

# VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKЕ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 57 br. 1 - 2 str. 1 - 96 Beograd, 2003.

## SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

### ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Jeremić Svetlana, Jakić - Dimić Dobrila: Sistemska *Citrobacter freundii* Infekcija kod šaranskih vrsta riba  
Sistemic *Citrobacter freundii* Infection in Carp  
Системная *Citrobacter freundii* инфекция у сазановых видов рыб . . . . . 3
- Fišter Svetlana: Numerički i strukturni polimorfizam hromozoma kod riba vrsta – *Carassius auratus gibelio* B. i *Alburnus alburnus* L.  
Numerical and Structural Chromosome Polimorphism In Fish Species - *Carassius auratus gibelio* B. and *Alburnus alburnus* L.  
Нумерационный и структурный полиморфизм хромосом у рыб виды – *Carassius auratus gibelio*, B. и *Alburnus alburnus*, L. . . . . 11

### STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Chenchev I., Nedelchev N., Sanchez-Vizcaino J. M., Romero L.: Investigation of Possibilities for Appearance of African Horse Sickness Virus and Changes in Species of the Genus „Culicoides” in Bulgaria  
Испитиванье могућности појаве вируса афричке куге коња и промене у врсти рода *Kulicoides* у Бугарској  
Испытание возможности явления вируса африканской чумы лошадей и изменения в виде рода „*Kulicoides*” в Болгарии . . . . . 23
- Orlić D., Kapetanov M., Kovačević Mira, Velhner Maja, Stojanović Dragica: Pojava infektivnog laringotraheitisa na farmama u Vojvodini  
Occurrence of Infectious Laryngotracheitis on Farms in Vojvodina  
Явление инфекционного ларинготрахеита на фермах в Воеводине . . . . . 31
- Pavlović I., Kulišić Z., Florestean Iulia: Heterakidoza fazanske divljači  
Heteracidosis in Pheasants  
Гетеракидоз фазановой дичи . . . . . 37
- Petrović Jelena, Katić Vera: Upporedno ispitivanje rezidua antibiotika u mleku enzimskom i mikrobiološkim metodama  
Comparative Analysis of Antibiotic Residue in Milk Using Enzyme and Microbiological Methods  
Сравнительное испытание остатков антибиотиков в молоке энзимным и микробиологическими методами . . . . . 43

<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Hadžimilić M.: Entropijum kod pasa i njegovo korigovanje Entropium in Dogs and its Correction Энтропиум у собак и его корригорование . . . . .</li> </ul>	51
STRUČNI PRILOZI – PROFESSIONAL PRESENTATIONS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ	
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Đurišić S., Lazić S., Petrović T., Savić-Jevđenić Sara, Lupulović Diana: Imunoenzimska – <i>ELISA</i> dijagnostika u veterinarskoj medicini Immunoenzyme – <i>ELISA</i> Diagnostics in Veterinary Medicine Иммуноэнзимная – <i>ELISA</i> диагностика в ветеринарной медицины . . . . .</li> </ul>	63
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Vakanjac Slobodanka, Obrenović Sonja, Petrujić T., Dobrić Đ.: Infektivni abortusi svinja Infectious Abortions in Swine Инфекционные абортс свиной . . . . .</li> </ul>	73
MIŠLJENJA I PREDLOZI - OPINIONS AND SUGESTIONS - МЫШЛЕНИЯ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ . . . . .	
PRIKAZ KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ . . . . .	
DOKTORI, MAGISTRI I SPECIJALIZANTI – DOCTORS OF SCIENCE, MAGISTERS OF SCIENCE AND SPECIALISTS – ДОКТОРЫ, МАГИСТРЫ И СПЕЦИЈАЛИЗАНТЫ . . . . .	
DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТИ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ . . . . .	
KALENDAR – CALENDER – КАЛЕНДАР . . . . .	

**SISTEMSKA *CITROBACTER FREUNDII* INFEKCIJA KOD  
ŠARANSKH VRSTA RIBA\***  
***SISTEMIC CITROBACTER FREUNDII INFECTION IN CARP***

Svetlana Jeremić, Dobrila Jakić-Dimić\*\*

*U radu smo opisali kliničko oboljenje šaranskih vrsta riba koje je ukazivalo na tipičnu akutnu bakterijsku septikemiju izazvanu gram-negativnom bakterijom *Citrobacter freundii*. Početkom godine, pri niskim temperaturama vode, primećen je neuobičajeni mortalitet šaranskih vrsta riba.*

*Za laboratorijska ispitivanja uzeto je 39 uzoraka obolelih riba koje su potamnele, sa izraženim egzoftalmusom, krvarenjima po koži i u očima i 10 uzoraka klinički zdravih riba. Deo promenjenih organa: škrge, parenhimatozne organe i creva koristili smo za izolovanje uzročnika. U ispitivanjima smo koristili uobičajene metode bakteriološkog pregleda. Kulture su identifikovane ispitivanjem ključnih fenotipskih obeležja i pomoću Api 20E sistema kao *Citrobacter freundii*.*

*Drugi deo parenhimatoznih organa i creva fiksirali smo u 10% formalinu i pripremili standardnom histološkom tehnikom. Patološko-histološkim ispitivanjem utvrđene su zapaljenjske i nekrotične promene na unutrašnjim organima.*

*Veštačkom infekcijom sa čistom kulturom *Citrobacter freundii* uspele smo da reprodukujemo oboljenje.*

*To je ujedno i prvi objavljeni izveštaj o utvrđivanju *Citrobacter freundii* kao uzročnika bolesti šaranskih vrsta riba u Srbiji.*

*Ključne reči: *Citrobacter freundii*, izolacija, identifikacija, šaranske vrste riba, biološki ogled*

**Uvod / Introduction**

Intenzivno gajenje šaranskih vrsta riba se svrstava u najrentabilnije načine proizvodnje belančevina životinjskog porekla. Osnovni uslov za ispunjenje

\* Rad primljen za štampu 19. 2. 2003. godine

\*\* Dr sc. Svetlana Jeremić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Odeljenje za zdravstvenu zaštitu riba, Beograd

ovog zahteva je održavanje životnih i proizvodnih funkcija riba u fiziološkim granicama. Međutim, svaka promena abiotičkih činilaca sredine (smanjenje procenta kiseonika, česte promene temperature vode, promene pH vrednosti, povećana koncentracija amonijaka i ugljen-dioksida), kao i velika gustina nasada i nesprovođenje preventivnih mera pre prezimljavanja pogoduju širenju mnogobrojnih bolesti, a među njima i bakterioze. Posebno veliki gubici se beleže kod mlađi šarana posle zimovanja koji su nastali kao posledica smanjene otpornosti organizma mladih riba posle zimskog gladovanja, niskih temperatura i degradovanja sredine.

U radu smo opisali kliničko oboljenje šaranskih vrsta riba koje je ukazivalo na tipičnu akutnu bakterijsku septikemiju po koži i unutrašnjim organima izazvanu gram-negativnom bakterijom. Procenat uginuća šarana (*Cyprinus carpio*) i babuški (*Carassius carassius*) bio je znatno veći, a znatno niži mortalitet se javio kod mlađi amura (*Ctenopharyngodon idella*) i crvenperki (*Rutilus rutilus*).

Kulture *Citrobacter freundii* su izolovane i identifikovane ispitivanjem ključnih fenotipskih obeležja i pomoću Api 20E sistema za enterobakterije.

Patološko-histološkim ispitivanjem su utvrđene zapaljenjske i nekrotične promene na unutrašnjim organima. Veštačkom infekcijom sa čistom kulturom *Citrobacter freundii* uspeli smo da reprodukujemo oboljenje.

U radu će biti razmatrana pojava za nas novog bakterijskog oboljenja, što je ujedno i prvi objavljeni izveštaj o utvrđivanju *Citrobacter freundii* kao uzročnika bolesti šaranskih vrsta riba u Srbiji.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Krajem marta i početkom aprila 2002. godine primećen je neobičajen mortalitet šaranskih vrsta riba, s tim da je procenat uginuća mlađi šarana i babuški bio znatno veći, a znatno niži mortalitet se javio kod mlađi amura i crvenperki.

Za laboratorijska ispitivanja uzeli smo 39 uzoraka obolelih riba, koje su potamnele sa izraženim egzoftalmusom, krvarenjima po koži, perajima, oko očiju i lokomotornom ataksijom i 10 uzoraka klinički zdravih riba. Deo promenjenih organa (jetra, bubreg i creva) fiksirali smo u 10% formalinu, uklopili u parafin, pravili tkivne listiće debljine 6 mikrona i obojili hematoksilin-eozinom.

