. Fertility in the High-Producing Dairy Cow. Occasional Publication No 26-British Society of Animal Science edited by M G Diskin, 1999.
5. Jazbec I. Klinično laboratorijska dijagnostika, Ljubljana, 1990.
6. Jovanović MJ, Stamatović MS, Boroš I, Pivnički Đ, Damnjanović Z. Vrednosti nekih parametara krvi kod krava obolelih od ketoze, endometritisa i mastitisa. *Vet glasnik* 1991; 45(10) 689-776.
7. Kaneko JJ. Clinical biochemistry of domestic animals, 4th edition, San Diego, 1989.
8. Kegl T, Gaál T. *Magy. Aččatorvosok Lapja* 1992; 47: 159-61.
9. Kida K. Relationships of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. *J Vet Med Sci* 2003; 65(6): 671-7.
10. Kirovski D, Vujanac I, Šamanc H, Fratrić N, Gvozdić D, Sladojević Ž, Hristov S. Metabolic profiles and health status of dairy cows kept under free and tie stall systems. Second proceeding of International Symposium "New Research in Biotechnology". USAMV Bucharest, Romania, 2009; 181-6.
11. Milovanović A, Jovičin H, Šamanc H. Ocenjivanje telesne kondicije krava holštajnske rase. Veterinarska komora Srbije, Beograd, 2005.
12. Reist M, Erdin D, von Euw D, Tschuemperlin K, Leuenberger H, Chilliard Y, Hammon HM, Morel C, Philipona C, Zbinden Y, Kuenzi N, Blum JW. Estimation of energy balance at individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci* 2002; 85: 3314-27.
13. Rosenberger G. Clinical Examination of Cattle, Blackwell Science Ltd., 1995.
14. Šamanc H, Nikolić JA, Đoković R, Kovačević M, Damnjanović Z, Ivanov I, Bojkovski J: Relation between peripheral hormone levels and liver morphology in health and ketotic cows. *Lucrarile stintifice. Medicina Veterinaria Timisoara*, 2000, 33: 25-8.
15. Šamanc H, Stojić V, Kovačević M, Vujanac I. Hormonalni status visoko-mlečnih krava. Zbornik radova IV simpozijuma: "Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda", Subotica, 2005.
16. Šamanc H, Stojić V, Kirovski D, Jovanović M, Cernescu H, Vujanac I, Prodanović R. Utičaj telesne kondicije krava na učestalost i stepen zamašćenja jetre. *Vet glasnik* 2008; 62(1-2): 3-12.
17. Šamanc H, Vujanac I, Dimitrijević B, Kirovski D, Pudlo P, Milovanović A, Jovičin M, Džmura G. Telesna kondicija krava holštajnske rase u različitim fazama proizvodno-reproduktivnog ciklusa, V simpozijuma: "Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda", Kanjiža, 2007.

18. Šamanc H, Jovanović M, Damjanović Z, Ivanov I. Koncentracija amino-kiselinskog azota i ukupnog bilirubina u krvnom serumu visokogravidnih i tek oteđenih junica istočno-frizijske i holštajn rase. Vet glasnik 1992; 46(7-8): 377-81.
19. Šamanc H, Damjanović Z, Nikolić JA, Radojičić B, Anđelković M, Lekić N. Endokrina regulacija metaboličkih procesa kod krava u graviditetu i laktaciji. Vet glasnik 1993; 47(4-5): 319-27.
20. Šamanc H, Stojić V, Kirovski D, Jovanović M, Cernescu H, Vujanac I. Thyroid hormones concentrations during the mid-dry period: an early indicator of fatty liver in holstein-friesian dairy cows. J Thyroid Res 2009; u štampi.

ENGLISH

BODY CONDITION AND INDICATORS OF ENERGY STATUS OF COWS IN ADVANCED GRAVIDITY AND EARLY STAGE OF LACTATION

R. Prodanović, Danijela Kirovski, Dobrila Jakić-Dimić, I. Vujanac, B. Kureljušić

The objective of the investigations was to establish the validity of certain metabolic and endocrine indicators of energy metabolism in comparison with the body condition of cows during the final stage of pregnancy and the early stage of lactation. For the investigations, three groups of eight cows each were chosen during the dry period (15 days before the expected date of calving), in early puerperium (15 days after calving) and on the 100th day of lactation. All the animals included in the experiment were primipara or at their second delivery. The body condition of the cows in advanced pregnancy and lactation was evaluated according to the Elanco Animal Health Bulletin AI 8478 system. Concentrations of glucose and beta-hydroxybutyric acid (BHB) were determined in samples of fresh blood, and concentrations of total bilirubin, urea, triiodothyronine and thyroxine in samples of blood serum. The blood samples were taken during the dry period, in early puerperium, and on the 100th day of lactation. On the grounds of the obtained results, a high degree of correlation was determined between the body condition of cows in early puerperium and BHB concentrations in blood established 15 days prior to calving ($r = 0.898$; $p < 0.01$). Contrary to this, a significant correlation was established between the body condition of cows in the dry period and the concentration of total bilirubin in cow blood 15 days after calving ($r = 0.603$; $p < 0.05$). Furthermore, a high degree of correlation was established between the difference in the body condition of cows in the dry period and in early puerperium ($X = 0.49 \pm 0.21$ points) and BHB concentration in the blood of cows prior to calving ($r = 0.800$; $p < 0.02$). It can be concluded on the grounds of the obtained results that changes in the body condition of cows that occur in the periparturient period are in significant correlation with BHB concentration in the blood of cows in the dry period and the concentration of total bilirubin in early puerperium.

Key words: cow, energy status, metabolic profile, body condition

**КОНДИЦИЯ ТЕЛА И ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГИТИЧЕСКОГО СТАТУСА КОРОВ В
ВЫСОКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И РАННЕЙ ФАЗЕ ЛАКТАЦИИ**

**Р. Проданович, Даниела Кировски, Добрила Якич-Димич, И. Вуянац,
Б. Курелюшич**

Цель исследования была утвердить порядочность некоторых метаболических и эндокринных показателей энергитического метаболизма в сравнении с кондицией тела коров в течение последней фазы беременности и ранней фазы лактации. Для испытания отобраны три группы от по восьми коров в периоде засыхания (15 дней до ожидаемого термина отёла), раннем пуерперии (15 дней после отёла) и 100 дней лактации. Все животные, включенные в опыт были первотёлками и второтёлками. Кондиция тела коров в высокой беременности и лактации оценивана по системе Elanco Animal Health Buletin AI 8478. В образчиках свежей крови определявана концентрация глюкозы и бета-гидрокси масляной кислоты (БГМ), а в образчиках кровяного серума концентрация совокупного билирубина, мочевины, трийодтиронина и тироксина. Образчики крови брали в засыхании, раннем пуерперии и 100 дней лактации. На основе полученных результатов высокая степень корреляции утверждена между кондицией тела коров в раннем пуерперии и концентрацией БГМ в крови, утверждённой 15 дней до отёла ($r=0,898$; $p<0,01$). Вопреки этому, значительная корреляция утверждена между кондицией тела в засыхании и концентрацией совокупного билирубина в крови коров 15 дней после отёла ($r=0,603$; $p<0,05$). Дополнительно, высокая степень корреляции, установленная между разницей в кондиции тела коров в засыхании и раннем пуерперии ($X=0,49\pm0,21$ очков) и концентрацией БГМ в крови коров до отёла ($r=0,800$; $p<0,02$). На основе полученных результатов можно сделать вывод, что изменения кондиции тела коров, возникающие в дородовом периоде в значительной корреляции с концентрацией БГМ в крови коров в засыхании и концентрацией совокупного билирубина в раннем пуерперии.

Ключевые слова: корова, энергитический статус, метаболический профиль, кондиция тела

**UTICAJ TOPLOTNOG STRESA NA VREDNOSTI TRIJASA
KOD VISOKOMLEČNIH KRAVA******EFFECT OF HEAT STRESS ON VITAL SIGNS IN HIGH-YIELD
DAIRY COWS***

I. Vujanac, Danijela Kirovski, J. Bojkovski, R. Prodanović, B. Savić,
H. Šamanc**

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj spoljašnje temperature na vrednosti trijasa kod visoko mlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se na osnovu stepena korelacije između vrednosti trijasa i dnevnog toplotnog indeksa (THI) utvrdi mogućnost korišćenja ispitanih fizioloških parametara organizma kao pokazatelja toplotnog stresa. U ogled je bilo uključeno 10 visoko mlečnih krava u prvoj fazi laktacije. Ispitivanje je izvedeno tokom jula i prve polovine avgusta. Tokom izvođenja ogle- da svakog dana je određivan prosečan THI. Izloženost jedinke toplot- nom stresu bila je uslovljena prosečnom dnevnom vrednošću THI većom od 70. Dvanaest puta tokom perioda ispitivanja (30. juna, 4. jula, 7. jula, 10. jula, 14. jula, 17. jula, 21. jula, 24. jula, 29. jula, 5. avgusta, 11. avgusta i 14. avgusta) kravama je određivan trijas. Na osnovu vred- nosti THI utvrđeno je da su ispitivane životinje 30. juna, 4. jula, 7. jula, 14. jula, 17. jula, 21. jula, 29. jula, 5. avgusta i 14. avgusta bile izložene delovanju toplotnog stresa, dok 10. jula, 24. jula i 11. avgusta toplotnog stresa nije bilo. Prosečna telesna temperaturaje je u svim periodima is- pitivanja, izuzev 24. jula, bila je iznad gornje fiziološke granice. Utvrđen je visok stepen korelacije između telesne temperature i toplotnog in- dekza ($r = +0,509$; $p = 0,05$). Broj respiratornih pokreta u minuti bio je iznad fizioloških vrednosti tokom celog perioda ispitivanja. Između broja respiratornih pokreta i THI postojao je visok stepen korelacije ($r = +0,625$; $p < 0,05$). Prosečne vrednosti pulsa i broja kontrakcija buraga nisu značajno varirale tokom perioda ispitivanja. Nije utvrđena značaj- na korelacija između vrednosti pulsa i THI, kao ni između motoričke ak-

* Rad primljen za štampu 16. 02. 2010. godine

** Mr sci med. vet. Ivan Vujanac, asistent, dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, docent, dr sci. med. vet. Jovan Bojkovski, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; Radiša Prodanović, dr vet. med., istraživač pripravnik, mr sci. med. vet. Božidar Savić, Naučni insti- tut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sci. med. vet. Horea Šamanc, profesor, Fakultet vet- erinarske medicine Univerziteta u Beogradu

tivnosti buraga i THI. Dobijeni rezultati u ovom radu pokazuju da su kod visokomlečnih krava izloženih umerenom toplotnom stresu, telesna temperatura i broj respiratornih pokreta iznad fiziološki dozvoljenih vrednosti. Na osnovu toga može se zaključiti da se ova dva parametra trijasa mogu koristiti kao fiziološki pokazatelji toplotnog stresa.

Ključne reči: visokomlečne krave, toplotni stres, trijas

Uvod / Introduction

Stres je promenjeno stanje organizma koje nastaje pod snažnim uticajem faktora iz spoljašnje sredine koji svojim delovanjem remete homeostazu unutrašnje sredine, odnosno izvode ga iz stanja ravnoteže (Yousef, 1985). Izučavanje stresa ima izuzetno veliki značaj za uspešno održavanje zdravlja i proizvodnih sposobnosti visokomlečnih krava. Pored poznatih stresogenih činilaca koji narušavaju zdravlje visokomlečnih krava, a to su infekcije, bol, uznemirenost i drugo, poslednjih godina se sve veći značaj pridaje visokoj spoljašnjoj temperaturi, kao stresogenom činiocu koji može da naruši zdravlje visokomlečnih krava.

Toplotni stres kod visokomlečnih krava nastaje pod uticajem snažnog delovanja klimatskih činilaca (temperatura i relativna vlažnost vazduha, strujanje vazduha i dr.) koji pokreću mehanizme prilagođavanja na svim nivoima organizma, od subćelijskih do organskih, u cilju održavanja ravnoteže unutrašnje sredine (homeostaza). Težnja homeotermnih organizama da održavaju stabilnu telesnu temperaturu u veoma uskim okvirima je od izuzetne važnosti, jer se time postižu uslovi za pravilno i kontrolisano odvijanje fizioloških procesa (Shearer i Beede, 1990). U slučaju otkazivanja adaptacionih sistema organizma dolazi do poremećaja zdravlja i smanjenja proizvodno reproduktivnih karakteristika životinja. Toplotni stres kod goveda, pogotovo kod krava u laktaciji, dovodi do smanjenja apetita, smanjenja proizvodnje mleka i, na kraju, poremećaja u reprodukciji. Podaci iz literature pokazuju da tokom toplih i sparnih letnjih dana proizvodnja mleka na pojedinim farmama može opasti i do 50 % (Collier i Beede, 1985; Armstrong, 1994; West, 2003). Poremećaji u funkciji jajnika zbog atrofije (izostajanje ovulacije i tihi estrus) imaju za posledicu nepovoljne rezultate veštačkog osemenjavanja plotkinja (Lamming i Royal, 2001; Rivera i Hansen, 2001). Posebno je interesantno da se period rekovalescencije značajno produžava i posle prestanka delovanja visoke spoljašnje temperature, a reproduktivna aktivnost se normalizuje tek za dva do tri meseca (Fuquay, 1981; Armstrong, 1994; Roth i sar., 2001).

U literaturi se kao pokazatelji toplotnog stresa u ambijentu u kome jedinka živi, najčešće koriste spoljne temperature i vlažnost vazduha. Na osnovu vrednosti ovih parametara izračunava se temperaturni indeks (TI), u anglosaksonskoj literaturi poznat i kao temperature–humidity index (THI) (McDowell i sar., 1976). Dobijena vrednost THI manja ili jednaka 70 ukazuje na spoljašnju temperaturu povoljnu za organizam krava, dok dobijena vrednost THI od 72 do 78 ukazuje

na spoljašnju temperaturu stresogenu za organizam krava. Kada je vrednost THI veća od 78 postoji veoma snažno stresogeno delovanje spoljašnje temperature na zdravlje životinja, pogotovo na krave u laktaciji koje nisu sposobne da u takvim uslovima mehanizmima termoregulacije održavaju telesnu temperaturu u fiziološkim granicama (McDowell i sar., 1976).

U uslovima toplotnog stresa pojedini parametri trijasa se menjaju, zbog čega neki autori navode mogućnost korišćenja ovih fizioloških parametara organizma kao pokazatelja toplotnog stresa. To se pre svega odnosi na telesnu temperaturu, frekvencu disanja, frekvencu rada srca i kontrakcije buraga (Berman i sar., 1985; Richards, 1985; Beatty i sar., 2006).

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj spoljašnje temperature na vrednosti trijasa kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se na osnovu stepena korelacije između vrednosti trijasa i THI utvrdi mogućnost korišćenja ispitanih fizioloških parametara organizma kao pokazatelja toplotnog stresa.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogled je izveden na farmi visokomlečnih krava holštajn-frizijske rase tokom jula i prve polovine avgusta 2008. godine. Metodom slučajnog izbora odabrano je 10 klinički zdravih krava (30 dana posle teljenja) od druge do četvrte laktacije. Krave su hranjene miksiranim obrocima (TMR) dva puta dnevno. Pre miksiranog obroka, kravama je davano seno lucerke u ograničenim količinama. Optimizacija obroka za ovu kategoriju životinja vršena je na osnovu dnevne količine proizvedenog mleka. Krave su bile smeštene "na vezu" u stajama otvorenog tipa.

Tokom izvođenja oglada svakog sata (24 časa dnevno) je određivana temperatura i relativna vlažnost vazduha, kao i temperatura suvog i vlažnog termometra. Vrednosti su registrovane u automatskoj stanici Hidrometeorološkog zavoda Republike Srbije udaljenoj oko 3 km vazdušnom linijom od farme na kojoj su vršena ispitivanja. Na osnovu prikupljenih podataka izračunat je satni toplotni indeks (THI) za ceo period ispitivanja. THI je izračunat na osnovu formule: $THI = (T_{st} + T_{vt}) \times 0,72 + 40,6$ gde je T_{st} – temperatura suvog termometra, T_{vt} – temperatura vlažnog termometra a T_{tr} – temperatura tačke rose. Ova formula je preporučena od strane National Research Council (1971) za primenu u govedarstvu. Na osnovu vrednosti satnih toplotnih indeksa izračunat je prosečan THI za određeni dan ispitivanja.

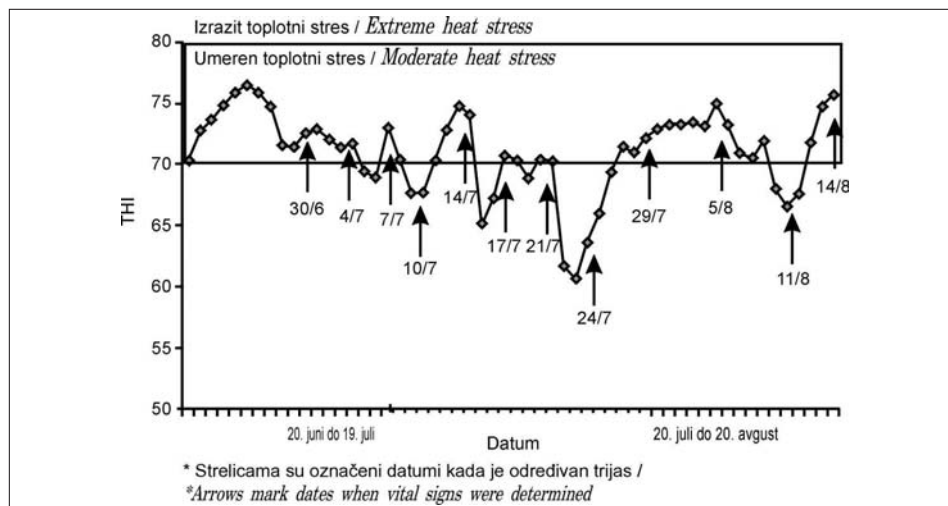
Klinički pregled životinja i vrednosti trijasa određivani su 12 puta tokom ispitivanog perioda (30.juna, 4.jula, 7.jula, 10.jula, 14.jula, 17.jula, 21.jula, 24.jula, 29.jula, 5.avgusta, 11.avgusta i 14.avgusta 2008. godine). Telesna temperatura krava je rektalno merena živinim maksimalnim termometrom u trajanju od pet minuta. Adspekcijom i auskultacijom srednje trećine grudnog koša određivan je broj respiratornih pokreta. Auskultacijom srca sa leve strane u 3. ili 4. međurebarnom prostoru određivan je i broj otkucaja srca u jednom minutu.

Auskultacijom u levoj gladnoj jami praćena je motorička aktivnost buraga tokom pet minuta.

Rezultati ispitivanja su predstavljeni grafički i tabelarno, korišćenjem osnovnih parametara deskriptivne statistike (srednja vrednost i standardna devijacija). Stepenn značajnosti razlika u srednjim vrednostima procenjen je studentovim t-testom za stepenn pouzdanosti od 95%, odnosno 99 %.

Rezultati ispitivanja i diskusija / *Results and Discussion*

Srednje vrednosti dnevnih THI tokom ispitivanog perioda date su na grafikonu 1.



Grafikon 1. Prosečni dnevni toplotni indeksi (THI) tokom ispitivanog perioda
Graph 1. Average daily heat indexes (THI) during period of investigation

Na grafikonu 1 se zapaža da su ispitivane životinje 30.juna, 4.jula, 7.jula, 14.jula, 17.jula, 21.jula, 29.jula, 05.avgusta i 14. avgusta 2008. godine bile izložene delovanju umerenog toplotnog stresa, dok 10. jula, 24. jula i 11. avgusta 2008 godine toplotnog stresa nije bilo. U periodima u kojima nisu bile izložene toplotnom stresu prosečne vrednosti THI su bile niže od 70, što je odgovaralo optimalnim ambijentalnim uslovima držanja visokomlečnih krava. Najbolji ambijentalni uslovi držanja visokomlečnih krava ostvaruju se onda kada je temperatura vazduha od 5 do 25°C i definisani su kao optimalni ambijentalni uslovi držanja za ovu vrstu životinja (Roenfeldt, 1998).

U tabeli 1 date su vrednosti trijasa ($X \pm SD$), uz prikaz THI na sam dan sprovedenog kliničkog pregleda krava.

Tabela 1. Prosečne vrednosti trijasa tokom ispitivanog perioda
Table 1. Average values for vital signs during period of investigation

Parametar / Parameter	Datum / Date												Fiziološke vrednosti trijasa za odrasla goveđa / Physiologi- cal values for vital signs in adult cattle
	30/6	4/7	7/7	10/7	14/7	17/7	21/7	24/7	29/7	5/8	11/8	14/8	
THI	72,49 39,24± 0,38	71,75 39,35± 0,25	73,00 39,38± 0,42	67,63 39,04± 0,42	73,99 39,33± 0,28	70,83 39,28± 0,49	70,23 39,13± 0,24	63,63 38,99± 0,27	72,15 39,04± 0,27	73,19 39,12± 0,12	67,60 39,40± 0,63	75,70 39,56± 0,58	THI<70 38,0 do 39,0 °C
Frekvencija disanja (broj/min) / Breathing frequency (number/min)	57,90± 7,10	67,00± 10,29	61,10± 12,01	47,00± 3,53	51,40± 6,33	66,70± 2,91	61,20± 12,37	46,80± 8,69	54,10± 9,78	55,80± 8,17	51,90± 10,92	77,89± 13,82	10 do 34
Puls (broj/min) / Pulse (number/min)	84,20± 4,38	79,20± 7,28	76,90± 9,49	83,00± 7,86	82,70± 4,32	86,60± 3,74	88,00± 2,99	84,10± 6,80	81,60± 6,04	88,70± 8,58	83,00± 6,89	87,22± 8,13	60 do 80
Kontraksije buraga (broj/5 min) Rumen contractions (number/ 5 min)	7,40± 1,67	9,00± 1,58	8,90± 1,1	9,30± 1,33	10,20± 1,23	8,40± 1,43	9,40± 1,17	9,70± 1,41	10,60± 1,35	10,20± 1,47	9,89± 1,05	9,67± 1,94	7 do 14

* Tamnijim poljima označeni su dani tokom kojih su životinje bile u uslovima umerenog toplotnog stresa (THI > 70) /
* Dark areas mark days when animals were in conditions of moderate heat stress (THI > 70)

U tabeli 2 prikazane su vrednosti koeficijenata korelacije između THI i parametara trijasa.

Tabela 2. Koeficijenti korelacije između ispitivanih parametara i THI tokom ispitivanog perioda

Table 2. Correlation coefficient between examined parameters and THI during period of investigation

Parametar / Parameter	TT	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Puls / Pulse	Kontrakcije buraga / Rumen contractions
THI	+0,509	+0,625*	+0,321	---

* $p < 0,05$

Iz prikazanih rezultata se vidi da su srednje vrednosti za telesnu temperaturu u svim periodima ispitivanja, izuzev 24. jula, iznad gornje fiziološke granice. Najviša prosečna telesna temperatura kod ispitivanih životinja je bila 14. avgusta i iznosila je $39,56 \pm 0,58$ °C, a najniža je izmerena 24. jula $38,99 \pm 0,27$ °C. Iz tabele 2, u kojoj su prikazani koeficijenti korelacije između THI i parametara trijasa, uočava se visok stepen korelacije između telesne temperature i toplotnog indeksa (THI), koji je bio na granici statističke značajnosti ($r = +0,509$; $p = 0,05$). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima autora koji su utvrdili porast telesne temperature u uslovima toplotnog stresa. Na osnovu toga zaključili su da je telesna temperatura dobar pokazatelj toplotnog stresa, kao i da se na osnovu promene telesne temperature može proceniti termoregulaciona sposobnost organizma (Beatty i sar., 2006; Zhang i sar., 1994; Kabuga, 1992). Johnson i sar. (1980) su ukazali na nepovoljan uticaj visoke spoljašnje temperature na proizvodnju mleka i plodnost visokomlečnih krava. Naime, u uslovima toplotnog stresa porast telesne temperature preko fiziološke granice za 1 °C može da bude sasvim dovoljan da smanji proizvodno-reproduktivnu sposobnost većine vrsta domaćih životinja (McDowell i sar., 1976). U uslovima povišene ambijentalne temperature, svakodnevnim merenjem telesne temperature može da se prati proces prilagođavanja životinja na toplotni stres.

U periodima kada su životinje bile izložene delovanju umerenog toplotnog stresa broj respiratornih pokreta u minuti se nalazio u rasponu od $51,40 \pm 6,3$ do $77,89 \pm 13,82$ (tabela 1), dok u periodima u kojima životinje nisu bile izložene toplotnom stresu ($THI < 70$) broj respiracija je bio znatno niži i kretao se od $46,80 \pm 8,69$ do $51,90 \pm 10,92$. Ovi rezultati su u skladu sa podacima do kojih su došli i drugi autori (Beatty i sar., 2006; Zhang i sar., 1994; Kabuga, 1992; McDowell, 1972). Iz tabele 2 se vidi da između broja respiratornih pokreta i THI postoji visok stepen korelacije koji je bio statistički značajan ($r = +0,625$; $p < 0,05$). Imajući u vidu pozitivnu korelaciju između telesne temperature i THI, povećan broj respiratornih pokreta ukazuje na proces prilagođavanja homeostatskih mehanizama kod visokomlečnih krava, jer povećanjem broja respiracija može se de-

limično prevenirati dalji porast telesne temperature u uslovima umerenog toplotnog stresa, odnosno kada THI nije veći od 80.

Povećan broj respiratornih pokreta u uslovima povišene spoljašnje temperature predstavlja veoma važan fiziološki termoregulatorni odbrambeni odgovor organizma, kada je potrebno da se intenzivira proces odavanja viška toplotne energije (West i sar., 1991; Hales, 1976; Hales i Findlay, 1968). Ubrzano disanje u uslovima umerenog toplotnog stresa ima za posledicu smanjenje respiratornog volumena i ograničenu alveolarnu ventilaciju pluća (Hales, 1976). Međutim, u uslovima izrazito visoke spoljašnje temperature, respiratorni volumen se povećava, a time se omogućava da se isparavanjem sa površine sluzokože organa za disanje odaje veća količina toplotne energije u vidu vodene pare. Pri optimalnim ambijentalnim uslovima (18°C) broj respiratornih pokreta je od 10 do 34 u minuti, dok je na temperaturi vazduha od 32 °C i povišenoj relativnoj vlažnosti broj disajnih pokreta duplo veći (Johnston i sar., 1959). Kod visokomlečnih krava u suptropskim klimatskim uslovima ustanovljeno je da se broj respiratornih pokreta povećava preko 50 do 60 u minuti, kada je spoljašnja temperatura viša od 25 °C (Berman i sar., 1985).

Prosečne vrednosti pulsa nisu varirale tokom perioda ispitivanja i nalazile su se na gornjoj fiziološkoj granici (tabela 1). Međutim, Richards (1985) je utvrdio povećan broj otkucaja srca u minuti u uslovima toplotnog stresa. Ovo povećanje autori su protumačili činjenicom da visokomlečne krave nisu aklimatizovane na naglo povećanje spoljašnje temperature (akutni toplotni stres) i da je stoga ubrzan rad srca bio neposredan odgovor organizma na stanje stresa. Broj otkucaja srca u minuti se povećava kada su životinje izložene kratkotrajnom toplotnom stresu, a smanjuje se ili održava u fiziološkim granicama ukoliko stresogeno delovanje traje duže (hronični toplotni stres) (Bianca, 1959). Međutim, Huhnke i Monty (1976) nisu ustanovili značajnu razliku u frekvenciji rada srca između zasušanih i oteljenih krava holštajn rase tokom zimskog i letnjeg perioda ispitivanja. Ne tako davno sprovedena istraživanja ukazuju na to da toplotni stres može da dovede do hemodilucije ili hemokoncentracije ili da nema uticaja na zapreminu krvne plazme (Johnson i sar., 1991; Elvinger i sar., 1992). Kako je poznato, svaka promena zapremine krvi u sistemske cirkulaciji utiče na frekvenciju rada srca. Zbog toga se može tvrditi da se broj srčanih otkucaja u dobroj meri menja u zavisnosti od dužine trajanja i intenziteta toplotnog stresa. Iz tabele 2 se vidi da između pulsa i THI nema značajne korelacije ($r = + 0,321$; $p > 0,05$).

Prosečan broj kontrakcija buraga kod ispitivanih visokomlečnih krava tokom oglada nije značajno varirao i nalazio se u okviru fizioloških vrednosti (tabela 1). Takođe, nije utvrđena značajna korelacija između motoričke aktivnosti buraga i THI (tabela 2), što pokazuje da toplotni stres nema uticaja na motilitet ovog organa.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu utvrđenih rezultata ispitivanja uticaja toplotnog stresa na vrednosti trijasa kod visokomlečnih krava može se zaključiti:

- da su kod visokomlečnih krava izloženih umerenom toplotnom stresu telesna temperatura i broj respiratornih pokreta iznad fiziološki dozvoljenih vrednosti;
- da se telesna temperatura i broj respiratornih pokreta mogu koristiti kao fiziološki pokazatelji toplotnog stresa;
- nije utvrđena značajna korelacija između vrednosti pulsa i THI, kao ni između motoričke aktivnosti buraga i THI.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva nauke Republike Srbije TR 20110: Razvoj i implementacija standarda dobrobiti i biosigurnosti u cilju unapređenja tehnologije proizvodnje goveda i svinja. /

The work was financed with funds of the Republic of Serbia Ministry of Science TR 20110: Development and implementation of welfare and biosafety standards with the aim of promoting the technology of cattle and pig production.

Literatura / References

1. Armstrong DV. Heat stress interaction with shade and cooling. J. Dairy Sci 1994; 77: 2044-50.
2. Beatty DT, Barnes A, Taylor E, Pethick D, McCarthy M, Maloney SK. Physiological responses of Bos taurus and Bos indicus cattle to prolonged, continuous heat and humidity. J Anim Sci 2006; 84: 972-85.
3. Berman A, Folman YM, Kaim M, Mamen Z, Herz D, Wolfenson A, Graber Y. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a tropical climate. J Dairy Sci 1985; 68: 488-95.
4. Bianca W. Acclimatization of calves to hot, humid environment. J Agric Sci 1959; 52: 305-12.
5. Collier RJ, Beede DK. Thermal stress as a factor associated with nutrient requirements and interrelationships. In *Nutrition of Grazing Ruminants*. (ed) by L McDowell. Academic Press, New York, NY. 1985; 59-71.
6. Elvinger F, Natzke RP, Hansen PJ. Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lactating cows. J Dairy Sci 1992; 75: 449-62.
7. Fuquay JW. Heat stress as it affects animal production. J Anim Sci 1981; 32: 164-74.
8. Hales JRS, Findlay JD. The oxygen cost of thermally induced and CO₂-induced hyperventilation in the ox. Respir Physiol 1968; 4: 353-62.
9. Hales JRS. Interactions between respiratory and thermoregulatory systems of domestic animals in hot environments. Anim Biometeorol 1976; 1: 123-31.
10. Huhnke MR, Monty Jr DE. Physiologic responses of preparturient and postparturient Holstein-Friesian cows to summer heat stress in Arizona. Am. J Vet Res 1976; 37: 1301-4.

11. Johnson HD, Li R, Manalu W, Spencer-Johnson KJ. Effects of somatotropin on milk yield and physiological responses during summer farm and hot laboratory conditions. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1250-62.
12. Johnson HD. Depressed chemical thermogenesis and hormonal functions in heat. In: *Environmental Physiology. Aging, Heat, and Altitude*. Elsevier /North Holland, New York, 1980; 3-9.
13. Johnston JE, McDowell RE, Shrode RR, Legates JE. Summer climate and its effect on dairy cattle in the Southern region. In: *Southern Cooperative Series Bulletin*, 1959; No. 63.
14. Kabuga JD. The influence of thermal conditions on rectal temperature, respiration rate and pulse rate of lactating Holstein-Friesian cows in the humid tropics. *Int J Biometeorol* 1992; 36: 146-50.
15. Lamming GE, Royal MD. Ovarian hormone patterns and subfertility in dairy cows. In: Diskin MG, editor. *Fertility in the high-producing dairy cow*. BSAS Edinburgh: Occasional Publication; 2001; 26: 105-18.
16. McDowell RE. *Improvement of livestock production in warm climates*. WH Freeman and Co., San Francisco, CA, 1972.
17. McDowell RE., Hooven, NW., Camoens, JK. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *J Dairy Sci* 1976; 59: 965-73.
18. National Research Council. In: 6th Revised Edition Update. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academy Press, Washington, DC, 1971.
19. Richards JI. Milk production of Friesian cows subjected to high daytime temperatures when allowed food either ad lib or at nighttime only. *Trop. Anim Health Prod* 1985; 17: 141-52.
20. Rivera RM, Hansen PJ. Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 2001; 21: 107-15.
21. Roenfeldt S. You can't afford to ignore heat stress. *Dairy Manage* 1998; 35(5): 6-12.
22. Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from preovulatory heat-stressed cows. *Reproduction* 2001; 122: 737-44.
23. Shearer JK, Beede, DK. Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. *Agri-Practice* 1990; 11: 5-17.
24. West JW, Mullinix BG, and Sandifer TG. Changing dietary electrolyte balance for dairy cows in cool and hot environments. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1662-74.
25. West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2131-44.
26. Yousef MK. *Basic Principles. Stress Physiology in Effect of heat Livestock*. CRC Press, Boca Raton FL. 1985; Vol. 1.
27. Zhang Q, Spiers DE, Al-Haidary A, Rottinghaus GE, Garner GB. Circadian rhythm of core body temperature in beef calves under cold and heat stress conditions. *J Anim Sci* 1994; 72 (Suppl. 1): 154. (Abstr.)

ENGLISH

EFFECT OF HEAT STRESS ON VITAL SIGNS IN HIGH-YIELD DAIRY COWS

I. Vujanac, Danijela Kirovski, J. Bojkovski, R. Prodanović, B. Savić, H. Šamanc

The objective of this work was to examine the influence of outer temperature on values of the vital signs (temperature, pulse, respiration) in high-yield dairy cows in early stages of lactation, as well as to establish, on the grounds of the degree of correlation between the values for the vital signs and the temperature humidity index (THI), possibilities for using the examined physiological parameters of the organism as an indicator of heat stress. The experiment covered 10 high-yield dairy cows in the first phase of lactation. The investigations were carried out in the course of July and the first half of August. During the course of the experiment, the average THI was determined daily. An average daily THI higher than 70 indicated that the animal had been exposed to heat stress on that day. Vital signs were measured on twelve occasions during the period of investigation (June 30, July 4, July 7, July 10, July 14, July 17, July 21, July 24, July 29, August 5, August 11, and August 14). It was established on the grounds of the THI values that the examined animals were exposed to heat stress on June 30, July 4, July 7, July 14, July 17, July 21, July 29, August 5, and August 14, while there was no heat stress on July 10, July 24, and August 11. The average body temperature during all the periods of examination, with the exception of July 24, was above the upper physiological limit. A high degree of correlation was established between body temperature and the heat index ($r = +0.509$; $p = 0.05$). The number of respiratory movements per minute was above the physiological values during the entire period of investigation. There was a high degree of correlation between the number of respiratory movements and THI ($r = +0.625$; $p < 0.05$). The average pulse values and number of contractions of the rumen did not vary significantly during the period of investigation. No significant correlation was established between the pulse and THI values, or between motoric activities of the rumen and THI. The results obtained in this work demonstrate that, in high-yield dairy cows exposed to moderate heat stress, the body temperature and the number of respiratory movements are above physiologically permitted values. On these grounds, it can be concluded that these two parameters of the vital signs can be used as physiological indicators of heat stress.

Key words: high-yield dairy cows, heat stress, vital signs

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА НА СТОИМОСТИ ТРИАСА У ВЫСОКО МОЛОЧНЫХ КОРОВ

И. Вуянац, Даниела Кировски, Й. Бойковски, Р. Проданович, Б. Савич, Х. Шаманц

Цель этой работы была испытать воздействие внешней температуры на стоимости триаса у высоко молочных коров в ранней фазе лактации, словно и, что на основе степени корреляции между стоимостью триаса и теплового индекса ТИ утвердить возможность пользования испытанных физиологических параметров

организма как показателя теплового стресса. В опыт включено 10 высоко молочных коров в первой фазе лактации. Испытание выведено в течение июля и первой половины августа. В течение выполнения опыта каждого дня определялся средний дневной тепловой индекс (ТИ). Насколько средний дневной ТИ был выше 70 единичных животных этого дня были изложены тепловому стрессу. Двенадцать раз в течение испытываемого периода (30 июня, 4 июля, 10 июля, 14 июля, 17 июля, 24 июля, 29 июля, 5 августа, 11 августа и 14 августа) коровам определялся триас. На основе стоимости ТИ утверждено, что испытываемые животные 30 июня, 4 июля, 7 июля, 10 июля, 14 июля, 17 июля, 21 июля, 24 июля, 29 июля, 5 августа и 14 августа были изложены влиянию теплового стресса, пока 10 июля, 24 июля и 11 августа теплового стресса не было. Средняя температура тела во всех периодах испытывания, за исключением 24 июля, была больше верхней физиологической границы. Утверждена высокая степень корреляции между температурой тела и теплового индекса ($r=+0,509$; $p=0,05$). Число респираторных движений в минуту было больше физиологических стоимостей в течение целого периода испытывания. Между числом респираторных движений и ТИ существовала высокая степень корреляции ($r=+0,625$; $p<0,05$). Средние стоимости пульса и числа контракций рубца не значительно варьировали в течение периода испытывания. Не утверждена значительная корреляция между стоимостью пульса и ТИ, как ни между двигательной активностью рубца и ТИ. Полученные результаты в этой работе показывают, что у высоко молочных коров, изложенных умеренному тепловому стрессу температура тела и число респираторных движений больше физиологически разрешенных стоимостей. На основе того можно сделать вывод, что эти два параметра триаса могут пользоваться как физиологический показатель теплового стресса.