Kao materijal za izolovanje uzročnika koristili smo škrge, parenhimatozne organe (jetra, bubreg i slezina) i creva obolelih i klinički zdravih riba. Škrge, parenhimatozni organi i creva sakupljeni su aseptično i inokulisani u ploče sa TSA agarom obogaćenim sa 10% FTS, sa endo agarom, krvnim agarom i inkubisane na temperaturi od 30°C tokom 5 dana. Sa triptoza soja agara i endo agara sumnjive kolonije smo presejali na 2% hranljivi agar radi dobijanja čiste kulture, koje su zatim identifikovane ispitivanjem ključnih fenotipskih obeležja i pomoću Api 20E sistema za enterobakterije. Pored toga ispitali smo oksidazu i katalazu.

Izolat (01-870) ispitan na patogenost. Za biološki ogled uzeta je mlađ šarana. Grupa se sastojala od 20 šarančića prosečne mase od 10 do 13 g koji su

bili držani u akvarijumu u aerisanoj statičkoj vodi na temperaturi od 11°C. Riba su bile injicirane i.p. sa 0,2 ml bakterijske supstancije koja je sadržala oko 10<sup>7</sup> c.f.u./ml. Sve inficirane ribe su svakodnevno posmatrane, a uginule i moribundne su ispitane bakteriološki.

### **Rezultati rada i diskusija / Results and discussion**

Do osamdesetih godina prošloga veka postojale su indicije da *Citrobacter freundii* može da prouzrokuje oboljenje kod riba. Ipak definitivni podaci nisu postignuti sve do radova Satoa i sar. 1982. [6] kada je organizam dokazan kao patogen za akvarijumske ribe, a devedesetih godina i kod gajenih riba. *Citrobacter freundii* bio je izolovan kod obolelih atlantskih salmonida u Španiji i SAD [3, 5] i kod šarana u Indiji [4].

Prva uginuća šaranskih vrsta riba započela su pri temperaturi vode od 11°C u periodu mart-april. Obolele ribe su mirne, nekoordinisanih pokreta i plutaju po površini vode. Ne reaguju na spoljašnje nadražaje i tamno su pigmentisane.

Spoljašnjim pregledom koji obuhvata kožu, peraja i pregledom prirodnih otvora kod svih primeraka primećena je povećana količina sluzne mase. Na koži su utvrđene erozije i otpadanje ljusaka. Difuzna krvarenja po koži i perajima. Kod svih primeraka utvrđen je obostrani egzoftalmus i krvarenje u očima. Na ventralnom delu trbuha utvrđena su difuzna krvarenja. Analni otvor je zacrvenjen. Škrge su blede usled anemije sa tačkastim krvarenjima, edematozne i kod pojedinih primeraka sa nekrozom vrhova škržnih listića.

Sekcijom je ustanovljeno da su svi unutrašnji organi, kao i zid ribljeg mehura, edematozni. U trbušnoj šupljini nalazi se mala količina crvenkaste tečnosti. Na unutrašnjim organima zapažaju se krvarenja, prvenstveno na unutrašnjem zidu ribljeg mehura, gonadama, crevima, mišićima, bubrezima i jetri. Slezina je povećana i nejednake boje. Zid creva je edematozan, lumen je proširen, bez sadržaja hrane, ispunjen krvavom tečnošću sa tačkastim i difuznim krvarenjima.

Naši rezultati patološko-anatomskog ispitivanja bili su identični sa rezultatima koje su dobili Karunasager i sar. 1991 [4] koji su kod šarana patološko-anatomskim pregledom utvrdili erozije i hemoragije po koži, fokalne nodule u bubrezima i druge tipične lezije za hemoragične septikemije, a razlikovali su se od rezultata koje su dobili Austin i sar. 1992. godine [2] kod kalifornijske pastrmke. Oni su utvrdili samo gastroenteritis, dok tipičnih spoljašnjih znakova bolesti nije bilo, osim jako izraženog mortaliteta.

Patološko-histološke promene smo utvrdili na jetri, bubrezima i crevima. U jetri u većem broju slučajeva utvrdili smo masnu degeneraciju jetre, odnosno nakupljanje masnih ćelija u jetri. Kod drugih primeraka utvrđene su zapaljenjske i nekrotične promene i slabija krvarenja u tkivu jetre.

Mikroskopskim pregledom tkiva bubrega utvrdili smo da su epitelije bubrežnih kanalića intaktne. Lumen bubrežnih tubula je vidljiv i potpuno prazan. U

intersticijumu bubrega, odnosno intertubularno ili perivaskularno jasno se uočava mononuklearni celularni infiltrat koji na pojedinim mestima pokazuje tendenciju međusobnog konfluisanja, obuhvatajući na taj način veća područja bubrežnog tkiva. Tu i tamo detektuju se slabija krvarenja.

Mikroskopski preparati creva ukazuju da je proprija mukoze infiltrirana inflamatornim ćelijskim elementima srednjeg intenziteta. Duž crevnog epitela mestimično se vide umnožene peharaste ćelije. U pojedinim preparatima crevne resice su hipertrofične sa tendencijom spajanja.

Zasejavanjem na TSA dobijen je naoko čist proziran bakterijski rast iz jetre, bubrega i creva iz svih obolelih riba. Formirane su okrugle, glatke konveksne kolonije prečnika 2 do 4 mm. Na krvnom agaru nisu izazvale hemolizu. Nisu izolovane bakterije iz 10 klinički zdravih riba. Na endo agaru obrazovale su srednje velike prozračne, bezbojne kolonije koje su podsećale na kolonije salmonela i šigela. Te kolonije su posle inkubacije od daljih 48 časova postale svetloružičaste, a posle 3 do 5 dana dobile su crvenu boju, jer su sporo razgrađivale laktozu. Kulture su sadržavale gram-negativne asporogene pokretne štapiće.

Tabela 1. *Biohemijske karakteristike izolata Citrobacter freundii inkubisanih na 30°C 48h*  
*Table 1. Biochemical characteristics of Citrobacter freundii isolates incubated at 30°C for 48h*

Reakcija / <i>Reaction</i>	Izolat iz šarana / <i>Carp isolate</i>	Izolat iz babuški / <i>Crusian carp</i>	Izolat Austin / <i>Isolate Austin</i>
ONPG	+	+	+
ADH	-	-	-
LDC	-	-	-
ODC	-	-	-
CIT	-	-	-
H <sub>2</sub> S	+	+	+
URE	-	-	-
TDA	-	-	-
IND	-	-	-
VP	-	-	-
GEL	-	-	+
GLU	+	+	+
MAN	+	+	+
INO	-	-	-
SOR	+	+	+
RHA	+	+	-

(nastavak tabele 1)

Reakcija / <i>Reaction</i>	Izolat iz šarana / <i>Carp isolate</i>	Izolat iz babuški / <i>Crusian carp</i>	Izolat Austin / <i>Isolate Austin</i>
SAC	+	+	-
MEL	-	+	-
AMY	+	+	+
ARA	+	+	+
OX	-	-	-
KAT.	+	+	+

Izolati su bili osetljivi na flumekvin nalidističnu kiselinu, OTC i pojačane sulfonamide.  
*Isolates were sensitive to flumequin, nalidistic acid, OTC, and enhanced sulphonamides.*

Kao što je prikazano u tabeli 1 ispitani izolati iz šarana i babuški stvarali su katalazu,  $\beta$ -galaktozidazu,  $H_2S$ , ali ne i arginin dehidrolazu, lizin, ornitin dekarboksilazu i indol. VP reakcija je bila negativna. Želatin i ureja nisu bili degradirani.

Iz dobijenih rezultata naši izolati iz šarana i babuški nisu degradisali želatin, dok je izolat Austina [2] degradirao želatin. Na citrat nije korišćen.

Naši izolati su stvarali kiselinu iz glikoze, manoze, sorbitola, ramnoze, saharoze, amigdalina i arabinoze. Pored toga, izolat *Citrobacter freundii* iz babuški stvarao je kiselinu iz melebioze. Izolat Austina i sar. [2] nije stvarao kiselinu iz ramnoze, saharoze i melebioze. Upoređivanjem biohemijskih osobina naših izolata sa osobinama izolata koji je opisao Austin [2] došli smo do zaključka da postoje sojevi *Citrobacter freundii* koji slabije ili više razgrađuju ugljene hidrate. Iz dobijenih rezultata kulture su identifikovane kao *Citrobacter freundii*.