Ключевые слова: высоко молочные коровы, тепловой стресс, триас

**ANTIBAKTERIJSKO DELOVANJE MEŠAVINA EKSTRAKATA
USNEE, TIMIJANA I ANĐELIKE DOBIJENIH RAZLIČITIM
TEHNOLOŠKIM PROCESIMA PROTIV NEKIH VRSTA
BAKTERIJA ZNAČAJNIH ZA VETERINARSKU MEDICINU***
*ANTIBACTERIAL EFFECTS OF MIXTURES OF EXTRACTS OF USNEA,
THYME AND ANGELICA OBTAINED USING DIFFERENT
TECHNOLOGICAL PROCESSES AGAINST CERTAIN TYPES OF
BACTERIA OF IMPORTANCE IN VETERINARY MEDICINE*

D. Mišić, Irena Žižović, Jasna Ivanović**

U ispitivanjima antibakterijskog delovanja biljnih ekstrakata korišćene su mešavine ekstrakata dobijenih primenom različitih tehnoloških procesa i to: ekstrakt usnee dobijen procesom natkritične ekstrakcije (NKE), ekstrakti anđelike dobijeni procesima natkritične ekstrakcije (NKE) i ultrazvučne ekstrakcije etanolom (UZ) i ekstrakt timijana dobijen procesom hidrodestilacije (HD). Ispitivane su mešavine navedenih ekstrakata u različitim odnosima: U(NKE) i T(HD) u odnosu 1:1, U(NKE) i T(HD) u odnosu 7:3, U(NKE), T(HD) i A(NKE) u odnosu 2:2:1 i U(NKE), T(HD) i A(UZ) u odnosu 2:2:1. Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 15 sojeva bakterija iz rodova Staphylococcus, Streptococcus i Enterococcus, uključujući sojeve MRSA, sojeve VRE kao i referentne sojeve S.pyogenes ATCC 19615, S.agalactiae ATCC 27959 i S.aureus ATCC 11632. Antibakterijsko delovanje mešavina biljnih ekstrakata ispitivano je primenom mikrodilucione metode u bujonu, a ispitivane su koncentracije mešavina od 1,25 µg/mL do 1280 µg/mL. Najjače antibakterijsko delovanje pokazale su mešavine usnee (NKE) i timijana (HD) u odnosu 1:1 i 7:3 sa dobijenim vrednostima MIC od 5 µg/mL do 160 µg/mL, ali je vrednost MIC navedenih mešavina za najveći broj sojeva iznosila 40 µg/mL. Nešto slabije delovanje pokazale su ostale ispitivane mešavine ekstrakata sa dobijenim vrednostima MIC od 10 µg/mL do 320 µg/mL. S obzirom na dobijene vrednosti MIC

* Rad primljen za štampu 15. 03. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Dušan Mišić, docent, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sci. Irena Žižović, docent, mr sci. Jasna Ivanović, Katedra za organsku hemijsku tehnologiju, Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

kao i na osnovu rezultata ranijih istraživanja, može se zaključiti da su sve ispitivane mešavine biljnih ekstrakata pokazale veoma jako antibakterijsko delovanje na ispitivane sojeve bakterija.

Ključne reči: ekstrakti, mešavine, antibakterijsko delovanje

Uvod / Introduction

Zbog nedostatka novih antibiotika na tržištu lekova kao i zbog sve učestalije pojave infekcija kod ljudi i životinja izazvanih patogenim bakterijama koje su rezistentne na sve postojeće antibiotike, u cilju pronalaženja novih antibakterijskih lekova značajno su intenzivirana ispitivanja antibakterijskog delovanja ekstrakata biljaka. Već decenijama je poznato da mnoge biljke, tj. njihovi ekstrakti imaju dobro antimikrobno delovanje, kako na bakterije tako i na gljivice i viruse (Glisic i sar., 2007; Burt, 2004). Uprkos tome, primena biljnih ekstrakata u farmaceutskoj industriji i kliničkoj veterinarskoj i medicinskoj praksi je vrlo ograničena. Razlog za to su tehnološki procesi dobijanja ekstrakata koji uključuju i primenu aditiva, najčešće rastvarača samih ekstrakata. U tu svrhu se koriste supstance koje uglavnom imaju toksično delovanje na organizam domaćina (acetone, hloroform, etar, etil-alkohol, metil-alkohol, itd.). Osim toga, aditivi imaju i antibakterijsko delovanje pa njihovo prisustvo ometa precizno tumačenje i procenu jačine antibakterijskog delovanja samog ekstrakta. Stoga su *in vitro* ispitivanja antimikrobnog delovanja biljnih ekstrakata relativno teška i dugotrajna; povezana su sa teškoćama u interpretaciji rezultata zbog obavezne primene matematičkih korekcija dobijenih rezultata u odnosu na procentualno prisustvo aditiva u ekstraktu, itd.

Poslednjih godina dvadesetog veka razvijena je nova tehnologija ekstrakcije aktivnih supstancija iz biljnog materijala uz primenu natkritičnih fluida, takozvana natkritična ekstrakcija (NKE) (Zizovic i sar., 2007). U procesima NKE najčešće se koristi ugljenik(IV)-oksid zato što je netoksičan, nezapaljiv, hemijski inertan, lako dostupan i ima relativno niske kritične parametre ($p_c=7,38$ MPa i $t_c=31,1^\circ\text{C}$) što je od izuzetnog značaja za industrijsku primenu. Podešavanjem procesnih parametara (p , t) moguće je vršiti podešavanje selektivnosti natkritičnog fluida prema željenoj grupi jedinjenja. Nakon završenog procesa ekstrakcije, sniženje pritiska i prevođenje natkritičnog ugljenik(IV)-oksida u gasovito stanje omogućavaju njegovo lako i potpuno uklanjanje iz rastvora tako da se kao krajnji proizvod NKE dobija biljni ekstrakt koji ne sadrži tragove rastvarača. Sam proces NKE odvija se najčešće na nižim temperaturama od 40 do 60°C čime se izbegava termička degradacija termolabilnih komponenata biljke. Jedini nedostatak primene NKE u industrijskim uslovima, u odnosu na konvencionalne metode, jesu veća investiciona ulaganja u opremu zbog rada na povišenim pritiscima (10-40 MPa). Međutim, sami troškovi proizvodnje su znatno manji, proces je jed-

nostavniji i energetski isplativiji, a dobijeni proizvod je kvalitetniji i ima veću cenu na tržištu.

Stoga u poslednjih nekoliko godina u naučnoj i stručnoj javnosti vlada veliko interesovanje za mogućnosti primene natkritičnih ekstrakata biljaka kao novih antimikrobnih sredstava ili čak i kao aditiva hrani koji bi svojim prisustvom sprečili razmnožavanje prisutnih mikroorganizama, a time i kvarenje hrane (Mišić i sar., 2008). Uprkos tome, otkriveno je da ekstrakti nekih biljaka dobijeni natkritičnom ekstrakcijom imaju slabije delovanje od ekstrakata istih biljaka dobijenih drugim procesima. Zato su u ovom ispitivanju korišćene mešavine ekstrakata nekih biljaka dobijene različitim tehnološkim procesima. Biljke koje su odabrane za proizvodnju ekstrakata su usnea, anđelika i timijan, a razlog za odabir ovih biljaka jeste njihovo jako antimikrobno delovanje koje je dokazano u ranijim ispitivanjima.

Lišaj usnee ili jevrejska brada (*Usnea barbata* L.) pripada familiji *Parmeliaceae* i raste na stablu i granama različitih drvenastih vrsta, posebno na četinarima. Ovaj lišaj čini kombinacija dve vrste organizama – gljiva i algi, koje žive u simbiotskoj zajednici. Ekstrakt usnee i njegova aktivna komponenta, usninska kiselina, imaju izraženo antibakterijsko, antifungicidno i antivirusno delovanje (Weckesser i sar., 2007; Najdenova i sar., 2001; Dorman i sar., 2000). Pokazalo se da usninska kiselina pored snažnog antibakterijskog delovanja takođe sprečava rast nekih ćelija tumora (Yamamoto, 1995). Interesantno je da se usnea još uvek ne koristi u farmaceutskoj industriji uprkos dokazanom antimikrobom i antitumorskom delovanju.

Timijan (*Thymus vulgaris* L.) je višegodišnja žbunasta biljka iz familije *Lamiaceae* koja potiče iz oblasti zapadnog Sredozemlja, ali se danas gaji u više zemalja zbog lista i nadzemnog dela iz kojih se dobija etarsko ulje timijana. Eтарsko ulje timijana zbog jakog antibakterijskog dejstva ulazi u sastav preparata protiv kašlja, za ispiranje sluzokože usta i grla, lekova protiv teškog varenja. Najzasupljenija aktivna komponenta u etarskom ulju i ekstraktima timijana je timol (Kišgeci, 2008). Sam timol ima izvanredno antibakterijsko delovanje ali je njegova primena ograničena zbog citotoksičnog delovanja.

Anđelika (*Angelica archangelica* L.) je dvogodišnja zeljasta biljka koja pripada familiji *Apiaceae*. Eтарsko ulje dobijeno iz korena ulazi u sastav preparata za poboljšanje varenja i apetita kod ljudi i životinja. Aktivne komponente etarskog ulja anđelike su α -felandren, α -pinen i p-cineol (Kišgeci, 2008).

U ranijim istraživanjima (Mišić i sar., 2009), ustanovljeno je da ekstrakt timijana dobijen procesom hidrodestilacije ima jače antibakterijsko delovanje nego ekstrakt iste biljke dobijen u procesu natkritične ekstrakcije. Za razliku od toga, u prethodnim istraživanjima (Mišić i sar., 2009) ustanovljeno je da ekstrakt anđelike dobijen u procesu natkritične ekstrakcije ima značajno jače delovanje nego ekstrakt anđelike dobijen procesom hidrodestilacije ali značajno slabije delovanje nego ekstrakt anđelike dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom pomoću etanola. Stoga je izvršeno ispitivanje delovanja nekoliko kombinacija mešavina

navedenih biljaka dobijenih različitim tehnološkim procesima u cilju otkrivanja postojanja eventualnog sinergističkog delovanja različitih ekstrakata.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Materijal / *Material*

Za pripremanje ekstrakata korišćeni su listovi timijana (*Thymus vulgaris* L., Vojvodina, Bavanište, 2008), koren anđelike (*Angelica silvestris*, područje centralne Srbije, 2008) i lišaj usnee (*Usnea barbata* L., Makedonija, 2008).

U ispitivanjima antibakterijskog delovanja biljnih ekstrakata korišćene su mešavine ekstrakata dobijene primenom različitih tehnoloških procesa i to: ekstrakt usnee dobijen procesom natkritične ekstrakcije (NKE), ekstrakti anđelike dobijeni procesima natkritične ekstrakcije (NKE) i ultrazvučne ekstrakcije etanolom (UZ) i ekstrakt timijana dobijen procesom hidrodestilacije (HD). Ispitivane su mešavine navedenih ekstrakata u različitim odnosima: U(NKE) i T(HD) u odnosu 1:1, U(NKE) i T(HD) u odnosu 7:3, U(NKE), T(HD) i A(NKE) u odnosu 2:2:1 i U(NKE), T(HD) i A(UZ) u odnosu 2:2:1. Ispitivanja su vršena sa navedenim mešavinama u koncentracijama od 1,25 µg/mL do 1280 µg/mL.

Ispitivanjem je obuhvaćeno 15 sojeva bakterija iz rodova *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Enterococcus*, uključujući sojeve MRSA, sojeve VRE i referentne sojeve *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.agalactiae* ATCC 27959 i *S.aureus* ATCC 11632. Svi ispitivani sojevi bakterija izolovani su iz uzoraka briseva kože, očiju i ušiju poreklom od pasa, mačaka i ljudi obolelih od infekcije kože i konjunktivitisa, osim jednog soja VRE koji je izolovan iz uzorka mozga uginulog psa, jednog soja *E. faecalis* koji je izolovan iz uzorka jetre uginulog laboratorijskog miša i jednog soja *Streptococcus uberis* koji je izolovan sa kože zamorca. Uzorci briseva dostavljani su na rutinsku mikrobiološku analizu u laboratoriju za bakteriologiju i mikologiju Katedre za mikrobiologiju Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu tokom 2007, 2008. i 2009. godine.

Za izolaciju i identifikaciju bakterija korišćeni su krvni agar sa 6% ovčije krvi (bioMerieux), Columbia agar sa kolistinom i nalidiksičnom kiselinom (Becton Dickinson) i hranljivi bujon (BioLab). Za tipizaciju sojeva bakterija po vrstama upotrebljen je BBL Crystal gram positive id kit (Becton Dickinson) i Api Staph ID kit (bioMerieux). Antibakterijsko delovanje ekstrakata timijana ispitivano je u mikrotitracionim pločama sa "U" dnom (Spektar) uz upotrebu Mueller Hinton bujona sa korigovanom količinom jona kalcijuma i magnezijuma (Becton Dickinson) uz dodatak indikatora 1,6% brom krezol ljubičastog (Merck) u finalnoj količini od 0,1 mL/100 mL podloge. Pre upotrebe, biljni ekstrakti rastvarani su u nerazblaženom DMSO (dimetilsulfoksid, Sigma).

Metode / Methods

Natkritična ekstrakcija usnee, anđelike i timijana izvedena je na temperaturi od 40°C i pod pritiskom od 11,5 MPa u prethodno opisanom (Zizovic i sar., 2007) laboratorijskom postrojenju za NKE Autoclave Engineers SCE Screening System, sa ugljenik(IV)-oksidom kao natkritičnim fluidom. Hidrodestilacija timijana izvedena je u laboratorijskoj aparaturi za hidrodestilaciju po Klevendžeru u trajanju od 4 sata. Za ultrazvučnu ekstrakciju sa 96 % etanolom korišćeno je ultrazvučno kupatilo Bandelin Sonorex RK 52 (35 kHz, 60 W, 1,8 L). Nakon 45 min ekstrakcije, rastvarač je uparavan pomoću rotacionog vakuum uparivača.

Izolacija i identifikacija bakterija vršena je primenom konvencionalnih mikrobioloških metoda. Antibakterijsko delovanje ekstrakata ispitivano je primenom mikrodilucione metode u bujonu na osnovu CLSI standarda (Clinical and Laboratory Standards Institute, USA) iz 2008. godine.

Rezultati / Results

Rezultati ispitivanja antibakterijskog delovanja ekstrakata timijana prikazani su u tabeli 1. Najjače antibakterijsko delovanje pokazale su mešavine usnee (NKE) i timijana (HD) u odnosu 1:1 i 7:3. Mešavina usnee (NKE) i timijana (HD) u odnosu 1:1 pokazala je izrazito jako antibakterijsko delovanje na soj *S. pseudintermedius* poreklom sa kože psa sa dobijenom vrednosti MIC od samo 5 µg/mL. Takođe, vrlo jako antibakterijsko delovanje navedena mešavina ekstrakata ispoljila je na soj *S. pseudintermedius* poreklom iz uha psa, sa dobijenom vrednosti MIC od 10 µg/mL. Vrednosti MIC navedene mešavine ekstrakata za najveći broj sojeva iznosile su od 40 do 80 µg/mL, što je takođe dobro antibakterijsko delovanje. Najslabije delovanje ispitivana mešavina ekstrakata imala je na sojeve *Streptococcus agalactiae* ATCC 2795 i *Streptococcus equi* ssp. *zooepidermicus* poreklom sa kože psa sa dobijenom vrednosti MIC od 160 µg/mL. Ispitivana mešavina U(NKE) i T(HD) u odnosu 7:3 imala je podjednako jako delovanje na većinu ispitivanih sojeva bakterija sa dobijenim identičnim vrednostima MIC. Razlike su se ipak javile kod 3 soja stafilokoka za koje su dobijene vrednosti MIC mešavine U(NKE) i T(HD) u odnosu 7:3 bile dvostruko veće ili dvostruko manje od vrednosti MIC mešavine ovih biljaka u odnosu 1:1. Srednje jako antibakterijsko delovanje imale su mešavine U(NKE), T(HD) i A(NKE) u odnosu 2:2:1 i U(NKE), T(HD) i A(UZ) u odnosu 2:2:1 sa dobijenim vrednostima MIC od 10 µg/mL do 320 µg/mL. Međutim, i ove mešavine ekstrakata su imale izraženo antibakterijsko delovanje na neke od ispitivanih sojeva stafilokoka sa dobijenim vrednostima MIC od 10 do 20 µg/mL.

Najčešće dobijena vrednost MIC svih ispitivanih mešavina za većinu ispitivanih sojeva iznosila je 40 µg/mL.

Tabela 1. *Dobijene vrednosti MIC ispitivanih mešavina ekstrakata /*
Table 1. Obtained MIC values for examined extract mixes

	Ispitivani soj / <i>Examined strain</i>	U(NKE):T(HD) 1:1	U(NKE):T(HD) 7:3	U(NKE):T(HD): A(NKE) 2:2:1	U(NKE):T(HD): A(UZ) 2:2:1
		VREDNOSTI MIC / <i>MIC VALUES</i> (µg/mL)			
1.	<i>S.pseudintermedius</i> (bris uha psa) / (<i>ear swab, dog</i>)	10	5	10	10
2.	<i>S.aureus</i> (bris nosa, čovek) / (<i>nose swab, human</i>)	80	80	80	80
3.	<i>S.pseudintermedius</i> (bris koža psa) / (<i>skin swab, dog</i>)	5	10	10	10
4.	<i>S.pseudintermedius</i> (bris koža psa) / (<i>skin swab, dog</i>)	160	10	320	80
5.	<i>S.aureus</i> (bris rane psa) / (<i>wound swab, dog</i>)	40	40	40	40
6.	<i>S.haemolyticus</i> (bris uha mačke) / (<i>ear swab, cat</i>)	80	40	160	160
7.	<i>S.aureus</i> ATCC 11632	80	80	80	40
8.	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	40	40	320	320
9.	<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 27956	160	160	320	320
10.	<i>Enterococcus</i> sp. (ljudski urin) / (<i>human urine</i>)	40	40	80	40
11.	<i>Enterococcus</i> sp. (jetra miša) / (<i>mouse liver</i>)	40	40	20	40
12.	<i>Enterococcus</i> sp. (ljudski urin) / (<i>human urine</i>)	80	40	40	320
13.	<i>Enterococcus</i> sp. (mozak, štene) / (<i>brain, puppy</i>)	40	40	40	40
14.	<i>Streptococcus equi</i> ssp <i>zooepidermicus</i> (bris kože psa) / (<i>skin swab, dog</i>)	160	160	160	160
15.	<i>Streptococcus uberis</i> (bris kože zamorca) / (<i>skin swab, guinea-pig</i>)	80	40	40	40

Diskusija / Discussion

Na osnovu ispitivanja Mišića i saradnika iz 2009. godine, ekstrakt timijana dobijen hidrodestilacijom imao je značajno slabije delovanje na stafilokoke, streptokoke i enterokoke sa dobijenim vrednostima MIC od 160 µg/mL do 1280 µg/mL, dok su mešavine ovog ekstrakta sa natkritičnim ekstraktom usnee imale značajno bolje antibakterijsko delovanje sa dobijenim manjim vrednostima MIC.

Na osnovu ranijih ispitivanja istih autora, natkritični ekstrakt anđelike imao je relativno slabo antibakterijsko delovanje na *Staphylococcus* vrste sa dobijenim vrednostima MIC od 320 mg/mL do 640 mg/mL. Slično tome, ekstrakt anđelike dobijen procesom ultrazvučne ekstrakcije pomoću etanola imao je takođe relativno slabo delovanje na stafilokoke sa dobijenim vrednostima MIC od 320 µg/mL. Međutim, navedeni ekstrakti u mešavini sa ekstraktima timijana i usnee imali su jače delovanje na ispitivane bakterije.

Može se reći da su svi upotrebljeni ekstrakti, tj. njihove mešavine u ovom ispitivanju imale približno podjednako jako antibakterijsko delovanje na većinu ispitanih sojeva bakterija. Ovo je naročito uočljivo kod soja *Staphylococcus aureus* izolovanog iz brisa nosa obolelog čoveka jer su na taj soj sve mešavine identično delovale sa dobijenom vrednosti MIC od 80 µg/mL. Slično tome, na soj *Staphylococcus aureus* poreklom sa kože bolesnog psa sve primenjene mešavine delovale su podjednako jako sa dobijenom vrednosti MIC od 40 µg/mL, a na soj *Streptococcus equi* ssp. *zooepidermicus* su svi ekstrakti imali identično delovanje sa dobijenom vrednosti MIC od 160 µg/mL. Vrlo značajne razlike u delovanju mešavina ekstrakata ispoljile su se na soj *Staphylococcus pseudintermedius* poreklom sa kože bolesnog psa (soj broj 4 u tabeli 1) gde su dobijene četiri potpuno različite vrednosti MIC svake od mešavina, 160 µg/mL, 10 µg/mL, 320 µg/mL i 80 µg/mL. Pretpostavka je da je ovo neujednačeno delovanje ekstrakata posledica karakteristika samog soja.

Može se reći da su ispitivani ekstrakti tj. njihove mešavine najslabije delovale na streptokoke i enterokoke, jer su dobijene vrednosti MIC svih mešavina ekstrakata za većinu sojeva iznosile 40 µg/mL do 320 µg/mL. Međutim, bez obzira na dokazano solidno antibakterijsko delovanje ekstrakata nekih biljaka, njihova primena u kliničkoj veterinarskoj i medicinskoj praksi je i dalje limitirana zbog citotoksičnog delovanja ekstrakata većine vrsta biljaka u niskim koncentracijama. Problem citotoksičnog delovanja i ne bi bio toliko izražen ukoliko ekstrakti ne bi delovali toksično na ćelije domaćina u koncentracijama koje odgovaraju vrednostima MIC tih ekstrakata. Međutim, upravo je to problem što ekstrakti koji imaju dobro antibakterijsko delovanje pokazuju i citotoksično delovanje u koncentracijama nižim nego što su vrednosti MIC tih ekstrakata (Mišić i sar., 2009).

Tehnološki proces takođe značajno utiče na antibakterijsku aktivnost dobijenog ekstrakta. To se može uočiti na primeru smeše U(NKE):T(HD):A(NKE) koja je za neke sojeve imala veću vrednost MIC, tj. slabije antibakterijsko de-

lovanje od smeše U(NKE):T(HD):A(UZ). Slično tome, na osnovu rezultata dobijenih u ranijim istraživanjima (Mišić i sar., 2009) primećeno je da je etarsko ulje timijana dobijeno procesom hidrodestilacije imalo jače antibakterijsko delovanje na neke sojeve od ekstrakta timijana dobijenog procesom NKE.

Zaključak / Conclusion

S obzirom na dobijene vrednosti MIC kao i na osnovu rezultata ranijih istraživanja, može se zaključiti da su sve ispitivane mešavine biljnih ekstrakata pokazale veoma jako antibakterijsko delovanje na ispitivane sojeve bakterija.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Istraživanje je omogućeno finansijskom podrškom Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (projekat TR 19037).

Literatura / References

1. Burt S. Essential oils- their antimicrobial properties and potential application in foods – a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-53.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, 2008.
3. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 2000; 88: 308-16.
4. Glišić S, Mišić D, Stamenić M, Žižović I, Ašanin R, Skala D. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil – Chemical Composition and Antimicrobial Activity, *Food Chemistry* 2007; 105: 346-52.
5. Kišgeci J. Lekovite i aromatične biljke, Partenon i Srpska književna zadruga, Beograd, 2008; 155, 234.
6. Mišić D, Nišavić J, Žižović I, Ivanović J. Antibakterijsko delovanje i citotoksični efekat natkritičnog ekstrakta timijana i ekstrakta timijana dobijenog procesom hidrodestilacije. *Veterinarski glasnik* 2009; 63(1-2):17-27.
7. Mišić D, Ašanin R, Ivanović J, Žižović I. Investigation of antibacterial activity of supercritical extracts of plants, as well as of extracts obtained by other technological processes on some bacteria isolated from animals. *Acta veterinaria* 2009; 59(5-6): 557-68.
8. Mišić D, Žižović I, Stamenić M, Ašanin R, Ristić M, Petrović SD, Skala D. Antimicrobial activity of celery fruit isolates and SFE process modeling. *Biochemical Engineering Journal* 2008; 42: 148-52.
9. Najdenova V, Lisickov K, Đarmati Z. Antimicrobial activity and stability of usnic acid and its derivatives in some cosmetic products, Olaj, Szapan, Kozmetika 2001; 158-60.
10. Weckesser S, Engela K, Simon-Haarhaus B, Wittmerb A, Pelzb K, Schempp CM. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine* 2007; 14; 508-16.
11. Yamamoto Y, Miura Y, Kinoshita Y, Higuchi M, Yamada Y, Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. Screening of tissue cultures and thalli of lichens and some of their

active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation. Chem Pharm Bull 1995; 43: 1388-90.

12. Žižović I, Stamenić M, Orlović A, Skala D. Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: Mathematical modelling on the micro-scale. Journal of Supercritical Fluids 2007; 39, 338-46.

ENGLISH

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF MIXTURES OF EXTRACTS OF USNEA, THYME AND ANGELICA OBTAINED USING DIFFERENT TECHNOLOGICAL PROCESSES AGAINST CERTAIN TYPES OF BACTERIA OF IMPORTANCE IN VETERINARY MEDICINE

D. Mišić, Irena Žižović, Jasna Ivanović

Antibacterial effects of plant extracts were examined using mixtures of extracts obtained using different technological processes: usnea extract was obtained using the process of supercritical extraction (NKE), angelica extract was obtained through supercritical extraction processes (NKE) and ultrasound extraction using ethanol (UZ), and thyme extract was obtained using the process of hydrodistillation (HD). Mixtures of the listed extracts were examined in various ratios: U (NKE) and T (HD) in a ratio of 1:1, U (NKE) and T (HD) in a ratio of 7:3, U (NKE), T (HD) and A (NKE) in a ratio of 2:2:1, and U (NKE), T (HD) and A (UZ) in a ratio of 2:2:1. The investigations covered 15 strains of bacteria of the genus *Staphylococcus*, *Streptococcus* and *Enterococcus*, including the strains MRSA, VRE as well as reference strains of *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.agalactiae* ATCC 27959 and *S.aureus* ATCC 11632. The antibacterial action of mixes of plant extracts was examined using the microdilution method in bouillon, and the examined mix concentrations were from 1.25 µg/mL to 1280 µg/mL. The strongest antibacterial effect was exhibited by mixes of usnea (NKE) and thyme (HD) in ratios of 1:1 and 7:3 with obtained MIC values from 5 µg/mL to 160 µg/mL, but the MIC value of the listed mixtures for the biggest number of strains amounted to 40 µg/mL. A somewhat weaker effect was exhibited by the other examined extract mixtures with obtained MIC values of 10 µg/mL to 320 µg/mL. Based on the obtained MIC values and the results of previous investigations, it can be concluded that the examined mixtures of plant extracts exhibited a very strong antibacterial effect on the examined bacteria strains.

Key words: extracts, mixtures, antibacterial effect

РУССКИЙ

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СМЕСЕЙ ЭКСТРАКТОВ ГУБНОГО ЛИШАЯ, ТИМЬЯНА И АНДЖЕЛИКИ, ПОЛУЧЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ ПРОТИВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ ЗНАЧИТЕЛЬНЫХ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Д. Мишич, Ирена Жижович, Ясна Иванович

В испытаниях антибактериального действия растительных экстрактов использованы смеси экстрактов, полученных применением различных технологиче-

ских процессов а именно: экстракт губного лишая, полученный процессом надкритической экстракции, экстракты анджелики, полученные процессами надкритической экстракции и ультразвуковой экстракции этанолом и экстракт тимьяна, полученны процессом гидродистилляции. Испытываны смеси, приведённых экстрактов в различных отношениях: У и Т в отношении 1:1, У и Т в отношении 7:3, У, Т и А в отношении 2:2:1 и У, Т и А в отношении 2:2:1. Испытанием было охвачено 15 штаммов бактерий из родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*, включая штаммы МРСА, штаммы ВРЕ словно и референтные штаммы *S. rugenes* ATCC 19615, *S. agalactiae* ATCC 27959 и *S. aureus* ATCC 11632. Антибактериальное действие смесей растительных экстрактов испытывано применением микродилуционного метода в бульоне, а испытываемые концентрации смесей от 1,25 мкг/мл до 1280 мкг/мл. Самое сильное антибактериальное действие показали смеси губного лишая и тимьяна в отношении 1:1 и 7:3 с полученными стоимостями МИС от 5 мкг/мл до 160 мкг/мл, но стоимость МИС приведённых смесей для самого большого числа штаммов составляла 40 мкг/мл. Немного слабее действие показали остальные испытываемые смеси экстрактов с полученными стоимостями МИС от 10 мкг/мл до 320 мкг/мл. Принимая во внимание на полученные стоимости МИС словно и на основе результатов более ранних исследований, можно сделать вывод, что все испытываемые смеси растительных экстрактов показали очень сильное антибактериальное действие на испытываемые штаммы бактерий.

Ключевые слова: экстракты, смеси, антибактериальное действие

**HRANLJIVA VREDNOST KRMNIH SMEŠA ZA ISHRANU
GOVEDA NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE***
*NUTRITIVE VALUE OF FODDER MIXES FOR NUTRITION OF CATTLE
IN TERRITORY OF REPUBLIC OF SERBIA*

D. Šefer, Radmila Marković, Marcela Šperanda, B. Petrujkić**

Tokom petogodišnjeg perioda (2005 – 2009) u Laboratoriji Katedre za ishranu i botaniku analizirano je 22 uzorka smeša sa teritorije Srbije, namenjenih za ishranu dve kategorije goveda (junadi u tovu I i krava muzara sa preko 20 litara mleka). Analiza je izvršena standardnim metodama, a dobijeni rezultati poređeni su sa uslovima kvaliteta smeša propisanih Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01). Intenzivni uzgoj goveda podrazumeva upotrebu koncentrovanih smeša za sve kategorije koje su prilagođene, njihovoj starosnoj dobi i nameni. Smeše su proizvodi industrije hrane za životinje, dobijeni utvrđenim tehnološkim postupkom upotrebom odgovarajućih sirovina. Neodgovarajući kvalitet sirovina uzrokuje probleme u pogledu kvaliteta finalnih proizvoda, tako da se striktnim pridržavanjem utvrđenih receptura ne postiže uvek i zadovoljavajući kvalitet smeša. Sve ovo nameće potrebu konstantnog praćenja hranljive vrednosti smeša, a time i kvaliteta.

Na osnovu analize prisustva osnovnih hranljivih materija nisu ustanovljena značajnija odstupanja u odnosu na propisanu količinu hranljivih materija, tako da se upotrebom ispitivanih smeša u ishrani odgovarajućih kategorija goveda mogu očekivati zadovoljavajući proizvodni rezultati.

Ključne reči: krmne smeše, goveda, hemijski sastav, kvalitet

* Rad primljen za štampu 22. 02. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Dragan Šefer, vanredni profesor, dr sci. med. vet. Radmila Marković, docent, Katedra za ishranu i botaniku, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, R Srbija; dr sci. med. Marcela Šperanda, vanredni profesor, Zavod za stočarstvo, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, R Hrvatska; mr sci. med. vet. Branko Petrujkić, saradnik u nastavi, Katedra za ishranu i botaniku, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, R Srbija

Uvod / Introduction

Povećanje genetskog potencijala, promena načina držanja i rasnog sastava goveda (kako mlečnih tako i tovnih rasa), doveli su i do promena u njihovoj ishrani. Za očuvanje normalnog funkcionisanja organizma i postizanje zadovoljavajućih proizvodnih rezultata, hrana za životinje mora sadržati sve potrebne elemente (NRC, 2001).

Intenzivni uzgoj životinja podrazumeva upotrebu koncentrovanih smeša za sve kategorije goveda prilagođenu njihovoj starosnoj dobi i nameni. Proizvodi industrije hrane za životinje, tj. smeše, jesu proizvodi dobijeni utvrđenim tehnološkim postupkom upotrebe odgovarajućih sirovina (AEC, 1987).

Neodgovarajući kvalitet sirovina uzrokuje probleme u pogledu kvaliteta finalnih proizvoda, tako da se striktnim pridržavanjem utvrđenih receptura ne postiže uvek i zadovoljavajući kvalitet smeša. Sve ovo nameće potrebu konstantnog praćenja kvaliteta krmnih smeša (Grubić i Adamović, 2003).

Hrana za životinje ne sme da sadrži nepoželjne materije kao ni mikroorganizme koji mogu uticati na zdravstveno stanje životinja. Smatra se da je bezbedna hrana jednako važna i za životinje i za ljude. Pored ovoga, smeše lošijeg hemijskog sastava će usloviti slabije proizvodne rezultate, a time i dovesti do ekonomskih gubitaka u proizvodnji.

Cilj rada je bio da se na osnovu analiza izvršenih u toku petogodišnjeg perioda (2005-2009) u Laboratoriji Katedre za ishranu i botaniku u uzorcima smeša za ishranu dve kategorije goveda (junadi u tovu I i krava muzara sa preko 20 litara mleka) utvrdi njihova hranljiva vrednost. Analiza je izvršena standardnim metodama, a dobijeni rezultati poređeni su sa uslovima kvaliteta smeša propisanim Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01).

Materijal i metode rada / Material and methods

Analizirani su uzorci 22 smeše za ishranu goveda i to: 11 smeša za ishranu junadi u tovu I (od 250 do 350 kg) i 11 smeša za ishranu krava muzara (preko 20 litara mleka). Ispitivanja su izvršena u Laboratoriji Katedre za ishranu i botaniku Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu, tokom perioda od pet godina (2005 – 2009).

Uzorci hrane uzimani su u skladu sa procedurom AS-1064 (1993).

U hrani je određivan sadržaj sirove vlage, pepela, proteina, masti, celuloze i BEM (bezazotnih ekstraktivnih materija).

Priprema uzorka za analizu vršena je prema proceduri koja je opisana od strane AOAC (1990).

Analiza sadržaja osnovnih hranljivih materija vršena je prema sledećim procedurama i to: vlaga – SRPS ISO 6496/2001; pepeo – SRPS ISO 5984/2002; proteini – SRPS ISO 5983/2001; masti – SRPS ISO 6492/2001; celu-

loza prema dokumentovanoj akreditovanoj metodi laboratorije (DM1); dok je sadržaj BEM određivan kalkulatивно. Sve navedene metode u skladu su sa Pravilnikom o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane (Sl. list SFRJ br. 15/87), Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01) i Propisima Instituta za standardizaciju Srbije.

Rezultati istraživanja i diskusija / Results and Discussion

U radu su prikazani rezultati hemijskih analiza dva tipa najčešće ispitivanih smeša za ishranu goveda u periodu od 2005. do 2009. godine.

Rezultati ispitivanja hemijskog sastava smeša za ishranu junadi u tovu I (od 250 do 350 kg) dati su u tabeli 1.

Tabela 1. Hemijski sastav smeša za ishranu junadi u tovu I (od 250 do 350 kg) /
Table 1. Chemical composition of feed mixes for fattening calves I (from 250 to 350 kg)

Grupe / Groups	$\bar{X}$ % VSM*	SD	CV %	S.E.	Vrednost propisana Pravilnikom / Value prescribed under Regulations
Sirova vlaga / Crude moisture	11,41	1,887	16.54	0,9434	Maks. 13.5 / Max. 13.5
Sirovi pepeo / Crude ash	5,880	1,204	20.48	0,6022	Maks. 10 / Max. 10
Sirovi proteini / Crude proteins	15,01	0,6495	4.33	0,3248	Min. 14 / Min. 14
Sirove masti / Crude fats	3,043	0,3491	11.48	0,1746	Nije definisano / Not defined
Sirova celuloza / Crude cellulose	6,833	0,7804	11.42	0,3902	Maks. 15 / Max. 15
BEM / BEM	57,80	0,7051	1.22	0,3526	Nije definisano / Not defined

* % VSM – procenat vazdušno suve materije hrane / * % VSM – percentage of air dry matter in feed

Rezultati ispitivanja hemijskog sastava smeša za ishranu krava muzara sa preko 20 litara mleka dati su u tabeli 2.

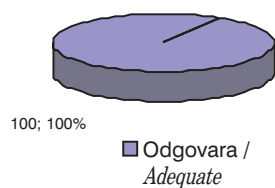
Na osnovu podataka prikazanih u tabelama 1 i 2 vidi se da je hemijski sastav ispitivanih smeša u najvećem broju ispitivanih uzoraka bio zadovoljavajući. Odstupanje od vrednosti koje su propisane Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01) utvrđeno je u sadržaju proteina i to samo u jednom uzorku smeše za ishranu krava muzara gde je procenat proteina iznosio 16.38% VSM.