Znaci oboljenja i mortalitet od 50 posto posle biološkog oglada usledio je 8 dana od i.p. infekcije. Kod moribundnih i uginulih šarana utvrdili smo tačkasta i difuzna krvarenja po koži i perajima. Škrge su bile anemične sa tačkastim krvarenjima i otokom škržnih listića.

Sekcijom su utvrđeni peritonitis i krvavi transudat u trbušnoj šupljini. Jetra je svetloružičaste boje sa tačkastim krvarenjima. Slezina je uvećana sa zaobljenim ivicama. Bubrege je sivkaste boje. Zapaljenje creva sa sluzavim sadržajem.

*Citrobacter freundii* je izolovan iz svih uginulih i moribundnih riba. Štaviše patogen je reizolovan iz bubrega i jetre od svih preživelih riba na kraju oglada.

Iako je *Citrobacter freundii* uobičajen stanovnik u eutrofnim hladnim vodama [1] smatramo da je oboljenje nastalo nakon prezimljavanja posle hladne zime, sa većim brojem ledenih dana i čestim snežnim padavinama. Ribe su poikilotermni organizmi, tj. poprimaju temperaturu vode koja ih okružuje, pa svaka promena temperature veoma mnogo utiče na tok životnih procesa. Mlađ šaran-

skih vrsta riba je osetljivija od odraslih i najniža dozvoljena temperatura u ribnjaku za mlađ je od 0,1 do 0,2°C. Kod dugih zahlađenja, pri tim temperaturama smanjuje se otpornost organizma riba i pojavljuje se oboljenje koje prati masovno uginuće mlađi.

To je ujedno i prvi objavljeni izveštaj o utvrđivanju *Citrobacter freundii* kao uzročnika bolesti šaranskih vrsta riba u Srbiji.

#### Literatura / References

1. Allen D. A., Austin B., Colwell R. R.: Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. J. Gen. Microbiol. 129, 2043-2062, 1983. - 2. Austin B., Stobie M., Robertson P. A. W.: *Citrobacter freundii*: the cause of gastro-enteritis leading to progressive low level mortalities infarmed rainbow trout, *oncorhynchus mykiss* walbaum, in Scotland; Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 12, 5, 166 -168, 1992. - 3. Baya A. M., Lupiani B., Hetrick F. M., Toranzo A. E.: Increasing importance of *Citrobacter freundii* as a Fish pathogen. Fish Health Section/AM. Fish. Soc. Newsletter 18, 4, 1990. - 4. Karunasagar I., Pai R.: Systemic *Citrobacter freundii* infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. fingerlings. J. Fish Dis, 15, 95-98, 1992. - 5. Sanz F.: Rainbow trout mortalities associated with a mixed infection with *Citrobacter freundii* and IPN virus. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 11, 222-224, 1991. - 6. Sato N., Yamane N., Kawamura T.: Systemic *Citrobacter freundii* infection among sunfish *Mola mola* in Matsushima aquarium. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 49, 1551-1557, 1982.

**Napomena:** Sredstva za izradu ovog rada obezbeđena su iz projekta „Nekonvencionalna animalna proizvodnja” (Br. 505.0541B) Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije

#### ENGLISH

#### SYSTEMIC *CITROBACTER FREUNDII* INFECTION IN CARP

Svetlana Jeremić, Dobrila Jakić-Dimić

The paper describes a clinical disease in carp fish species which indicated a typical acute bacterial septicaemia caused by the gram-negative bacteria *Citrobacter freundii*. An unusual mortality of carp fish species was observed during low water temperatures at the beginning of the year.

A total of 39 samples were taken for laboratory examinations from diseased fish which had become darker, with expressed exophthalmus bleedings on the skin and eyes, and 10 samples from clinically healthy fish. Part of the altered organs: gills, parenchymatous organs and intestines were used for isolating the causes. The usual methods of bacteriological examinations were used for the investigations. Cultures were identified by examining key phenotype markings and using an Api 20E system as *Citrobacter freundii*.

Other parts of parenchymatous organs and intestines were fixed in 10% formaline prepared according to the standard histological method. Pathohistological examinations established inflammatory and necrotic changes in internal organs.



We succeeded in reproducing the disease with an artificial infection using a pure culture of *Citrobacter freundii*.

This is the first published report on establishing *Citrobacter freundii* as the cause of carp diseases in Serbia.

Key words: *Citrobacter freundii*, isolation, identification, carp fish species, biological experiment

## РУССКИЙ

### СИСТЕМНАЯ *CITROBACTER FREUNDII* ИНФЕКЦИЯ У САЗАНОВЫХ ВИДОВ РЫБ

Светлана Еремич, Добрила Јакич-Димич

В работе мы описали клиническое заболевание сазановых видов, которое указывало на типичную острую бактериальную септицемию, вызванную грам отрицательной бактерией *Citrobacter freundii*. В начале года при низких температурах воды замечена необычная смертность сазановых видов рыб.

Для лабораторных испытаний взяты 39 образчиков, заболевших рыб, потемневшие, с выраженным экзофтальмусом кровотечениями и по коже и в глазах и 10 образчиков клинически здоровых рыб. Часть измененных органов: жабры, паренхиматозные органы и кишки мы использовали для изолирования возбудителя. В испытаниях мы использовали обычные методы бактериологического осмотра. Культуры установлены испытанием ключевых фенотипных признаков и помощью Ари 20Е системы как *Citrobacter freundii*.

Вторую часть паренхиматозных органов и кишок мы фиксировали в 10% формалине мы подготовили стандартной гистологической техникой. Патогистологическим испытанием установлены воспалительные и некротические изменения на внутренних органах.

Искусственной инфекцией с чистой культурой *Citrobacter freundii* мы успели репродуцировать заболевание.

Это вместе и первое объявленное известие о установлении *Citrobacter freundii* как возбудителя болезни сазановых видов рыб в Сербии.

Ключевые слова: *Citrobacter freundii*, изоляция, идентификация, сазановые виды рыб, биологический опыт

**NUMERIČKI I STRUKTURNI POLIMORFIZAM HROMOZOMA  
KOD RIBA VRSTA – *Carassius auratus gibelio* B. I *Alburnus  
alburnus* L.\******NUMERICAL AND STRUCTURAL CHROMOSOME POLIMORPHISM IN  
FISH SPECIES - *Carassius auratus gibelio* B. AND *Alburnus alburnus* L.*****Svetlana Fišter\*\***

Prikazani su rezultati citogenetičkih istraživanja riba vrste *Carassius auratus gibelio* B. i vrste *Alburnus alburnus* L. Definisan je kariotip riba koje su uhvaćene na različitim lokalitetima vodâ u Srbiji. U okviru biseksualne populacije srebrnog karaša *Carassius auratus gibelio* B., uočena je varijabilnost u broju poslednjih, najsitnijih akrocentrika ( $2n=100\pm 2-4$ ). Ovi varirajući akcesorni hromozomi nazvani su B-analozima. Ustanovljen je broj hromozoma ( $3n=150+8$  i  $3n=150+10$ ) i date su karakteristike kariotipa kod ginogenetskih linija triploidnih ženki. Ukazano je na to da se postojeći klonovi razlikuju u broju hromozoma, tj. u broju B-analoga, koji su, verovatno, i uzrok nastanka – ginogenetskih karioklonova.

Kod vrste *Alburnus alburnus* L. (uklije), ustanovljeno je da postoje izmenjeni kariotipovi sa velikim metacentrikom – Robertsonovom fuzijom, translokacijom, koju, verovatno, čine dva najveća akrocentrika. Razmatrana je mogućnost održanja varijabilnosti u populacijama ove vrste. Rezultati su diskutovani u odnosu na poremećaje do kojih ove promene dovode u reprodukciji i moguće posledice koje mogu da se očekuju u potomstvu.

*Ključne reči: kariotip, ribe, hromozomi, numeričke aberacije kariotipa, poliploidija, ginogeneza, strukturne aberacije hromozoma, Robertsonova translokacija, Carassius auratus gibelio B., Alburnus alburnus L.*

\* Rad primljen za štampu 29. 1. 2003. godine

\*\* Dr Svetlana Fišter, viši naučni saradnik, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

## Uvod / Introduction

Promene u kariotipu koje se odnose na promenu broja i morfologije hromozoma, moguće su i dešavaju se u različitoj meri i sa različitim ishodima, kod svih živih organizama. Svakako da su ova dešavanja kod nekih organizama bolje proučena, nego kod drugih.

Da bi se moglo da se razume šta je to – aberacija, a šta – normalno stanje, treba dobro da se poznaje hromozomsko ustrojstvo vrste, što u okviru klase Riba, nije uvek slučaj. Od ogromnog broja vrsta – riba koje danas žive, koji iznosi oko 10 000, i predstavlja svakako najveći broj vrsta u okviru bilo koje klase kičmenjaka, samo je jedan mali broj citogenetički proučen – oko 2-3 posto.

U slatkim vodama Jugoslavije, ovaj broj se svodi na stotinak stalno prisutnih vrsta, pa i od njih, neke vrste imaju sasvim nepoznate kariotipove. Za čoveka, na prvi pogled, neke od ovih vrsta su izuzetno značajne, bilo zbog toga što ih on uzgaja u ribnjacima – radi ishrane ili ih lovi iz zadovoljstva ili neke od njih predstavljaju izuzetno važne karike lanaca ekosistema ili su kao - veštački i neznačajni, unete - korovske vrste, postale štetočine, pa nije lako da se iskorene. Međutim, ne postoji ni jedan valjan razlog da se tvrdi da je neka vrsta – kao predmet istraživanja – značajnija od bilo koje druge, na šta nas vrlo očigledno genetika upućuje. Iako je citogenetika riba stara koliko i sama citogenetika, tek pedesetak godina, činjenica je da su već postignuti izuzetni rezultati. Ipak, u našem bliskom okruženju postoje vrste koje su malo ili nisu uopšte citogenetički proučene. Pri tome, postojeći podaci mogu da budu oskudni ili su često pogrešni. Tome ne doprinose samo nedostaci dobrih tehnika, već i pojava populacionog polimorfizma ili pojava pojedinačnih aberantnih jedinki, koje kod riba u velikom broju slučajeva, za razliku od onoga što se dešava kod sisara, po spoljašnjem izgledu, fenotipski, ne odudaraju od ostalih – normalnih, jedinki iste vrste. Pored odstupanja u broju hromozoma, kod riba iz slobodnih voda mogu da se ustanove i različite strukturne promene, najčešće tipa Robertsonovih fuzija i hromozomskih prekida i gapova, ali i druge. Povećana učestalost prekida na hromozomima riba često ukazuje na prisustvo genotoksičnog zagađenja [13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23] u prirodnoj sredini. Pojavu aberacija komplikuje još i tetraploidno poreklo mnogih vrsta čak i familija (*Salmonidae*) i/ili rodova kao što su to - u okviru ciprinida, rodovi – *Cyprinus*, *Barbus* i *Carassius*, u okviru kojih se tetraploidizacija, najverovatnije, sasvim nezavisno dogodila [27].

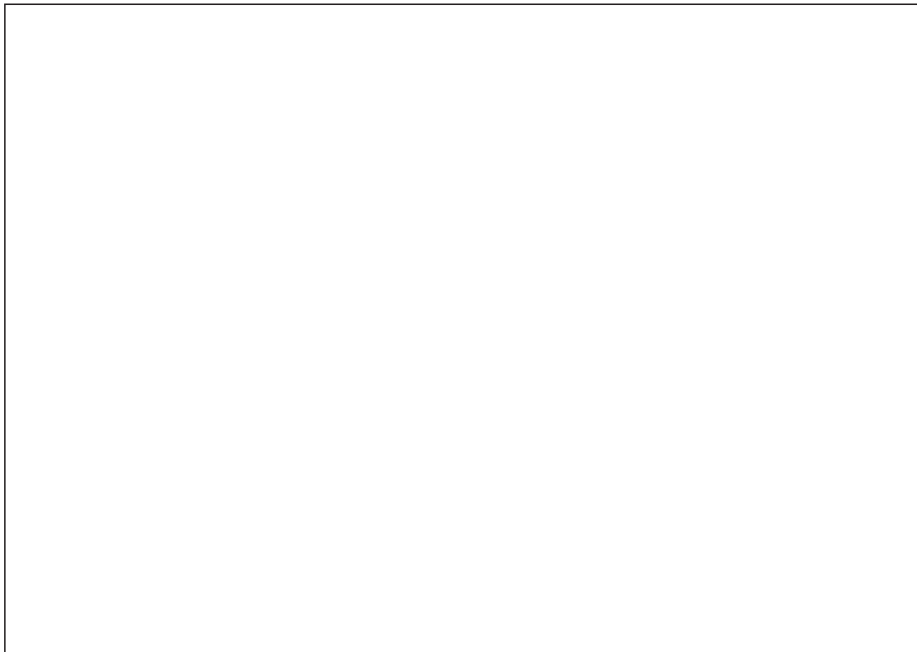
Ovaj rad je imao za cilj da prikaže rezultate istraživanja numeričkog polimorfizma u okviru roda *Carassius*, kod vrste *Carassius auratus gibelio*, B. i rezultate istraživanja nekih strukturnih hromozomskih promena kod vrste *Alburnus alburnus*, L.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Tokom dužeg vremenskog perioda, od 1986. do 1998. godine, navedene vrste riba, srebrni karaš - babuška (*Carassius auratus gibelio*, B) i uklija (*Alburnus alburnus*, L), lovljene su na različitim lokalitetima ravničarskih reka: Dunava, Save, Tamiša, u njihovim rukavcima, ritovima i kanalima Vojvodine. Kariotip je bio analiziran kod najmanje 100 primeraka riba iste vrste, uvek 6 do 10 primeraka sa istog lokaliteta (u jednoj seriji), a kod svakog primerka analizirano je najmanje 30 mitotskih, metafaznih figura hromozoma, pri čemu su određivani diploidni broj i morfologija hromozoma. Hromozomi za analizu dobijeni su preparacijom iz tkiva bubrega, prema metodi Fontana i sar. [24].

#### **Rezultati rada i diskusija / *Results and discussion***

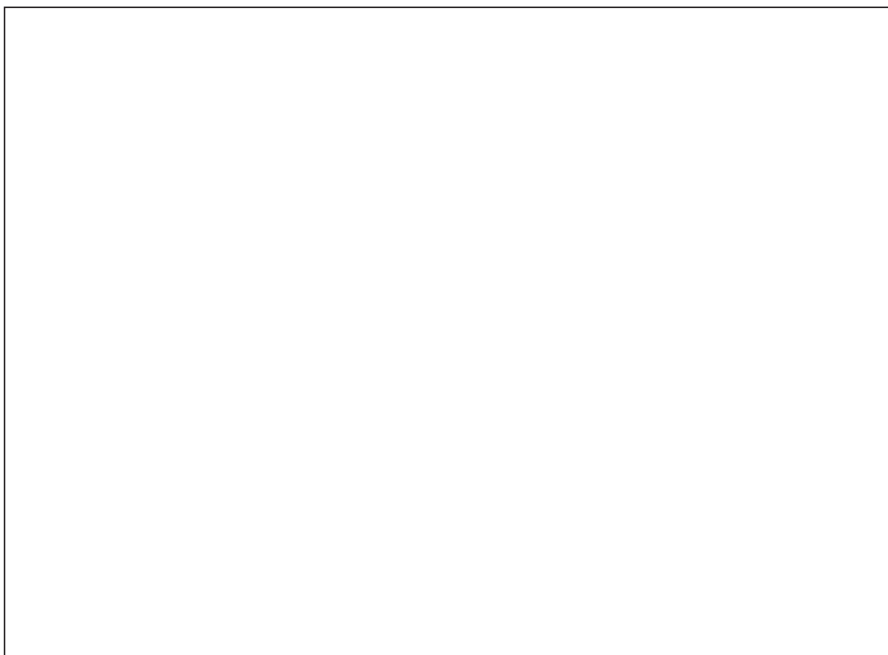
Pored toga što je ustanovila i citogenetički analizirala uniseksualne, triploidne, ginogenetske linije srebrnog karaša - *Carassius auratus gibelio* B., Fišterova je [13, 14], u vodama Jugoslavije, ustanovila prisustvo i citogenetički analizirala biseksualne populacije ove vrste [12, 13, 15], kod kojih je (kao i kod uniseksualnih linija), broj hromozoma varirao, čak i individualno - od 98 do 104 (slike 1, 2, 3 i 4).