Tabela 2. Hemijski sastav smeša za ishranu krava muzara sa preko 20 litara mleka /
Table 2. Chemical composition of feed mixes for dairy cows with over 20 liters of milk

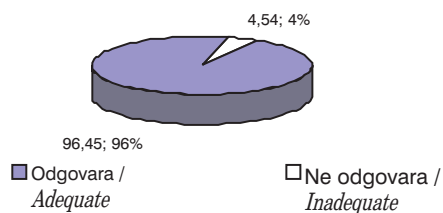
Grupe / Groups	$\bar{X}$ % VSM*	SD	CV %	S.E.	Vrednost propisana Pravilnikom / Value prescribed under Regulations
Sirova vlaga / Crude moisture	11,87	2,435	20.51	0,9205	Maks. 13.5 / Max. 13.5
Sirovi pepeo / Crude ash	7,314	1,843	25.20	0,6967	Maks. 10 / Max. 10
Sirovi proteini / Crude proteins	18,29	0,9489	5.19	0,3587	Min. 18 / Min. 18
Sirove masti / Crude fats	3,069	0,7086	23.09	0,2678	Nije definisano / Not defined
Sirova celuloza / Crude cellulose	6,419	1,324	20.63	0,5006	Maks. 10 / Max. 10
BEM / BEM	53,12	1,781	3.35	0,6733	Nije definisano / Not defined

Na osnovu rezultata analize utvrđeno je da su svi ispitivani uzorci smeša za ishranu junadi u tovu I odgovarali uslovima propisanim Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01). U skladu sa propisanim uslovima odgovaralo je i 96,46% ispitanih uzoraka smeša za ishranu krava muzara. Rezulati su prikazani u grafikonu 1.

Analiza smeše za ishranu junadi u tovu I /
Analysis of feed mixes for fattening calves I



Analiza smeše za ishranu krava muzara /
Analysis of feed mixes for dairy cows



Grafikon 1. Analiza hranljive vrednosti smeša u odnosu na uslove kvaliteta propisane Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01)
Graph 1. Analysis of nutritive value of mixes with regard to quality conditions prescribed under Regulations on quality and other requirements for animal feed (SRJ Official Gazette numbers 20/00 and 38/01)

Dobijeni rezultati nedvosmisleno ukazuju na to da u proizvodnji krmnih smeša nisu napravljene značajnije greške. Jedino uočeno odstupanje se od-

nosi na utvrđeni niži sadržaj proteina u jednoj od ispitivanih smeša za ishranu krava muzara. Greške mogu nastati u svim segmentima proizvodnje, a zasnivaju se na kvalitetu sirovina, ljudskom faktoru i greškama u tehnologiji procesa proizvodnje. Posebnu pažnju treba obratiti na kvalitet sirovina, jer bez kvalitetnih sirovina nema ni kvalitetnog proizvoda. Zato se kao prioritet sugerise kontrola ulaznih sirovina u fabrikama hrane za životinje. Kontrola gotovih proizvoda u fabrikama stočne hrane je drugo mesto na kome se potvrđuje kvalitet stočne hrane, a tek onda na red dolazi kontrola gotovih proizvoda direktno u prometu.

Problemi u procesu proizvodnje su uglavnom izazvani korišćenjem neadekvatne opreme, kao i nepoznavanjem procesa proizvodnje.

Rezultati naših ispitivanja u skladu su sa nalazima Bengin i sar. (2008) koji su na osnovu analize ispitivanja 385 uzoraka smeša za ishranu različitih kategorija goveda sa područja Srbije, ustanovili da je kvalitet ispitivanih smeša bio zadovoljavajući u skoro svim uzorcima. Analizom sadržaja proteina u smešama za ishranu različitih kategorija goveda, u odnosu na zahteve Pravilnika o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01) navedeni autori su utvrdili niži sadržaj u 14 uzoraka smeša tj. u 2.06%.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Analizom ispitivanih smeša nisu utvrđena značajna odstupanja u odnosu na vrednosti propisane Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01), izuzev u jednom uzorku smeša za ishranu krava muzara gde je utvrđena količina proteina bila ispod minimalno propisanih vrednosti.

2. Na osnovu analize hemijskog sastava može se pretpostaviti da će se upotrebom ispitivanih smeša u ishrani odgovarajućih kategorija goveda postići očekivani proizvodni rezultati.

3. Iako u sastavu osnovnih hranljivih materija ispitivanih smeša, nisu ustanovljena značajnija odstupanja, u cilju sprečavanja nastajanja grešaka, u proizvodnji krmnih smeša treba obezbediti stalni i višestepeni monitoring sirovina i gotovih proizvoda.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva nauke, Republike Srbije, TP 20110 "Razvoj i implementacija standarda u dobrobiti i biosigurnosti u cilju unapređenja tehnologije proizvodnje goveda i svinja" u oblasti biotehnika.

Literatura / References

1. AEC. 1987. Tables AEC: Recomendações para Nutrição Animal. 5 ed. Rhone-Poulenc Animal Nutrition. Commentry.

2. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Thirteenth Edition. Association of Official Analytical Chemists (publisher), Washington, DC 20044, USA, 1018.
3. AS-1064. 1993. Sampling Feed for Analysis.
4. Bengin D, Katić I, Pupavac S, Kosić M, Protić N. Kvalitet i mikrobiološka ispravnost hrane i smeša u 2007. godini. Zbornik naučnih radova Savetovanja veterinara i agronoma PKB 2008; 14(3-4); 19-24.
5. DM1 Određivanje sadržaja celuloze – dokumentovana akreditovana metoda Laboratorije Katedre za ishranu i botaniku.
6. Grubić G, Adamović M. Ishrana visoko produktivnih krava. Institut PKB Agroekonomik, Beograd, 2003.
7. NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.
8. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje (Sl. list SRJ br. 20/00 i 38/01).
9. Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane (Sl. list SFRJ br. 15/87).
10. SRPS ISO 5983/2001. Određivanje sadržaja azota i izračunavanje sadržaja proteina (volumetrijski). Institut za standardizaciju Srbije, 2001.
11. SRPS ISO 5984/2002. Određivanje sadržaja sirovog pepela (gravimetrijski). Institut za standardizaciju Srbije, 2002.
12. SRPS ISO 6492/2001. Određivanje sadržaja masti (gravimetrijski). Institut za standardizaciju Srbije, 2001.
13. SRPS ISO 6496/2001. Određivanje sadržaja vlage (gravimetrijski). Institut za standardizaciju Srbije, 2001.

ENGLISH

NUTRITIVE VALUE OF FODDER MIXES FOR NUTRITION OF CATTLE IN TERRITORY OF REPUBLIC OF SERBIA

D. Šefer, Radmila Marković, Marcela Šperanda, B. Petrujkić

Over a period of five years (2005-2009), the laboratory of the Department for Nutrition and Botany analyzed 22 samples of mixes from the territory of Serbia, intended for the diet of two categories of cattle (fattening calves I and dairy cows with over 20 liters of milk). The analysis was performed using standard methods, and the obtained results were compared with the quality conditions prescribed under the Regulations on quality and other requirements for animal feed (SRJ Official Gazette numbers 20/00 and 38/01). Intensive breeding of cattle implies the use of concentrated mixes for all categories which are adapted to the age and purpose of maintenance of the animals. The mixes are products of the animal food industry, and they are obtained through an established technological procedure using the required raw materials. The inadequate quality of raw materials causes problems involving the quality of the finished products, so that strict adherence to the established recipes does not necessarily result in a satisfactory quality of the mixes. All of the above imposes the need for the constant monitoring of the nutritive value of the mixes, and consequently also of their quality.

On the grounds of the analysis of the presence of the elementary nutritive matter, no significant differences were established with regard to the prescribed quantity of nutritive matter, so that the use of the examined mixes in the diets of the respective categories of cattle can be expected to yield satisfactory production results.

Key words: fodder mixes, cattle, chemical composition, quality

РУССКИЙ

ПИТАТЕЛЬНАЯ СТОИМОСТЬ КОРМОВЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ КОРМЛЕНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ СЕРБИИ

Д. Шефер, Радмила Маркович, Марцела Шперанда, Б. Петруйкич

В течение пятилетнего периода (2005-2009) в Лаборатории Катедры по кормлению и ботанике анализировано 22 образчика смесей с территории Сербии, предназначенных для кормления две категории крупного рогатого скота (бычков в откорме 1 и дойных коров больше 20 литров молока). Анализ совершен стандартными методами, а полученные результаты сравнены с условиями качества смесей, предписанной Инструкцией о качестве и других требованиях для корма для животных (Сл. лист СРЈУ номер 20/00 и 38/01). Интенсивное разведение крупного рогатого скота подразумевает употребление концентрированных смесей для всех категорий, которые приспособлены, их возрасту и назначению. Смесии-продукты промышленности корма для животных, полуутверждённым технологическим поступком употреблением соответствующих сырьев. Несоответствующее качество сырьев обуславливает проблемы в отношении качества финальных продуктов, так, что пунктуальным придерживанием утверждённых рецептур не достигает всегда и удовлетворительное качество смесей. Всё это навязывает нужду константной слежки питательной стоимости смесей а этим и качества.

На основе анализа присутствия основных питательных веществ неустановлены значительные отступления в отношении предписанного количества питательных веществ, так, что употреблением испытанных смесей в корме отвечающих категорий крупного рогатого скота могут ожидать удовлетворительные производственные результаты.

Ключевые слова: кормовые смеси, крупный рогатый скот, химический состав, качество

PRISUSTVO I ZNAČAJ MIKOTOKSINA U HRANI ZA SVINJE* *PRESENCE AND IMPORTANCE OF MYCOTOXINS IN PIG FEED*

Radmila Marković, D. Šefer, S. Radulović, Marcela Šperanda**

Mikotoksini predstavljaju značajan problem u ishrani svinja. Sekundarni metaboliti plesni su toksične materije koje negativno utiču na zdravlje i proizvodne rezultate životinja, kao i na kvalitet njihovih proizvoda. Stvaranje mikotoksina je složen proces i teško je predvidjeti koji će toksin biti proizveden i u kojoj koncentraciji. Hranu najčešće kontaminiraju niske koncentracije različitih mikotoksina (aflatoksini, ohratoksini, trihoteceni, fumonizini i zearalenon) koji uzrokuju niz nepoželjnih uticaja, u zavisnosti od količine koju životinja unese u organizam. Interakcije mikotoksina u organizmu su kompleksne, a mogu imati antagonistički, sinergistički ili zbirni učinak, u zavisnosti od kombinacije i količine u kojoj se pojave. Svinja je jedna od najosjetljivijih domaćih životinja na delovanje mikotoksina. Pri dugotrajnom konzumiranju hrane kontaminirane mikotoksinima dolazi do pada proizvodnje, pogoršanja opšteg zdravstvenog stanja i reproduktivnih poremećaja. Jedan od važnijih negativnih delovanja kod svinja koje dugo unose niske doze mikotoksina je imunosupresija. Mikotoksini predstavljaju vrlo stabilna jedinjenja koji dugo ostaju u sirovinama i životinjskim proizvodima i tako predstavljaju veliki rizik i za zdravlje ljudi.

Ključne reči: mikotoksini, plesni, svinje, zdravlje

Uvod / Introduction

Mikotoksini su sekundarni metaboliti plesni, koji kontaminiraju širok spektar biljaka pre ili nakon žetve (Sinovec i sar., 2006). Kontaminacija mikotoksinima je prepoznata kao neizbežan rizik jer je stvaranje toksina zavisno od vremenskih prilika, a delotvorna prevencija je za sada nemoguća. Prema FAO izveštajima više od 25% svetskih poljoprivrednih useva je kontaminirano mikotoksinima (Đorđević, 2009).

* Rad primljen za štampu 22. 02. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Radmila Marković, docent, dr sci. med. vet. Dragan Šefer, vanredni profesor, Stamen Radulović, dr vet. med., saradnik u nastavi, Katedra za ishranu i botaniku, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, R Srbija; dr sci. Marcela Šperanda, profesor, Zavod za stočarstvo, Poljoprivredni fakultet, Osijek, R Hrvatska

Mikotoksine najčešće proizvode gljivice iz rodova *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium* (Đorđević, 2009). Toksini su od izrazite važnosti jer se mogu preneti sa životinja na ljude putem mleka i životinjskih proizvoda, a neki od njih su kancerogeni i teratogeni (Hesseltine, 1979). Prisutnost mikotoksina je neizbežna pa je potrebno testiranje sirovina i proizvoda da bi hrana za ljude i životinje bila sigurna za upotrebu.

Mikotoksini se retko pojavljuju pojedinačno, s tim da dva ili više toksina zajedno mogu pojačati negativan efekat (Pasteiner, 1997).

Sušenje i mlevenje žitarica pod visokim pritiskom i na visokoj temperaturi može smanjiti količinu gljivica, ali ne i mikotoksina, zbog njihove otpornosti na visoke temperature prilikom obrade, tako da mogu opstati u hranivima bez vidljive kontaminacije gljivicama (Osweiler, 1992). Naime, većina mikotoksina je hemijski stabilna pa se mogu održati dugo nakon nestanka gljivica (Pasteiner, 1997). Gljivice opstaju na biljnim kulturama pre žetve ili tokom skladištenja sirovina.

Gljivice roda *Fusarium* uspevaju na polju, te zahtevaju visoku vlažnost vazduha (>90%) i žitarica uz visoku temperaturu vazduha (>23°C), pa retko kontaminiraju hraniva nakon žetve ili prilikom skladištenja (Osweiler, 1992; Lacey, 1990).

Gljivice roda *Aspergillus* i roda *Penicillium* su važne u svinjarskoj proizvodnji, a dobro uspevaju u skladišnim uslovima pri temperaturi između 10 i 50 °C i vlažnosti žitarica između 14 i 18 % (Sinovec i sar., 2006).

Mikotoksini se sporadično pojavljuju zavisno od lokacije i godišnjeg doba (Đorđević, 2009). U nekim regionima postoji povećan rizik od kontaminacije specifičnim mikotoksinom zbog određenih uslova poput ranog mraza, suše ili insekata (Osweiler, 1992). Mikotoksini pronađeni u hranivima sa različitih lokacija prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Najzastupljeniji mikotoksini u pojedinim delovima sveta /
Table 1. Distribution of mycotoxins in the world

Lokacija / <i>Location</i>	Mikotoksini / <i>Mycotoxins</i>
Zapadna Evropa / <i>Western Europe</i>	Ohratoksin, vomitoksin, zearalenon / <i>Ochratoxin, vomitoxin, zearalenone</i>
Istočna Evropa / <i>Eastern Europe</i>	Zearalenon, vomitoksin / <i>Zearalenone, vomitoxin</i>
Severna Amerika / <i>North America</i>	Ohratoksin, vomitoksin, zearalenon, aflatoksin / <i>Ochratoxin, vomitoxin, zearalenone, aflatoxin</i>
Južna Amerika / <i>South America</i>	Aflatoksin, fumonizin, ohratoksin, vomitoksin, T-2 toksin / <i>Aflatoxin, fumonisin, ochratoxin, vomitoxin, T-2 toxin</i>
Afrika / <i>Africa</i>	Aflatoksin, fumonizin, zearalenon / <i>Aflatoxin, fumonisin, zearalenone</i>
Azija / <i>Asia</i>	Aflatoksin / <i>Aflatoxin</i>
Australija / <i>Australia</i>	Aflatoksin, zearalenon / <i>Aflatoxin, zearalenone</i>

Oni prirodno nastaju na različitim vrstama biljnih kultura koje se koriste u ishrani ljudi i životinja.

Rast gljivica i proizvodnja mikotoksina u skladišnim uslovima često mogu biti nepredvidivi jer su gljivice sposobne da aktivno rastu bez dokaza o kontaminaciji hraniva mikotoksinima. Tuite (1979) je izneo nekoliko mogućih objašnjenja za tu pojavu:

- mikotoksin metabolišu kompetitivne gljivice ili same gljivice;
- hranjive materije potrebne za proizvodnju mikotoksina iskorištavaju kompetitivne gljivice;
- uslovi nisu adekvatni za stvaranje mikotoksina i
- netoksični sojevi dominiraju nad toksičnim.

Većina mikotoksina postepeno se akumulira u mesu i mleku životinja predstavljajući time opasnost za zdravlje čoveka. Što se tiče svinja, u Danskoj postoji pravilnik koji reguliše maksimalne dozvoljene količine (MDK) ohratoksina u mesu. Kada količine ohratoksina u bubregu i jetri dostignu vrednost između 10 i 15 ppb ti organi se isključuju iz prometa. Kada količina premaši 25 ppb ceo trup se isključuje iz obrade. Navedena ograničenja su postavljena zbog povezanosti bolesti bubrega sa prisustvom ohratoksina u hrani (Davegowda i sar, 1998). Zakonodavstvo EU i SAD-a je takođe postavilo maksimalne dozvoljene količine aflatoksina u mleku. Najviše pažnje je usmereno na povezanost aflatoksina i pojave raka jetre. Zakonodavstvo EU ograničava koncentraciju aflatoksina B1 u hranivima; granična vrednost varira između 5 i 50 PPb, u zavisnosti od hranjivog sastojka i vrste životinje za koju je hranivo namenjeno. Granična vrednost koncentracije ovog toksina u potpunoj krmnoj smeši za svinje iznosi 20 ppb.

Tabela 2. Maksimalne količine toksina toksogenih gljivica u stočnoj hrani /
Table 2. Maximum quantities of toxins of toxogenic fungi in cattle feed

Vrsta toksina / <i>Type of toxin</i>	Stočna hrana / <i>Cattle fodder</i>	Mg/kg ppm
Aflatoksin / <i>Aflatoxin</i>	Hraniva / <i>Feed</i>	0.05
	Krmne smeše za telad, prasad, piliće, ćuriće i plovke / <i>Fodder mixes for calves, piglets, chicken, turkey chicks and ducklings</i>	0.01
	Krmne smeše za svinje i živinu / <i>Fodder mixes for pigs and poultry</i>	0.02
Zearalenon i derivati zearalenona / <i>Zearalenone and zearalenone derivatives</i>	Krmne smeše za prasad, nazimad i nazimice do 50 kg / <i>Fodder mixes for piglets, unmated male and female pigs up to 50 kg</i>	0.5
	Krmne smeše za ostale kategorije svinja / <i>Fodder mixes for other categories of pigs</i>	1.00
Ohratoksin A / <i>Ochratoxin A</i>	Krmne smeše za prasad / <i>Fodder mixes for piglets</i>	0.1
	Krmne smeše za svinje u tovu i rasplodne krmače / <i>Fodder mixes for porkers and breeding sows</i>	0.2
Trihoteceni / <i>Trichothecenes</i>	Krmne smeše za piliće, prasad i telad / <i>Fodder mixes for chicken, piglets and calves</i>	0.3
	Krmne smeše za krmače, goveda i perad / <i>Fodder mixes for sows, cattle and poultry</i>	0.6

Što se tiče zakonske regulative u našoj zemlji, na snazi je Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ, 1990) , koji jasno definiše maksimalne količine toksina toksogenih gljivica u stočnoj hrani što je prikazano u tabeli 2.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Tokom desetogodišnjeg perioda (2000-2010) u laboratoriji Katedre za ishranu i botaniku Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu izvršeno je 133 analize na prisustvo mikotoksina u hrani za svinje različitih kategorija. Mikotoksini su detektovani kvantitativno i kvalitativno metodom tankoslojne hromatografije. Od ukupnog broja uzoraka hrane za svinje, 72 pripadaju hrani za mlade kategorije, a 61 hrani za odrasle kategorije. Rezultate analiza poredili smo sa zahtevima Pravilnika o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani.

Rezultati / *Results*

Od ukupnog broja analiza (72) koje su se odnosile na utvrđivanje količine mikotoksina u hrani za mlade jedinke, nedozvoljena količina zearalenona zabeležena je kod čak 54 uzorka . Kod nešto manjeg broja uzoraka (44) utvrđena je veća količina ohratoksina, a kod 30 uzoraka veća količina aflatoksina u odnosu na vrednosti koje su propisane Pravilnikom. Prilikom ispitivanja uzoraka krmnih smeša za ishranu životinja koje pripadaju kategoriji odraslih jedinki, od ukupnog broja (61), kod 27 uzoraka je utvrđena veća količina zearalenona, kod 23 uzorka veća količina ohratoksina i kod 12 uzoraka veća količina aflatoksina u odnosu na vrednosti koje su propisane Pravilnikom.

Tabela 3. *Rezultati analiza laboratorije na prisustvo mikotoksina u hrani za svinje različitih kategorija /*

Table 3. Results of laboratory analyses for the presence of mycotoxins in feed for pigs of different categories

Vrsta mikotoksina / <i>Type of mycotoxins</i>	Broj uzoraka potpunih krmnih smeša kod kojih je utvrđena količina mikotoksina iznad maksimalno dozvoljenih vrednosti / <i>Samples of full fodder mixes in which the determined quantities of mycotoxins exceeded the values established under regulations</i>	
	Mladi / <i>Young</i>	Odrasli / <i>Adults</i>
Aflatoksin / <i>Aflatoxin</i>	30	12
Zearalenon / <i>Zearalenone</i>	54	27
Ohratoksin / <i>Ochratoxin</i>	44	23

Diskusija / Discussion

Dobijeni rezultati ukazuju na procentualno najveću zastupljenost zearalenona u krmnim smešama kako za mlade tako i za odrasle jedinke. U odnosu na ostale životinjske vrste svinje su najosetljivije na prisustvo mikotoksina u hrani. Klinički efekat najučestalijih mikotoksina prikazan je u tabeli 4.

Ispoljavanje kliničkih simptoma zavisi od doze i vremena izlaganja, te može varirati od akutnog do hroničnog. Reakcija na poznate mikotoksine je najčešće subakutna ili hronična, dok su simptomi često slabo izraženi i nejasni. Predisponirajući faktori u nekim slučajevima mikotoksikoza mogu biti nedostatak belančevina ili selen (Sinovec *et al.*, 2006). Mlade životinje su najprijemčivije na mikotoksine (CAST, 1989; Valpotić i sar., 2006). Isti autor navodi sledeće efekte mikotoksina na ljude i životinje:

- usporen rast, oslabljen imunitet i smanjena otpornost na infekcije;
- akutna toksičnost i uginuće zbog izlaganja visokim količinama mikotoksina;
- smanjena proizvodnja jaja i mleka;
- hronične bolesti, uključujući i tumore, nakon dužeg izlaganja malim količinama mikotoksina.

U slučaju kontaminacije hraniva većim brojem vrsta mikotoksina, toksikološki efekti se mogu pojačati ili manifestovati sinergistički učinak. Utvđene su razne kombinacije mikotoksina u hrani za perad i svinje, pri čemu je najjači toksični efekat registrovan kod kombinacije aflatoksina i ohratoxina A, kao i aflatoxina i trihotecena (T-2 toksin) (Huff i sar., 1988). Toksikološki sinergizam između fuzarične kiseline i vomitoksina je najbolje prikazan prilikom dodatka oba toksina hrani za prasade (Smith, 1997). S obzirom na to da je u izvršenim ispitivanjima u laboratoriji Katedre za ishranu i botaniku najveći broj uzoraka sadržao nedozvoljene količine zearalenona, potrebno je naglasiti da je zearalenon estrogen-ski mikotoksin, odnosno fitoestrogen, koga proizvode pojedine vrste gljivica iz roda *Fusarium*. Za razliku od ostalih mikotoksina, zearalenon nije samo sekundarni metabolit plesni, već igra važnu ulogu u polnom razmnožavanju gljivica koje ih proizvode. Zearalenon spada u toksične mikotoksine, tako da se srednja akutna letalna doza (LD_{50}) za različite životinjske vrste kreće u intervalu 10-100 mg/kg hrane. Toksični efekti mogu se pojaviti kod životinja već sa 1-5 ppm zearalenona u hrani, što zavisi od vrste i starosti životinja, pola, zdravstvenog stanja kao i količine konzumirane hrane. Zearalenon se može dokazati u krvi intoksiciranih životinja pet dana nakon davanja, a u urinu nakon četiri dana (Sinovec i sar., 2006). Istraživanja sa markiranim zearalenonom na 10-14 nedelja starim jorkšir prasadima ukazuju da je metaboličko poluvreme toksina prilikom oralnog i i/v davanja 86 sati i 6 minuta, a prilikom intrabilijarne administracije 3 sata i 34 minuta.

Tabela 4. Klinički efekat najučestalijih mikotoksina /
Table 4. Clinical effect of most frequent mycotoxins

Mikotoksin / <i>Mycotoxin</i>	Hraniva / <i>Feed</i>	Kategorija svinja / <i>Category of pigs</i>	Količina u hrani / <i>Amount in feed</i>	Glavni simptomi / <i>Main symptoms</i>
Aflatoksin / <i>Aflatoxin</i>	Kukuruz; kikiriki; semenke pamuka / <i>Corn; peanuts; cotton seeds</i>	U porastu / završnom tovu / <i>Growing/final fattening</i>	<100 ppb	Bez simptoma (rezidue u jetri) / <i>No symptoms (residue in liver)</i>
			200-400 ppb	Smanjen rast i iskoristivost hrane, moguća imunosupresija / <i>Reduced growth and utilization of food, possible immunosuppression</i>
			400-800 ppb	Mikroskopske lezije jetre, holangiohepatitis, povećani jetreni enzimi u serumu, imunosupresija / <i>Microscopic lesions in liver, cholangiohepatitis, increased liver enzymes in serum, immunosuppression</i>
		Krmače u zasušenoj i nazimice / <i>Sows in dry periods and gilts</i>	800-1200 ppba	Smanjen rast i uzimanje hrane, neuredna dlaka, ikterus, hipoproteinemija / <i>Reduced growth and food intake, rough hair coat, icterus hypoproteinaemia</i>
			> 2000 ppb	Akutna hepatiza i koagulopatija, uginuće za 3-10 dana / <i>Acute hepatitis and coagulopathy, death in 3-10 days</i>
Ohratoksin / <i>Ochratoxin</i>	Ječam; uljarice / Barley; oleaceous plants	U završnom tovu / <i>In final fattening</i>	500-750 ppb	Bez efekta na začecje, oprasila normalnu prasad koja je slabo rasla / <i>Without effects on conception, delivered normal piglets who grew poorly</i>
			200 ppb	Blage lezije na bubregu, smanjen prirast / <i>Slight lesions on kidney, reduced performance</i>
			1000 ppb	Polidipsija, smanjen rast, azotemija i glikosurija / <i>Polydipsia, reduced growth, azotaemia and glycosuria</i>
			4000 ppb	Polidipsija i poliurija / <i>Polydipsia and polyuria</i>
			3-9 ppm	Normalna trudnoća prilikom hranjenja tokom prvog meseca / <i>Normal pregnancy during feeding in the first month</i>
Zearalenon F-2 toksin / <i>Zearalenone F-2 toxin</i>	Kukuruz; pšenica; ječam; raž / <i>Corn; wheat; barley, rye</i>	Krmače / nazimice / <i>Sows / gilts</i>	1-3 ppm	Hiperestrogenizam, vulvovaginitis, prolapsus / <i>Hyperestrogenism, vulvovaginitis, prolapsus</i>
		Nazimice pred pubertetom / <i>Gilts facing puberty</i>	3-10 ppm	Sačuvano žuto telo, anestrus, lažna trudnoća / <i>Preserved corpora lutea, anestrus, false pregnancy</i>
		Krmače/nazimice u ciklusu / <i>Sows/gilts in cycle</i>	> 30 ppm	Rana embrionalna smrtnost 1-3 nedelje nakon oplodnje / <i>Early embryonal death 1-3 weeks following fertilization</i>

Ako je zearalenon prisutan u stočnoj hrani, treba ga očekivati u mesu i proizvodima životinja koje su hranjene plesnivom hranom. Zearalenon je utvrđen u jetri i mesu (mišićima) klinički zdravih svinja u koncentraciji 3,7-10 µg/kg (Sawinski i sar., 1989). U znatno većoj količini (78-310 µg/kg) nađen je u jetri svinja hranjenih hranom koja je sadržala 40-400 mg/kg zearalenona, odnosno 59-1200 µg/kg u mesu i jetri brojlera kojima je u hranu dodato 5 mg/kg ovog toksina (Goehl, 1990).

Zearalenon i njegovi derivati se mogu dokazati u mleku 42-44 sata nakon korišćenja hrane u kojoj su prisutni mikotoksini, s tim da se putem mleka izlučuju još pet dana nakon prestanka korišćenja plesnive hrane (Sinovec i sar., 2006).

S obzirom na mehanizam dejstva, toksični efekti zearalenona mogu se javiti u svim metaboličkim procesima na koje utiču estrogeni hormoni, a najčešće na polnim organima i u procesu reprodukcije. Od svih domaćih životinja svinje su najosetljivije na zearalenon (Šefer, 2000). Hiperplazija i metaplazija epitela uterusa su među važnijim indikatorima delovanja zearalenona kod ženki, dok se kod mužjaka javlja tzv. feminizirajući efekat odnosno atrofija testisa i povećanje mamarnih žlezda. Klinička slika trovanja zearalenonom kod drugih životinjskih vrsta opisivana je znatno ređe u odnosu na svinje. Prisustvo zearalenona u organizmu životinja direktno ugrožava i zdravlje ljudi. Opasnost korišćenja mesa životinja otrovanih zearalenonom je već duže vreme predmet istraživanja zbog njegove poznate kancerogenosti koju upoređuju sa dietilstilbestrolom. Kod žena može izazvati estrogenizaciju i pseudotrudnoću (Kralj i sar., 1988), a kod muškaraca se dovodi u vezu i sa pojavom karcinoma prostate. Međutim, zabeleženo je korišćenje jednog derivata zearalenona kao hemoterapeutika u cilju ublažavanja poremećaja u menopauzi.

S obzirom na negativne efekte zearalenona, jasno je da se u proizvodnim uslovima držanja životinja mora praktikovati stalni monitoring prisustva zearalenona u cilju brzog i efikasnog reagovanja.

Zaključak / Conclusion

Ranim, odnosno pravovremenim utvrđivanjem prisustva mikotoksina u hrani i posledičnim isključivanjem kontaminirane hrane iz upotrebe i/ili eventualnim razblaživanjem i mešanjem sa hranivima slobodnim od mikotoksina mogu se ublažiti negativni efekti, ali je potreban određen vremenski period za eliminaciju resorbovane količine mikotoksina i štetnog efekta. Zato se u proizvodnim uslovima mora praktikovati stalni i višestepeni monitoring higijenske ispravnosti hrane u cilju brzog i efikasnog reagovanja kao, za sada jedinog, načina uspešne prevencije štetnih efekata mikotoksina.

Veoma važan segment preveniranja štetnih efekata mikotoksikoza je i određivanje maksimalno dozvoljenog sadržaja (sigurnosne granice, nivo toleran-

cije) mikotoksina u hrani za pojedine vrste životinja. Apsolutno bezbedan sadržaj ne postoji jer se svaka količina mikotoksina u hrani može smatrati štetnom. Određivanje maksimalno dozvoljenog sadržaja mikotoksina u hrani za pojedine vrste životinja zasniva se na osetljivosti analitičkih metoda i efekata mikotoksina na životinje i ljude. Pojedine vrste mikotoksina ispoljavaju različitu toksičnost za različite vrste životinja, pa i za različite kategorije u okviru iste vrste. Čisti mikotoksini koji se koriste u ogledima su često manje toksični nego prirodno sintetisani i inkorporisani u hranu (aflatoksin kod muznih krava, deoksinivalenol - DON kod svinja). Pored navedenog, na negativne efekte korišćenja kontaminirane hrane utiče i vremenski period konzumiranja hrane. Korišćenje hrane sa niskim sadržajem mikotoksina tokom dužeg vremenskog perioda ispoljava slične efekte kao kratkotrajna upotreba hrane sa većom količinom mikotoksina. Problem se usložnjava i prisustvom i interakcijom mikotoksina prisutnih u hranivima i/ili hrani koji međusobno potenciraju štetne efekte. Zato se najveći broj preporuka o maksimalno dozvoljenom sadržaju mikotoksina u hrani za pojedine vrste životinja zasniva, pre svega, na *ekonomskim* principima koji u svetlu profita u proizvodnji namirnica animalnog porekla danas igraju najvažniju ulogu.

NAPOMENA:

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva nauke Republike Srbije TP 20110 "Razvoj i implementacija standarda dobrobiti i biosigurnosti u cilju unapređenja tehnologije proizvodnje goveda i svinja" u oblasti Biotehnika. /

The paper was financed with funds of the Republic of Serbia Ministry of Science Project TP 20110 "Development and implementation of welfare and biosafety standards with the aim of promoting the technology of cattle and pig production" in the area Biotechniques.

Literatura / References

1. CAST – Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins. Economics and Health Risks. Report 116. Ames, Iowa, 1989; 91.
2. Devegowda G, Raju M, Afzali N, Swamy H. Mycotoxin picture worldwide: Novel solutions for their counteraction. *Biotechnology in the Feed Industry* 1998; 241-55.
3. Đorđević N. Ishrana domaćih i gajenih životinja Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 2009; 547-64.
4. Goihl J. Zearalenone in sow diets can affect performance. *Feedstuffs*. March 12th. 1990; 2-13.
5. Hesseltine CW. Introduction, definition and history of mycotoxins of importance to animal production. U: *Interactions of Mycotoxins in Animal Production*. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 1979; 3-18.
6. Huff WE, Kubeno LF, Harvey RB, Doerr JA. Mycotoxin interactions in poultry and swine. *J Anim Sci* 1988; 66: 2351-5.
7. Kralj M, Bidjin Ž, Nemanić A. Skupni prikaz sindroma otrovanja mikotoksinima prema podacima iz literature sa naročitim osvrtom na pojavu u peradi. *Peradarstvo* 1998; XXIII(9): 245-65.
8. Lacey J. Mycotoxins in UK cereals and their control. *Aspects of Applied Biology* 25, 1990: 395-405.

9. Osweiler GD. Mycotoxins. U: Diseases of Swine. Seventh edition (Lweman AD, Straw BE, Mengeling WL, Allaire SD, Taylor DJ, eds). Wolfe Publishing, London, 1992; 735-43.
10. Pasteiner S. Coping with mycotoxin contaminated feedstuffs. Feed International, May, 1997; 12-6.
11. Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ br.2/1990).
12. Sawinski J, Halasz A, Vanyi A, Borbiri N, Macsai G. Serteshus mikotoxin tartalmanak vizsgalata. Elél Ipar 1989; 43: 298-9.
13. Sinovec Z, Resanović R, Sinovec S. Mikotoksini – pojava, efekti i prevencija. Fakultet veterinarske medicine. Beograd, 2006; 142-53.
14. Smith JE. Aflatoxins. U: Handbook of Plant and Fungi Toxicants. (J.P.F d'Mello Bocca Ration.eds.). CRC Press, Florida, 1997; 269-85.
15. Šefer D. Značaj zearalenona u veterinarskoj medicini. II savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja. Budva, 2000; 194-8.
16. Tuite J. Field and storage condition for the production of mycotoxins and geographic distribution of some mycotoxin problems in the United States. U: Interactions of Mycotoxins in Animal Production. National Academy of Sciences Washington D.C. 1979; 9-29.
17. Valpotić H, Šerman V. Utjecaj mikotoksina na zdravlje i proizvodnost svinja. Krmiva 2006; 48(1): 33-42.

ENGLISH

PRESENCE AND IMPORTANCE OF MYCOTOXINS IN PIG FEED

Radmila Marković, D. Šefer, S. Radulović, Marcela Šperanda

Mycotoxins present a significant problem in the diet of pigs. Secondary metabolites of fungi are toxic matter that have a negative effect on health and the performance of animals, as well as on the quality of their products. The creating of mycotoxins is a complex process and it is difficult to predict which toxin will be produced and in which concentration. Food is most often contaminated by low concentrations of different mycotoxins (aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes, fumonisins and zearalenone) which cause a series of undesired effects, depending on the amount that the animal has ingested into the organism. Mycotoxin interactions in the organism are complex, and they can have antagonistic, synergistic or a joint effect, depending on the combination and quantity in which they appear. The pig is a domestic animal which is most sensitive to the effects of mycotoxins. Long-term consumption of feed contaminated with mycotoxins results in a decline in production, a deterioration of the general health and reproductive disorders. One of the most important negative effects in pigs which receive low doses of mycotoxins in the longterm, is immunosuppression. Mycotoxins present very stable links that remain in raw materials and animal products for a long time and thus pose a major health risk for humans.