Slika 1. Kariotip mužjaka srebrnog karaša *Carassius auratus gibelio*, B. -  $2n = 100$   
Figure 1. Karyotype of a male *Carassius auratus gibelio*, B. -  $2n = 100$

Osnovni kariotip vrste čini kariotip od  $2n=100$  hromozoma (slika 1). On se sastoji od: 24 metacentrika, tj. 12 pari metacentričnih hromozoma; 12 submetacentrika, tj. 6 pari submetacentričnih hromozoma; 22 subakrocentrika, tj. 11 pari subakrocentričnih hromozoma i 40 akrocentrika, tj. 20 pari akrocentričnih hromozoma. Vrednost broja hromozomskih krakova za jedinke sa  $2n=100$  hromozoma, prema tome iznosi  $NF=156$ . Ovakav kariotip je bio ustanovljen kod prvog nađenog i citogenetički analiziranog mužjaka iz Tamiša [12].

Na slici 2 prikazan je kariotip ženke, uhvaćene u Dunavu, koja poseduje  $2n=102$  hromozoma. Slika kariotipa, prema morfologiji hromozoma, ista je do  $2n = 100$ , s tim što je povećanje broja povezano sa povećanjem broja najsitnijih akrocentrika. Ova jedinka poseduje jedan par najsitnijih akrocentrika više od jedinke sa  $2n=100$ , tako da je  $NF = 158$ . Na slici 3 prikazan je kariotip mužjaka sa  $2n=104$  hromozoma, gde je  $NF = 160$ . Broj, takođe, varira u grupi najsitnijih akrocentrika, dok su broj i morfologija ostalih hromozoma očuvani, pa je  $2n = 100 \pm (2 - 4)$ .



Slika 2. Kariotip ženke *Carassius auratus gibelio*, B. sa  $2n = 102$

Figure 2. Karyotype of *Carassius auratus gibelio*, B. - a female with  $2n = 102$

Očigledno je da broj hromozoma varira kod jedinki biseksualne populacije ove vrste, a ovom variranjem je, najverovatnije, uzrok variranje broja najsitnijih akrocentrika, dok broj metacentričnih, submetacentričnih i subakrocentričnih hro-



Slika 3. Mužjak srebrnog karaša *Carassius auratus gibelio*, B. sa  $2n = 104$   
*Figure 3. Carassius auratus gibelio*, B. – a male with  $2n = 104$



Slika 4. Kariotip ginogenetskih uniseksualnih jedinki *Carassius auratus gibelio*, B. sa  $3n = 158$   
*Figure 4. Karyotype of gynogenetic unisexual individuals of Carassius auratus gibelio*, B. with  $3n = 158$

mozoma nije promenjen. Ove varirajuće hromozome Fišterova [12, 13, 14, 15] smatra, prema ponašanju i konstituciji, sličnim B hromozomima, tj. naziva ih B-analozima. Istovremeno navodi hipotezu o njihovom mogućem nepravilnom razdvajanju tokom mejotičkih procesa, što bi moglo da uzrokuje nastanak aneuploidnih gameta, koji bi, tokom fertilizacije, mogli da izazovu fuziju naslednog materijala sekundarnog polarnog tela sa jajnom ćelijom i prouzrokuju nastanak – triploidne jedinke i možda, na taj način – različitih karioklonova uniseksualnih linija ove vrste, smatra Fišterova [13, 14].

Na slici 4 prikazan je kariotip uniseksualnih jedinki srebrnog karaša koje pripadaju ginogenetskoj, triploidnoj – populaciji iz Pančevačkog Rita. Broj hromozoma kod jedinki ove populacije je 158. Na slici 4 prikazani su hromozomi koji su, prvo, poslagani u grupe (prema morfologiji): 18 pari metacentrika (M), 27 pari submetacentrika (SM) i subakrocentrika (SA) i 34 para akrocentrika (A). Zatim se pokušalo da se hromozomi slože u grupe od po tri – triplete. Na taj način je prikazan hipotetični kariotip od 12 tripleta metacentrika (M), 18 tripleta submetacentrika (SM) i subakrocentrika (SA) i 20 tripleta akrocentrika (A) i jednim „ostatkom” od osam najsitnijih akrocentričnih hromozoma [13]. U Dunavu su nađene ginogenetske jedinke koje su posedovale 160 hromozoma [43].

Ove morfološke grupe u potpunosti odgovaraju broju hromozoma po grupama, koje su ustanovljene kod mužjaka sa  $2n=100$  hromozoma; tj.  $n = 50$ , s tim što se višak iskazuje u grupi od osam najsitnijih akrocentrika  $3n = 3 \times 50 + 8$  B - analoga, čime se potvrđuje da je variranje u broju, kako kod biseksualnih, tako i kod uniseksualnih linija srebrnog karaša, vezano za ove najsitnije akrocentrike. Kod dunavske populacije, za jedinke sa 160 hromozoma ( $3n = 3 \times 50 + 10$  B – analoga), ima čak 10 akcesornih hromozoma.

Pored navedenih i prikazanih nalaza, različiti kariotipovi (numerički varijabilni) kod uniseksualnih linija srebrnog karaša ustanovljeni su u različitim vodama na tlu bivše Jugoslavije, u Bosni [40] i Velikoj Moravi [43], kao i širom evroazijskog kontinenta u okviru velikog broja podvrsta vrste *Carassius auratus*.

Kao što je poznato, najveći broj riba familije *Cyprinidae* poseduje kariotip koga čini diploidni broj 50-52 hromozoma [27, 8, 25, 26, 1, 10, 11], mada ima vrsta i sa  $2n = 48$ . Danas je nesumnjivo da u okviru familije *Cyprinidae* postoje vrste tetraploidnog porekla, kao što je to slučaj, na primer sa šaranom (*Cyprinus carpio*, L). Šta više, tetraploidizacija se izgleda nezavisno dogodila u okviru tri roda *Cyprinidae* i to u rodovima: *Cyprinus*, *Barbus* i *Carassius* [27]. Kao dokaz ovome u naučnoj literaturi, prilažu se citogenetski podaci – o očitom dupliranju broja hromozoma [31, 32, 33, 5, 6, 7, 39, 44], podaci o dupliranju količine jedarne DNK i elektroforetski podaci o duplikatnoj genskoj ekspresiji [4, 33, 28, 9, 42, 10, 11]. Broj hromozoma šarana, na primer, – izgleda da se kreće između 98 i 104. Naime, mnogi istraživači su ustanovili različit broj hromozoma u različitim populacijama. Ohno i sar. [32, 33], dozvoljavaju mogućnost da broj hromozoma šarana, po sebi, varira. Takođe se uočava da poslednja četiri, najsitnija akrocentrika u toku profaze prve mejotičke deobe, grade kvadrivalentnu formaciju, dok ostali parovi

homologa normalno sinapsiraju kao bivalenti. Pojava se tumači kao - ostatak prvobitne tetraploidije, koja je postojala pre nego što se ponovo uspostavila konačna disomija; odnosno, predstavlja stanje kada su prvobitno postojala i sinapsirala četiri homologa. Međutim, pojava ovakvog sinapsiranja može da bude uzrok „gubljenja” ovih sićušnih hromozoma. Ako ne nastane pravilno i pravovremeno razdvajanje ovih hromozoma iz tetravalentne formacije i eventualno nastane gubitak koorijentacije u prostoru, ovo, takođe, može da uzrokuje nastanak „aneuploidnih” gameta. Drugo je pitanje verovatnoće sa kojom će nastajati ovakvi gameti ili hoće li oni da budu vijabilni i sposobni za oplodjenje. Ipak, izgleda da je ova pojava uzrok numeričke varijabilnosti kod šarana [34, 36, 13, 20, 22]. Čini se, međutim, da je još jedan par akrocentrika, kako smatramo, podložan gubitku. Tome u prilog idu nalazi šarana sa diploidnim brojem hromozoma,  $2n=98$  [41, 2, 3]. Nedostatak ovih hromozoma, očito ne pokazuje neke uočljive fenotipske efekte i sasvim jasno, nije letalan. Iako tokom naših istraživanja šarana dunavske populacije, nismo našli jedinke kod kojih bi broj hromozoma odstupao od  $2n=104$  [22], izgleda da kod vrsta ciprinida tetraploidnog porekla, ovakvi gubici nisu retkost. U tom smislu vrlo slične odlike u pogledu numeričke varijabilnosti hromozoma, pokazuje vrsta *Carassius auratus gibelio* B [12, 13, 14, 15, 34, 35, 38, 29, 30]. Što se tiče morfologije hromozoma, vrlo je moguće da i tu postoji izvesna varijabilnost. Kako drugačije objasniti prilično velike razlike u proceni broja metacentrika i submetacentrika, kao i subakrocentrika i akrocentrika, pa shodno tome i razlike u dobijenim NF vrednostima, koje se javljaju u naučnoj literaturi. Mora, ipak, da se ima u vidu subjektivnost u ovakvim procenama, jer se radi o velikom broju veoma sitnih hromozoma, da bi se oni, kako se to uglavnom radilo, svrstavali u grupe čisto vizuelnom, znači i - subjektivnom metodom. Ostaje da primena savremenijih metoda razotkrije eventualne greške u dosadašnjim procenama.

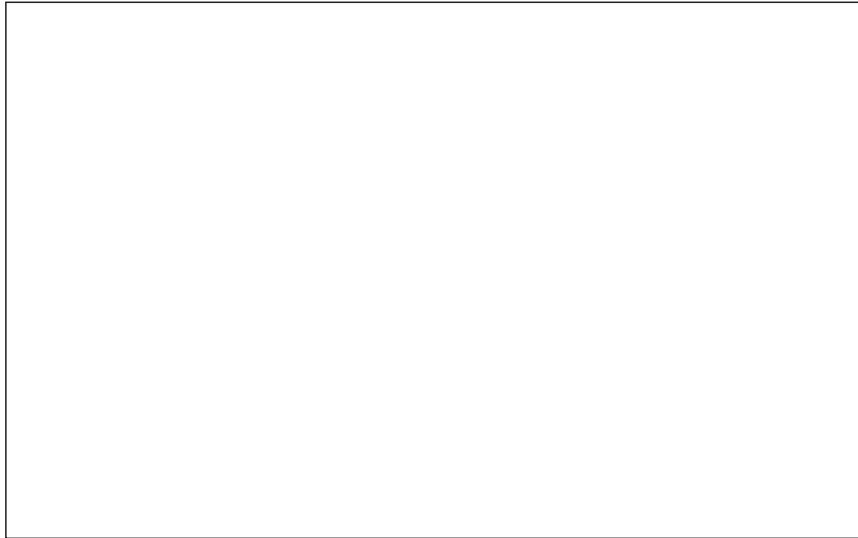
Proučavanja vrste *Carassius auratus gibelio* B. ukazuju da ovu vrstu, tetraploidnog porekla, u vodama Jugoslavije (slike 3, 4, 5 i 6), nesumnjivo odlikuje postojanje numeričke varijabilnosti hromozoma [12, 13, 14, 15, 20, 22].

Ohno i Atkin [31] i Ohno sa sar. [32] ukazuju da bi broj hromozoma kod *Carassius auratus* mogao da varira kako u okviru različitih populacija i linija ove vrste, tako i – individualno; u svojim radovima navode vrednost  $2n = 100 - 104$  [32, 33]. To smo, takođe, utvrdili kod biseksualne populacije u našim vodama [12, 13, 14, 15, 20, 22], takođe i varijabilnost broja hromozoma u okviru ginogenetskih triploidnih linija, koje Fišterova [13, 14], naziva karioklonovima i objašnjava mogućnosti njihovog nastanka, preko aneuploidnih gameta. Naime, ona pretpostavlja da je mogući uzrok nastanka aneuploidnih gameta u nepravilnom mejotičkom ponašanju prekobrojnih, varijabilnih akrocentrika – B-analoga kod biseksuala.

Najveći broj jedinki uklije (*Alburnus alburnus*, L.), koje su citogenetički analizirane, sadržao je diploidni broj  $2n=50$  hromozoma u kariotipu (slika 5). Metacentričnih hromozoma ima 8 pari, tj. 16 metacentrika. Submetacentričnih je 6 parova hromozoma, tj. 12 submetacentrika. Subakrocentričnih je, takođe, šest pari, tj. ima 12 subakrocentrika. Grupa akrocentrika se sastoji od 5 parova, tj. ima



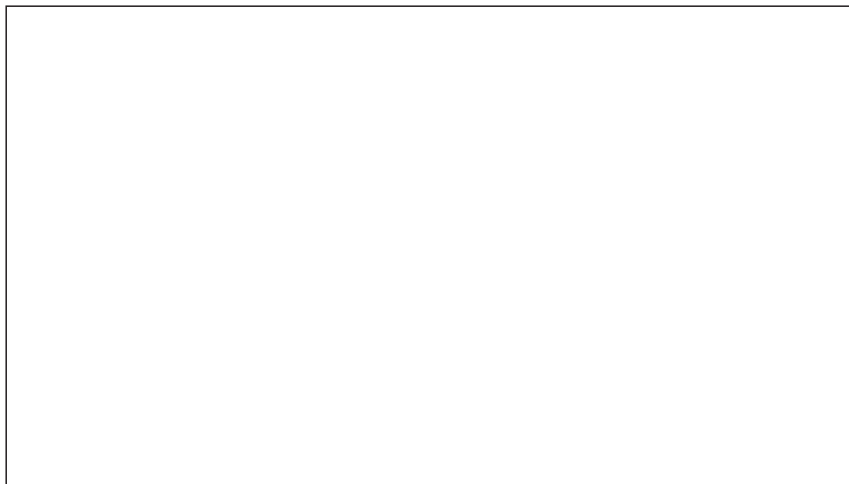
10 akrocentrika. Ženski pol je heterogametna, a Z - hromozom je najveći u gupi subakrocentrika. Vrednost broja hromozomskih kraka iznosi  $NF=90$ . Broj hromozoma odgovara broju koji su ustanovili Fontana i sar [24], Cataudella i sar. [8] i Vujošević i sar. [43]. Podaci o morfologiji se donekle razlikuju kod raznih autora, ali uglavnom je pitanje između grupe meta – i submetacentrika.



Slika 5. Kariotip ženke uklje - *Alburnus alburnus*, L.  
Figure 5. Karyotype of a female *Alburnus alburnus*, L.

Pored jedinki koje sadrže  $2n = 50$ , Fišterova je ustanovila da izvestan broj jedinki iz Dunava, Kolubare i Save, u svom kariotipu sadrži jedan veliki metacentrik, pri čemu ukupan broj varira od  $2n = 50 - 52$ , a najčešće iznosi 51. Metacentrik ima veličinu, na osnovu koje bi moglo da se zaključi da predstavlja Robertsonovu fuziju – translokaciju – najverovatnije dva najkрупnija akrocentrika (prvi par akrocentrika). Ove jedinke tako sadrže nešto što bi moglo da se nazove - tandemskom fuzijom, jer u kariotipu već poseduju jedan homologi par. Ovo je svojevrsna tetrazomija, koja govori u prilog začetka ozbiljnog populacijskog polimorfizma koji bi mogao da se održi u populaciji!? - o čijem se efektu u ovom trenutku, ne može upuštati u diskusiju, jer su jedinke koje je nose, na prvi pogled fenotipski normalne, tj. vijabilne i ne odudaraju svojom spoljašnjošću od drugih srodnika iste vrste. To je, verovatno, jedan od razloga da se i ovaj neobičan hromozom sve češće svrstava u takozvane B - hromozome, čija genetička funkcija nije do kraja objašnjena. Međutim, treba naglasiti da se već iz priloženog može da zaključi da su razlike između genetičkog ustrojstva sisara i nižih kičmenjaka (iako su B – hromozomi utvrđeni i kod sisara) ogromne u smislu mogućnosti preživljavanja pore-

mećaja ravnoteže genetičkog materijala. Najveći broj numeričkih i strukturnih promena kod sisara selekcionira su možda još na nivou gameta, zatim u ranim stadijumima razvića, putem spontanih pobačaja, a ukoliko dođe do rađanja, potomstvo nosi značajna opterećenja i malformacije, a kod čoveka skoro uvek, osim u nekim slučajevima vezanim za polne hromozome i značajnu mentalnu retardaciju. Možda je i sreća što se kod sisara malo toga može da preživi, ali to ne umanjuje značaj stalno prisutnog rizika od genetičkih opterećenja.



Slika 6. *Alburnus alburnus*, L. – kariotip mužjaka sa Robertsonovom translokacijom – B hromozomom  
Figure 6. *Alburnus alburnus*, L. – karyotype of a male with Robertson's translocation – B chromosome

#### **Zaključak / Conclusion**

Osnovni broj hromozoma kod srebrnog karaša, u okviru biseksualne populacije je  $2n = 100$ . Varijabilnost u broju hromozoma biseksualne populacije, ustanovljena je kod jedinki u našim vodama  $2n = 100 \pm 2-4$ , a takođe i varijabilnost broja hromozoma u okviru ginogenetskih triploidnih linija, koje Fišterova [13, 14] naziva karioklonovima i objašnjava mogućnosti njihovog nastanka, preko aneuploidnih gameta. Fišterova [13, 14, 15], pretpostavlja da je mogući uzrok nastanka aneuploidnih gameta u nepravilnom mejotičkom ponašanju prekrobrotjnih, varijabilnih akrocentrika – B-analoga, kod biseksuala.