Key words: mycotoxins, fungi, pigs, health

ПРИСУТСТВИЕ И ЗНАЧЕНИЕ МИКОТОКСИНОВ В КОРМЕ ДЛЯ СВИНЕЙ

Радмила Маркович, Д. Шефер, С. Радулович, Марцела Шеперанда

Микотоксины представляют собой значительную проблему в кормлении свиней. Вторичные метаболиты плесени токсические вещества, которые отрицательно влияют на здоровье и производительные результаты животных, словно и на качество их продуктов. Создание микотоксинов сложный процесс и трудно предвидеть, который токсин будет произведён и в какой концентрации. Корм чаще всего контаминируют низкие концентрации различных микотоксинов (афлатоксины, охратоксины, трихотецены, фумонизины и зеараленон), которые обуславливают ряд нежелательных влияний, в зависимости от количества, которое животное внесёт в организм. Интеракции микотоксинов в организме комплексные, а могут иметь антагонистическое, синергистическое или собирательное действие, в зависимости от комбинации и количества в которой появятся. Свинья одна из самых чувствительных домашних животных на действие микотоксинов. При длительном потреблении контаминированного корма происходит падение производства, ухудшения общего состояния здоровья и репродуктивных расстройств. Один из более важных отрицательных действий у свиней, которые длительно берут низкие дозы микотоксинов - иммуносупрессия. Микотоксины представляют собой очень стабильные соединения, которые долго остаются в сырьях и животных продуктах, и представляют собой большой риск из-за возможного переноса на людей.

Ключевые слова: микотоксины, плесни, свиньи, здоровье

**NEONATALNA SEPTIKEMIJA ŽDREBADI:
ETIOPATOGENEZA, DIJAGNOSTIKA I TERAPIJA***
*ETHIOPATHOGENESIS, DIAGNOSTICS AND THERAPY OF FOAL
NEONATAL SEPTICEMIA*

S. Lauš, D. Trailović, S. Đoković**

Sepsa je bez sumnje jedan od najčešćih uzroka uginuća novorođene ždrebadi. Karakteriše se sistemskim inflamatornim odgovorom organizma na prodor infektivnog agensa u cirkulaciju, sa progresivnim pogoršavanjem zdravstvenog stanja uprkos intenzivnoj terapiji. Kao posledica sistemskog inflamatornog odgovora organizma i šoka, koji čine prvu fazu sepse, u drugoj fazi dolazi do obimnih organskih oštećenja (sindrom organske disfunkcije), koji su odgovorni za slom homeostatskih mehanizama i brzo uginuće.

Tokom poslednjih tridesetak godina u Srbiji je registrovan visok procenat uginuća novorođene ždrebadi, pri čemu je uz herpesvirus tip 1 u značajnom procentu uzrok uginuća bila bakterijska sepsa, najčešće u vezi sa nedovoljnim transferom kolostralnih imunoglobulina, što je u više slučajeva potvrđeno.

Brzi tok bolesti sa nespecifičnom kliničkom slikom i stanje šoka otežavaju pravovremeno prepoznavanje simptoma i preduzimanje odgovarajuće terapije, zbog čega je za efikasnije sprečavanje ovakvih pojava, uz pažljivu kliničku opservaciju novorođenčadi u prvim danima života, neophodno dobro poznavanje mehanizama infekcije i šoka.

Kako je za potvrdu dijagnoze – identifikaciju uzročnika i ispitivanje njegove osetljivosti na antibiotike potrebno dosta vremena, terapija je najčešće simptomatska i obuhvata intravensku nadoknadu tečnosti, elektrolita i glukoze, korekciju acidobaznih poremećaja, primenu antibiotika i antiendotoksičnih supstancija, zatim supstituciju deficitnih imunoglobulina, u svim slučajevima kada je uzrok sepse bio nedovoljan transfer kolostralnih imunoglobulina.

Ključne reči: ždrebadi, neonatalne infekcije, sepsa, šok, terapija

* Rad primljen za štampu 14. 04. 2010. godine

** Mr sci. med. vet. Saša Lauš, diplomirani veterinar, Veterinarska stanica "Praxis veterinaria", Vršac; dr sci. vet. med. Dragiša Trailović, redovni profesor, Stefan Đoković, dr vet. med., saradnik u nastavi, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Uvod / Introduction

U patologiji novorođene ždrebadi izuzetno značajnu ulogu imaju neonatalne infekcije, pre svega bakterijska sepsa, koja u velikom broju slučajeva dovodi do uginuća u prvim danima života. Tokom poslednjih tridesetak godina u Srbiji je registrovan veliki broj slučajeva uginuća ždrebadi, naročito na nekim ergelama engleskog punokrvnjaka. Na ergeli "Ljubičevo" je, na primer, osamdesetih godina prošlog veka registrovano više desetina slučajeva uginuća novorođene ždrebadi u prvoj nedelji života, pri čemu su uz herpesvirus tip 1 u značajnom procentu uzrok bile bakterijske infekcije, najčešće u vezi sa nedovoljnim transferom kolostralnih imunoglobulina, što je u više slučajeva potvrđeno (Trailović i sar., 1992, 2000, 2001, 2004; Lauš, 2001; Urošević i sar., 2001). Ždread se, kao što je poznato, rađaju bez imunoglobulina, pri čemu je ključni izvor antitela neophodnih za njihovo preživljavanje u prvih nekoliko meseci života kolostrum. Imunodeficijencija uslovljena nedovoljnim transferom kolostralnih imunoglobulina odgovorna je za pojavu infekcija patogenim bakterijama iz okruženja, koje se u prvih nekoliko dana najčešće manifestuju sepsom sa brzim uginućem.

Sepsa predstavlja sistemski inflamatorni odgovor na infekciju ili povredu, koji se karakteriše kaskadnim oslobađanjem različitih inflamatornih medijatora koji mogu biti odgovorni za razvoj septičkog šoka i uginuće (Sanchez, 2005). Tradicionalno se dovodi u vezu sa prisustvom patogenih bakterija i/ili njihovih toksina u krvi, mada se sličan odgovor može razviti i kada u krv prodru virusi, gljivice i drugi infektivni agensi, ili pak u slučajevima nezavisnim od infekcije – kod trauma, hipovolemija, hemoragija, imunoloških reakcija ili reakcija na lekove (Purvis i Kirby, 1994; Murray i sar., 1998; Mac Kay, 2000; Sanchez, 2005). Promene koje su udružene sa kliničkim sindromom sepse su, ustvari, rezultat nespecifičnog inflamatornog odgovora. U literaturi se ovakav odgovor opisuje kao sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (*systemic inflammatory response syndrome* - SIRS) koji ne podrazumeva obavezno prisustvo bakterijske infekcije (Sanchez, 2005).

SIRS predstavlja terminalnu fazu inflamatornog odgovora koja se karakteriše malignom, opštom aktivacijom multiplih proinflamatornih puteva sa hipertermijom ili hipotermijom (rektalna temperatura veća od 39,2°C ili niža od 37,2°C), tahikardijom (srčana frekvenca viša od 120/min), tahipnejom (frekvenca disanja veća od 30/min), hipokapnijom (parcijalni pritisak arterijskog CO₂ manji od 32 mmHg), leukocitozom ili leukopenijom (više od 12x10⁹/l ili manje od 4x10⁹/l), povećanjem broja nezrelih formi granulocita itd. (Evans i Smithies, 1999; Sanchez, 2005). Promene koje su vezane za SIRS mogu voditi u šok, koji se karakteriše izrazitom hipotenzijom koja ne odgovara na intravensku terapiju tečnostima.

Posledica šoka je hipoperfuzija i disfunkcija organa sa narušavanjem homeostaze, koja se ne može održati bez intervencije. Ovaj proces se u literaturi označava kao sindrom multiorganske disfunkcije ili *multiple organ dysfunction*

syndrome - MODS (Sanchez, 2005), koji počinje sa progresivnom insuficijencijom kardiovaskularnog sistema, da bi se kasnije razvile kliničke manifestacije poremećaja respiratornog, gastrointestinalnog, urinarnog i nervnog sistema, refraktornom hipotenzijom, acidozom, oligurijom i uginućem (Perkins i sar., 1996; Evans i Smithies, 1999; Sanchez, 2005).

Patofiziologija sepsa / *Patophysiology of sepsis*

Inflamacija predstavlja odgovor tkiva na povredu ili prisustvo mikroorganizama. Prva faza ovog procesa je prepoznavanje povrede, napadnute ćelije u ovoj fazi oslobađaju odgovarajuće medijatore (npr. histamin) i sintetišu proinflatorne supstance uključujući eikosanoide (prostaglandini, tromboksani, leukotrijeni) i citokine (interleukin-1 (IL-1), tumor nekroza faktor- α (TNF- α)). Ovi medijati su odgovorni za inicijaciju inflamatornog odgovora. Infekcija mikroorganizmima može rezultirati povredom tkiva i tako inicirati ovaj proces, ili će specifične strukture na bakterijskim ćelijama biti prepoznate od strane imunskih ćelija (makrofagi), sa posledičnom produkcijom inflamatornih medijatora i inicijacijom inflamatornog odgovora (Sanchez, 2005). Imunski sistem na bakterijskoj ćeliji može prepoznati komponente kao što su endotoksin (lipopolisaharid - LPS), egzotoksin gram-negativnih bakterija (peptidoglikan - PGs), lipoteihoičnu kiselinu (LTAs), enterotoksin i superantigeni egzotoksin iz gram-pozitivnih bakterija. Iako bakterijska infekcija može inicirati inflamatorni odgovor, sama inflamacija isključivo zavisi od produkcije endogenih medijatora (Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005).

Kod ždrebadi sepsa je najčešće izazvana gram-negativnim uzročnicima. Ove bakterije poseduju LPS, koji se nakon dospevanja u cirkulaciju vezuje za LPS-vezujući protein (LBP). Ovaj kompleks se potom vezuje za receptore na površini mononuklearnih fagocita (mCD14 ili sCD14) koji takođe veže PG i LTA iz gram-pozitivnih bakterija. LPS-LBP-CD14 kompleks ili PG-LTA-CD14 kompleks odgovoran je za aktivaciju mononuklearnih fagocitnih ćelija putem tzv. TLR receptora (toll-like receptor) i transmisije signala kroz membranu (Morris, 1991). Kod sisara su identifikovani brojni tipovi TLR, što nam govori da su različiti tipovi TLR receptora odgovorni za prepoznavanje različitih vrsta patogenih mikroorganizama (Morris, 1991).

Do ćelijske aktivacije može doći i zbog razvijanja nespecifične oksidativne stres reakcije unutar mononuklearnog fagocita, praćene stimulacijom proinflatornih stimulusa kao što su TNF- α , endotoksin ili egzotoksin. Razvijanje inflamatornog odgovora zavisi od produkcije brojnih medijatora inflamacije (na početku iz aktivisanih mononuklearnih fagocita), kao što su proinflatorni citikini (TNF- α , IL-1, IL-6), proinflatorni enzimi (inducibilna azot oksid sintaza, fosfolipaza A2, ciklooksigenaza-2) i adhezivni molekuli – selektini i intracelularni adhezi- oni molekuli (Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005).

Inicijalne promene kod inflamatornog odgovora su pre svega rezultat lokalne vazodilatacije i povećanja propustljivosti krvnih sudova, kao posledica delovanja vazoaktivnih medijatora oslobođenih iz povređene ili inficirane ćelije. Ovi medijatori su histamin, serotonin, kinin, eikosanoidi, faktor aktivacije trombocita, produkti degradacije fibrina i produkti komplementa C3a i C5a. (Mac Kay, 2000; Sanchez, 2005). Promene koje se dešavaju na endotelu krvnih sudova pod uticajem molekula nastalih iz promenjenog tkiva (IL-1, TNF- α , histamin) imaju za posledicu diapedezu neutrofila i povećanje vaskularne propustljivosti. Nakon dospevanja u promenjeno područje, neutrofili i makrofagi fagocituju strani materijal, povređeno i mrtvo tkivo i uništavaju fagocitovani materijal oksidativnim mehanizmom (neutrofili) ili putem oksidativnih i neoksidativnih mehanizama (makrofagi). Makrofagi oslobađaju brojne faktore koji pojačavaju imunski odgovor, uključujući proinflamatorne citokine (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-12, IL-18). Proinflamatorni citokini daju signal ciljnim ćelijama, prevashodno neutrofilima, da povećaju produkciju sekundarnih inflamatornih medijatora kao što su derivati fosfolipida (prostaglandini, tromboksan A2, leukotrijeni) i reaktivne vrste kiseonika (slobodni kiseonik, superoksid anjon, hidroksil radikal, vodonik peroksid, NO, hipohlorid jon) i pojačavaju inflamatorni odgovor. Sistemske manifestacije inflamacije i/ili infekcije su groznica, anoreksija, letargija i depresija, primarno zbog dejstva TNF- α i IL-1 (Sanchez, 2005).

Odgovor akutne faze / *Acute inflammatory response*

Interleukin-6, IL-1 i TNF- α iniciraju odgovor akutne faze, povećavajući sintezu proteina akutne faze. Ove supstance igraju veoma važnu ulogu u mnogim fazama odgovora na inflamatorne stimuluse i uključuju aktivaciju komplementa, koagulaciju, fibrinolizu, transport supstanci kroz cirkulaciju, inhibiciju proteaza neutrofila i modulaciju inflamatornog odgovora. Odgovor akutne faze je važan u regulaciji antiinflamatornih komponenti i održavanju inflamatornog odgovora pod kontrolom (Mac Kay, 1998; Sanchez, 2005). Ovaj regulatorni mehanizam se postiže antiinflamatornim medijatorima koji inhibiraju aktivaciju makrofaga (IL-4, IL-10, IL-13, kortikosteroidi, prostaglandin E2), antagonistima proinflamatornih citokina (antagonista za IL-1 receptor) i solubilnim receptorima proinflamatornih citokina (solubilni IL-1 receptor tip II, solubilni TNF receptor). Ravnoteža između proinflamatornih i antiinflamatornih komponenti je važna u određivanju karakteristika inflamatornog odgovora (Mac Kay, 1998).

Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora /

Systemic inflammatory response syndrome

Promene vezane za inflamatorni odgovor uglavnom imaju za cilj da zaštite organizam i obezbede eliminaciju mikroorganizama antigen specifičnim i nespecifičnim mehanizmima, stimulišu imunski sistem i aktiviraju procese ozdrav-

ljenja oštećenog tkiva. Preterana inflamacija i odgovor akutne faze naziva se SIRS (sindrom sistemskog inflamatornog odgovora). SIRS se karakteriše sistemskom aktivacijom brojnih proinflamatornih medijatora uključujući citokine (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8), fosfolipidne derivate (faktor aktivacije trombocita, prostaglandini, tromboksan A2, leukotrieni) komponente komplementa (C3a, C5a), reaktivne vrste kiseonika i vazoaktivne materije (NO, CO). Ovi medijatori su, kako je ranije opisano, komponente normalnog lokalizovanog inflamatornog odgovora, s tim što sistemska aktivacija ovih proinflamatornih medijatora može da dovede do prekomernog odgovora (Moore i Barton, 1998).

Prvi efekat vezan za SIRS je aktivacija endotela sa posledičnom produkcijom vazoaktivnih medijatora i narušavanjem vaskularne homeostaze. Inflamatorni citokini (IL-1 i TNF- α) su odgovorni za aktivaciju endotela, pri čemu aktivisane ćelije proizvode inflamatorne citokine i NO (pomoću inducibilne NO sintaze), prostaglandine (putem inducibilne ciklooksigenaze-2) i endotelin-1. Aktivisane endotelne ćelije se skupljaju, povećavajući veličinu intercelularnih pora, što vodi povećanju vaskularne propustljivosti. Opisanim promenama doprinosi pojačana produkcija tkivnih faktora, Willebrandovog faktora, tromboza i adhezencija trombocita (Sanchez, 2005).

Inicijalni sistemski efekat ovih promena je pulmonalna vazokonstrikcija, što vodi u pulmonalnu hipertenziju, verovatno prouzrokovanu tromboksanom-A2 (Moore i Barton, 1998). Na inicijalnu hipertenzivnu fazu nastavlja se sistemska hipotenzija, prouzrokovana smanjenjem arterijskog tonusa, sa proširenjem velikih vena (Lavoie i sar., 1990), koja napreduje do hiperdinamičkog šoka sa povećanjem srčane frekvence, zbog nemogućnosti srca da obezbedi adekvatnu perfuziju tkiva (Sanchez, 2005). Kao posledica oslobađanja depresora miokarda (NO, TNF- α , IL-1) opada osetljivost miokarda na β adrenergičnu stimulaciju, što doprinosi izlasku tečnosti u intersticijum i nastanku edema (Sanchez, 2005). Vazokonstrikcija arteriola prouzrokovana povećanom produkcijom supstanci koje izazivaju vazokonstrikciju (endotelin-1, tromboksan A-2), takođe dovodi do slabljenja autoregacionog sistema. Adhezencija neutrofila za endotel i otok endotelnih ćelija dovodi do smanjenja protoka krvi. Akumulacija fibrina i agregacija trombocita i eritrocita dovode do pojačane koagulacije, sa posledičnim začepljenjem krvnih sudova i tkivnom hipoperfuzijom, na koju se nadovezuje povećanje vaskularne propustljivosti i ekstrasvazacija tečnosti u intersticijalni prostor, hipotenzija i hipovolemija (Hoffman i sar., 1992).

Aktivacija sistema koagulacije nastaje primarno spoljašnjim putem, jer se produkcija tromboplastina u endotelnim ćelijama i mononuklearnim fagocitima povećava pod uticajem IL-6 i drugih proinflamatornih stimulusa. Kod SIRS-a je proces fibrinolize suprimiran zbog povećane koncentracije inhibitora plazminogen aktivatora u plazmi. Širenje aktivacije koagulacionog sistema, kombinovano sa smanjenom fibrinolizom, rezultira razvojem diseminovane intravaskularne koagulacije (Levi i Ten Cate, 1990; Moore i Barton, 1998; Sanchez, 2005). Napredovanjem ovog procesa dolazi do sve ozbiljnih hemodinamskih poremećaja i

šoka. Šok u stvari predstavlja stanje kada su kardiovaskularne funkcije toliko poremećene da se hipotenzija koja je nastala kao posledica navedenih promena ne može korigovati intravenskom terapijom tečnostima i zahteva upotrebu inotropnih i/ili vazopresornih lekova. Šok je najteži poremećaj kardiovaskularnog sistema SIRS-a i osnova sindroma multiorganske disfunkcije (MODS). Septički šok se pri tome definiše kao šok nastao kao posledica infekcije (Drummond i Koterba, 1990; Lavoie i sar., 1990; Purvis i Kirby, 1994; Sanchez, 2005).

Sindrom multiorganske disfunkcije / *Multiple organ dysfunction syndrome*

Kao posledica kardiovaskularnih poremećaja nastaje sindrom multiorganske disfunkcije, koji se karakteriše oštećenjem ostalih organa. Do ovih oštećenja dolazi prvenstveno usled hipoperfuzije tkiva i posledičnih promena ćelijskog metabolizma zbog smanjenog priliva kiseonika. Tkivna hipoksija, pri tome, ima za posledicu metaboličku acidozu (Evans i Smithies, 1999). Pulmonalna disfunkcija se manifestuje refraktornom hipoksemijom, verovatno uzrokovanom povećanjem propustljivosti krvnih sudova pluća, mikrotrombozom, oštećenjem plućnog epitela, plućnim edemom i smanjenjem produkcije surfaktanta. Renalna disfunkcija se manifestuje akutnom bubrežnom insuficijencijom sa azotemijom i oligurijom, usled poremećaja u mikrocirkulaciji i hipoperfuzije bubrega (Evans i Smithies, 1999). Gastrointestinalni poremećaji prvenstveno obuhvataju narušavanje intestinalne barijere i prodor bakterija, koji su uz ileus veoma često i neposredan uzrok sepse. Kada je u pitanju gastrointestinalni trakt ne sme se zanemariti jetra, koja trpi posledice svih sistemskih poremećaja organizma. Disfunkcija jetre sa hiperbilirubinemijom i porastom aktivnosti jetrih enzima (sorbitol dehidrogenaza, aspartat-aminotransferaza) u serumu je, naime, uobičajen problem kod ždrebadi sa sepsom. Oštećenja jetre delom nastaju kao posledica hipoperfuzije, a delom zbog pojačanih metaboličkih potreba i povećane produkcije inflamatornih medijatora od strane Kupfferovih ćelija, kao odgovor na oslobađanje inflamatornih medijatora iz gastrointestinalnog trakta. Poremećaji nervnog sistema su takođe česti, manifestuju se depresijom ili tzv. septičkom encefalopatijom sa ekstenzivnim oštećenjem neurona. I u sklopu ovog sindroma javlja se diseminovana intravaskularna koagulacija (Levi i Ten Cate, 1990; Sanchez, 2005).

Etiologija septikemije / *Etiology of septicemia*

Brojni faktori utiču na pojavu septikemije ždrebadi. Faktori rizika su placentitis, prenatalni poremećaji vulve, distokija, bolesti kobile, prerani ili odloženi porođaj, indukovani porođaj, poremećaj pasivnog transfera kolostralnih antitela, transport gravidne kobile i prisustvo organski lokalizovanih oboljenja kod novorođene ždrebadi, kao što su dijareja, pneumonija, septični artritis, otvorene rane i dr. (Brewer i Koterba, 1987 i 1988; Brewer 1990; Perkins i sar., 1996). Intrau-

terino fetus može biti izložen uzročnicima koji najčešće ascendentno dospevaju u posteljicu i preko placentno-horijalne barijere u krvotok fetusa. Uzročnici placentitisa se mogu naći i u amnionskoj tečnosti i kroz respiratorni ili gastrointestinalni trakt dospeti u organizam fetusa. Posle rođenja, pri tome, bakterije mogu dospeti u organizam i krvotok novorođenčeta kroz pupak, ingestijom, inhalacijom ili preko rana (Koterba, 1990; Cohen, 1994; Sanchez, 2005).

Najčešći uzročnici neonatalne sepsa su gram-negativne bakterije: *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Actinobacillus spp*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella spp*, *Salmonella spp* i *Serratia marcescens*. Od gram-pozitivnih bakterija sepsu mogu izazvati β -hemolitičke streptokoke, *Staphylococcus spp* i *Clostridium spp*. Ređe, uzročnici sepsa mogu biti konjski herpes virus 1, *Histoplasma capsulatum* itd. (Koterba i sar., 1984; Kosch, 1990; Perkins i sar., 1996; Murray i sar., 1998; Sanchez, 2005).

Klinička slika / Clinical signs

Sepsa je stanje koje se uvek smatra urgentnim, zbog čega je izuzetno važno da se znaci bolesti uoče što pre, postavi dijagnoza i preduzme urgentna terapija. Kako se najčešće zapaža u prvih nekoliko dana života, na sepsu može ukazati gubitak refleksa sisanja, hiperemija vidljivih sluzokoža, pojačano ili smanjeno kapilarno punjenje, tahikardija, povišena ili smanjena telesna temperatura, apatija i depresija, ležanje nauznak... (Brewer i Koterba, 1987; Brewer, 1990; Koterba, 1990; Cohen, 1994). Periferni puls je u većini slučajeva slabiji i krvni pritisak niži. Klinički se ponekad mogu videti hladni ekstremiteti, petehije na sluzokoži usta itd. (Brewer i Koterba, 1987; Brewer, 1990; Cohen, 1994). Naravno, uz nespecifične simptome sepsa mogu se uočiti i znaci poremećaja funkcija pojedinih organa kao posledica inflamatorne reakcije, pre svega akutni respiratorni distres, dijareja, otok zglobova, omfalitis, nervni simptomi itd.

Ma koliko izraženi, klinički simptomi su samo osnova za sumnju koju bi ipak trebalo potvrditi odgovarajućim laboratorijskim ispitivanjima. Izolacija uzročnika je svakako najbolji put za potvrdu dijagnoze ali se ne može obaviti tako brzo, zbog čega je korisno pogledati nalaze hematološke i biohemijskih analiza krvi. Leukogram je jedan od najboljih indikatora sepsa, pregledom krvnog razmaza mogu se ustanoviti toksične promene u neutrofilima, kao i neutropenija sa leukopenijom, uz inverziju neutrofilno/limfocitnog količnika (Perkins i sar., 1996). Hipoglikemija je takođe značajan parametar, ako se uzmu u obzir normalne – očekivane oscilacije. Minimalne rezerve glikogena sa kojim novorođena ždrebad raspolazu istroše se relativno brzo, tokom samog porođaja, zbog čega se hipoglikemija može očekivati u svim stanjima većeg iscrpljivanja ili odloženog prihvatanja sise. Hipoglikemija je dakle nespicična, ali se uvek zapaža kod sepsa. Endotoksemija smanjuje nivo glukoze u krvi, povećavajući perifernu potrošnju uz istovremeno smanjenje glukoneogeneze u jetri.

Ako je pre porođaja postojala insuficijencija placente ili asfiksija tokom porođaja, kod novorođenog ždrebeta se može utvrditi povećanje koncentracije kreatinina, isto kao i kod septičnog ždrebeta. Povećana koncentracija kreatinina i ureje može biti rezultat prerenalne azotemije izazvane dehidracijom, hipovolemijom i smanjenom perfuzijom bubrega, zbog čega je korisno da se u isto vreme sa pregledom krvi uradi i analiza urina, kako bi se prerenalna azotemija diferencirala od renalne. Pri tome, treba imati u vidu da neka ždrebada sa normalnom funkcijom bubrega na rođenju imaju povišenu ureju i kreatinin, koji se normalizuju posle 1-2 dana.

U stanjima sepse mogu se ustanoviti i određene promene u koncentraciji elektrolita, kao i gasnim analizama, pre svega zbog očekivane metaboličke acidoze, koja je često udružena sa respiratornom acidozom zbog hipoventilacije.

Koncentracija IgG u krvnom serumu je izuzetno važan parametar. Može se ispitati relativno rano, posle 8 časova od rođenja i utvrditi obim transfera kolostralnih antitela. Koncentracija imunoglobulina u serumu manja od 2 g/l smatra se indikatorom poremećenog transfera imunoglobulina, veća od 2 a manja od 4 g/l govori o parcijalnom poremećaju u transferu imunoglobulina, pri čemu vrednosti od 8 g/l i veće ukazuju na adekvatnu imunološku zaštitu. Zbog očekivanog oštećenja jetre, kod ždrebadi sa sepsom može se ustanoviti povećanje koncentracije ukupnog bilirubina, koje je, ipak, daleko manje izraženo nego kod ždrebadi sa neonatalnom izoeritrolizom (Koterba i sar., 1984; Brewer i Koterba, 1988; Lavoie i sar., 1990; Perkins i sar., 1996). Iz istih razloga se može očekivati i povećanje serumske aktivnosti AST, SDH i GGT. Ako se pri tome utvrdi samo povećanje AST i možda CK, treba razmotriti mogućnost oštećenja mišića zbog dugog ležanja u sepsi ili mišićne distrofije. Na kraju, bakterijska kultura krvi je osnova za potvrdu dijagnoze, s tim što se pozitivan nalaz može očekivati za najmanje 48 časova i to ne u svim slučajevima. Prema ispitivanjima više autora, u 20-40% slučajeva sepse koja je potvrđena na obdukciji, premortalno nije bilo moguće izolovati uzročnika (Koterba i sar., 1984; Brewer i Koterba, 1988; Lavoie i sar., 1990; Perkins i sar., 1996; Ware i Mathay, 2000). U praksi se na takvu potvrdu sepse ne sme čekati. Veoma je važno da se obolelo ždreba identifikuje u početnoj fazi, kako bi se što pre primenila terapija i obezbedila povoljnija prognoza (Koterba i sar., 1984; Koterba, 1990; Furr i sar., 1997).

U cilju efikasnijeg otkrivanja septične ždrebadi razvijen je sistem bodovanja (sepsis scoring sistem), na bazi kombinacije informacija o prethodnom stanju i rizicima za pojavu sepse iz istorije bolesti, objektivnih nalaza i subjektivnih merenja koja se boduju od 0-4. Ovakav sistem može obezbediti pouzdanu procenu zdravstvenog stanja u skoro 90% slučajeva, iako se ne može govoriti o visokoj specifičnosti (Brewer i Koterba, 1988). Po mišljenju Brewera i Koterbe, broj bodova od 11 i više u 93% slučajeva sa sigurnošću ukazuje na sepsu (Koterba i sar., 1984; Koterba, 1990; Cohen, 1994).

Tabela 1. Sistem bodovanja u dijagnostici septikemije novorođene ždrebadi /
Table 1. Sepsis score system in diagnostics of septicemia in newborn foals
(Brewer i Koterba, 1988)

PARAMETAR / BROJ BODOVA / PARAMETER / SCORE	4	3	2	1	0
Broj neutrofila (x10 ⁹ /l) / <i>Neutrophil count</i>		<2,0	2,0-4,0	8-12,0	Normalno / <i>Normal</i>
Mladi oblici neutrofila / <i>Band neutrophiles</i>		>2,0	0,5-0,2		<0,5
Toksične promene / <i>Toxic changes</i>	Znatno / <i>Marked</i>	Umereno / <i>Moderate</i>	Malo / <i>Slight</i>		Nema / <i>None</i>
Fibrinogen (g/l)			>6,0	4,0-6,0	≤4,0
Glukoza (mmol/l) / <i>Glucose</i>			<2,77	2,77- 4,45	>4,45
IgG (g/l)	<2,0	2,0-4,0	4,01-8,0		>8,0
Klinički nalazi / <i>Clinical findings</i>					
1. Petehije ili inicirana sklera / <i>Petechiation or scleral injection</i>		Znatno / <i>Marked</i>	Umereno / <i>Moderate</i>	Blago / <i>Slight</i>	Nema / <i>None</i>
2. Groznica / <i>Fever</i>			>37,2°C	<36,4°C	Normalna / <i>Normal</i>
3. Hipotonia, stupor, depresija, napadi / <i>Hypotonia, coma, depression, seizures</i>			Znatno / <i>Marked</i>	Blago / <i>Slight</i>	Normalno / <i>Normal</i>
4. Anteriorni uveitis, dijareja, respiratorni distres, otok zglobova, otvorene rane... / <i>Anterior uveitis, diarrhea, respiratory dis- tress, swollen joints, open wounds</i>		Da / <i>Yes</i>			Ne / <i>No</i>
Istorija bolesti / <i>History</i>					
1. Placentitis, poremećaji vulve, disto- kija, oboljenja kobile, indukovana ili produžena gestacija (>365 dana) / <i>Placentitis, vulval discharge, dystocia, mare sickness, induced preoloned gestation</i>		Da / <i>Yes</i>			Ne / <i>No</i>
2. Nedonoščad (dana) / <i>Prematurity</i>		<300	300-310	311-330	>330

Osnovni principi terapije / *Basic principles of therapy*

Kako se ne može govoriti o pravovremenoj potvrdi dijagnoze bakterijske septikemije, zbog ne tako lake i brze identifikacije uzročnika, terapija je u suštini simptomatska i ima za cilj korekciju uočenih poremećaja i obezbeđenje homeostaze. Najveći rizik za sepsu predstavlja prevremeni porođaj i prisustvo placentitisa. Ždrebadi koja pripadaju ovim grupama su takođe osetljiva na sekundarne infekcije, zbog čega se moraju podvrgnuti kliničkoj opservaciji odmah nakon rođenja. Za početak bi bilo korisno pratiti glikemiju. Koncentracija glukoze

na rođenju iznosi 1,6-2,77 mmol/l. Najniži nivo dostiže 2 sata posle rođenja, da bi posle toga došlo do stabilizacije. Ždrebac koja neposredno posle rođenja imaju nivo glukoze manji od 1,11 mmol/l treba posebno posmatrati i biti spreman da se interveniše brzo. Ako je nivo glukoze na rođenju manji od 0,55 mmol/l, potrebna je brza infuzija glukoze (Brewer i Koterba, 1988; Koterba i sar., 1984; Koterba, 1990; Lavoie i sar., 1990; Hoffman i sar., 1992; Ware i Mathay, 2000). Ispitivanje koncentracije glukoze govori nam o homeostazi glikemije, a ne o tome koliko je glukoze na raspolaganju. Hipoglikemična ždrebac nisu u stanju da mobilizuju glukozu onoliko brzo koliko je potrebno, zbog čega se intravenskom infuzijom glukoze pokušava da obezbedi snabdevanje glukozom kao što je to činila placenta ili fetalna jetra. Inicijalne doze koje se preporučuju su 4 mg/kg/min (240 ml 5% glukoze/sat), sa postepenim povećanjem do 8 mg/kg/min. Kontraproduktivno je davanje bolusa glukoze, jer će to samo potencirati diurezu, koja će dovesti ne samo do gubitka date glukoze već i elektrolita. Kako hipotermija povećava potrošnju glukoze, treba učiniti sve da se hipoglikemičnom ždrecetu sačuva normalna telesna temperatura.

Sledeći problem je poremećaj acidobazne ravnoteže, koji se poput hipoglikemije rešava terapijom tečnošću, koja, generalno posmatrano, ima za cilj uspostavljanje i održavanje tkivne perfuzije, obezbeđenje optimalnog punjenja srca i poboljšanje razmene gasova – povećano oslobađanje kiseonika i eliminaciju mlečne kiseline. Važno je napomenuti da novorođena ždrebac najčešće nisu dehidrirana, naprotiv, u nekim slučajevima postoji višak tečnosti, zbog čega nisu u stanju da tolerišu veliko opterećenje rastvorima natrijum hlorida. To znači da agresivna terapija tečnostima može biti štetna. Tečnost se daje u količini od 60-100 ml/kg/dan ili 125-250 ml na sat za ždrebe teško 50 kg. Pri tome treba paziti da ne dođe do hiperhidracije. Ako se ona ipak razvije i eventualno postoji cerebralni edem, može se primeniti manitol, DMSO, peroralno magnezijum sulfat i tiamin.

Drugi problem koji se često javlja kod novorođene ždrebadi, nezavisno od toga da li su septikemična ili trpe posledice komplikovanog porođaja, jeste hipoksemija, koja se javlja kao rezultat loše perfuzije ili ventilaciono-perfuzionog disbalansa prouzrokovanog hipoglikemijom, neurološkom insuficijencijom ili prolongiranim ležanjem na stranu. Ždrebac koja pate od perinatalne asfiksije imaju i hipoksemiju i hiperkapniju. Ove životinje moraju biti tretirane kiseonikom intranazalno (Drummond, 1990; Ware i Mathay, 2000).

Sumnja na bakterijsku sepsu podrazumeva i potrebu za primenom antibiotika. Idealno je pri tome odabrati antibiotik koji je efikasan protiv izolovanih mikroorganizama kod bolesne jedinke ili u zapatu gde se bolesno ždrebe nalazi (Freeman i Paradis, 1992; Gayle i sar., 1998). Iako se u literaturi može naći više preporuka, u najvećem broju slučajeva se preporučuje primena penicilina u kombinaciji sa nekim aminoglikozidom, ceftiofur i amikacin. Gentamicin je duže vreme istican kao jedan od najefikasnijih lekova protiv gram-negativnih uzročnika sepse, pri čemu je zbog nefrotoksičnosti potisnut, da bi nedavna ispitivanja pokazala da beta laktamski antibiotici koji se koriste u terapiji *E. coli* sepse dovode do

značajno većeg oslobađanja endotoksina od gentamicina. Zbog toga se ipak insistira na ispitivanju krvne kulture koja omogućava korekciju antibakterijske terapije i izbor manje toksičnog antibiotika. Uzorak krvi za ispitivanje kulture se pri tome mora uzeti pre početka terapije, nakon uzimanja uzorka može se započeti terapija nekom od navedenih kombinacija i po dobijanju rezultata nastaviti sa istom kombinacijom ili promeniti antibiotik u skladu sa dobijenim antibiogramom. Antimikrobna terapija se sprovodi dve nedelje i duže (Koterba i sar., 1984; Brewer i Koterba, 1987; Drummond i Koterba, 1990; Drummond, 1990; Koterba, 1990; Lavoie i sar., 1990; Morris, 1991; Baldwin i sar., 1991; Furr i sar., 1997; Ware i Mathay, 2000).

Kako je u više slučajeva sepse kod novorođene ždrebadi utvrđen povišen titar LPS endotoksina u krvi, postavlja se pitanje da li se u stanju šoka mogu koristiti i antiendotoksične supstancije. Lekovi koji se često ističu po svojim antiendotoksičnim efektima su fluniksin meglumin, polimiksin B sulfat i pentoksifilin. Efekat ovih lekova kod novorođene ždrebadi nije pouzdano utvrđen, premda se kod drugih životinja, uključujući i odrasle konje, duži niz godina koriste. Fluniksin meglumin i polimiksin B su potencijalno nefrotoksični, zbog čega se moraju koristiti sa oprezom. Pentoksifilin po nekim zapažanjima smanjuje mortalitet kod septikemične novorođenčadi bez uzgrednih efekata. Primena kortikosteroida je takođe pod znakom pitanja. Potvrđeno je da visoke doze kortikosteroida, koje se inače preporučuju u šoku, povećavaju mortalitet kod novorođene ždrebadi. Nasuprot tome, kod ljudi u septičkom šoku je primećeno da hidrokortizon u fiziološkim dozama smanjuje mortalitet.

Kako većina ždrebadi u sepsi ima nedovoljnu koncentraciju imunoglobulina, preporučuje se infuzija plazme. Postoje i komercijalni preparati imunoglobulina za ždrebadi. Ako se koristi plazma, najčešće preporučene doze su 20 ml/kg (oko 1 litar za ždrebe od 45 kg (Rumbaugh i Ardens 1983; Koterba i sar., 1984; Robinson i sar., 1993; Trailović i sar., 2000).

Kontrola transfera kolostralnih imunoglobulina je po svemu sudeći najvažnija. Postoje brzi testovi za merenje nivoa imunoglobulina unetih kolostrumom, kojima se nalaz iz kapi krvi ili krvnog seruma dobija za nekoliko minuta. Pravovremeno otkrivanje agamaglobulinemije omogućava pravovremenu supstituciju imunoglobulina i preveniranje infekcije, ako su prethodno obezbeđeni odgovarajući preparati za nadoknadu imunoglobulina. Važan deo preventive predstavlja priprema banke kolostruma i drugih preparata za nadoknadu imunoglobulina, pronalaženje eventualnih mogućnosti za efiksnije iskorišćavanje kolostralnih imunoglobulina (Freeman i Paradis, 1992; Trailović i sar., 2000, 2003, 2004; Fratrić i sar., 2005) i dobro organizovan postupak pripreme za ždrebljenje i prihvatanje novorođene ždrebadi.

Literatura / References

1. Baldwin JL, Cooper WL, Vanderwall DK, Erb NH. Prevalence (treatment days) and severity of illness in hypogammaglobulinemic and normogammaglobulinemic foals. *JAVMA* 1991; 198(3): 423-8.
2. Brewer BD, Koterba AM. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine Vet J* 1988; 20: 18-22.
3. Brewer BD, Koterba AM. Neonatal septicemia. In Robinson EN: Current therapy in equine medicine, WB Saunders Company, Philadelphia, 1987.
4. Brewer BD. Neonatal infection. In Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC (eds): *Equine clinical neonatology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
5. Cohen ND. Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1644-51.
6. Drummond WH, Koterba AM. Neonatal asphyxia. In Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC. *Equine clinical neonatology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
7. Drummond WH. Neonatal shock: Pathophysiology and management. In Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC (eds): *Equine clinical neonatology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
8. Evans TW, Smithies M. ABC of dysfunction: Organ dysfunction. *Br Med J* 1999; 318(7198): 1606-9.
9. Fratrić N, Stojić V, Janković D, Šamanc H, Gvozdić D. The effect of a clinoptilolite based mineral adsorber on concentrations of immunoglobulin G in the serum of newborn calves fed different amounts of colostrum. *Acta Vet, Belgrade* 2005; 55(1): 11-21.
10. Freeman L, Paradis MR. Evaluating the effectiveness of equine neonatal care. *Equine Pract* 1992; 14: 921-6.
11. Furr M, Tinker MK, Edens L. Prognosis for neonatal foals in an intensive care unit. *J Vet Int Med* 1997; 11: 183-8.
12. Gayle JM, Cohen ND, Chaffin MK. Factors associated with survival in septicemic foals: 65 cases (1988-1995). *J Vet Int Med* 1998; 12: 140-6.
13. Hoffman AM, Staempfli HE, Willan A. Prognostic variables for survival of neonatal foals under intensive care. *J Vet Int Med* 1992; 6: 89-95.
14. Kosch PC. *Equine clinical neonatology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
15. Koterba AM, Brewer BD, Tarplee FA: Clinical and clinico-pathological characteristics of septicemic neonatal foal: Review of 38 cases. *Equine Vet J* 1984; 16(4): 376-82.
16. Koterba AM. Diagnosis and management of the normal and abnormal foal: General considerations. In Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC (eds). *Equine clinical neonatology*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990.
17. Lauš S. Humoralni imunološki odgovor gravidnih kobila na konjski herpesvirus 1 u uslovima prirodne infekcije i eksperimentalne vakcinacije. Magistarski rad, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2001.
18. Lauš S, Lazić S, Milić N, Trailović D. Prilog poznavanju humoralnog odgovora na vakcinu protiv EHV 1 kod ždrebadi kobila. Zbornik radova trećeg savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja *Clinica veterinaria* 2001, Budva, 2001.

19. Lavoie JP, Madigan JE, Cullor JS, Powell WE. Haemodynamic, pathological, haematological and behavioural changes during endotoxin infusion in equine neonates. *Equine Vet J* 1990; 22(1): 23-9.
20. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1990, 341(8): 586-92.
21. Mac Kay RJ. Inflammation in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2000; 16(1): 15-27.
22. Moore JN, Barton MH. An update on endotoxaemia. Part 1: Mechanisms and pathways. *Equine Vet Educ* 1998; 10(6): 300-6.
23. Morris DD. Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. *J Vet Intern Med* 1991; 5(3): 167-81.
24. Murray MJ, Del Piero F, Jeffrey SC. Neonatal equine herpesvirus type 1 infection on Thoroughbred breeding farm. *J Vet Intern Med* 1998; 12(1): 36-41.
25. Perkins G, Ainsworth DM, Erb HN. Clinical, haematological and biochemical findings in foals with neonatal equine herpesvirus-1 infection compared with septic and premature foals. *Equine Vet J* 1996; 31(5): 422-6.
26. Purvis D, Kirby R. Systemic inflammatory response syndrome: Septic shock. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994; 24(6): 1225-47.
27. Robinson JA, Allen GK, Green EM. A prospective study of septicemia in colostrum-deprived foals. *Equine Vet J* 1993; 25(3): 214-9.
28. Rumbaugh GE, Ardens AA. Immunological disorders. In Robinson NE (ed) *Current therapy in equine medicine*, WB Saunders, Philadelphia, 1983.
29. Sanchez LC. Equine neonatal sepsis. *Vet Clin Equine* 2005; 21, 273-93.
30. Trailović D, Petrujkić T, Jermolenko G, Trailović R, Sinovec Z. Neonatal mortality of Thoroughbred foals in Serbia from 1981 to 1991. *Proceedings of first european symposium on horse reproduction*, Bad Harzburg, 1992.
31. Trailović D, Stepanović P, Urošević M: Kolostralni imunitet i patologija novorođene ždrebadi, *Zbornik radova 2. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja*, *Clinica veterinaria* 2000, Budva, 2000.
32. Urošević M, Rađenović Ž, Trailović D, Lazić S: Prilog poznavanju faktora značajnih za procenu rizika od pojave herpesvirusnih abortusa u zapaćima sa latentnom EHV - 1 infekcijom, *Zbornik radova trećeg savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja* *Clinica veterinaria* 2001, Budva, 2001.
33. Trailović D, Lazarević M, Urošević M, Jovanović M, Tikvicki G, Pražić M: Failure of colostrum immunoglobulin transfer in newborn foals, *Proceedings of 5th Symposium in Animal Clinical Pathology and Therapy*, *Clinica Veterinaria* 2003, Budva, 2003.
34. Trailović D, Urošević M, Lazarević M, Marinković D. Značaj poremećaja transfera kolostralnih antitela u patologiji novorođene ždrebadi. *Zbornik radova 6. međunarodnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja*, *Clinica veterinaria* 2004, Budva, 2004.

ENGLISH

ETHIOPATHOGENESIS, DIAGNOSTICS AND THERAPY OF FOAL NEONATAL SEPTICEMIA

S. Lauš, D. Trailović, S. Đoković

Sepsis is very frequent cause of neonatal foal deaths. It is systemic inflammation developing after infective agents break into in the foal circulation with progressive disturbance of health not responding to intensive therapy. Systemic inflammatory response and development of the shock in first phase of the sepsis development lead to massive organ damages and progression of organ dysfunction syndrome further promoting loss of homeostatic mechanisms and death of foal.

During the period of three decades high mortality rate of newborn foals have been reported. Among most frequent causes of foal deaths beside EHV1 infection, bacterial sepsis mostly accompanied with insufficient colostral immunity transfer was documented.

Fast development of the non-specific symptoms and shock in foals are often misleading diagnostics thus prolonging the onset of specific therapy. Therefore the effective clinical procedures, beside close observation of newborn foals, depend upon fast recognition of mechanisms of infection and shock development.

Since time-consuming procedure is necessary for identification of the causative infective agent and the evaluation of its susceptibility on antibiotics, the therapy if symptomatic and include intravenous administration of fluids in aim to correct glycaemia and acid-base disturbance, antibiotic and antitendotoxic treatment, and substitutive treatment of immunoglobulin deficiency in all cases of passive immune transfer failure involved in sepsis development.

Key words: foals, neonatal infections, sepsis, shock, therapy

РУССКИЙ

НЕОНАТАЛЬНАЯ СЕПТИЦЕМИЯ ЖЕРЕБЯТ: ЭТИОПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ

С. Лауш, Д. Траилович, С. Джокович

Сепсис - без сомнения одна из самых частых причин околения новорождённых жеребят. Характеризуется системным воспалительным ответом на прорыв инфекционного агента в циркуляцию, с прогрессивным ухудшением состояния здоровья вопреки интенсивной терапии. Как следствие системного воспалительного ответа организма и шока, составляющие первую фазу сепсиса, во второй фазе приходит до объёмистых органических повреждений (синдром органической дисфункции), которые ответственны для разлома гомеостатических механизмов и быстрое околение.

В течение последних лет тридцать в Сербии зарегистрирован высокий процент околения новорождённых жеребят, при чём к герпесвирусу тип I в значительном проценте причина околения был бактериальный сепсис, чаще всего в

связи с недостаточным трансфером колостральных иммуноглобулинов, что в бoльше случаев подтверждено.

Быстрое течение болезни с неспецифической клинической картиной и состояние шока затрудняют своевременное узнавание симптомов и принятие соответствующей терапии, вследствие чего для более эффективного предупреждения таких явлений, при внимательной клинической обсервации новорождённых в первых днях жизни, необходимо хорошее познание механизмов инфекции и шока.

Как для подтверждения диагноза - идентификации возбудителя и испытание его чувствительности к антибиотикам нужно достаточно времени, терапия чаще всего симптоматическая и охватывает внутривенное возмещение жидкости, электролитов и глюкозы, коррекцию ацидощелочных нарушений, применение антибиотиков и антиэндотоксических субстанций, затем субстанцию дефицитных иммуноглобулинов, во всех случаях, когда причина сепсиса был недостаточный трансфер колостральных иммуноглобулинов.

Ключевые слова: жеребята, неонатальные инфекции, сепсис, шок, терапия

GRIP – INFLUENZA* INFLUENZA – FLU

M. A. Valčić, Sonja Radojičić**

Bilo da se radi o ljudima ili životinjama kao pacijentima, u infektologiji postoje oboljenja koja mogu značajno da smanje populaciju prijemčivih vrsta. Svakako da je pažnja infektologa u proteklih nekoliko decenija usmerena ka onim oboljenjima koja mogu svojom pojavom da "napune" prve strane tabloida. Treba se setiti spongioformnih encefalopatija, SARS-a ili SIDE. Međutim, istorijski gledano jedno od najopasnijih oboljenja je stari dobri poznanik grip ili influenza. U protekloj deceniji se govorilo o ptičjem i svinjskom gripu. Međutim, radi se o jednom oboljenju svojstvenom većem broju vrsta, koje svoje karakteristike duguje, sa jedne strane, biologiji virusa, a sa druge, epidemiološko-epizootičkim karakteristikama prijemčivih vrsta. Izmene antigenih struktura koje se dešavaju zahvaljujući mehanizmima reasortiranja segmenta gena uslovljavaju pojavu novih kombinacija tipičnih antigenih molekula virusa (hemaglutinina i neuraminidaze). Kao rezultat, ove izmene mogu da daju one kombinacije H i N molekula koji se po prvi put javljaju u prirodi što znači da nijedna osoba niti jedinka prijemčivih vrsta nije imuna. Samim tim, virusi sa ovakvim kombinacijama antigene strukture, mogu da uslove pandemiju i/ili panzootiju neviđenih razmera, pri čemu treba imati na umu i da u pojedinim populacijama, kako ljudi tako i životinja, mortalitet može da bude veoma visok. Ono što je sigurno jeste da su ptice i svinje rezervoari virusa, ali i žive epruvete u kojima se virus menja, prilagođava vrsti-domaćinu i izlazi iz kruga date vrste-domaćina ka ljudima ili drugoj nekoj vrsti. To znači da kod gripa ne postoji tipično oboljenje za neku od vrsta (ptičji i svinjski) već se radi o infektivnoj bolesti koja je karakteristična za nekoliko vrsta i koja ima potencijal da utiče ne samo na brojnost populacije ljudi i životinja već i na socio-ekonomske prilike u regionima sveta.

Ključne reči: influenza, virusi, imunitet, pandemija

* Rad primljen za štampu 20. 01. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Miroslav A. Valčić, redovni profesor, dr sci. med. vet. Sonja Radojičić, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Baogradu, R Srbija

Uvod / Introduction

Grip ili influenza je veoma kontagiozno akutno oboljenje koje zahvata gornje i donje partije respiratornog trakta, a za koje se zna još od antičkih vremena. Kod inficiranih jedinki, simptomi se javljaju naglo. Nagla pojava epidemija (i epizootija) respiratornih oboljenja koja traju nekoliko nedelja i njihovo naglo nestajanje, omogućavaju nam da jasno razlikujemo nekoliko masovnih epidemija u toku istorije ljudske civilizacije. Prvi pisani podaci datiraju iz 412. godine pre nove ere, kada je Hipokrat opisao epidemiju oboljenja koje je po opisu simptoma odgovaralo gripu. Sve do današnjih dana, epidemije su se često ali neredovno pojavljivale. U nekim periodima vremena, čak se činilo da je influenza iskorenjena. Međutim, posle više od 70 godina izučavanja biologije virusa i samog gripa kao oboljenja, može se zaključiti da se u pravilnim vremenskim razmacima javljaju epidemije i epizootije sezonskog gripa. Pandemije se javljaju u nepravilnim vremenskim razmacima i relativno često.

Termin influenza se po prvi put spominje u Italiji, sredinom 18. veka kada se verovalo da oboljenje nastaje pod uticajem (influence) mijazmi (prljavog vazduha) iz vazduha i astroloških znakova. Naravno, danas se zna da je grip nastao kao rezultat prenosa virusa sa životinja na čoveka i to pre oko 6000 godina kada su obavljene prve domestikacije divljih vrsta životinja (Brothwell i Sandison, 1967).

Iako se čini da je simptomatologija gripa relativno blaga, treba naglasiti da se radi o oboljenju kod koga se ne može isključiti fatalan ishod. Naime, smatra se da su od gripa umrli milioni ljudi u toku proteklih vekova. Naročito je bila snažna pandemija u toku 1918. i 1919. godine, krajem Prvog svetskog rata. Smatra se da je tada od "španske groznice" umrlo između 20 i 40 miliona ljudi (Reid i sar., 2001).

Ako analiziramo podatke koji mogu da se dobiju od "seroarheologije", može da se zaključi da je prva zvanično registrovana epidemija (1889 – 1890) bila uzrokovana virusom koji je nazvan Azijskim i koji je imao antigenu formulu H2N2. Ova kombinacija osnovnih antigenih struktura virusa se često sreće kod vodenih ptica. Epidemija iz 1900. godine bila je izazvana sojem virusa koji je nalikovao tzv. Hong Kong virusu i koji je sličan virusu koji izaziva oboljenje kod konja (H2N8). Ono što je od posebnog značaja jeste da je epidemiju krajem Prvog svetskog rata izazvao virus koji je potekao iz svinja i čija je antigena formula H1N1.

Sve do 1933. godine, kada je obavljena izolacija virusa, bilo je nemoguće odrediti o kojem se antigenom sastavu virusa uzročnika gripa radi. Od tada, značajne antigene promene mogu da se vremenski lociraju u pojedine godine koje označavaju nagle promene antigene strukture virusa. Naime, do 1957. godine dominantan je bio virus H1N1, koji te godine ustupa mesto virusu H2N2. Slede 1968. godina, kada se pojavio Hong Kong virus (H3N2), i 1977. godina (ponovono pojavljivanje H1N1). Godine 1997. i 1999. kao i 2005. pojavljuje se

takozvani "ptičji" virus čija je antigena formula H5N1 (Sharp i sar., 1997). Krajem 2009. godine na scenu ponovo stupa H1N1

Virus

Uzročnik gripa spada u ortomiksoviruse, a koren reči potiče iz grčkog jezika. Naime, *myxa* na grčkom jeziku znači sluz, što ukazuje na afinitet ovih virusa za mukopolisaharide i glikoproteine, koji se naročito nalaze u vidu sijalinske kiseline na površini ćelija sluznica. Danas razlikujemo tri tipa ovih virusa: A, B i C. Razlika između ovih tipova se odnosi na:

- prijemčivost (virusi tipa A izazivaju oboljenja životinja i ljudi, a oni tipa B i C su prevashodno izazivači oboljenja ljudi),
- površinske glikoproteine (tip A ima veću varijabilnost nego B i C) i
- morfološke i molekulske karakteristike koje ukazuju na veću sličnost tipa A i tipa B u odnosu na tip C koji poseduje samo sedam segmenata RNK.

Ortomiksovirusi poseduju RNK negativnog polariteta. Virusni genetski materijal je organizovan u osam segmenata kod A i B tipova, što je od naročite važnosti za menjanje antigenih karakteristika i pojavu novih sojeva virusa. RNK virusa poseduje deset gena (Steinhauer i Skehel, 2002).

Sa morfološkog stanovišta, radi se o virusu sferičnog oblika, prečnika oko 120 nm, a od posebnog značaja su filamentozne strukture nalik na antene koje se radijalno prostiru u virusnu okolinu. Ove strukture čine sloj koji okružuje virusnu česticu i mogu da se podele u dve grupe. Prvu čine molekuli hemaglutinina (H), a drugu neuraminidaze (N). Ove štapičaste strukture su za virusnu česticu vezane preko sloja lipida koji potiče od ćelije u kojoj se virus umnožavao.

Za biologiju virusa gripa od posebnog značaja su dva glikoproteina membrane. Hemaglutinin je ravnomerno distribuiran i čini oko 25 posto proteina površine virusa. Njegova uloga je da omogući priljublivanje virusne čestice za ćelijske receptore. Ovaj glikoprotein uslovljava i spajanje virusnog omotača sa intracelularnom membranom što omogućava ulazak virusnog nukleokapsida u citoplazmu. Specifična antitela koja se sintetišu protiv ovog antigena neutrališu aktivnost virusa sa jedne strane, a varijabilnost hemaglutinina je osnov stalne evolucije virusa uzročnika gripa.

Drugi, ali ne i manje značajan glikoprotein virusa je neuraminidaza (N). Ovaj enzim je neravnomerno raspoređen po površini virusa. Između ostalog, on onemogućava agregaciju virusnih čestica van ćelija, ometa blokirajući efekat mukopolisaharida sluznica respiratornog trakta i olakšava pomeranje virusa po površini ćelije (Enami i Enami, 1996). Na posletku, neuraminidaza cepa vezu između virusa i ćelijske membrane omogućavajući mu da napusti ćeliju u kojoj se umnožavao (Palese i sar., 1974). Hemaglutinin je osnovni antigen virusa u smislu sinteze neutralizacionih antitela. U poređenju sa njime, neuraminidaza je slabiji imunogen i neutralizaciona antitela na ovaj molekul su slabija. Međutim, shodno

svojoj kompleksnoj ulozi u biologiji virusa, i antitela koja su specifična za neuraminidazu značajno doprinose neutralizaciji virusnih čestica (Huang i sar., 1980).

Za antigenost virusa gripa, od značaja je i treći tzv. nukleoprotein (NP). Na osnovu njega, vrši se determinacija A, B i C ortomiksovirusa. Ovaj protein, koji se u toku infekcije nagomilava u jedru inficirane ćelije, ima nekoliko funkcija u biologiji virusa, a naročito u replikaciji i transkripciji. Molekuli nukleoproteina su podeljeni u pet grupa (Bean, 1983). Dve su karakteristične za ptičje viruse, dve za viruse konja, a jedan je karakterističan za viruse koji napadaju ljude i svinje. Smatra se da ova specifičnost nukleoproteina predstavlja osnovu njihove prijemčivosti pojedinim vrstama životinja (Snyder i sar., 1987).

Posle ulaska virusa u ćeliju, slede kompleksni procesi replikacije virusnog genetskog materijala (jedro), sinteze virusnih strukturnih komponenti (citoplazma) i na kraju formiranje zrele virusne čestice. Virus uzročnik influence je neobičan u odnosu na ostale RNK viruse po tome što se celokupni proces sinteze nukleinske kiseline obavlja u jedru inficirane ćelije. Dakle, jedro inficirane ćelije je mesto formiranja nukleokapsida virusa ali istovremeno i mesto reasortiranja i varijacija. Omotač virusa se formira na površinskoj membrani inficirane ćelije (Johnson i Chiu, 2000).

Reproduktivni ciklus virusa započinje vezivanjem za proteine ili lipide na površini prijemčive ćelije, a koji sadrže sijalinsku kiselinu. U ćeliju, virus ulazi procesom endocitoze. U intracitoplazmatskoj vezikuli u kojoj se nalazi virus dolazi do smanjivanja pH što uslovljava spajanje virusne membrane sa membranom vezikule, što kao posledicu ima oslobađanje virusnog nukleokapsida u citoplazmu ćelije. Nukleokapsid, koji poseduje jednu kopiju RNK⁻, veći broj kopija nukleoproteina i P-proteina, biva transportovan u jedro inficirane ćelije. Pod dejstvom virusne RNK polimeraze, negativno orijentisan molekul RNK biva kopiran u informacionu virusnu RNK. Tom prilikom se koriste prajmeri koji su ćelijskog porekla. Ovako u jedru sintetisana virusna iRNK, prelazi u citoplazmu gde se odvija translacija i sinteza virusnih proteina (H, N i M2) na ribozomima koji se nalaze na endoplazminom retikulumu ćelije. Ovi proteini prate put koji je uobičajen za sekretorne proteine ćelije domaćina, pri čemu hemaglutinin i neuraminidaza bivaju glikolizovani. Svi ostali virusni proteini sintetišu se na ribozomima inficirane ćelije pomoću informacionih RNK virusa. Neki od ovih proteina (PA, PB1, PB2 i NP), vraćaju se u jedro gde učestvuju u sintezi celokupnog molekula RNK, pozitivnog polariteta. Posle toga, a na osnovu ovog molekula, obavlja se sinteza kopija virusne RNK, negativnog polariteta. Obe virusne RNK (pozitivnog i negativnog polariteta) sintetišu se u vidu nukleokapsida. Neke od novosintetisanih virusnih RNK⁻, ponovo ulaze u ciklus sinteze informacionih RNK. Specifični virusni proteini (M1 i NS1) se transportuju u jedro. Prekidanje proizvodnje virusnih informacionih RNK nastaje onda kada se M1 virusni protein veže za virusnu RNK⁻. Ova veza, zajedno sa NEP^{*} proteinom, koji omogućava transport molekula iz jedra, izaziva prenošenje nove generacije nukleokapsida u citoplazmu inficirane ćelije.

* NEP: Nuclear export protein

Paralelno sa ovim procesom, molekuli hemaglutinina, neuraminidaze i M2 proteina, bivaju preneseni do plazma membrane i inkorporisani u nju. Virusni nukleokapsidi, zajedno sa M1 i NEP proteinima, bivaju prebačeni do plazma membrane na kojoj se već nalaze inkorporisani H i N proteini. Na taj način, na površini ćelije obavlja se kompletno formiranje virusa koji pupljenjem napušta ćeliju u kojoj se umnožavao (Flint i sar., 2004).

Izmena antigenog sastava / *Changes in antigen composition.* Ovo je osobina virusa uzročnika gripa zbog koje se za sada nije moguće uspešno boriti protiv i/ili kontrolisati ovu bolest. Sama činjenica da se radi o prvom virusu koji je analiziran kvantitativnim genetskim metodama ukazuje na to od kakvog je značaja poznavanje i donekle predviđanje antigenih karakteristika uzročnika gripa (Burnet i Edney, 1951).

Prva ispitivanja promena antigenog sastava virusa gripa pokazala su da su rekombinacije gena bile daleko češće nego kod drugih virusa koji izazivaju oboljenja u životinjskom carstvu, a čija je karakteristika izmena antigenosti. Kasnije je potvrđeno da je razlog za ovaj fenomen segmentovanost genetskog materijala virusa influence (Pons, 1976). U suštini, radi se o mehanizmu razmene celih segmenata virusa. To znači da ako dva virusa inficiraju jednu ćeliju, što se u prirodi često dešava, oni će slobodno razmenjivati osam segmenata RNK. Ovaj fenomen razmene se naziva **reasortiranje**. Kao rezultat ove razmene, nastaju nove generacije virusa sa najrazličitijim kombinacijama gena, a samim tim i antigenim karakteristikama. Danas se smatra da od svih virusa koji napuste ćeliju u kojoj su se umnožavala dva virusa, 27 posto poseduje reasortirane virusne čestice. Reasortiranje kao pojam treba razlikovati od tradicionalnog pristupa genetskih rekombinacija*. Smatra se da daleko veća učestalost reasortiranja genetskog materijala u poređenju sa mehanizmom rekombinacije gena igra ključnu ulogu u složenim procesima izmena antigena virusa influence.

Reasortiranje kao posledicu ima izmenu antigenog sastava, što u osнови znači da dolazi do značajnih izmena tj. supstitucija aminokiselina u proteinskim lancima koji čine antigenu strukturu virusa. Za ovakve viruse se kaže da poseduju strukturnu plastičnost. To znači da u ukupnom broju virusa koji se nalaze u jednom inficiranom organizmu, veliki broj virusnih čestica ima do te mere izmenjenu antigenu strukturu da na njih ne deluju neutralizaciona antitela. Otuda je reinfekcija imunih jedinki (samim tim i ljudi) moguća i, štaviše, česta (Xu i sar., 2001).

Važno je napomenuti da reasortiranje može da se odigra samo u okviru tipova virusa. To znači da nema razmene genetskog materijala između virusa tipa A i B ili C.

Virus uzročnik gripa može uspešno da se umnožava u kulturi ćelija. Osnovni način proizvodnje vakcina jeste umnožavanje na embrioniranim ko-

* Genetske rekombinacije DNK ili RNK nastaju kao posledica krosing overa ili mehanizama kojima se kopiraju geni.

košjim jajima, a citopatogeni efekat izaziva u brojnim drugim ćelijskim linijama poreklom od većeg broja životinjskih vrsta (Frank i sar., 1979).

Izolovani su neki miksovirusi iz krpelja, ali je njihov značaj u epidemiologiji i epizootologiji nejasan (Fuller i sar., 1987).

Patogeneza gripa / *Flu pathogenesis*

Većina informacija koja se odnosi na patogenezu gripa dobijena je ispitivanjem infekcije kod **ljudi**. Međutim, imajući u vidu biologiju ovog virusa, moguća je ekstrapolacija scenarija infekcije i na ostale prijemčive vrste životinja koje su od ekonomskog značaja.

Sa inficirane osobe, virus se na prijemčivu osobu prenosi prevažno kontaminiranim aerosolima u kojima se nalaze partikule ne veće od 2 mikrona i koje mogu dopreti do donjih segmenata pluća. Smatra se da se u većini slučajeva infekcija širi kašljem i kihanjem, ali se ne može isključiti ni prenos virusa direktnim kontaktom.

Veliki broj ćelija u prijemčivom domaćinu poseduje receptore za virus. Međutim, uzročnik gripa je relativno izbirljiv u odnosu na ćelije u kojima će se umnožavati. Veza molekula hemaglutinina sa terminalnim segmentima sijalinske kiseline na prijemčivim ćelijama je relativno slaba. Moglo bi se reći da je afinitet ove veze relativno slab. Ali, veliki broj molekula hemaglutinina i istovremeno velika gustina negativno električno nabijenih molekula sijalinske kiseline čini vezu virusa i ćelije veoma čvrstom tj. aviditet ovakve veze je značajan. Sa druge strane, hemijska priroda hemaglutinina i sijalinske kiseline i razlike koje se pojavljuju između vrsta (ptice i čoveka na primer) značajno utiču na prijemчивost vrsta na pojedine sojeve virusa gripa. Te iste razlike utiču i na tkiva koja će podržavati patogeno delovanje virusa. Tako na primer, avijarni sojevi virusa uspešno se umnožavaju u intestinalnom traktu. Kod ljudi to nije slučaj (Han i sar., 2001).

Prva replikacija virusa odigrava se u ćelijama epitela koje poseduju cilije. Virus se umnožava u ćelijama duž respiratornog trakta, a najintenzivnija replikacija je oko 48 sati posle infekcije. Šest do osam dana posle inficiranja samo neznatne količine virusa mogu da se dokažu u respiratornom traktu. Najveća količina virusa se izlučuje četvrtog i petog dana od inficiranja. Izlučivanje virusa je duže kod mlađih jedinki. U prvih nekoliko dana dominiraju simptomi oštećenja respiratornog trakta, a kasnije se ispoljavaju simptomi sistemske infekcije uslovljene oslobađanjem citokina (Mims i sar., 2001).

Najčešće se kao posledica delovanja virusa nalaze simptomi oštećenja respiratornog trakta i to kako gornjih tako i donjih segmenata. Kod dece se javljaju bol u abdomenu, povraćanje, otitis media i miozitis. Često se na oštećenja izazvana virusom, nasele bakterije u kom slučaju se razvija bakterijska pneumonija.

U nekim slučajevima, tokom infekcije ljudi dolazi do oštećenja CNS-a i to u vidu influenza encefalopatije sa smrtnim ishodom i post-influenca encefalitis (Delorme i Middleton, 1979).

Influenca virus, tip A može da inficira čoveka ali i veći broj ekonomski značajnih životinjskih vrsta. Tip B je do sada izolovan samo iz čoveka. Za tip C se do nedavno smatralo da inficira samo ljude. Međutim, 1983. godine ovaj tip virusa je izolovan iz obolelih svinja (Guo i sar., 1983).

Veliki broj vrsta **ptica** je prijemčiv na virus gripa. Naročito se često virus može izolovati iz vodenih vrsta ptica kao što su patke, guske ili galebovi. Simptomi mogu da variraju, ali infekcija sa većinom izolata virusa obično prolazi bez simptoma. Međutim, postoje neki sojevi virusa koji izazivaju fatalno sistemsko oboljenje sa čestim nervnim simptomima. Virusi koji izazivaju oboljenja kod ptica sa visokim mortalitetom često poseduju H5 ili H7 tip hemaglutinina (Nestorowicz i sar., 1987).

Virus se umnožava u ćelijama respiratornog trakta, ali i u intestinalnom traktu što je od naročitog značaja s obzirom na to da se velika količina virusa izlučuje preko fecesa ptica. Naime, relativna otpornost virusa, njegovo umnožavanje u intestinalnom traktu i izlučivanje preko fecesa je jedna od karakteristika virusa influence ptica. Smatra se da i period kliconošta može da traje duže, i preko 30 dana. U prirodi, virus se održava vijabilnim u zamrznutim vodama jezera gde sačeka novi talas prijemčivih ptica selica koje se vrata u proleće. Od posebnog značaja za održavanje virusa u prirodi su patke koje najčešće asimptomatski obole pa se smatra da se u ovom slučaju radi o međusobnoj adaptaciji virusa i ove vrste ptica. To sa druge strane znači da patke zauzimaju važno mesto u prirodnoj istoriji virusa gripa.

Svinje su prijemčive na nekoliko različitih varijanti virusa gripa, a najčešće mogu da se izoluju H1N1 i H3N2. Od naročitog značaja je prva varijanta, koja može da bude zastupljena ne samo kod svinja već i kod ljudi i ptica. Međutim, druga varijanta takođe može da se izoluje iz obolelih osoba.

Oboljenje po simptomima nalikuje na ono kod ljudi. Štaviše, u nekoliko navrata, virus H1N1 je izolovan istovremeno i iz ljudi i iz svinja na istoj farmi. Smatra se da oko 20 posto seropozitivnih slučajeva radnika u klaničnoj industriji inficirano virusom koji je bio prisutan u svinjama koje su upućene na klanje (Dacso i sar., 1984). Što se svinja tiče, smatra se da je oko četvrtina svih svinja na svetu bila barem jednom inficirana virusom gripa. Istovremeno, korigovano je ranije shvatanje da je influenza svinja sezonsko oboljenje.

Od 1980. godine epizootije gripa svinja u Evropi bile su izazivane virusom H1N1 koji je više bio sličan ptičjim izolatima nego izolatima iz svinja Severne Amerike. Zabeležen je morbiditet 100 posto i mali mortalitet, a epizootiološki aspekt gripa svinja se još više komplikovao ponovnim unosom virusa H1N1 iz Severne Amerike i povremenim prenosom virusa H1N1 sa ljudi na svinje.

Virus gripa se retko izoluje iz **konja**. Za ovu vrstu su karakteristična dva influenza virusa tipa A: H7N7 i H3N8 koji daje jače izražene simptome u od-

nosu na prvi. I kod konja su simptomi infekcije vezani za promene u respiratornom traktu, a zabeležene su i promene u vidu intersticijalnog miokarditisa, gnojnog faringitisa, sinuzitisa i hronične bronhopneumonije.

Prenošenje virusa gripa u populaciji konja dešava se u toku sajмова i sportskih događaja. Influenca konja se kontroliše vakcinama, ali za razliku od imuniteta kod ljudi, zaštita kod konja ne traje više od tri meseca. Razlog za to svakako nije imunogenost i potencija vakcine već se radi o jedinstvenoj osobini konja kao vrste da slabije odgovori na vakcinalni imunogen influenza virusa (Mumford i sar., 1983).

Pored navedenih vrsta, virus influence može da inficira i ostale, ekonomski manje značajne vrste kao što su primati, lasice, mnogobrojne vrste divljih ptica, foke, kitove itd.

Ishod gripa / *Flu outcome*

Grip je respiratorno oboljenje koje je jedinstveno i po tome što se za njega vezuje visok stepen mortaliteta među inficiranim jedinkama, pa i među ljudima. Što se tiče morbiditeta, postoji dobna predispozicija. Prijemčivije su osobe mlađe od 20 godina. Međutim, mortalitet je značajno veći kod starijih osoba. Iste karakteristike gripa važe i za oboljenja koja se nalaze i kod ostalih prijemčivih vrsta. Ipak, neke epidemije su bile neobične i sa izuzetno velikim mortalitetom. Tu se izdvaja pandemija 1918. i 1919. godine. Naravno, ne može se isključiti uticaj spoljašnjih nepovoljnih faktora (Prvi svetski rat) kao i nedostatak antibiotika. Međutim, broj umrlih koji se merio desetinama miliona ljudi, podseća na periode kada je Evropom, ali i svetom, harala kuga ljudi.

Različiti nespecifični činioci mogu da utiču na ishod bolesti. Kod ljudi to su kardiovaskularna oboljenja, pušenje, pulmonalne smetnje, metabolički poremećaji, neoplazije i graviditet. U najrizičniju grupu spadaju osobe starije od 65 godina koje imaju neku od smetnji na kardiovaskularnom ili respiratornom traktu. Ispitivanja su pokazala da se polovina svih smrtnih slučajeva nalazi u populaciji osoba sa smetnjama ove prirode a koje obolele osobe na neki način (terapija) drže pod kontrolom (Barker i Mullooly, 1980).

Imunitet / *Immunity*

Imunitet protiv gripa se zasniva na specifičnim imunskim mehanizmima protiv glikoproteinskih komponenti spoljašnjeg omotača virusa. U odnosu na zaštitu od homolognog soja virusa, imunitet je veoma dugotrajan i solidan (traje decenijama). U slučaju manjih antigenih izmena (drift) imunitet u populaciji traje nekoliko godina (Frank i sar., 1987).

Od urođenih mehanizama odbrane od virusa gripa najznačajniju ulogu imaju interferoni. Radi se o citokinima koji prvi stupaju u borbu sa virusima i čiji se efekat ogleda u inhibiciji penetracije virusa u ćeliju, sprečavanju sinteze vi-

rusnih informacionih RNK i sinteze virusnih proteina i sprečavanju replikacije virusnog genetskog materijala. Na posletku, funkcija interferona se ogleda i u inhibiciji formiranja zrelih virusnih čestica i sprečavanju virusa da napusti ćeliju u kojoj se umnožavao (Ryman i sar., 2000). Sa druge strane, virus influence poseduje protein (NS1) koji može da inhibira sintezu interferona.

U odbrani od virusa, najznačajniji su specifični imunoglobulini i to za molekul hemaglutinina. Anti HA antitela neutrališu virusnu infektivnost. Anti NA antitela deluju kada je infekcija već otpočela tako što sprečavaju širenje virusa u okviru respiratornog trakta. Od naročitog značaja je takozvani sekretorni imunitet. Naime, radi se o imunoglobulinima klase A, koji su od ključnog značaja za zaštitu sluznica. Pored blokade virusnih receptora (H i N molekuli), ova antitela mogu da blokiraju virusnu replikaciju u unutrašnjosti inficirane epitelne ćelije sluznice. Naime, da bi se našla na površini sluznica, IgA antitela moraju da prođu kroz epitelne ćelije. Tom prilikom, ona mogu da stupaju u interakciju sa virusnim antigenima koje se nalaze unutar ćelije (Lamm, 1997).

Ćelijski imunitet takođe značajno doprinosi odbrani od infekcije, pri čemu su i u ovom slučaju receptori na T-limfocitima specifični za dva osnovna virusna antigena (H i N). Oporavak od infekcije zavisi od sinteze interferona i ćelijskog imunog odgovora.

Vaccine / Vaccines

Imunoprofilaksa gripa se obavlja samo kod ljudi. U nekim periodima vaccine su se koristile i za profilaksu oboljenja kod konja, međutim, slab imunitet koji ova vrsta razvija posle vakcinacije uslovio je da se na tržištu retko nalaze vaccine protiv influence konja.