Kao što kod srebrnog karaša postoji i kako izgleda – uspešno se održava varijabilnost u broju hromozoma, tako kod uklije (*Alburnus alburnus*, L.), izgleda da uočena Robertsonova fuzija – translokacija, uspešno opstaje i pred-

stavlja izvor prirodne varijabilnosti. Iako ne znamo jesu li geni ovog hromozoma aktivni ili ne, kao što se čini i kod već opisanih B-hromozoma mnogih vrsta, naročito biljnih, oni mogu da imaju katkad i svoju tajanstvenu i dakako, vrlo značajnu funkciju (pojava preferencijalnog sparivanja gameta - kod kukuruza, na primer, i slično).

Istovremeno, već smo naveli neka poređenja sa sisarima i zaključili kako zajedničko poreklo, slične genetičke hromozomske strukture i biohemija, mogu da budu veoma daleko jednih od drugih, tako da ribe liče pomalo na biljke (ginogeneza, tetra- i drugi nivoi ploidijske, B-hromozomi), pomalo na ptice (hromozomsko određenje pola u smislu – hetero-gametnog ženskog pola i drugi sistemi određenja pola), dok je kod organizama na višoj evolutivnoj lestvici, svaki poremećaj ravnoteže, bio on materijalan – količinski, ili funkcionalan – najčešće koban.

#### Literatura / References

1. Allendorf F. W., Thorgaard G. H.: Evolutionary Genetics of Fishes (ed. Bruce J. Turner) Plenum Press, New York and London, 1- 88, 1984. -2. Al-Sabti K.: Cytobios, 47, 19-25, 1986a. – 3. Al-Sabti K.: Cytobios, 48, 143-150, 1986b. - 4. Bender K., Ohno S.: Biochem. Genet. 2, 101-107, 1968. - 5. Berberović Lj.: Godišnjak Biol. inst., Sarajevo, 20, 5-15, 1967. - 6. Berberović Lj., Sofradžija A.: Ichthyologia, 4, 1-21, 1972. - 7. Berberović Lj., Hadžiselimović R., Pavlović B., Sofradžija, A.: Bull. Sci. Acad. RFS Yugos.18, 10-11, 1973. - 8. Cataudella S., Sola L., Muratori R. A., Capanna E.: Genetika 47, 161-171, 1977. - 9. Engel W., Faust J., Wolf V.: Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 2, 127-133, 1971. - 10. Ferris S. D., Whitt G. S.: Nature, 265, 258-260, 1977a. - 11. Ferris S. D., Whitt G. S.: Experiencia, 33, 1299-1301, 1977b. -12. Fišter Svetlana: Acta Veterinaria, 39, 99 -108, 1989. - 13. Fišter Svetlana: Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, 1992. - 14. Fišter Svetlana, Soldatović, B.: Acta Veterinaria, 39, 259-268, 1989. - 15. Fišter Svetlana, Soldatović B.: Acta Veterinaria, 41, 81-90, 1991. – 16. Fišter Svetlana, Marković M., Soldatović B.: Acta Veterinaria, 44, 37-44, 1994. -17. Fišter Svetlana, Soldatović B.: Veterinarski glasnik, 50, 833-952, 1996. - 18. Fišter Svetlana, Soldatović B., Cakić P.: Acta Veterinaria, 46, 359-366, 1996. - 19. Fišter Svetlana, Cakić, P.: International Round Table BARBUS IV, 24-27.6. Tessaloniki, Greece, 1997. -20. Fišter Svetlana, Cakić P.: Ninth International Congress of European Ichthyologists, 24-30.08.1997. Trieste, Italy, p. 35, 1997b. - 21. Fišter Svetlana, Cakić P., Đorđević M.: 32. Konferenze der IAD - International Arbeitsgemeinschaft Donauforschung der Societas Internationalis Limnologiae. 01-5.9.1997. Wien, Osterreich, pp. 367-371, 1997. - 22. Fišter Svetlana, Cakić P.: Acta Veterinaria, 48, 157-162, 1998. -23. Fišter Svetlana, Radenković B., Cakić P., Stevanovski V.: Second International Congress on Biodiversity, Ecology and Conservation of the Balkan fauna, BIOECCO 2 - September, 16-20., Ohrid, Macedonia, 1998. - 24. Fontana F., Chiarelli B., Rosi A.: Caryologia, 23, 249-564, 1970. - 25. Gold J R., Karel W. J., Strand M. R.: The Texas Agricultural Experiment Station, Texas A and M University Collage Station, Texas, 1979a. - 26. Gold J. R., Whitlock C. W., Karel W. Y., Barlow J. A. Jr.: Cytologia, 44, 457-466, 1979b. - 27. Kirpichniko V. S.: On karyotype evolution in Cyclostomata and Pisces. Ichthyologia, 5, 55-77, 1973. - 28. Klose J., Wolf U., Hitzerot H., Ritter H.: Humangenetic, 7, 245-250, 1969. - 29. Kobayasi H., Kawashima Y., Takeuchi N.: Jap. J. Ichthyol., 17, 153-160, 1970. - 30. Kobayasi H., Ochi H., Takeuchi N.: Japan Women's Univ. JY. (Home economics), 20, 83-88, 1973. - 31. Ohno S., Atkin N. B.: Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. Chromosoma (Ber.), 18, 455-466, 1966. - 32. Ohno S., Muramoto J., Christian L.: Chromosoma, 23, 1-9, 1967. - 33. Ohno S., Wolf U., Atkin N. B: Hereditas, 59, 169-187, 1968. - 34. Ojima Y.,

Hitotsumachi S., Makino S.: Proc. Jap. Acad., 24, 62-66, 1966. -35. Ojima Y., Hitotsumachi S.: Jap. J. Genet., 42, 163-167, 1967. - 36. Raicu P., Taisescu E., Christian A.: Cytologia, 37, 355-358, 1972. - 37. Raicu P., Taisescu E., Banarescu P.: Cytologia, 46, 233-240, 1981. -38. Ruiguang Z.: Acta Genetica Sinica, 7, 72-80, 1982. - 39. Sofradžija A., Berberović Lj.: Bul. Sci. Acad. RFS Yugosl., 18, 77-78, 1973. - 40. Sofradžija A., Berberović Lj., Hadžiselimović R.: Ichthyologia, 10, 135-143, 1978. - 41. Szollar J., Hobor M.: Acta morph. hung. 20, 185-189, 1972. - 42. Triantaphyllidis C. D., Daminakis H., Economidis P. S., Karakousis J.: Comp. Biochem. Physiol. 70B, 278-293, 1981. - 43. Vujošević M., Rimsa D., Jurišić S., Cakić P.: Acta Biol. Yug., Ichthyologia, 15-29-40, 1983. - 44. Wolf U., Ritter H., Atkin N., Ohno S.: Humangenetic, 7, 240-244, 1969.

## ENGLISH

### NUMERICAL AND STRUCTURAL CHROMOSOME POLYMORPHISM IN FISH SPECIES *Carassius auratus gibelio*, B. AND *Alburnus alburnus*, L.

Svetlana Fišter

The paper presents the results of cytogenetic investigations of the fish species *Carassius auratus gibelio*, B. and *Alburnus alburnus*, L. Karyotype definitions are given for fish caught at different localities in Serbia. Within the bisexual population of the silver carp *Carassius auratus gibelio*, B., we observed variability in the number of the last, smallest akrocentrics ( $2n=100\ 22-4$ ). These varying accessory chromosomes were called B-analogues. We established the number of chromosomes ( $3n=150+8$  and  $3n=150+10$ ) and gave the karyotype characteristics for gynogenetic lines of triploid females. We pointed out that the existing clones differ in the number of chromosomes, i.e. in the number of B-analogues, which are also probably the cause of the occurrence of - gynogenetic karyoclones.

In the species *Alburnus alburnus*, L., we established the existence of modified karyotypes with a large metacentric – Robertson's fusion, translocation, probably formed by the two biggest akrocentrics. We examined the possibility of maintaining variability in populations of this specie. The results are discussed in comparison to disorders which result from these changes in reproduction, and the possible consequences that can be expected in the offspring.