Vakcinacija je za sada najznačajnija mera kojom se smanjuju morbiditet i mortalitet izazvani virusom influence (gripa) ljudi. Izračunato je da u SAD-u obolevanje ljudi od gripa državu košta oko 12 milijardi dolara. Ova suma je daleko veća od cene vakcina, koja iznosi oko jedan dolar po dozi.

Kod ljudi se koriste inaktivisane vaccine i to od cele virusne čestice ili preparati koji sadrže pojedine segmente virusa (split vakcina). Vakcinalni soj virusa se proizvodi u alantoisnoj šupljini embrioniranih kokošnjih jaja. Virus se u vakcinama u kojima se nalaze cele virusne čestice, inaktivira formalinom. U proizvodnji takozvane split vaccine, virus se inaktivira formalinom, a onda se hemijskim putem razara čestica virusa. U toku tog procesa, razlaže se lipidna komponenta omotača virusa. U suštini, nema razlike između imunskog odgovora na oba ova preparata.

Proteini omotača virusa se menjaju i to na način koji je već opisan (drift i šift), a kao posledica umnožavanja virusa ne samo u populaciji ljudi već i u različitim životinjskim vrstama. Iz tog razloga, adekvatna zaštita od jedne kombinacije (H i N) antigena jedne godine ne znači da će vakcinisana osoba biti zaštićena od tzv. sezonskog gripa i naredne godine. Najčešće se u vakcini nalaze

tri antigene varijante virusa. Na primer: H1N1, H3N2 i virus tipa B uzročnika gripa. Međutim, tačan sastav i antigena struktura procenjuju se svake sezone. Naime, shodno ranijim iskustvima, farmaceutske kompanije zajedno sa ekspertima Svet-ske zdravstvene organizacije i uz konsultaciju sa stručnjacima iz laboratorija koje prate kretanje izmene antigenog sastava virusa procenjuju koji bi od tipova i subti-pova virusa verovatno mogao da izazove sezonski grip.

Ključni faktor u proizvodnji vakcine protiv gripa je vreme. Odluka o kom tipu virusa se radi treba da se donese nekoliko meseci pre nego što počne sezona gripa. Svaka greška u procesu koji počinje predviđanjem antigenog sas-tava a završava se gotovim proizvodom, može ugroziti stotine miliona ljudi. Čak i kada se pravilno odabere tip virusa, mogu nastati problemi kao što je onaj iz 1997. godine, kada je virus H5N1 bio suviše patogen za pileće embrione. Naime, prilikom umnožavanja, virus je brzo ubijao pileće embrione pa nije bilo moguće proizvesti dovoljne količine virusnog imunogena (Mortara i sar., 1998). Kasnije, od 2003. pa do 2005. godine, pokazalo se da je virus sa istim antigenim karakteristi-kama (H5N1) izazvao značajno uznemirenje epidemiologa u svetu.

Efikasnost inaktivisane vakcine protiv influence značajno varira. Sma-tra se da je efikasnost između 60 i 90 posto kod zdrave dece i odraslih do 65 go-dina starosti i to posle ekspozicije homologom divljem soju virusa. Uopšteno je shvatanje da su inaktivisane vakcine vrlo imunogene kod mlađih odraslih ljudi. Smanjena imunogenost je zabeležena kod imunosuprimiranih osoba i osoba koje imaju hronične bolesti. Naročito su u opasnosti one osobe koje pate od hroničnih oboljenja srca i respiratornog trakta. Kod vakcinisanih osoba zaštita je posledica prisustva anti-hemaglutinin i anti-neuraminidaza specifičnih antitela. Međutim, imunizacija može da izazove i ograničenu stimulaciju sinteze takozvanog mu-koznog imuniteta i aktivaciju citotoksičnih T-limfocita.

Terapija gripa / *Flu therapy*

Grip je jedna od retkih virusnih infekcija za koju postoje specifični lekovi (De Clercq, 2002). Terapija gripa se sprovodi samo kod ljudi, a mehanizam antivirusnog delovanja može da bude inhibicija oslobađanja virusne čestice od omotača (amantadin, koji deluje samo na virus tipa A i rimantadin). Postoje i in-hibitori virusne neuraminidaze a mehanizam delovanja preparata (zanamivir i oseltamivir) se zasniva na blokiranju aktivnog mesta u enzimu (Jackson i sar., 2000). Zanamivir i oseltamivir su efikasni u slučaju infekcije virusom (gripa) kako tipa A tako i tipa B. Naime, kao posledica stabilnosti molekula neuraminidaze, tačnije mehanizma delovanja ovog molekula kod ova dva tipa virusa, oba prepa-rata mogu da posluže za terapiju gripa kod ljudi koji je izazvan virusom tipa A i tipa B (Varghese i sar., 1995).

Epizootiologija – epidemiologija gripa / *Flu epizootiology – epidemiology*

Moglo bi se reći da je u slučaju virusa uzročnika influence najprimenije posmatrati virus, sa jedne strane, a sa druge strane ne praviti značajne razlike među prijemčivim vrstama životinja pa samim tim i ljudi. Virusi uzročnici gripa kod različitih vrsta životinja su jedinstveni po tome što značajno antigeno variraju, a njihovi površinski antigeni menjanje svoje strukture vrše preko drift-shift mehanizama. Naime, drift kao pojam u virusologiji predstavlja neznatne izmene antigene strukture u molekulima hemaglutinina i neuraminidaze. Antigeni shift predstavlja značajne izmene antigene strukture u ovim molekulima.

Osnovni razlog za manje antigene izmene hemaglutinina (drift) jeste prisustvo imunih seruma u populaciji prijemčivih vrsta. U laboratorijskim uslovima ovakve izmene mogu da budu iznuđene uzgajanjem virusa u kulturi ćelija pri čemu se u medijum dodaju monoklonska antitela koja neutrališu molekul hemaglutinina (H) datog virusa. Inaktivacijom H-molekula, preživljavaju one varijante virusa za koje se data monoklonska antitela ne vezuju. Jasno je da se antigeni drift virusa uzročnika gripa javlja kao posledica tačkastih mutacija. Međutim, izmena u jednoj aminokiselini proteinskog lanca ima mali uticaj na antigenost oba molekula: hemaglutinina i neuraminidaze. Smatra se da se mutacije događaju i tokom prenošenja virusa sa jedne osobe (jedinke) na drugu. Ekstremna heterogenost humoralnog imunskog odgovora na virus gripa kao i ograničeni repertoar imunoglobulina protiv virusa kod mladih jedinki (i dece), predstavljaju ključne faktore u selekciji varijanti virusa sa promenama u jednom jedinom epitopu (Wang i sar., 1986).

Prva značajna izmena antigenog sastava virusa uzročnika gripa za beležena je 1933. godine kada je virus H2N2 zamenjen podtipom virusa H1N1. Naredne izmene su se dešavale 1968. (H3N2), 1977. (H1N1), 2005. (H5N1) i nedavno H1N1. Većina ovih izmena se dešava u "živim epruvetama" na dalekom istoku. U nekim slučajevima, a na osnovu podataka o genetskom materijalu, može da se očekuje izmena H-molekula od H2 ka H5. Međutim, teško je razumeti da se izmene dešavaju od H3 ka H2, osim ako se izmene dešavaju kao posledica reasortiranja gena virusa koji cirkulišu u populacijama ptica i svinja (Webster i sar., 1971). Takođe, ustanovljeno je da se reasortiranja gena mogu da dogode i prilikom prelaska virusa sa jedne osobe na drugu (Cox i sar., 1983).

Smatra se da je u nastanku takozvanog Hong Kong virusa gripa, gen za hemaglutinin potekao od virusa koji je karakterističan za ptice (Kida i sar., 1987) i koji se nije menjao još od početka 20. veka. Isto tako, virus donor H-molekula, može poteći od konja (H3N8). Analiziranjem ovih podataka može se zaključiti da se značajne izmene u virusima uzročnicima gripa dešavaju kao posledica, pored ostalog, i mehanizama reasortiranja gena između virusa gripa ljudi i virusa koji izazivaju influence drugih vrsta životinja.

Poreklo virusa koji izazivaju pandemiju može da bude pojava novih virusa koji su u dužem vremenskom periodu bili sakriveni u nekom "epizooti-

ološkom džepu". Ovakvo sakriveno mesto može da bude zamrznut region Rusije, sačuvan virus u nekoj divljoj vrsti životinja ili virus koji se nalazio u populaciji prijemčivih vrsta životinja (i ljudi) u formi integrisanog genetskog materijala.

Treći način kako se pojava novih virusa može objasniti jeste pojava virusa ptica ili životinja koji mogu da inficiraju ljude. Ovakvo preskakanje virusa sa jedne na drugu vrstu se dešava u prirodi, pri čemu u najvećem broju slučajeva nova vrsta predstavlja takozvanu slepu ulicu za virus. S obzirom na to da za ovakvo preskakanje virusa treba da se dese drastične izmene genetskog materijala, novi virus najčešće nema kapacitet da se adaptira na novu vrstu i pređe sa jedne na primer osobe na drugu. Međutim, kada se to i desi, nastaju pandemije koje mogu da u savremenim uslovima ugroze zdravlje stotina miliona i dovedu do fatalnog ishoda gripa kod velikog broja ljudi.

Najverovatnije je da svaki od navedenih mehanizama doprinosi manje ili više nastanku značajnih (shift) izmena antigenih karakteristika a samim tim i biološkim osobinama virusa gripa (Bean i sar., 1980).

Ako je po definiciji biološki agens (virus) onaj mikroorganizam koji može da ubije, izazove oboljenje ili na bilo koji način onemogućiti populaciju ljudi, biljke i domestikizirane životinje onda može da se zaključi da je virus gripa značajan i kao način kako da se namerno nanese šteta u nekim regionima sveta. Kriterijum na osnovu koga bi jedan virus bio upotrebljen kao biološki agens, jeste letalitet veći od 30 posto. Međutim, virus gripa ne treba da izazove veliki procenat letaliteta pa da nanese značajne štete u jednoj državi. Ako se u obzir uzme prijemčivost značajnih domestikiziranih vrsta životinja i njihova prijemčivost na virus uzročnik gripa, može da se nasluti da neki namerno modifikovani virus može da izazove značajne ekonomske štete (Anderson i sar., 2003).

Diskusija i zaključak / Discussion and conclusion

Virusi koji izazivaju pandemije gripa mogu da se klasifikuju u H i N podtipove. Od 1989. godine, šest puta su se pojavljivali virusi sa podtipom molekula hemaglutinina koji se nije javljao godinama i koji je ulazio u ljudsku populaciju. Tri H podtipa se ciklično pojavljuju. Podtip H2 se unosi u populaciju gripa 1989. godine, H3 se javlja 1900. godine, a H1, 1918. godine. Na ponovno pojavljivanje H2 podtipa, čekalo se do 1957. godine a H3 virus se javio 1968. godine. Ponovno pojavljivanje H1 podtipa virusa desilo se 1977. godine. Svako unošenje ovih podtipova molekula hemaglutinina, uslovljavalo je pandemiju novim kombinacijama H i N antigena.

Ove dramatične promene H i N podtipova virusa izazivača gripa bile su posledica međusobnih razmena segmenata genetskog materijala virusa sisara i ptica. Opšta je karakteristika da virusi tipa A koji dobro rastu u ćelijama poreklom od ptica nisu efikasni u inficiranju ćelija sisara a samim tim i ljudskih ćelija. Ovo važi i u suprotnom smeru. Virus influenza koji su adaptirani na ćelije sisara, teško

mogu da inficiraju ćelije ptica. Međutim, ovo shvatanje koje, istini za volju, ima prilično uporište u nauci, danas je pod velikim znakom pitanja. U novije vreme, tačnije 1997. godine, bilo je primera lakog direktnog prenosa virusa sa ptica na ljude, pri čemu je tom prilikom izolovan virus sa antigenom kombinacijom (H5N1), koja do tada nije nikada bila registrovana. Naime, ovaj podtip virusa je do tada bio uvek izolovan iz domaćih vrsta ptica u toku epizootije klasične kuge (influenca) živine. Do tada, nijedna osoba na svetu nije posedovala specifičnu zaštitu (imunitet) na ovu kombinaciju antigena virusa pa je ova činjenica značajno uticala na tok infekcije sa jedne strane, ali i na zabrinutost na globalnom nivou. U tom trenutku, izgledalo je da jedino što ometa pojavu teških pandemija jeste relativna nesposobnost ovakvih virusa da lako cirkulišu u populaciji ljudi.

Još uvek nije dovoljno razjašnjeno zašto je virus koji je izazvao pandemiju 1918. i 1919. godine bio toliko virulentan. Po pravilu, uobičajeni mortalitet u populaciji ljudi je oko 0.1 posto. Međutim, u toku te pandemije, mortalitet je iznosio 2.5 posto. Prateći podatke koji su nam dostupni u toku proteklog veka, može se zaključiti da i današnji virusi značajno ne zaostaju kada je reč o virulenciji za ljude. Naime, ispitivanja koja su obavljena 2002. godine u SAD, pokazala su da u proseku godišnje u SAD od gripa umre 36 000 ljudi.

Virusolozi su ukazali na to da se selekcija nekih kombinacija antigenih karakteristika H i N molekula lakše obavlja u populacijama ptica nego kod sisara. Verovatno se između ostalog radi o kraćem biološkom periodu života i reprodukcije i, shodno tome, bržoj pojavi prijemčive populacije. Iznenaduje podatak da se genom virusa koji izaziva bolest kod ptica, za razliku od ljudskih i svinjskih virusa, nije značajno menjao u proteklih 60-tak godina. Avijarni tipovi virusa mutiraju i podložni su reasortiranju u frekvencijama koje su iste kao i za ostale viruse gripa. Međutim, kod ptičjih virusa opstaju samo one varijante virusa koje imaju takozvane neutralne mutacije. Otuda se smatra da su virusi u pticama u evolutivnoj stazi, tj. ptice predstavljaju stabilne rezervoare za sekvence virusnih RNK koje kasnije mogu da se rekombinuju i formiraju varijante virusa koji će inficirati ostale vrste životinja pa i ljude (Steinhauer i Skehel, 2002). Isto tako, od značaja je činjenica da se ptičji i ljudski virusi gripa bez obzira na H i N kombinaciju, lako umnožavaju u drugim vrstama domaćih (i divljih) životinja. To se naročito odnosi na svinje. Posebne karakteristike tkiva farinksa i grla svinja, odnosno prisustvo receptora kako za ptičje tako i za viruse gripa svojstvene ljudima uslovljavaju da se oba virusa nesmetano umnožavaju u ovoj vrsti. Otuda su svinje dobri neselektivni domaćini za mešane infekcije avijarnim i ljudskim virusima pri čemu nastaje reasortiranje H i N segmenata. Kao posledica toga, nastaju novi virusi koji mogu da dovedu do pandemije.

Na prvi pogled, moglo bi se zaključiti da su ove kombinacije ljudskih, ptičjih i svinjskih virusa (infekcija) izuzetno retke. Međutim, gusta populacija ljudi, naročito na jugoistoku Azije, ali i u drugim delovima sveta, u okviru koje se svakodnevno obavljaju efikasni kontakti ljudi sa svinjama i živinom (naročito pataka), ukazuje na to da je mogućnosti da se dva virusa različitih antigenih karak-

teristika često nađu u jednom organizmu velika. Dokaz za ovo su svakako pandemije koje su otpočele u Kini (1957, 1968, ali i 2005). Međutim, jugoistok Azije svakako nije jedini region koji treba posmatrati kao lonac u kome se mešaju virusi uzročnici pandemija. Nedavno proglašena pandemija gripa izazvana virusom H1N1 koji je potekao od svinja u Meksiku ukazuje na to da guste populacije svinja i živine (naročito ćuraka) u Evropi sa jedne strane i značajne migracije divljih ptica (pataka i gusaka) sa druge, mogu da predstavljaju centre interspecijes transfera virusa (Ito i sar., 1998).

Ono što je sigurno jeste da su ptice i svinje rezervoari virusa, ali i žive epruvete u kojima se virus menja, prilagođava vrsti-domaćinu i izlazi iz kruga date vrste-domaćina ka ljudima ili drugoj nekoj vrsti.

Pandemija SIDE je nešto što je uzdrimalo epidemiologe sveta u poslednjih nekoliko decenija. Smatra se da će uprkos pronalasku relativno efikasnih anti-retrovirusnih lekova, u narednih nekoliko godina umreti oko 50 miliona ljudi od sindroma izazvanog virusom HIV-a. Ovo su svakako alarmantne činjenice, ali pravu opasnost po ljudsku vrstu, može se reći za civilizaciju uopšte, u stvari predstavljaju dobro adaptirani virusi koji stalno evoluiraju i koji su već prisutni u prijemčivim vrstama. Virus uzročnik gripa je svakako jedan od njih. Njegova pojava svake godine ne pokazuje nikakvu tendenciju smanjivanja opasnosti, a geni koji regulišu pandemijski potencijal i virulenciju su već prisutni i cirkulišu u populaciji virusa. Sa druge strane, razvoj ljudskog društva značajno utiče na to da smo kao nikada do sada u opasnosti od pandemije kakva je bila zabeležena 1918. i 1919. godine. Ne tako davne 1997. godine, virus koji je nazvan Hong Kong i čija je antigena formula H5N1 imao je sposobnost direktnog prenosa na ljude. Alel za H5 antigen do tada nije postojao kod virusa koji su inficirali ljude pa niti jedna osoba na planeti nije bila otporna na ovaj virus. Ogroman broj ostalih različitih kombinacija gena virusa uzročnika gripa ukazuje na to da će jedna takva pandemija da se desi. Ipak, praćenje virusa gripa, ne samo u populaciji ljudi već i u vrstama koje su prijemčive, a koje značajno doprinose njegovoj evoluciji, olakšaće predviđanje mogućih scenarija i pravilno reagovanje u cilju zaštite.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENTS:

Rad je finansiran sredstvima Projekta TP20110 Ministarstva za nauku Republike Srbije: "Razvoj i implementacija standarda dobrobiti i biosigurnosti u cilju unapređenja tehnologije proizvodnje goveda i svinja".

Literatura / References

1. Anderson NG *et al.* Global screening for human viral pathogens. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 768-73.
2. Barker WH, Mullooly JP. Influenza vaccination of elderly persons. Reduction in pneumonia and influenza hospitalization and deaths. *JAMA* 1980; 244: 2547-9.
3. Bean WJ Jr. *et al.* Recombination of human influenza A viruses in nature. *Nature (London)* 1980; 284: 638-40.

4. Bean WJ. Correlation of influenza A virus nucleoprotein with host species. *Virology* 1983; 133: 438-42.
5. Brothwell D, Sandison AT. Diseases in Atiquity. Charles C. Thomas, Publisher, Springfield III, 1967.
6. Burnet FM, Edney M. Recombinant viruses obtained from double infections with the influenza A viruses EL and NeuroWS. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1951, 39: 353-62.
7. Cox NJ *et al.* Laboratory based surveillance of influenza A (H1N1) and A (H3N2) viruses in 1980-81: Antigenic and genomic analyses. *Bull WHO* 1983; 61: 143-52.
8. Dacso CC *et al.* Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 833-5.
9. De Clercq E. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1: 13-25.
10. Delorme L, Middleton PJ. Influenza A virus associated with acute encephalopathy. *Am J Dis Child* 1979; 133: 822-4.
11. Enami M, Enami K. Influenza virus hemagglutinin and neuraminidase stimulate the membrane association of the matrix protein. *J Virol* 1996; 70: 6653-7.
12. Flint SJ *et al.* Single-cell reproductive cycle of influenza A virus. In: *Principles of Virology (molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses)*, ASM Press, Washington, D.C. 2004, p. 814.
13. Frank AL *et al.* Comparison of different tissue cultures for isolation and quantitation of influenza and parainfluenza viruses. *J Clin Microbiol* 1979; 10: 32-6.
14. Frank AL *et al.* Influenza B virus reinfection. *Am J Epidemiol* 1987; 125: 576-86.
15. Fuller FJ *et al.* Compete nucleotide sequence of the tick-borne, orthomyxo-like Dhori/Indian/1313/61 virus nucleoprotein gene. *Virology* 1987; 160: 81-7.
16. Guo Y *et al.* Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. *J Gen Virol* 1983; 64: 177-82.
17. Han X *et al.* Membrane structure and fusion-triggering conformational change of the fusion domain from influenza hemagglutinin. *Nat Struct Biol* 2001; 8: 715-20.
18. Huang RTC *et al.* The function of the neuraminidase in membrane fusion induced by myxoviruses. *Virology* 1980; 107: 313-9.
19. Ito T *et al.* Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998; 72: 7367-73.
20. Jackson H *et al.* Management of influeza: use of new antivirals and resistance in perspective. *Clin Drug Investig* 2000; 20: 447-54.
21. Johnson JE, Chiu W. Structures of virus and virus-like particles. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 10: 229-35.
22. Kida H *et al.* Antigenic and genetic conservation of H3 influenza in wild ducks. *Virology* 1987; 159: 109-19.
23. Lamm ME. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu Rev Microbiol* 1997; 51: 311-40.
24. Mims CA *et al.* *Mims' Pathogenesis of infectious Disease*. 5th ed. Academic Press. Orlando. Fla, 2001.
25. Mortara L *et al.* Selection of virus variants and emergence of virus escape mutants after immunization with an epitope vaccine. *J Virol* 1998; 72: 1403-10.
26. Mumford J *et al.* Studies with inactivated equine virus A/Equine/New Market/79 (H3N8). *J Hyg Comb* 1983; 90: 385-95.

27. Nestorowicz A *et al.* Molecular analysis of the hemagglutinin genes of Australian H7N7 influenza viruses: Role of passerine birds in maintenance or transmission? *Virology* 1987; 160: 411-8.
28. Palese P *et al.* Characterization of temperature sensitive influenza virus mutant defective in neuraminidase. *Virology* 1974; 61: 397-410.
29. Pons MW *et al.* A reexamination of influenza single- and double- stranded RNAs by gel electrophoresis. *Virology* 1976, 69, 789-92.
30. Reid AH *et al.* The 1918 Spanish influenza: integrating history and biology. *Microbes Infect* 2001; 3: 81-7.
31. Ryman KD *et al.* Alpha/beta interferon protects adult mice from fatal Sindbis virus infection and is an important determinant of cell and tissue tropism. *J Virol* 2000; 74: 3366-78.
32. Sharp GB *et al.* Co-infection of wild ducks by influenza A viruses: distribution patterns and biological significance. *J Virol* 1997; 71: 6128-35.
33. Snyder MH *et al.* The avian influenza virus nucleoprotein gene and a specific constellation of avian and human virus polymerase genes each specify attenuation of avian-human influenza A/Pintail/79 reassortant viruses for monkeys. *J Virol* 1987; 61: 2857-63.
34. Steinhauer DA, Skehel JJ. Genetics of influenza viruses. *Annu Rev Genet* 2002; 36: 305-32.
35. Varghese JN *et al.* Three dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza virus neuraminidase. *Protein Sci* 1995; 4: 1081-7.
36. Xu X *et al.* Virus infections: escape, resistance, and counterattack. *Immunity* 15: 867-70, 2001.
37. Wang ML *et al.* Comparative analyses of the specificities of anti-influenza hemagglutinin antibodies in human sera. *J Virol* 1986; 57: 124-8.
38. Webster RG *et al.* The in vivo production of "new" influenza A viruses. *Virology* 1971; 44: 317-28.

ENGLISH

INFLUENZA – FLU

M. A. Valčić, Sonja Radojičić

In epidemiology or in epizootiology, there are some infectious diseases that have potential for significant reduction of the susceptible species population. Over the past few decades, epidemiologists were concentrated on diseases that were "modern" and made front-page news in tabloids. One should recall diseases like bovine spongiform encephalopathy, SARS and AIDS syndromes. However, we should always be aware of the most dangerous diseases such as our old friend, influenza, or simply, flu. In the past decade, we heard about "bird" or "swine" influenza. It is the same disease for different animal species as well as for man. Influenza owes its characteristics to specific virus biology as well as to the epidemiology-epizootiology characteristics of the susceptible species. Antigenic changes that took place thanks to reassortment mechanisms of the viral gene segments cause the onset of the new antigenic combinations of the hemagglutinin and neuraminidase molecules. As a result, new H and/or N antigenic formulas appear for the first

time in totally susceptible animal and human populations. That means that in such circumstances, no person in the world is immune to the virus. In that case, such a virus can cause a pandemic with disastrous consequences since influenza is a disease with significant mortality, especially in some segments of the human (as well as animal) population. Birds and swine are virus reservoirs, but these species are at the same time live test tubes in which the virus resides, changes and adapts itself not only to the original species but to other species as well. That means that there is no "bird" or "swine" flu. Influenza is an infection of several important animal species as well as man that have potential not only for the reduction of the population size but, in case of the human population, for influencing social and economic life.

Key words: influenza, virus, immunity, pandemic

РУССКИЙ

ГРИПП – ИНФЛЮЭНЦА

М. Валчич, Соня Радоичич

В инфектологии хоть дело идёт о людях или животных как пациентах, существуют заболевания, которые могут значительно уменьшить популяцию восприимчивых видов. Всячески, что внимание инфектологов в истекших несколько десятилетий направлено к тем заболеваниям, которые могут своим явлением "наполнить" первые страницы таблоида. Надо вспомнить спонгиозные энцефалопатии, САРС-а или синдрома СПИД-а. Между тем, исторически смотрено одно из самых опасных заболеваний есть старый добрый знакомый, грипп или инфлюэнца. В истекшем десятилетии говорилось о "птичьей" и "свиной" гриппе. Но, дело идёт об одном заболевании для больше видов, которое свои характеристики бывает в долгу с одной стороны биологии вирусов а с другой, эпидемиологическо-эпизоотологическим характеристикам восприимчивых видов. Изменения антигенных структур, случающиеся, благодаря механизмам реассортирования сегментов генов обуславливают явление новых комбинаций типичных антигенных молекул вирусов (гемагглютининов и нейроминидаза). Как результат, эти изменения могут дать те комбинации Г и Н молекул, которые в первый раз являются в природе, что значит, что ни одна особа ни индивидуум восприимчивых видов не иммунные. Тем самым вирусы с такими комбинациями антигенной структуры, могут обусловить пандемию и/или панзоотию невиданных размеров при чём иметь в голову и что в некоторых популяциях как людей так и животных смертность может быть значительная. То, что наверно это, что птицы и свиньи вместилища вирусов, но и живые пробирки в которых вирус меняется, приспособляется виду-хозяину и выходит из круга данного вида - хозяина к людям или другому некоторому виду. Это значит, что у гриппа не существует типичное заболевание для некоторой из видов ("птичий" и "свиной") уже дело идёт о инфекционной болезни, которая характерная для нескольких видов и которая имеет потенциал влиять не только на численность популяции людей животных уже и на социо-экономические обстоятельства в регионах мира.

Ключевые слова: инфлюэнца, вирусы, иммунитет, пандемия

EPIDEMIOLOGIJA I DIJAGNOSTIKA FASCILOZE LJUDI* *EPIDEMIOLOGY AND DIAGNOSTICS OF HUMAN FASCIOLOSIS*

Zorica Dakić, N. Indić, B. Milošević, Jasmina Poluga, Z. Kulišić,
M. Korać, N. Stajković, Irena Ofori-Belić, M. Pavlović**

Fascioloza je zoonozna infekcija izazvana trematodama Fasciola hepatica i Fasciola gigantica. Fascioloza ljudi je endemska bolest u pojedinim delovima Južne Amerike, Afrike, istočne Azije i Evrope. Visoka prevalencija fascioloze ljudi nije uvek povezana sa visokom prevalencijom animalne fascioloze. Iako je fascioloza domaćih životinja, pre svega ovaca i goveda, značajno prisutna u pojedinim krajevima Srbije i bivše Jugoslavije, nema dokumentacije, odnosno objavljenih slučajeva fascioloze ljudi u Srbiji. Čovek postaje slučajni domaćin unošenjem infektivnih oblika parazita kontaminiranom vodom ili biljkama. Klinička slika ove bolesti je raznovrsna i zavisi od stadijuma infekcije: akutna ili hepatična, hronična ili bilijarna, obstruktivna, ređe ektopična ili faringealna. Dijagnostika fascioloze ljudi može da bude komplikovana i dugotrajna, naročito u krajevima gde se bolest retko javlja i gde se na nju retko pomišlja, kao i zbog brojnih bolesti slične kliničke manifestacije, koje treba isključiti. Dijagnostika fascioloze ljudi je kompleksna i podrazumeva primenu direktnih i indirektnih dijagnostičkih procedura. Dijagnoza se zasniva na kliničkoj slici, hematološkim i biohemijskim nalazima, parazitološkom nalazu, imunološkoj dijagnostici, tehnikama vizuelizacije patoloških promena i biopsiji jetre. Na Klinici za infektivne i tropske bolesti 2005. godine je dijagnostikovao prvi slučaj fascioloze ljudi u Srbiji. Pacijentkinja iz Beograda razvila je kliničku sliku akutne fascioloze nakon nekoliko meseci boravka u Hercegovini. Ovaj rad

* Rad primljen za štampu 11. 01. 2010. godine

** Mr sci. med. vet. Zorica Dakić, Institut za infektivne i tropske bolesti, KCS, Beograd, R Srbija; Nikola Indić, dr med. spec., Vojna bolnica Niš, Niš, R Srbija; mr sci. med. Branko Milošević, asistent, mr sci. med. Jasmina Poluga, asistent, Institut za infektivne i tropske bolesti, KCS, Beograd, R Srbija; dr sci. med. vet. Zoran Kulišić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, R Srbija; dr sci. med. Miloš Korać, asistent, Institut za infektivne i tropske bolesti, KCS, Beograd, R Srbija; dr sci. med. Novica Stajković, redovni profesor, Vojno-medicinska akademija, Beograd, R Srbija; Irena Ofori-Belić, dr vet. spec., dr sci. med. Miloš Pavlović, redovni profesor, Institut za infektivne i tropske bolesti, KCS, Beograd, R Srbija

predstavlja osvrt na epidemiološki i dijagnostički aspekt fascioleze ljudi.

Ključne reči: fascioleza ljudi, epidemiologija, dijagnostika

Uvod / Introduction

Na Klinici za infektivne i tropske bolesti u Beogradu 2005. godine kod 68-godišnje Beograđanke, koja je više meseci pre toga boravila u Trebinju, dijagnostikovana akutna fascioleza. Pacijentkinja je ranije putovala širom sveta, a poslednje putovanje, van prostora bivše Jugoslavije, bilo je 2,5 godine pre prijema. Pacijentkinja je primljena zbog bola ispod desnog rebarnog luka i povremene febrilnosti sa ježom. U laboratorijskim nalazima dominirala je ubrzana sedimentacija eritrocita, normohromna anemija, umerena leukocitoza, izrazita eozinofilija (43,7%) i povišena alkalna fosfataza. Tegobe su počele 3 meseca ranije. Nakon nalaza nedovoljno jasnih promena u jetri, sumnjivih na parazitsku infekciju ultrazvukom (UZ) i kompjuterizovanom tomografijom (CT) i nakon isključivanja drugih parazitskih infekcija i ostalih stanja praćenih eozinofilijom, postavljena je sumnja na fasciolezu. Sproveden je višekratni parazitološki pregled stolice i duodenalnog sadržaja na prisustvo jaja *Fasciola (F.) hepatica*. Kako su nalazi bili negativni, a zbog nemogućnosti imunodijagnostike u našim laboratorijama, serum smo poslali u Institut za tropske bolesti u Hamburgu gde je fascioleza dokazana prisustvom specifičnih antitela imunoenzimskim testom (ELISA) i potvrđena imunoblot metodom (IB). Jednokratna terapija triklabendazolom (10 mg/kg) dovela je do povlačenja simptoma i normalizacije hematoloških i biohemijskih parametara.

U uslovima olakšane komunikacije sa svetom, sve veći broj naših građana putuje, posećujući i područja gde je fascioleza ljudi (HF) značajno zastupljena. U radu su navedena nova saznanja o uzročniku, specifičnosti domaćina, epidemiologiji sa posebnim osvrtom na rizike za nastanak infekcije, kao i novine u dijagnostici.

Etiologija i epidemiologija fascioleze ljudi

Veliki metilj *F. hepatica* je listolik, sivozeleni metilj, veličine 2–3,5 cm × 1,3 cm. Razvojni ciklus obavlja se smenom generacija: larveni razvoj (sporociste, redije, cercarije) odvija se u prelaznom domaćinu (PD), a razvoj adulta u stalnom domaćinu (Kulišić, 2001). Prelazni domaćini za *Fasciola* spp. su brojne vrste slatkovodnih puževa familije *Lymnaeidae*. Najrašireniji PD za *F. hepatica* je *Lymnaea (L.) truncatula*, a za *F. gigantica* u Evropi je *L. auricularia*. Cercarije, finalni razvojni stadijum u PD, napuštaju puža, incistiraju se, obično na bilju pored vode i prelaze u infektivni oblik, metacercarije, loptaste tvorevine veličine oko 200

μm . Stalni domaćini inficiraju se ingestijom metacerkarija. Fascioleza kao parazitoza pašnjaka, najraširenija je kod ovaca i goveda. Svinje, konji, magarci i divlji biljojedi ređe se inficiraju. Na Korzici rezervoar parazita je crni pacov (*Rattus rattus*) sa prevalencijom od 45,13% (Mas-Coma i sar., 1999).

Fasciola gigantica je veći parazit, dužine do 7,5 cm. Izaziva hroničnu fasciolezu goveda i bivola i akutnu, često fatalnu bolest ovaca. Životni ciklus sličan je *F. hepatica*, a sličnost se ogleda i u nastalim patološkim promenama.

Fasciola hepatica je zastupljena širom umerenog klimatskog područja, izuzev Okeanije, dok je *F. gigantica* raširena u južnoj i jugoistočnoj Aziji i Africi. Za većinu područja sa visokom prevalencijom HF odgovorna je *F. hepatica*. Distribucija ovih trematoda poklapa se u pojedinim regionima (Tajvan, Japan, R. Koreja, Filipini i Egipat) što stvara teškoće u identifikaciji vrsta, s obzirom na istu kliničku sliku i morfološku sličnost jaja parazita (Mas-Coma i sar., 1999).

Čovek se inficira unošenjem metacerkarija vodom ili svežim biljkama (Mas-Coma i sar., 1999). U Francuskoj su to *Taraxacum dens leonis* (vrsta maslačka), *Valerianella olitor* (matovilac), *Mentha viridis* (zeljasta nana); u Iranu zeleni listovi *Nasturtium* spp. (kres), *Mentha* spp. (nana) koji se koriste kao začini salatama; u Boliviji sitovi (*Juncus andicola*, *Juncus ebracteatus*), *Mimulus glabratus* (majmunski cvet), *Nostoc* sp. (vrste algi) (Mas-Coma i sar., 1999). U Egiptu infekcija ljudi najčešće nastaje preko *Nasturtium officinale* (salata, potočnica), *Eruca sativa* (rukola) i *Lactuca sativa* (lisnata salata), koje pranjem vodom iz obližnjih kanala postaju zaražene cercarijama koje za nekoliko sati incistiraju i prelaze u infektivni oblik (Soliman, 2008). Da bi se sprečila infekcija biljkama sa endemskih područja koje se koriste u ishrani savetuje se njihovo pranje primenom 6% sirćetne kiseline ili rastvora kalijum-permanganata (24 mg/L) 5-10 minuta (Farag, 1998; Soliman, 2008). Taira i sar. (1997) ukazuju na mogućnost infekcije čoveka i korišćenjem obroka spremljenih od sirove jetre preživara inficirane nezrelim metiljima.

Broj prijavljenih slučajeva HF značajno je povećan od 1980. godine. Bolest je prisutna u 61 zemlji sveta, oko 2,5 miliona ljudi inficirano je *F. hepatica*, a više od 180 miliona ljudi je pod rizikom od infekcije. Zemlje sa najvećim brojem prijavljenih slučajeva su: Bolivija, Kina, Ekvador, Peru, Egipat, Iran (Mas-Coma i sar., 1999). Slučajevi infekcije ljudi *F. hepatica* nisu neuobičajeni u Evropi (Arjona, 1995), naročito u Francuskoj, Portugaliji, Španiji i zemljama bivšeg Sovjetskog Saveza (Mas-Coma i sar., 1999).

Na osnovu epidemioloških karakteristika HF može da bude importovana, u vidu izolovanih autohtonih slučajeva, endemska i epidemijska (Mas-Coma i sar., 1999). Sporadični autohtoni (Skandinavija, Italija, Grčka) (Antoniou i sar., 1997; Holm i sar., 2002) i importovani slučajevi (SAD, Nemačka) prijavljuju se širom sveta (Caprino i sar., 2007). U krajevima sa endemskom fasciolezom životinja (AF) beleže se sporadično porodične ili epidemije unutar manjih grupa koje su povezane zajedničkim, slučajnim unosom kontaminiranih biljaka iz lične ili komercijalne proizvodnje (Mas-Coma i sar., 1999).

Endemsko javljanje fascioleze rangira se od niskog (sa prevalencijom <1%), preko srednjeg (<1-10%) do visokog (>10%) stepena. Niska prevalencija beleži se u Normandiji (Francuska) od 0,34–3,1 slučaj/100000 stanovnika i Korzici (Italija) 0,83–1,16. Srednja prevalencija beleži se u području Porta, Portugalija od 3,2%, a najviša u određenim delovima Bolivije (65–92%), Ekvadora (24–53%), Egipta (2–17%) i Perua (10%) (Mas-Coma i sar., 1999). Visoka prevalencija HF ne korelira uvek sa animalnom (Antoniou i sar., 1997; Mas-Coma i sar., 1999; Soliman, 2008), ali je na određenim područjima HF povezana sa endemskim područjima AF (Ripert i sar., 1987; Bouree i Thiebault, 1993), a naročito u sredinama sa niskim ekonomskim i socijalnim standardom (Mas-Coma i sar., 1999).

Interesovanje za fasciolezu postoji i kod nas s obzirom na to da je u našim krajevima prisutna kao infekcija preživara, ali i interesantna kao zoonoza, o kojoj se među našim lekarima malo zna. U Srbiji, u pojedinim područjima, fascioleza preživara se javlja u značajnoj incidenciji. Milanović i sar. (2007) su na području Jablaničkog regiona našli *F. hepatica* kod 6,21% od ukupno 6906 pregledanih jetri goveda na liniji klanja.

Klinička slika fascioleze ljudi

Kliničko ispoljavanje fascioleze ljudi zavisi od stadijuma infekcije (Arjona, 1995). Razvoj do odraslog oblika metilja traje 2–13 nedelja, prosečno 6 nedelja (Espino i sar., 1998). Nakon dolaska metacerkarija u digestivni trakt čoveka, iz njih se oslobađaju mladi metilji koji aktivno probijaju zid creva i migriraju unutar peritonealne duplje, prodiru kroz kapsulu jetre i ulaze u njen parenhim (Espino i sar., 1998; Kulišić, 2001). Akutna ili hepatična faza traje 3–4 meseca i posledica su oštećenja tkiva i inflamatornog odgovora izazvanog migracijom mladih metilja duž parenhima jetre do žučnih puteva. Infekcija može biti asimptomatska, ali je češće praćena febrilnošću, bolom ispod desnog rebarnog luka, mučninom, povraćanjem, glavoboljom, urtikarijom, svrabom, dispepsijom, respiratornim smetnjama, gubitkom telesne težine, hepatomegalijom, splenomegalijom i ascitesom. U laboratorijskim analizama prisutna je umerena anemija, ubrzana sedimentacija eritrocita i izražena eozinofilija do 70%, nivo transaminaza je normalan ili minimalno povišen, kod pojedinih pacijenata povišena je AP, a bilirubin je tipično normalan (Chen i Mott, 1990). Diferencijalno dijagnostički treba isključiti druga febrilna stanja i parazitske i/ili druge bolesti praćene eozinofilijom (Chen i Mott, 1990).

Bilijarna ili hronična faza nastaje usled prisustva zrelih metilja u žučnim kanalima i žučnoj kesi, u kojima mogu živeti 10–13 godina. U ovoj fazi simptomi su odsutni ili su manje izraženi i posledica su upale žučnih puteva. Javljaju se bol ispod desnog rebarnog luka i žutica ili se ponovo ispoljavaju simptomi akutne faze (Chen i Mott, 1990). Biohemijske analize pokazuju povišen nivo transaminaza i bilirubina.

Kod teške infekcije, moguća je i mehanička opstrukcija žučnih kanala. Posledica je prisustva odraslih metilja i inflamacije i fibroze epitela žučnih kanala nastale iritacijom spinama i dejstvom prolina koji produkuje metilj (Chen i Mott, 1990). Višekratna infekcija može dovesti do preplitanja akutne i hronične faze bolesti (Arauco i sar., 2007).

Ektopična fascioleza nastaje migracijom metilja u različita tkiva i organe, naročito pluća i potkožno tkivo, javlja se retko i dovodi do nejasne kliničke slike (Chen i Mott, 1990; Mas-Coma i sar., 1999). Poseban sindrom, pod imenom "halzoun" u Libanu i "marrara" u Sudanu (uobičajen za infekciju sa *Linguatula serrata*), faringealna fascioleza, nastaje pričvršćivanjem odraslih metilja za zadnji zid farinksa pri konzumiranju inficirane sirove jetre preživara, što dovodi do teškog faringitisa i laringealnog edema. Slična pojava, nastala konzumacijom goveđe jetre zaražene juvenilnim formama metilja u obroku "sashimi" zabeležena je u Japanu (Frag, 1998).

Dijagnostika fascioleze ljudi

Dijagnostika HF je teška zbog složenog razvojnog ciklusa *Fasciola* spp. i raznovrsne i nedovoljno tipične kliničke slike. Problemi se u dijagnostici posebno javljaju u područjima gde se ova bolest retko sreće te se na nju i ne pomišlja. Sumnja na HF zasniva se na kliničkoj slici i anamnezi, kao i podatku o izloženosti infekciji. U dijagnostici se koriste brojne direktne i indirektne metode. Osnovne laboratorijske metode koje se koriste u dijagnozi HF su koprološke tehnike i imunološki testovi (Arjona, 1995).

Osnovno ograničenje koproloških tehnika je nemogućnost postavljanja dijagnoze u akutnoj fazi, odnosno mogu da se koriste tek 3–4 meseca nakon infekcije, kada metilj sazri i počne sa izlučivanjem jaja (Facey i Marsden, 1960). Koprološka metoda je nedovoljno osetljiva i u hroničnoj fazi zbog retkog i/ili intermitentnog izlučivanja jaja (Esteban i sar., 1998; Mas-Coma i sar., 1999), što obavezuje na višekratno testiranje i primenu metoda koncentracije kao što su metoda sedimentacije (Espino i sar., 1998; Graham i sar., 2001) i Kato-Katz metoda (Espinoza i sar., 2007). S obzirom na to da *F. hepatica* nije adaptirana na čoveka kao domaćina, postoji mogućnost da metilj ne dostigne potpunu zrelost, kada izlučivanje jaja potpuno izostaje (Acosta-Ferreira i sar., 1979). Dodatna ograničenja metode su sličnost jaja *Fasciola* spp. sa jajima *Echinostoma* spp. i *Fasciolopsis buski*, pseudofascioleza (nalaz jaja u stolici nakon nedavnog konzumiranja jetre preživara koja je sadržala jaja fasciole), što zahteva primenu alternativnih metoda dijagnostike (Espino i sar., 1998; Espinoza i sar., 2007).

Detekcija cirkulišućih antigena sendvič ELISA testom je primenjiva u akutnoj fazi bolesti, naročito pre formiranja antitela. Cirkulišući antigeni, pojavljuju se od prve do treće nedelje infekcije, potom opadaju i gube se nekoliko nedelja nakon pojave (Carnevale i sar., 2001).

Detekcija kopro-antigena u fecesu, sendvič ELISA testom je korisna u hroničnoj fazi kada se jaja neredovno ili oskudno izlučuju, ali i u akutnoj fazi, jer se kopro-antigeni pojavljuju nekoliko nedelja pre početka izlučivanja jaja (Carnevale i sar., 2001).

Biopsijom jetre u invazivnom stadijumu infekcije, otkrivaju se lezije Glissonove kapsule i nekroze supkapsularne zone ograničene palisadno postavljenim histiocitima. Lezije su u vidu grozdova mikroapscesa. U hroničnoj fazi, uočavaju se paraziti na različitim nivoima razvoja i jaja u dilatiranim žučnim kanalima, kao i hiperplazija bilijarnog epitela i periduktalna fibroza.

Prednost indirektnih imunoloških metoda je njihova primenljivost u svim fazama bolesti: u akutnoj i u hroničnoj fazi pri oskudnom ili izostalom izlučivanju jaja (Mas-Coma i sar., 1999).

Detekcija specifičnih antitela (IgM, IgG, IgG4), koja se pojavljuju 2–4 nedelje od infekcije, a 5–7 nedelja pre pojave jaja u stolici, korisna je u ranom stadijumu bolesti (Hillyer, 1999) i za procenu uspešnosti terapije, jer se nivo antitela vraća na normalu 6–12 meseci nakon lečenja. Takođe, serološke metode omogućavaju razlikovanje pseudofascioleze od fascioleze i dijagnostiku ektopične fascioleze. Nedostatak ovih metoda je nemogućnost razlikovanja akutne i razvijene forme bolesti u endemskim područjima. U upotrebi su brojni testovi: ELISA, test indirektna hemaglutinacije, test indirektna imunofluorescencije (Fovzy i sar., 1992), a izvori antigena su različiti razvojni stadijumi parazita (Espino i sar., 1998; Carnevale i sar., 2001; Marcos i sar., 2008). ELISA se smatra pogodnim skrining testom, a imunoblot potvrdnim (Hillyer 1999; Marcos i sar., 2008).

U upotrebi su brojne tehnike vizuelizacije patoloških promena izazvanih prisustvom različitih razvojnih stadijuma metilja: UZ, CT, magnetna rezonanca (MRI), endoskopska retrogradna holangio-pankreatografija (ERCP), perkutana transhepatična holangiografija (Fovzy i sar., 1992; Esteban i sar., 1998; Vanheste i sar., 2008). Ultrazvučni nalaz nije specifičan u akutnoj fazi (uvećani periportalni limfni čvorovi, hipoehogene multipne lezije jetre i supkapsularni noduli nedefinisane oboda), ali u hroničnoj fazi bolesti može se otkriti prisustvo metilja u žučnoj kesi (Fovzy i sar., 1992; Taheri i sar., 2007). Na CT-u u akutnoj fazi može se uočiti blaga hepatomegalija, hematomi u supkapsularnom delu jetre, ali su najtipičnije hipodenzne promene trakastog izgleda u supkapsularnom prostoru jetre (Marcos i sar., 2008). Slične promene uočavaju se i na MRI, ali je ovde jasnija hemoragična priroda lezija (Taheri i sar., 2007). Upotreba ERCP značajna je u bilijarnoj fazi kada može ukazati na prisustvo parazita u žučnim kanalima i pomoći u razrešenju opstruktivne žutice (Dias i sar., 1996).

Dostupni dijagnostički testovi (koprološki, indirektni imunološki) ne razlikuju vrste unutar roda *Fasciola*. Identifikacija vrsta moguća je samo na osnovu morfologije odraslih metilja ili molekularnim tehnikama (Periago, 2008).

Diferencijalno dijagnostički kod akutne fascioleze treba razmatrati hepatitis različite etiologije, kod opstruktivne prisustvo žučnih kamenaca i karcini

noma žučnih kanala (Saba i sar., 2004), a kod ektopične fascioleze tumore različite lokalizacije.

Kako pojedinačne dijagnostičke procedure nisu dovoljne za postavljanje dijagnoze, Marcos i sar. (2008) navode da eozinofilija, bol ispod desnog rebarnog luka, povišene transaminaze bez žutice, trakaste hipodenzne promene u subkapsularnom prostoru jetre i izloženost infekciji sugerišu na postojanje akutne fascioleze (Marcos i sar., 2008).

U lečenju HF primenjuju se brojni antiparazitici, sa različitim terapijskim uspehom. Lek izbora je triklabendazol, koji se upotrebljava jednokratno u dozi od 10 mg/kg i koji je efikasan i protiv nezrelih i zrelih metilja (Marcos i sar., 2008). Albendazol, koji je u širokoj upotrebi u lečenju fascioleze životinja, kod ljudi nije efikasan (WHO, 2006).

Zaključak / Conclusion

Dijagnostika fascioleze ljudi može biti problematična i zakasnela, naročito u neendemskim područjima, gde se o ovoj bolesti retko razmišlja. Enzo-otsko javljanje fascioleze preživara u Srbiji, kao i porast slučajeva HF u svetu, obavezuje na budnost i potrebu da se ona uključi u diferencijalnu dijagnostiku klinički suspektnih stanja kao što su febrilna stanja i parazitske i/ili druge bolesti praćene eozinofilijom, naročito ako postoji epidemiološki podatak o boravku u endemskim područjima. Opisani slučaj fascioleze i dijagnostičke teškoće sa kojima smo se susreli, ukazuje na potrebu uvođenja imunodijagnostike.

Literatura / References

1. Acosta-Ferreira W, Vercelli-Retta J, Falconi LM. *Fasciola hepatica* human infection. Histopathological study of sixteen cases. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1979; 383: 319-27.
2. Arjona R, Riancho JA, Aguado JM, Salesa R, González-Macías J. Fascioliasis in developed countries: a review of classic and aberrant forms of the disease. *Medicine* 1995; 74: 13-23.
3. Antoniou M, Lionis C, Tselentis Y. A focus of *Fasciola hepatica* in Crete without human cases. *Eur J Epidemiol* 1997; 13: 99-101.
4. Arauco R, Zetola NM, Calderon F, Seas C. Human fascioliasis: a case of hyperinfection and an update for clinicians. *Foodborne Pathog Dis* 2007; 4: 305-12.
5. Bourée P, Thiebault M. Fasciolose à *Fasciola hepatica* en Basse Normandie de 1980 à 1990. *Bull Soc Fr Parasit* 1993; 11: 79-84.
6. Caprino P, Ferranti F, Passa G, Quintiliani A. A rare case of obstructive jaundice and cholecystitis in hepatic fascioliasis in Italy. *Chir Ital* 2007; 59: 891-4.
7. Carnevale S, Rodríguez MI, Santillán G, Labbé JH, Cabrera MG, Bellegarde EJ *et al.* Immunodiagnosis of Human Fascioliasis by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and a Micro-ELISA. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 174-7.
8. Chen MG, Mott KE. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. *Trop Dis Bull* 1990; 87: R1-R38.

9. Dias LM, Silva R, Viana H, Palhinhos M, Viana R. Biliary fascioliasis: diagnosis, treatment and follow-up by ERCP. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 616-20.
10. Espino AM, Díaz A, Pérez A, Finlay CM. Dynamics of antigenemia and coproantigens during a human *Fasciola hepatica* outbreak. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2723-6.
11. Espinoza JR, Maco V, Marcos L, Saez S, Neyra V, Terashima A *et al.* Evaluation of Fas2-ELISA for the serological detection of *Fasciola hepatica* infection in humans. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76: 977-82.
12. Esteban JG, Bargues MD, Mas-Coma S. Geographical distribution, diagnosis and treatment of human fascioliasis: a review. *Res Rev Parasitol* 1998; 58: 13-42.
13. Facey RV, Marsden PD. Fascioliasis in man: an outbreak in Hampshire. *Br Med J*, 1960; 1: 619-25.
14. Farag FH. Human fascioliasis in some countries of the Eastern Mediterranean Region. *East Mediterr Health J* 1998; 4: 156-60.
15. Fawzy RK, Salem AE, Osman MM. Ultrasonographic findings in the gall bladder in human fascioliasis. *J Egypt Soc Parasitol* 1992; 22: 827-31.
16. Graham CS, Brodie SB, Weller PF. Imported *Fasciola hepatica* infection in the United States and treatment with triclabendazole. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1-5.
17. Holm PI, Kristoffersen EA. Scandinavian case of domestically acquired human fascioliasis. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 548-50.
18. Hillyer GV. Immunodiagnosis of Human and Animal Fasciolosis. In: Fasciolosis. Dalton JP, editor. CAB International Publ, e1. Wallingford, 1999, 435-47.
19. Kulišić Z. Helminтологиjska. Beograd: Veterinarska komora Srbije, 2001.
20. Marcos LA, Tagle M, Terashima A, Bussalleu A, Ramirez C, Carrasco C, Valdez L, Huerta-Mercado J, Freedman DO, Vinetz JM, Gotuzzo E. Natural history, clinico-radiologic correlates, and response to triclabendazole in acute massive fascioliasis. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 222-7.
21. Mas-Coma A, Bargues MD, Esteban JG. Human fasciolosis. In: Fasciolosis. Dalton JP, editor. CAB International Publ, e1. Wallingford, 1999, 411-34.
22. Milanovic V, Nitovski A, Kulisic Z, Mirilovic M. *Fasciola hepatica* findings in cattle of Jablanica region (Serbia). *Vet glasnik* 2007; 61: 89-97.
23. Periago MV, Valero MA, El Sayed M, Ashrafi K, El Wakeel A, Mohamed MY, Desquesnes M, Curtale F, Mas-Coma S. First phenotypic description of *Fasciola hepatica*/*Fasciola gigantica* intermediate forms from the human endemic area of the Nile Delta, Egypt. *Infect Genet Evol* 2008; 51-8.
24. Ripert C, Tribouley J, Luong Dinh Giap G, Combe A, Laborde M. Epidémiologie de la fasciole humaine dans le sud ouest de la France. *Bull Soc Fr Parasit* 1987; 5: 227-30.
25. Saba R, Korkmaz M, Inan D, Mamikoğlu L, Turhan O, Günseren F, Cevikol C, Kabaalioğlu A. Human fascioliasis. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 385-7.
26. Soliman MFM. Epidemiological review of human and animal fascioliasis in Egypt. *JIDC* 2008; 2: 182-9.
27. Taheri MS, Aminzade Z, Shokohi Sh, Birang Sh, Aghazade K. Case report. Hepatobiliary fascioliasis: clinical and radiological features. *Iranian J Parasitol* 2007; 2(4): 48-55.
28. Taira N, Yoshifuji H, Boray JC. Zoonotic potential of infection with *Fasciola* spp. by consumption of freshly prepared raw liver containing immature flukes. *Int J Parasitol* 1997; 27: 775-9.

29. Vanheste R, De Peuter B, Van Hoe L, Vanhoenacker R, D'Haenens P. MRI findings of hepatobiliary fascioliasis. JBR-BTR 2008; 91: 206-8.
30. WHO/CDS/NTD/PCT/2007.1. Report of the WHO Informal Meeting on use of triclabendazole in fascioliasis control. WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 2006.

ENGLISH

EPIDEMIOLOGY AND DIAGNOSTICS OF HUMAN FASCIOLOSIS

**Zorica Dakić, N. Indjić, B. Milošević, Jasmina Poluga, Z. Kulišić, M. Korać,
N. Stajković, Irena Ofori-Belić, M. Pavlović**

Fasciolosis is a zoonotic infection caused by the trematoda *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. Human fasciolosis is endemic in some parts of South America, Africa, Eastern Asia and Europe. High prevalence of human fasciolosis does not necessarily occur in areas where fasciolosis is a major veterinary problem. Infection with *Fasciola hepatica* has not been reported in humans in Serbia and former Yugoslavia, although a large variety of animals, such as sheep and cattle show infection rates that may reach significant proportions in some areas. Humans can become accidental hosts of this parasite by ingesting contaminated drinking water or plants in an endemic area. Infection with *Fasciola hepatica* has a variable clinical presentation depending on the stage of the disease. Typical symptoms that may be associated with fascioliasis can be divided by the phases of the disease including the acute or liver phase, the chronic or biliary phase, the obstructive phase, and ectopic or pharyngeal fascioliasis.

The diagnosis of human fasciolosis may be problematical and delayed, especially in non-endemic areas, because physicians rarely encounter this disease and a long list of other diseases must be included in the differential diagnosis. The diagnosis of fasciolosis is complex and requires the application of direct and indirect methods of diagnostics: clinical diagnosis, haematological and biochemical findings, parasitological diagnosis, immuno-diagnosis, imaging procedures, liver biopsy. At the Clinic for Infectious and Tropical Diseases in 2005, we recorded the first case of human fasciolosis in a woman from Belgrade, a citizen of Serbia, who developed clinical symptoms of acute fasciolosis after several months of living in Bosnia-Herzegovina. This article reviews the epidemiology and diagnostics of human fasciolosis.

Key words: human fasciolosis, epidemiology, diagnostics

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ДИАГНОСТИКА ФАСЦИОЛЕЗА ЛЮДЕЙ

**Зорица Дакич, Н. Инджич, Б. Милошевич, Ясмينا Полуга, З. Кулишич,
М. Корач, Н. Стайкович, Ирена Офори-Белич, М. Павлович**

Фасциолёз - зоонотическая инфекция, вызванная с *Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica*. Фасциолёз людей эндемическая болезнь в отдельных частях Южной Америки, Африки, восточной Азии и Европы. Высокая превалентность фасциолёза людей не всегда связанная с высокой превалентностью анимального фасциолёза. Хотя фасциолёз домашних животных, прежде всего овец и крупного рогатого скота значительно присутствующий в отдельных краях Сербии и бывшей Югославии, эта болезнь до недавнего времени не была записана у людей в Сербии. Человек становится случайным хозяим внесением инфекционных форм паразита контаминированной водой или растениями. Клиническая презентация этой болезни разнообразная и зависит от стадии инфекции: острая или гепатичная, хроническая или бильярдная, закупоривающая, реже эктомическая или фарингеальная. Диагностика фасциолёза людей может быть осложнённая и длительная, особенно в краях, где болезнь редко является и где не её редко помышляется, словно и из-за численных болезней подобные клинические презентации, которые надо исключить. Диагностика фасциолёза людей комплексная и подразумевает применение прямых и косвенных диагностических процедур. Диагноз основывается на клинической презентации, гематологических и биохимических результатах, паразитологических методах, иммунологической диагностике, техниках визуализации патологических изменений и биопсии печени. На Клинике по инфекционным и тропическим болезням 2005 года записан первый случай фасциолёза людей в Сербии. Пациентка из Белграда развила клиническую картину острого фасциолёза после несколько месяцев пребывания в Герцеговине. Эта обзорная работа представляет собой взгляд назад на эпидемиологический и диагностический аспект фасциолёза людей.

Ключевые слова: фасциолёз людей, эпидемиология, диагностика

TRANSFUZIJA KRVI KOD KONJA* *BLOOD TRANSFUSION IN HORSES*

D. Trailović, S. Lauš, S. Đoković**

Deo terapije tečnošću je i transfuzija krvi, koja predstavlja najefikasniji način lečenja hipovolemije izazvane gubitkom krvi, premda se puna krv može koristiti kao terapijsko sredstvo i u drugim slučajevima – kod deficita faktora koagulacije krvi, iscrpljivanja antiproteaznog sistema, hipoproteinemije, hipoalbuminemije itd. Primena sveže krvi ima prednost u odnosu na konzervisanu, što ne umanjuje značaj formiranja banke krvi, naročito u slučajevima kada su krvne grupe donora precizno utvrđene.

Ključne reči: transfuzija krvi, krvne grupe, konji, komplikacije

Uvod / Introduction

U kritičnim situacijama praćenim hipovolemijom izazvanom gubitkom krvi ili krvnih proteina, život konja zavisi od pravovremene nadoknade vaskularnog volumena i transfuzije krvi. Transfuzija je indikovana u svim slučajevima kada je hematokritska vrednost niža od 0,18 i hemoglobin manji od 60 g/l, pri čemu je neophodna kada je hematokritska vrednost manja od 0,12. Kod blagih anemija sa hematokritskom vrednošću većom od 0,24 transfuzija nije indikovana; šta više, ishod može biti lošiji. Eritrociti drugog konja dati transfuzijom imaju veoma kratak vek, u proseku oko 4 dana, što nema nikakav značaj u stanjima u kojima ne postoji neposredna opasnost po život. Povećano raspadanje eritrocita predstavlja dodatno opterećenje za monocitno makrofagni sistem, pri čemu supresija eritropoetina privremeno korigovanim hematokritom odlaže prirodni mehanizam saniranja anemije (Morris, 1998; Kristensen, 1995).

Najznačajnije indikacije za transfuziju krvi kod konja su: neonatalna izoeritroliza novorođene ždrebad, traume sa gubitkom velikih količina krvi, hemolitičke anemije i unutrašnja krvarenja. U stanjima hipovolemije sa hemokoncentra-

* Rad primljen za štampu 14. 04. 2010. godine

** Dr sci. med. vet. Dragiša Trailović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; mr sci. med. vet. Saša Lauš, diplomirani veterinar, Veterinarska stanica "Praxis veterinaria", Vršac, R Srbija; Stefan Đoković, dr vet. med., saradnik u nastavi, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, R Srbija

cijom, transfuzija se ne preporučuje zbog povećanja viskoznosti krvi i otežane cirkulacije.

Svojevremeno je transfuzija krvi preporučivana u septičkom šoku kako bi se na taj način uvećao kapacitet za transport kiseonika i pospešilo dopremanje kiseonika tkivima. Pokazalo se, međutim, da je sposobnost preuzimanja kiseonika od strane ćelija u uslovima povećane viskoznosti krvi znatno manja, te da se povećanim dopremanjem kiseonika ne postiže željeni efekat (Slovis, 2001).

Pre transfuzije bi trebalo proveriti kompatibilnost krvi davaoca i primaoca, premda to nije jednostavno. Kao što je poznato, eritrociti konja se odlikuju veoma velikom antigenom raznovrsnošću – preko 400.000 aloantigenskih varijanti u populaciji konja formira 8 sistema krvnih grupa od kojih su najznačajniji Aa i Qa. U normalnim situacijama se sa malom verovatnoćom može očekivati prisustvo antitela protiv eritrocitnih antigena, osim u slučajevima prethodne senzibilizacije izazvane transfuzijom ili drugim krvnim produktima, zbog čega je prva transfuzija obično bezopasna. Kako se zbog izuzetno izražene imunogenosti Aa i Qa antigena za nekoliko dana može stvoriti značajan titar antitela, ponovljena transfuzija je rizična, zbog čega je izbor adekvatnog donora itekako važan.

Idealno bi bilo da donor bude Aa i Qa negativan, tj. da nema ni antigene ni antitela, što se može proveriti ukoliko u blizini postoji laboratorija koja je u stanju da uradi ovakvu proveru ili ukoliko postoje registrovani donori proverenog statusa. Ako takva mogućnost ne postoji, idealan donor bi bio konj mlađi od 3 godine za koga se pouzdano zna da nije ni jednom do tada primio transfuziju krvi ili neki drugi proizvod krvi koji je mogao da izazove senzibilizaciju. Kobile koje su se više puta ždebile nisu pouzdani donori, kao ni konji koji su ranije bili podvrgavani hirurškim ili drugim složenijim zahvatima. Ako je primalac ranije ipak primao transfuziju, problem je već složeniji i zahteva proveru kompatibilnosti (Kristensen, 1995; Morris, 1998; Slovis, 2001; Trailović, 2009).

Provera kompatibilnosti krvnih grupa / *Verification of compatibility of blood groups*

Unakrsna proba predstavlja relativno jednostavan postupak za proveru kompatibilnosti krvnih grupa. U tu svrhu se mogu izvesti dva testa: glavni i sporedni. Glavnim testom proverava se kompatibilnost ćelija davaoca sa serumom primaoca, odnosno, utvrđuje se da li primalac poseduje antitela na ćelije davaoca. Sporednim testom se proverava kompatibilnost seruma davaoca i ćelija primaoca, odnosno utvrđuje se da li davalac ima antitela na ćelije primaoca. Oba testa se moraju izvesti sa svežom krvlju. Sama procedura se razlikuje od laboratorije do laboratorije, ali je tehnika ista: po 5 ml krvi se uzme i od davaoca i od primaoca i ostavi da se zgruša. Od svakog ugruška se napravi 5% suspenzija eritrocita u fiziološkom rastvoru (0,5 ml ćelija i 9,5 ml fiziološkog rastvora) u odvojenim epruvetama, sa kojima se kasnije izvode sledeće 4 probe: glavna proba se izvodi tako što se 0,1 ml suspenzije eritrocita davaoca pomeša sa 0,1 ml seruma primaoca; sporedna proba se izvodi tako što se 0,1 ml suspenzije eritrocita pri-

maoca pomeša sa 0,1 ml seruma davaoca; prva kontrola se izvodi tako što se 0,1 ml suspenzije eritrocita davaoca pomeša sa 0,1 ml seruma davaoca, dok se druga kontrola izvodi tako što se 0,1 ml suspenzije eritrocita primaoca pomeša sa 0,1 ml seruma primaoca. Svaki test se radi po dva ili tri puta, s tim što se epruvete prethodno inkubiraju oko sat vremena na 37°C. Pri tome, preporučljivo je da se jedan set proba izvede sa krvlju inkubiranom na 4°C, kako bi se proverilo eventualno postojanje hladne aglutinacije. Posle inkubacije epruvete se lagano centrifugiraju, a potom supernatanti kontrolišu na hemolizu. Nakon toga se proveravaju ćelije radi utvrđivanja eventualnih znakova aglutinacije. Izražena aglutinacija se može uočiti kao ugrušak, pahuljica, dok se mala aglutinacija može otkriti samo ponovnim suspendovanjem ćelija i pregledom na zagrejanoj pločici pod mikroskopom. Svaki stepen inkompatibilnosti u glavnom testu je kontraindikacija za transfuziju. Sporedne unakrsne reakcije se pri tome teže procenjuju i u principu se mogu tolerisati, pogotovu u urgentnim slučajevima (Michell i sar, 1989; Trailović, 1994).

Tabela 1. *Test unakrsne aglutinacije*
Table 1. *Cross agglutination test*

	Davalac / <i>Donor</i>		Primalac / <i>Recipient</i>	
	Eritrociti / <i>Erythrocytes</i>	Serum / <i>Serum</i>	Eritrociti / <i>Erythrocytes</i>	Serum / <i>Serum</i>
Glavni test / <i>Main test</i>	0,1*	–	–	0,1
Sporedni test / <i>Secondary test</i>	–	0,1	0,1	–
Kontrola davaoca / <i>Examination of donor</i>	0,1	0,1	–	–
Kontrola primaoca / <i>Examination of recipient</i>	–	–	0,1	0,1

*Zapremina u ml / *Volume in ml*

Test unakrsne aglutinacije je relativno jednostavan i on delimično umanjuje rizik od inkompatibilnosti i posttransfuzionih komplikacija. Rizik i dalje ostaje, pa se kao manje opasna opcija za ždrebad koja nisu posisala kolostrum može uzeti transfuzija sa ispranim eritrocitima majke. Ispiranjem se uklanja plazma koja sadrži antieritrocitna antitela. Crvena krvna zrnca se ispiraju ponovljenim odvajanjem ćelija od plazme i resuspendovanjem u izotonični rastvor NaCl. U idealnim uslovima bi odvajanje ćelija od plazme ili fiziološkog rastvora trebalo da se uradi centrifugiranjem ili aparatom za plazmaferezu, mada je prihvatljivo i odvajanje plazme nakon spontane sedimentacije ukoliko se izvede bar tri puta (Michell i sar, 1989; Slovis, 1998). U svakom slučaju, primalac mora biti pažljivo posmatran u cilju pravovremenog registrovanja eventualnih simptoma reakcije na transfuziju

tokom davanja prvih 50 ml krvi. Znaci reakcije na transfuziju uključuju tahikardiju, tahipneju, pireksiju, znojenje, podrhtavanje mišića i zauzimanje ležećeg položaja, čestu defekaciju, a nešto kasnije ikterus, proteinuriju i hemoglobinuriju. Nijedan od ovih simptoma ne mora da bude uvek prisutan, s tim što su pireksija i znojenje najuočljiviji (Michell i sar, 1989; Trailović, 2009). U jednoj studiji je, na primer, posmatranjem normalnih konja kojima su davane ponavljane inkompatibilne transfuzije, zabeleženo da su ikterus i proteinurija bili jedini klinički simptomi koji su trajali duže od 24 sata, pri čemu je reakcija registrovana tek kod učestalih inkompatibilnih transfuzija. U drugoj studiji je opisano uginuće jednog konja zbog anafilaktičke reakcije tokom druge transfuzije (Slovis, 1998).

Transfuzija krvi nije rizična samo zbog opasnosti od postransfuzionih komplikacija već i zbog opasnosti od prenošenja bolesti. Transfuzijom se, na primer, može preneti infektivna anemija kopitara, zbog čega još jednom naglašavamo potrebu testiranja donora, kako na krvne grupe, tako i na infektivne bolesti koje se mogu preneti putem transfuzije (Trailović, 2009).

Uzimanje krvi za transfuziju / *Taking blood for transfusion*

Puna krv od davalaca prikuplja se u kese sa antikoagulansom (ACD, PCD) u odnosu 9:1 (9 delova krvi na jedan deo antikoagulantnog sredstva). Kada god je moguće, krv treba upotrebiti odmah, premda se eritrociti mogu održati u frižideru od tri do četiri nedelje. Pre upotrebe, krv treba zagrejati do temperature tela i blago promešati, bez snažnijeg mućkanja koje može razoriti eritrocite. Davalac, kao što je već rečeno, treba da bude zdrav. Idealan davalac kod konja trebalo bi da bude Aa i Qa negativan. Ovo je posebno važno ukoliko se krv uzima za formiranje banke krvi ili se životinje drže specijalno kao davaoci.

Količina krvi potrebna za transfuziju može se izračunati sledećom jednačinom:

$$KK = TM \times (Oht - PHt) \times NV/DHt$$

gde je KK – potrebna količina krvi u mililitrima; TM – telesna masa u kilogramima; Oht – očekivana ili željena hematokritska vrednost; PHt – postojeća hematokritska vrednost; DHt – hematokritska vrednost donora i NV – normalni volumen krvi primaoca (na primer, 80 ml/kg (0,08) za odraslog konja ili 150 ml/kg (0,15) za ždrebe staro 2 dana (Michel i sar, 1989).

Primer: Kobila telesne mase 500 kg zbog velikog gubitka krvi za vreme komplikovanog porođaja sa rupturom materice ima hematokritsku vrednost 0,10.

Potrebna količina krvi (KK) iznosi: $500 \times (35-10) \times 0,08/40 = 500 \times 25 \times 0,08/40 = 25$.

Naravno, ne treba po svaku cenu ići na punu nadoknadu odjednom – 30-40% preračunatog deficita krvi je dovoljno da sačuva život životinje.

Drugi, možda jednostavniji način izračunavanja količine krvi koju treba aplikovati baziran je na kalkulaciji po kojoj aplikacija 2,2 ml pune krvi davaoca čija je hamatokritska vrednost 0,4, na kilogram telesne mase primaoca, povećava hematokritsku vrednost primaoca za 1% (Slovis, 1989).

Zbog opasnosti od unakrsnih reakcija izazvanih transfuzijom krvi dugo se traga za odgovarajućim zamenama krvi koje bi se mogle koristiti mnogo bezbednije. Tako su za humanu upotrebu napravljeni preparati hemoglobina bez strome, koji, nažalost, imaju preveliki afinitet prema kiseoniku, značajno povećavaju onkotski pritisak, pri čemu ga bubrezi brzo eliminišu. Istraživanja su iz tog razloga fokusirana ka modifikovanim polimerima hemoglobina. Jedan od njih je i polimerizovani goveđi hemoglobin koji je registrovan u Evropi i Americi za upotrebu kod pasa. Uspešno korišćenje ovog preparata opisano je i kod ždrebeta sa neonatalnom izoeritrolizom. U literaturi nalazimo podatke i o drugim pokušajima korišćenja zamena za krv, međutim, ni jedan dosadašnji izveštaj nije u dovoljnoj meri ubedljiv. Možda trenutno dostupni preparati nisu optimalni za upotrebu na konjima. U svakom slučaju, potrebe za transfuzijom krvi i dalje ostaju, uz rizik koji se mora prihvatiti ukoliko je transfuzija poslednji izbor od koga zavisi život. Ako to nije slučaj, nepotreban rizik se mora izbeći.

Tehnika aplikacije pune krvi / *Technique for applying whole blood*

Sveža ili konzervirana krv nakon zagrevanja do temperature tela može se aplikovati primenom odgovarajućeg transfuzionog seta sa filtrom i intravenskom kanilom. U slučaju kada je neophodna brza transfuzija, mogu se koristiti posebni transfuzioni setovi koji obezbeđuju brži protok krvi. Ako to nije neophodno, transfuziju uz pomoć običnog seta započinjemo sporom infuzijom sa 0,1 ml/kg telesne mase tokom prvih 10 minuta, uz pažljivo posmatranje vitalnih funkcija (puls, telesna temperatura, disanje). Ako se u ovom periodu ne uoče znaci poremećaja vitalnih funkcija, transfuzija se nastavlja brzinom od 20 do 30 ml/kg/h, uz pažljivo posmatranje pacijenta i prekidanje infuzije ukoliko se uoče bilo kakvi znaci uzbuđenja ili poremećaja vitalnih funkcija (Trailović, 2009).

Posttransfuzione komplikacije / *Posttransfusion complications*

Anafilaktička reakcija je svakako najozbiljnija komplikacija koja se češće i u težem obliku javlja kod ponovljenih transfuzija, obično nedelju dana od prve transfuzije. Senzibilizacija naime, može da se razvije za 5-6 dana, zbog čega u slučaju potrebe za ponovljenom transfuzijom treba biti oprezan. Antitela protiv eritrocitnih antigena donora nakon senzibilizacije pri tome, mogu perzistirati više od godinu dana. Zbog potrebe za urgentnom intervencijom u slučaju anafilaksije, kod svake transfuzije treba imati na raspolaganju adrenalin i brzodelujući kortikosteroid za intravensku primenu (Trailović, 2009).

Literatura / References

1. Higgins AJ, Wright IM., The equine manual. WB Saunders, Philadelphia, 1995.
2. Kristensen A. Blood banking and transfusion medicine. In: Ettinger S, Feldman EC (eds). Textbook of veterinary internal medicine, WB Saunders, Philadelphia, 1995.
3. Michell AR, Bywater RJ, Clarke KW, Hall IW, Waterman AE. Veterinary fluid therapy. Blackwell, Oxford, 1989.
4. Moris D. Diseases of the hemolymphatic system. In: Reed S, Bayly WM (eds). Equine internal medicine, WB Saunders, Philadelphia, 1998.
5. Slovis NM. How to approach whole blood transfusions. AAEP Proceedings 2001; 47: 266-9.
6. Trailović D. Poremećaji prometa vode i elektrolita u pasa i mačaka: Etiopatogeneza, dijagnostika i terapija. Visio mundi academic press, Novi Sad, 1994.
7. Trailović D. Dijagnostika i terapija oboljenja konja. Naučna, Beograd. 2009.
8. Trailović D. Nadoknada tečnosti i elektrolita, VetKer, Beograd, 2009.

ENGLISH

BLOOD TRANSFUSION IN HORSES

D. Trailović, S. Lauš, S. Đoković

Fluid therapy includes blood transfusion which presents the most efficient manner of treating hypovolaemia caused by blood loss, even though whole blood can be used as a therapeutic means in other cases as well – in deficits of the blood coagulation factor, exhaustion of the antiprotease system, hypoproteinaemia, primarily hypoalbuminaemia, and others. The application of fresh blood has an advantage over preserved blood, which does not lessen the importance of setting up a blood bank, in particular in cases when the blood groups of the donors are precisely determined.

Key words: blood transfusion, blood groups, horses, complications

РУССКИЙ

ТРАНСФУЗИЯ КРОВИ У ЛОШАДЕЙ

Д. Траилович, С. Лауш, С. Джокович

Часть терапии жидкостью это и трансфузия крови, которая представляет собой самый эффективный способ лечения гиповолемии, вызванной потерей крови, хотя полная кровь может пользоваться как терапевтическое средство и в других случаях - у дефицита факторов коагуляции крови, истощивание антипротеазной системы, гипопроотеинемии, прежде всего гипоальбуминемии и т.д. Применение свежей крови имеет преимущество в отношении консервированной, что не уменьшает значение банки крови, особенно в случаях, когда кровяные группы донора точно утверждены.

Ключевые слова: трансфузия крови, кровяные группы, лошади, осложнения

HOMEOPATSKI PROIZVODI I HOMEOPATSKO LEČENJE U VETERINARSKOJ MEDICINI U REPUBLICI SLOVENIJI*

HOMEOPATHIC PRODUCTS AND HOMEOPATHIC TREATMENT IN VETERINARY MEDICINE IN REPUBLIC OF SLOVENIA

Silvestra Kobal**

Kod različitih metoda lečenja ljudi i životinja lekari i veterinari upotrebljavaju i različite grupe lekova. U mnogim državama sveta lekari i veterinari se mogu slobodno opredeliti za upotrebu alopatskih ili homeopatskih lekova. Na taj način se lekari i veterinari mogu slobodno odlučiti po svom mišljenju za najprimereniju metodu lečenja u konkretnom slučaju ili kod pojedinog bolesnika.

Ključne reči: veterinarska medicina, farmakologija, homeopatija, homeopatski proizvodi

Uvod / Introduction

Alopatija je metoda lečenja bolesti lekovima koji poznatim mehanizmom delovanja izazovu u organizmu životinje ili čoveka određeni lekoviti učinak. Učinci se ispoljavaju simptomima koji su suprotni simptomima same bolesti kod koje se lek upotrebljava (Rang i sar., 2002; Srčić, 1997).

Za razliku od alopatije homeopatija je metoda lečenja bolesti kod ljudi i životinja kod koje se bolest leči malim dozama supstanci koje bi u većim dozama kod zdravih ljudi i životinja izazvale bolest. Kod homeopatije se radi o komplementarnom načinu lečenja po principu *similia similibus curantur* – jednako se leči jednakim ili slično se sličnim leči. Homeopatiju kao metodu lečenja utemeljio je 1810. godine lekar Samuel Hahnemann (Rang i sar., 2002; Srčić, 1997).

Samuel Hahnemann nije bio zadovoljan sa tezom Cullena da je učinak kininovca u lečenju malarije posledica gorkog ukusa kininovca. Zbog toga je Hahnemann izvršio eksperiment na sebi – oralno je uneo nekoliko doza kininovca i opisao reakciju zdravog organizma. Utvrdio je da kininovac kod zdravog

* Rad primljen za štampu 01. 09. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Silvestra Kobal, profesor, Institut za fiziologiju, farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet, Univeritet u Ljubljani, R Slovenija

organizma izaziva porast telesne temperature, što je slično kliničkim simptomima, odnosno povremenoj pojavi temperaturne groznice kod malarije. Ovaj eksperiment je označen kao početak novog načina lečenja pacijenata – homeopatskog lečenja (Rang i sar., 2002).

Homeopatija je svakako dobrodošla i može biti efikasan način lečenja, ali samo u slučajevima kada se sprovodi od strane stručnjaka, koji imaju dobro znanje iz oblasti humane, odnosno veterinarske medicine i farmacije, te dodatno poznaju područje homeopatije (Srčić, 1997).

Još za vreme Hahnemannovoga života homeopatija se proširila širom sveta. U Severnoj Americi su ustanovljeni brojni homeopatski univerzitetski centri, koji su se bavili istraživanjima i obrazovanjem iz područja homeopatskog lečenja. Na osnovu mnogobrojnih podataka iz Severne Amerike, a i Evrope, Kent je pripremio svoj Repertorijum homeopatske Materije medike (Rang i sar., 2002).

Ono što kod homeopatskog leka deluje i ima učinak nije supstanca u do sada poznatom hemijskom smislu. Kod homeopatskih lekova se ne može govoriti o farmakokinetici, farmakodinamici, kao kod klasičnih lekova. U krvi pacijenata koji su dobili homeopatski lek nije moguće izmeriti njegove koncentracije, ne možemo pratiti njegovu biotransformaciju, niti njegovo izlučivanje iz organizma, a nije poznat ni njihov mehanizam delovanja. Poznati su jedino njihovi učinci ili fenomeni koji se pojavljuju na zdravom ili bolesnom organizmu. To je i razlog zbog kojeg se homeopatski lekovi ne mogu izspitivati po principima koji važe za klasične, alopatske lekove. Zato se kod homeopatskih lekova koriste posebni sistemi ispitivanja koji su prilično precizno opisani. Kod homeopatskih lekova nema materijalnog supstrata kojeg svakako zahteva egzaktna nauka, kako bi bila u mogućnosti da obavi potrebna ispitivanja i analize (Krbavčić, 1995). Činjenica da je homeopatiju teško uklopiti u konvencionalnu statističku analizu, još nemora da znači da se radi o greškama u homeopatiji. Izvođači homeopatije tvrde da to samo ukazuje na nedostatak naučnih metoda, kao i na to da su ograničene u odnosu na konvencionalnu nauku, kao i dominantnom načinu razmišljanja. Oni smatraju da bi zahtev da se homeopatija u potpunosti podredi klasičnim statističkim metodama koje upotrebljava konvencionalna nauka bilo jednako zahtevu da ptice lete bez krila (Rang i sar., 2002).

U homeopatskom načinu lečenja ne mogu se svi pacijenti kod kojih je postavljena ista dijagnoza lečiti istim homeopatskim lekovima. To po mišljenju homeopata ne znači da je sa homeopatskim načinom lečenja bilo šta naopako već to znači da u nastajanju bolesti koje su označene istom dijagnozom, mnogo puta učestvuju i drugi faktori koji bitno utiču na uspeh samog lečenja. Kod homeopatije je uspeh u samom izlečenju čoveka ili životinje a ne u statističkim brojkama.

Homeopatija ima svoje metode, kriterijume i procedure, koji se u mnogo čemu razlikuju od konvencionalnih metoda, kriterijuma i procedura. Ona je individualna metoda lečenja, što znači da se svaki pacijent specifično leči, kao i da svaki pacijent specifično reaguje na izabrani homeopatski lek (Krbavčić, 1995).

Homeopatija je holistička metoda lečenja, a to znači da homeopatija u procesu lečenja gleda na pacijenta, čoveka ili životinju, u celini. Zato je jako važno da se homeopat upozna sa pacijentom, sa svim njegovim fizičkim i psihičkim osobinama. Homeopatija vidi bolest kao intenzivan trud organizma da ponovo uspostavi normalno stanje uz pomoć homeopatskih metoda. Uloga homeopatskih lekova je samo u stimulaciji prirodnih mehanizama.

Homeopatski lekovi se pripremaju postupkom diluiranja (razblaživanja) osnovnih homeopatskih sirovina, nakon čega sledi dinamizacija (potenciranje) rastvora. Svako sledeće diluiranje je ustvari potenciranje učinka homeopatskog leka, iako je količina osnovne homeopatske sirovine manja i uz pomoć poznatih i validiranih klasičnih analitičkih metoda nemoguće ju je identifikovati.

Činjenica da se osnovne homeopatske sirovine u konačnom homeopatskom leku ne mogu niti kvalitativno definisati upotrebom poznatih i validiranih klasičnih analitičkih metoda jeste glavni uzrok nesuglasica između konvencionalne medicine i homeopatije (Srčić, 1997). Tako konvencionalna medicina, kao i homeopatija imaju nekad dobre, a nekad loše osobine, jer mnogi doktori humane i veterinarske medicine smatraju da se oba sistema mogu uspešno kombinovati. Svakako bi u sistemu lečenja morala biti konvencionalna medicina na prvom mestu.

Pravna regulativa na području homeopatskih proizvoda u Republici Sloveniji *Legal regulations in area of homeopathic products in Republic of Slovenia*

U lečenju bolesti kod ljudi i životinja, doktori humane i veterinarske medicine u Sloveniji mogu upotrebljavati samo one metode koje su u skladu sa doktrinom lečenja, koje su potvrđene i dozvoljene zakonskom regulativom sa tog područja u Republici Sloveniji.

Zakon o veterinarstvu (Zakon o veterinarstvu, Ul. R Slovenije št. 33/2001) ne tumači (daje) ulogu i položaj homeopatskog lečenja.

U Zakonu o lekovima (Zakon o zdravilih, Ul. R Slovenije št. 31/2006) data je definicija leka u kojoj se navodi da je lek svaka supstanca ili kombinacija supstanci koja je pripremljena i namenjena preventivi ili terapiji određene bolesti kod ljudi ili životinja. Za lek se smatra i svaka supstanca ili kombinacija supstanci koja se može upotrebiti kod čoveka ili životinje sa ciljem da bi se postavila dijagnoza ili ponovo uspostavile, poboljšale ili promenile fiziološke funkcije organizma.

Zakon o lekovima navodi i homeopatske proizvode. Homeopatski proizvodi pripremljeni su iz homeopatskih sirovina, a proizvode se u skladu sa homeopatskim postupcima navedenim u Evropskoj farmakopeji ili u drugim važećim farmakopejama pojedinih članica Evropske zajednice, u slučajevima kada Evropska farmakopeja ne propiše drugačije (Zakon o zdravilih, Ul. R Slovenije št. 31/2006).

Slovenija je članica Međunarodne farmaceutske federacije (FIP). To je i razlog da slovenački farmaceuti, lekari i veterinari sve češće kontaktiraju sa svo-

jim kolegama iz evropskih država i da se sve više interesuju za različite alternativne metode lečenja, koje su u mnogim državama Evropske zajednice, a i u mnogim drugim državama u svetu, već javno priznate i dozvoljene. U svoju doktrinu lečenja mnogi slovenački lekari, pa i veterinarci želeli bi da uvedu i različite alternativne metode lečenja. U poslednje vreme u tome prednjači baš zanimanje za homeopatiju. U nekim delovima Evrope homeopatija ima već dvestogodišnju tradiciju, pri čemu je ili samo naučno potvrđen ili naučno potvrđen i pravno dozvoljen način lečenja.

Homeopatsko lečenje i proizvodnja homeopatskih proizvoda su u evropskim državama pravno precizirani. Jako opširna stručna literatura na engleskom, francuskom i nemačkom jeziku predstavlja osnovu za usavršavanje stručnjaka i kvaliteta proizvoda sa tog područja. Republika Slovenija je januara 1997. preuzela Evropsku farmakopeju (zbirku propisa za rad na području farmacije) kao važeći dokument iz te oblasti. Evropska farmakopeja ima i opšte poglavje o homeopatskim proizvodima (European Pharmacopoeia Fourth Edition-Ph. Eur.4th ed., 2002).

Na osnovu Zakona o lekovima Ministarstvo za zdravlje Republike Slovenije pripremiло je i u Službenim novinama Republike Slovenije objavilo Pravilnik o homeopatskim proizvodima (Pravilnik o homeopatskih izdelkih, UI. R Slovenije št. 96/2001) u kojem su precizno opisani homeopatski proizvodi, uslovi za njihovu proizvodnju, njihovo označavanje, njihovo reklamiranje i stavljanje u promet.

U poglavlju III. Pravilnika o homeopatskim proizvodima (Pravilnik o homeopatskih izdelkih, UI. R Slovenije št. 96/2001) – Označavanje i uputstvo za upotrebu, piše da svaki homeopatski proizvod koji se stavlja u promet mora imati oznaku "homeopatski proizvod" kao i sledeće podatke na samoj ambalaži proizvoda koji moraju biti na slovenačkom jeziku:

- zvanično ime homeopatske sirovine i stepen razređenja, odnosno razblaženja označen prema farmakopeji, na bazi koje je proizvod pripremljen;
- ime i adresa nosioca dozvole za promet i ako je potrebno, iste podatke i za proizvođača;
- farmaceutske oblike proizvoda;
- oznaku: "Homeopatski proizvod, koji nema dokazanih lekovitih učinaka";
- način upotrebe (aplikacije);
- sadržaj (masa, volumen, broj jedinica);
- uputstvo za čuvanje, ako je to potrebno;
- konačni datum ili rok upotrebe proizvoda (mesec i godina);
- upozorenje: "Posavetujte se sa lekarom ili farmaceutom, ako se znaci bolesti ne poprave!";
- upozorenje: "Proizvod čuvati van domašaja dece!";
- posebna druga upozorenja, ako je potrebno;
- način izdavanja proizvoda;

– serijski broj proizvoda.

Upotrebu homeopatskih proizvoda za zdravstvenu zaštitu životinja, a posebno za zdravstvenu zaštitu životinja koje se na bilo koji način uključuju u lanac ishrane čoveka, mora prvo jasno precizirati Zakon o veterinarstvu..

U Sloveniji je registrovano Slovensko homeopatsko društvo. Slovensko homeopatsko društvo je član "European Committee for Medical Homoeopathy" (ECMH). European Committee for Medical Homoeopathy udružuje evropske homeopatske lekare i farmaceute. Seminari, na kojima predaju poznati renomirani austrijski i nemački lekari homeopati i farmaceuti, izvode se po pravilima koja važe u Evropskoj zajednici. Na navedenim seminarima je sve više i veterinarara. Homeopatski proizvod još uvek nije moguće nabaviti u apotekama na području Slovenije, mada mnoge apoteke daju informacije o homeopatskim lekovima. Prema podacima Javne agencije Republike Slovenije za lekove i medicinska sredstva, do danas je agenciji dostavljen samo jedan zahtev za dobijanje dozvole za stavljanje homeopatskog proizvoda u promet, pri čemu ta molba nije bila kompletno dokumentovana.

Zaključak / Conclusion

Primena homeopatskog načina lečenja, a time i upotreba homeopatskih proizvoda se u humanoj i veterinarskoj medicini u Republici Sloveniji često kombinuje sa lečenjem uz upotrebu lekovitog bilja (biljna apoteka) ili sa drugim alternativnim metodama lečenja.

Na osnovu značaja koji ima upotreba lekova, pre svega u zdravstvenoj zaštiti životinja, a usled toga i na bezbednost namirnica životinjskog porekla, dopušta se upotreba homeopatskih proizvoda za preveniranje i lečenje životinja čiji se proizvodi koriste za ishranu ljudi, ali samo pod uslovom da ovi preparati sadrže dokumentaciju ili podatke o ispitivanju rezidua kod tretiranih životinja, kao i podatke o eventualnom uticaju homeopatskog proizvoda na prisustvo i količinu važnih fizioloških supstanci (neki hormoni, agonisti i sl.) u organizmu životinje. Prisustvo rezidua ili određenih fizioloških supstanci moglo bi značajno uticati na procenu zdravstvene sigurnosti prehrambenih proizvoda životinjskog porekla.

Veterinarska doktrina preventive i terapije domaćih životinja u Republici Sloveniji danas se bazira na naučnim saznanjima iz oblasti biohemije, fiziologije, patofiziologije, farmakologije, toksikologije i farmacije (Zakon o veterinarstvu, U. R Slovenije št. 33/2001).

Poštovanjem odluke određenih državnih organa u Republici Sloveniji da će Republika Slovenija harmonizovati svoje zakone sa pravnim redom Evropske zajednice znači da će Republika Slovenija morati harmonizovati i zakonske norme vezane za homeopatske proizvode, kao i homeopatske metode lečenja, kako kod ljudi, tako i životinja. Određene direktive Evropske zajednice jasno na-

vode upotrebu i značaj određenih homeopatskih proizvoda za zdravstvenu zaštitu domaćih životinja koje se uključuju u lanac ishrane čoveka.

Veterinarska struka zato mora ozbiljno uz punu odgovornost pristupiti rešavanju pravne problematike na području homeopatskih metoda lečenja i homeopatskih proizvoda kao i kontrole kvaliteta i kvantiteta homeopatskih proizvoda. Kontrola kvaliteta i kvantiteta homeopatskih proizvoda morala bi biti jasno određena i opisana u dokumentaciji koja se predaje u cilju dobijanja dozvole za stavljanje jednog ovakvog proizvoda u promet na području Republike Slovenije.

Literatura / References

1. European Pharmacopoeia Fourth Edition-Ph. Eur.4th ed., 2002.
2. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone 2003; 2-3.
3. Srčič S. Farmaceutvska tehnologija za srednjo stopnjo. Ljubljana: Didakta 1997; 284-5.
4. Krbavčič A. Homeopatija. Farm Vestn 1995; 46: 3-4.
5. Zakon o veterinarstvu (Ul. R Slovenije št. 33/2001).
6. Zakon o zdravilih (Ul. R Slovenije št. 31/2006).
7. Pravilnik o homeopatskih izdelkih (Ul. R Slovenije št. 96/2001).

ENGLISH

HOMEOPATHIC PRODUCTS AND HOMEOPATHIC TREATMENT IN VETERINARY MEDICINE IN REPUBLIC OF SLOVENIA

Silvestra Kobal

Doctors and veterinarians in many countries of the world have an opportunity to select between allopathic or homeopathic drugs. The selection of an appropriate method for medical treatment should be performed from the individual point of view.

Key words: veterinary medicine, pharmacology, homeopathy, homeopathic products

РУССКИЙ

ГОМЕОПАТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ И ГОМЕОПАТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ В РЕСПУБЛИКЕ СЛОВЕНИИ

Силвестра Кобал

У различных методов лечения людей и животных врачи и ветеринары употребляют и различные группы лекарств. В многих странах мира врачи и ветеринары могут свободно определиться для употребления аллопатических или гомео-

патических лекарств. Таким образом врачи и ветеринары могут свободно решить по своему имению для самого примерного метода лечения в конкретном случае или у отдельного больного.

Ключевые слова: ветеринарная медицина, фармакология, гомеопатия, гомеопатические продукты

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2009-2010. GODINE

Draškić Z. Milun

Rođen 17. 05. 1979. u Požegi
Diplomirao 21. 10. 2009. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Vojvode Šupljuklja 8

Tetkić I. Marija

Rođena 24. 02. 1983. u S. Mitrovici
Diplomirala 25. 11. 2009. godine
Stalno mesto boravka Šid
Matije Gupca 14

Vasić M. Marko

Rođen 27. 10. 1982. u Požarevcu
Diplomirao 22. 12. 2009. godine
Stalno mesto boravka Požarevac
15. Oktobar 2/8

Šego J. Zorica

Rođena 07. 08. 1978. u Beogradu
Diplomirala 23. 12. 2009. godine
Stalno mesto boravka Barajevo
Lipovačka 61, Guncate

Kostić D. Suzana

Rođena 19. 07. 1980. u Šapcu
Diplomirala 29. 12. 2009. godine

Aćimović D. Đorđe

Rođen 19. 07. 1981. u Beogradu
Diplomirao 10. 02. 2010. godine

Stalno mesto boravka Beograd
Tavčareva 3/3

Đorić M. Ivana

Rođena 15. 08. 1979. u Zemunu
Diplomirala 10. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Bečmen
Vuka Karadžića 3

Ilić N. Vladimir

Rođen 26. 09. 1984. u Valjevu
Diplomirao 10. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Ub
Sovljak bb

Kos D. Andrea

Rođen 30. 03. 1980 u Banja Luci,
R. Srpska, BiH
Diplomirao 10. 02. 2010.
Stalno mesto boravka Beograd
Tadeuša Koščuška 64/94

Bajić Š. Slobodan

Rođen 29. 02. 1980. u Sarajevu, BiH
Diplomirao 16. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Cvijićeva 63

Majkić R. Predrag

Rođen 24. 02. 1976. u Beogradu
Diplomirao 16. 02. 2010. godine

Stalno mesto boravka Leštane
Živka Živkovića 57

Šević B. Kristina

Rođena 31. 03. 1985. u Banja Luci,
R. Srpska, BiH
Diplomirala 16. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Srbac, BiH
Moše Vidovića 85

Mirčetić Ž. Jelena

Rođena 04. 02. 1978. u Beogradu
Diplomirala 17. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Mutapova 40

Pešić R. Branislav

Rođen 12. 04. 1983. u Beogradu
Diplomirao 17. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka N. Beograd
Jurija Gagarina 206

Stević O. Nataša

Rođena 15. 09. 1984. u Beogradu
Diplomirala 17. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Borča
Bele Bartoka 12

Milojković S. Marko

Rođen 24. 05. 1982. u Aleksincu
Diplomirao 18. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Vojvode Vlahovića 35đ

Stojković R. Ivica

Rođen 11. 11. 1979. u Negotinu
Diplomirao 18. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Negotin
Branka Perića 20/14

Matić Z. Vladimir

Rođen 16. 09. 1981. u Beogradu
Diplomirao 19. 02. 2010. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Paunova 61

U prethodnom broju časopisa Veterinarski glasnik (Vol. 63, No 5-6) na strani 269 pogrešno je uneto ime jednog koautora:

- red 10 - piše J. Miljas, treba N. Miljas i
- red 34 - piše Jako Miljas - treba Niko Miljas.

Redakcija se izvinjava autoru zbog ove tehničke greške.

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 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 zare-zom. 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 tabele. 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 poledini 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 stavljati 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 "Radivije Čirpanov", 1978.
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev. ed. London: S Paul, 1986.
Mihajlov AI, Černyj AI, Giljarevskij PS. Naučnie komunikacii 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, editros. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-72 .

4. Rad ili apstrakt u Zborniku radova:

Ćupić V, Trailović D, Dobrić S, Velez 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 veterinarara 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

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VETERINARSKI GLASNIK

GOD. LXIII

BEOGRAD, 2009.

BROJ 1 – 6

SADRŽAJ ZA 2009. GODINU PO AUTORIMA

➤ Aleksić Jelena, Kukolj V., Popović N.: Lajšmanioza psa – prikaz slučaja	251
Alić A.	29
Anderson R.	77
Ašanin Jelena	311
Ašanin Ružica, Žutić M., Ašanin Jelena, Mišić D., Žutić Jadranka, Jakić-Dimić Dobrila, Milić N., Nišavić J.: Ispitivanje prisustva novih oblika rezistencije na neke antibiotike kod sojeva <i>E. coli</i> izolovanih od prasadi	311
➤ Baltić M. Ž., Kilibarda Nataša, Teodorović V., Dimitrijević Mirjana, Karabasil N., Dokmanović Marija: Potencijalne biološke opasnosti od značaja za HACCP planove u procesu obrade sveže ribe.	201
Barna T.	45
Beširović H., Alić A., Prašović S., Drommer W.: Histopathological Effects of Chronic Exposure to Lead on Kidneys of Brown Trout (<i>Salmo trutta m. Fario</i>)	29
Božić A.	77
Božinović S., Marinković D.: Hirurška sanacija limbalnog dermoida i palpebralnog koloboma-dermoida kod šteneta engleskog buldoga	125
➤ Ćirović D.	243
Ćupić V.	393
➤ Dimitrijević B.	145
Dimitrijević Mirjana	201
Dokmanović Marija	201
Drommer W.	29
➤ Đorđević Milena	103
Đoković R.: Blood Concentrations of Thyroid Hormones and Lipids and Histological Changes in the Liver in Dairy Cows in Postparturient Period	285
Đuričić Bosiljka	113
➤ Fratrić Natalija	321
➤ Gagrčin M.	153

Gagrčin M., Stančić I., Božić A., Stančić B., Harvey R., Anderson R.: Re- produktivna performansa nazimica na jednoj velikoj vojvođan- skoj farmi	77
Glišić V.	237
Golubović Snežana	45
Gvozdić D.	321
➤ Hamzić E.	359
Harvey R.	77
Hasanbašić Danica	341
Hristov S.	321
Hristov S., Stanković B., Petrujković T.: Standardi dobrobiti i biosigurnosti na farmama goveda i svinja – uslovi smeštaja i držanja goveda i svinja	369
➤ Ivanović Jasna	17
Ivetić V.	3
Ivetić V.	353
➤ Jakić-Dimić Dobrila	3
Jakić-Dimić Dobrila	311
Jakić-Dimić Dobrila	353
Jovičin M.	45
➤ Karabasil N.	201
Katica Amela	341
Katica Amela	359
Katić Vera	87
Katić Vera	299
Kilibarda Nataša	201
Kirovski Danijela	171
Kirovski Danijela	331
Kirovski Danijela, Šamanc H., Fratrić Natalija, Gvozdić D., Hristov S., Sla- dojević Ž., Mircu C., Tulcan Camelia: Koncentracija kortizola, in- sulinu sličnog faktora rasta-I i imunoglobulina G-klase u krvi neonatalne teladi različite telesne mase na rođenju	321
Kitanović Smiljka	45
Knežević D.	145
Krleska-Veleva Nataša	393
Kukolj V.	103
Kukolj V.	251
Kureljušić B.	215
Kureljušić B., Marinković D., Obadović Jelena, Đorđević Milena, Kukolj V.: Histopatološka procena najčešćih oboljenja jetre kod mača- ka	103
Kureljušić B., Savić B., Prodanović R., Čirović D.: Kutani fibrom kod srne (<i>Capreolus capreolus</i>)	243

➤ Lako B.	153
Lako B.	353
Lazarević M.	45
Lazarević M.	269
➤ Marinković D.	103
Marinković D.	125
Matović K.	37
Milić N.	145
Milić N.	311
Milić N., Nišavić J., Radojičić Marina, Šekler M., Matović K., Vidanović D.: Uporedno ispitivanje osetljivosti i specifičnosti imunoenzimske probe i testa inhibicije hemaglutinacije u serološkoj dijagnostici Newcastle bolesti živine	37
Milićević Vesna	353
Miljas N.	269
Milovanović A., Jovičin M., Barna T., Golubović Snežana, Resanović V., Rodić V., Kitanović Smiljka, Lazarević M.: Primena enzimskog imunotesta za određivanje koncentracije progesterona u pu- nom kravljem mleku	45
Mircu C.	321
Mirilović M., Pejin Ivana, Teodorović Radislava, Velebit B.: Analiza kre- tanja trenda pojave trihineloze svinja pre i posle sistematske deratizacije	61
Mišić D.	311
Mišić D., Nišavić J., Žižović Irena, Ivanović Jasna: Antibakterijsko de- lovanje i citotoksični efekat natkritičnog ekstrakta timijana i ek- strakta timijana dobijenog procesom hidrodestilacije	17
Mlaćo Nadžida	359
Mutevelić T.	359
➤ Nišavić J.	17
Nišavić J.	37
Nišavić J.	145
Nišavić J.	311
➤ Obadović Jelena	103
➤ Panousis Nikolaos: Dairy Calf Pneumonia: Effective Treatment Depends on Early and Accurate Diagnosis	177
Paprikić N.	269
Pavlović I.	3
Pejin Ivana	61
Petrujkić T.	369
Plavšić B.	153
Popović N.	251
Potkonjak A.	153

Potkonjak A., Lako B., Milićević Vesna, Savić B., Ivetić V., Jakić-Dimić Dobrila, Stevančević O., Toholj B.: PCR – dijagnostika infekcije kod svinja koju izaziva <i>Mycoplasma suis</i>	353
Prašović S.	29
Prodanović R.	171
Prodanović R.	243
➤ Radanović O.	3
Radisavljević Katarina	71
Radojičić Marina	37
Radojičić Marina	145
Rajić Savić Nataša: Promena populacije <i>S. enterica</i> serotip <i>Enteritidis</i> u eksperimentalno kontaminiranom mleku u zavisnosti od temperature i kiselosti	189
Rajić Savić Nataša, Katić Vera: Osetljivost koagulaza pozitivnih stafilokoka izolovanih iz mlečne žlezde krava na odabrane antibakterijske lekove	299
Rakić-Martinez Mira, Katić Vera: Ispitivanje mogućnosti primene preparata na bazi hlor-dioksida za dezinfekciju u pogonima za preradu mleka	87
Rašić Z.	215
Resanović Radmila, Rašić Z., Kureljušić B., Vučićević Ivana: Salmone-loza u živinarstvu u svetlu uvođenja vakcinacije	215
Resanović V.	45
Rodić V.	45
Rogožarski D., Potkonjak A., Gagrčin M., Lako B., Plavšić B.: Izolacija i identifikacija <i>Brucella suis</i> biotip 2 iz punktata epididimisa nerasta obolelog od bruceloze	153
Rukavina Dunja, Hasanbašić Danica, Suljkanović E., Katica Amela: Chromosomal Damage and Mitotic Index in Bosnian and Herzegovinian Mountain Horse Lymphocytes Following Low Dose X-ray Irradiation <i>in vitro</i>	341
Samokovlija Ana, Đuričić Bosiljka: <i>Escherichia coli</i> – stari problem, nova patologija	113
Savić B.	3
Savić B.	243
Savić B.	353
Savić Đ.	331
Sladojević Ž.	171
Sladojević Ž.	321
Sladojević Ž.	331
Spasojević Kosić Ljubica: Moždani natrijumuretični peptid: dijagnostički potencijal kod pasa	381
Stančić B.	77
Stančić I.	77
Stanković B.	369

Stanojević S.	3
Stanojević S.	163
Stevančević O.	353
Stojić V.	145
Suljkanović A.	269
Suljkanović E.	341
➤ Šabanović M., Paprikić N., Suljkanović A., Miljas N., Lazarević M.: Utjecaj aplikacije GnRH – gonadorelina i prostaglandina F2 α – dinoprost na reproduktivne parametre mliječnih krava sa puerperalnim endometritisima	269
Šamanc H.	321
Šamanc H., Kirovski Danijela, Prodanović R., Vujanac I., Sladojević Ž.: Koncentracija proteina, bilirubina i glukoze u krvi krava sa dislokacijom sirišta na levo	171
Šamanc H., Kirovski Danijela, Savić Đ., Sladojević Ž., Vujanac I., Zarcula Simona: Koncentracija kalcijuma i fosfora u krvnom serumu krava sa dislokacijom sirišta na levo	331
Šamanc H., Milić N., Stojić V., Knežević D., Vujanac I., Dimitrijević B., Nišavić J., Radojičić Marina: Utvrđivanje prisustva antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV), virusa parainfluence 3 (PI3) i goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) u krvnom serumu junadi primenom indirektno imunoenzimske probe	145
Šekler M.	37
➤ Teodorović Radislava	61
Teodorović V.	201
Toholj B.	353
Tulcan Camelia	321
➤ Varatanović N., Katica Amela, Mutevelić T., Mlaćo Nadžida, Hamzić E.: Analiza infekcija mliječne žlijezde na osnovu rezultata Kalifornija mastitis testa i bakterioloških nalaza sekreta	359
➤ Velebit B.	61
Velev R., Krleska-Veleva Nataša, Čupić V.: Trovanja domaćih životinja teškim metalima	393
Vidanović D.	37
Vojinović Dragica, Žutić Jadranka, Stanojević S.: Seroprevalenca leptospiroze konja na beogradskom području u periodu od 1998. do 2008. godine	163
Vučičević Ivana	215
Vučinić Marijana: Obogaćivanje uslova života za domaće životinje na farmama, životinje u zooškim vrtovima, kućne ljubimce i ogledne životinje	227
Vučinić Marijana, Radisavljević Katarina: Dobrobit riba – mogućnost osećanja bola	71

Vujanac I.	145
Vujanac I.	171
Vujanac I.	331
Vujanac I., Glišić V.: Puerperalna hemoglobinurija – <i>Haemoglobinuria puerperalis</i>	237
➤ Zarcula Simona	331
➤ Žižović Irena	17
Žutić Jadranka	3
Žutić Jadranka	163
Žutić Jadranka	311
Žutić M.	311
Žutić M., Ivetić V., Radanović O., Žutić Jadranka, Jakić-Dimić Dobrila, Savić B., Pavlović I., Stanojević S.: Ispitivanje zastupljenosti pojedinih vrsta bakterija u plućima svinja sa pneumonijom	3

RAZNO

➤ DIPLOMIRANI STUDENTI	135, 259, 411
➤ PRIKAZI KNJIGA	407
➤ VESTI	409

INDEKS KLJUČNIH REČI

- anemija, 237, 353
- antibakterijski lekovi, 299
- antibakterijsko delovanje, 17
- antibiotici, 311
- antitela, 163
- arsen, 393
- bakterije, 3
- biološke opasnosti, 201
- biosigurnost, 369
- BNP, 381
- bol, 71
- bronchoalveolar lavage, 177
- Brucella suis* biotip 2, 153
- bruceloza, 153
- calves, 177
- chromosomal damage, 341
- citotoksični efekat, 17
- cows, 285
- cytogenetic dosimetry, 341
- deratizacija, 61
- dezinfekcija, 87
- dijagnostika, 381
- dislokacija sirišta, 171, 331
- dobrobit, 71, 369
- domaće životinje, 393
- dužina čuvanja, 189
- EIA, 45
- ekstrakti, 17
- endometritisi, 269
- Eperythrozoon suis*, 353
- epizootiološko-epidemiološka situacija, 113
- Escherichia coli*, 113, 311
- fatty liver, 285
- fibrom, 243
- fosfatemija, 331
- germicidni efekat, 87
- GnRH (gonadorelin), 269
- goveda, 369
- govedi herpesvirus 1, 145
- govedi respiratorni sincicijalni virus, 145
- HACCP, 201
- hemoglobinurija, 237
- hirurški tretman, 125
- histopathology, 29
- histopatološka procena, 103
- hlor-dioksid, 87
- horistomi, 125
- horse, 341
- iELISA, 145
- IGF-I, 321
- imunitet, 215
- imunoenzimska proba - iELISA, 37
- imunoglobulini G klase, 321
- ionizing irradiation, 341
- izolacija i identifikacija, 153
- jetra, 103
- kadmijum, 393
- kalcemija, 331
- Kalifornija mastitis test, 359
- ketosis, 285
- kidneys, 29
- koagulaza pozitivne stafilokoke, 299

- konji, 163
- korozivnost, 87
- kortizol, 321
- krava, 45, 171, 237, 269, 331, 359
- lajšmanioza, 251
- lead, 29
- leptospiroza, 163
- limbalni dermoid, 125
- lipids, 285
- mačka, 103
- mastitis, 299, 359
- metabolički profil, 171
- mleko, 45, 87, 189
- morfološke promene, 103, 243
- Mycoplasma suis*, 353
- nazimica, 77
- novorođena telad, 321
- obogaćivanje, 227
- oko, 125
- olovo, 393
- osetljivost, 299
- palpebralni kolobom-dermoid, 125
- pas, 125, 251, 381
- PCR dijagnostika, 353
- per os, 29
- performansa, 77
- pH, 189
- pluća, 3
- poisoning, 29
- preinseminaciona anestrija, 77
- progesteron, 45
- prostaglandin F2 α (dinoprost), 269
- punkcija epididimisa, 153
- reprodukcija, 77
- reproduktivni parametri, 269
- respiratory scoring system, 177
- rezistencija, 311
- ribe, 71, 201
- *Salmo trutta m. Fario*, 29
- salmonele, 189
- Salmonella* spp., 215
- srčana insuficijencija, 381
- srčana oboljenja, 381
- srna, 243
- svinje, 3, 61, 153, 311, 353, 369
- talijum, 393
- telesna masa, 321
- temperatura, 189
- test inhibicije hemaglutinacije (HI test), 37
- teški metali, 393
- thyroxine, 285
- timijan, 17
- toksičnost, 393
- transfuzija krvi, 237
- trend, 61
- trihineloz, 61
- triiodthyronine, 285
- uslovi gajenja, 369
- uslovi života, 227
- vakcinacija, 215
- verotoksičnost, 113
- virus Newcastle bolesti, 37
- virus parainfluenze 3, 145
- zatočeništvo, 227
- zoonoza, 163
- živa, 393
- živina, 215
- životinje, 227