Key words: karyotype, fish, chromosomes, numerical karyotype aberrations, poliploidia, gynogenesis, structural chromosomal aberrations, Robertson's translocation, *Carassius auratus gibelio*, B., *Alburnus alburnus*, L.

**НУМЕРАЦИОННЫЙ И СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ХРОМОСОМ У РЫБ  
ВИДЫ – *Carassius auratus gibelio*, B. и *Alburnus alburnus*, L.**

**Светлана Фиштер**

Показаны результаты цитогенетических исследований рыб вида *Carassius auratus gibelio*, B. и вида *Alburnus alburnus*, L. Определен кариотип рыб, ловленные на различных локальных местах вод в Сербии. В рамках бисексуальной популяции серебряного карася *Carassius auratus gibelio*, B., замечена вариабильность в числе последних, мельчайших акроцентриков ( $2n = 100$ ). Эти варьирующие акцессорные хромосомы названы Б-аналогами. Установлено число хромосом ( $3n = 150+8$  и  $3n = 150+10$ ) и даны характеристики кариотипа у гиногенетических линий триплоидных самок. Указано на это, что сущие клоны различаются в числе хромосом, т.е. в числе Б-аналогов, которые вероятно и причина возникновения - гиногенетических кариоклонов.

У вида *Alburnus alburnus*, L. (уклије), установлено существование измененных кариотипов с большим метацентриком-фузией Робертсона, транслокацией, составляющую вероятно два наибольших акроцентрика. Рассмотрена возможность одержания вариабильности в популяциях этого вида. Результаты дискутированы в отношении расстройств до которых эти изменения приводят в репродукции и возможные следствия, которые могут ожидать в потомстве.

Ключевые слова: кариотип, рыбы, хромосомы, нумерационные aberrации, хромосом, транслокация Робертсона, *Carassius auratus gibelio*, B., *Alburnus alburnus*, L.

**INVESTIGATION OF POSSIBILITIES FOR APPEARANCE OF  
AFRICAN HORSE SICKNESS VIRUS AND CHANGES IN  
SPECIES OF THE GENUS „CULICOIDES” IN BULGARIA \***  
*ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI POJAVE VIRUSA AFRIČKE KUGE KONJA  
I PROMENE U VRSTI RODA KULICIDE U BUGARSKOJ*

**I. Chenchev, N. Nedelchev, J. M. Sanchez-Vizcaino, L. Romero\*\***

*To date, Bulgaria has been free of African Horse Sickness (AHS). Contacts with and proximity to countries, in which it is assumed there are cases of the disease, necessitate surveillance of equine animals near the border, strict control of outgoing and incoming animals, especially those returning to the country after a long stay abroad of participation in races. Instructions for carrying out veterinary activities in instances when the disease occurs in Bulgaria have been worked out, since there were occurrences of Blue tongue disease (the disease has the same epizootiological vectors of spreading) in regions bordering with Turkey last year.*

*The serological screening investigations of blood sera by ELISA of equine animals from the same villages and regions during one active period of flight of culicoides did not establish the presence of antibodies to this dangerous transmissible disease.*

*The present study contributed to working out scientific-methodological diagnostic preparedness in Bulgaria as regards this exotic transmissible disease.*

*Ključne reči: African Horse Sickness (AHS), virus, changes, genus, „Culicoides”, Bulgaria*

**Introduction / Uvod**

African Horse Sickness (AHS) is an infectious disease of domestic and wild equine animals transmitted by insects. It is characterized by fever, cough, edema of the head, neck, chest and lungs, hydrothorax, hydropericardium and

\* Rad primljen za štampu 28. 1. 2003. godine

\*\* I. Chencev, N. Nedelchev, J. M. Sanchez-Vizcaino, National Diagnostic Research Veterinary Medical Institute, Sofia, Bulgaria; L. Romero, INIA - Valdeolmos, Madrid, Spain

high lethality, up to 90 %. The disease is caused by a Reoviridae family virus of the Orbivirus genus. AHS has endemic and seasonal character. It can take a sporadic or epizootic course during the hot humid period of the year. Horses, donkeys and zebras are most susceptible to the virus. Dogs have been experimentally infected, while man is not susceptible to the disease [1, 3, 4, 7, 14, 16].

It is diagnosed in laboratory conditions by isolating the virus from hyperinized blood, spleen, lymph nodes or from collected culicoides. *ELISA*, Complement fixation test (CFT), Immunodiffusion (ID), PCR, etc. are also used as serological reactions [2, 5, 6, 8, 9, 15, 16].

Of over 1400 types of culicoides known to science, only a few dozen can transmit the AHS virus. To date, it has been found that the main vector for AHS transmission to equine animals in northern Africa and the Mediterranean basin is *C. imicola*, followed by *C. obsoletus*, *C. punctatus*, *C. circumscriptus*, *C. pulicaris*, *C. fasciopennis*, *C. subfascipennis*.

Bulgaria has so far been free of AHS. Contacts with and proximity to countries, in which it is assumed that there are cases of the disease, necessitate surveillance of equine animals near the border, strict control of outgoing and incoming animals, especially of animals returning to the country after a long stay abroad or participation in races. Instructions for carrying out veterinary activities in instances when the disease occurs in Bulgaria have been worked out, since there were occurrences of Blue tongue disease (the disease has the same epizootiological vectors of spreading) in regions bordering with Turkey last year. Stringent control must be in place regarding equine animals in these regions – 100 % within the 30 km zone bordering with Turkey and 50 % in the interior of the country. All import and export of animals must also be placed under strict control.

The objective of the study is to present etiological, entomological, faunistic and epizootiological investigations. The epizootiological data will be summarized and discussed in the light of known facts.

## **Materials and methods / Materijal i metode rada**

### *Serological investigations / Seroška istraživanja*

*ELISA* and reagents produced in INIA-Valdeolmos, Spain, which is the reference laboratory and center for this disease, were used to find antibodies to the common group antigen of the AHS virus. We took as positive the samples showing average optical density (OD) that was lower or equal to OD of the positive control of the kit or calculated according to a formula giving as a result the percentage of *ELISA* reaction inhibition and the respective strength of antibodies in the serum tested against the AHS virus. Blood samples from 123 equine animals coming from the same regions and villages were investigated. Four-fold investigations were carried out in May, June, July and August 2000.

*Entomological investigations / Entomološka istraživanja*

Entomological and faunistic investigations were carried out to determine the possibilities for the penetration of the AHS virus. During the period of observation 94 collections of culicoides were processed. The total number of identified culicoides was 10 623, which were collected from different spots by light traps with a light source capacity of 75 W from 22 p.m. until 6 a.m. The genus and sex of the caught specimens were determined.

*Epizootiological observations / Epizootiološka posmatranja*

The method of epizootiological observation was used during the study. The data of the movement of animals in the border regions, as well as geographic and climatic factors that are favorable to the distribution of the main vector were taken into consideration. Climatic and geographic characteristics, relief, precipitation data (taken from the hydrometeorological posts), direction and intensity of prevailing winds in the region were all considered.

**Results / Rezultati rada**

On May 24, 2000, 123 blood sera samples from horses, donkeys and mules from regions bordering with Turkey were received at the Laboratory of Viral Diseases of Equine Animals at the Central Research Veterinary Medical Institute in Sofia.

No antibodies to AHS were detected when investigating 21 blood sera samples from donkeys and 5 samples from mules (Table 1).

Table 1. Results from the serological investigations carried out in the regions bordering with Turkey by ELISA for detection of antibodies to AHS virus in equine animals

*Tabela 1. Rezultati seroloških istraživanja u oblastima koje se graniče sa Turskom putem ELISe radi otkrivanja antitela na AHS virus kod ekvida*

Animal species / Vrste životinja	Date / Datum May 24, 2000		Date / Datum June 26, 2000		Date / Datum July 20, 2000		Date / Datum October 20, 2000	
	Tested / Ispitano	Positive / Pozitivno, %	Tested / Ispitano	Positive / Pozitivno, %	Tested / Ispitano	Positive / Pozitivno, %	Tested / Ispitano	Positive / Pozitivno, %
Horse / Konj	97	0	97	0	97	0	97	0
Donkey / Magarac	21	0	21	0	21	0	21	0
Mule / Mula	5	0	5	0	not tested / nije ispitano	0	5	0



After four-fold serological investigations on 123 equine animals, at the dates specified in Table 1, no antigens to the AHS virus were detected.

The results of the faunistic and entomological investigations are presented in Table 2.

Table 2. *Established Culicoides Species in Bulgaria in 2000*  
Tabela 2. *Ustanovljene vrste kulicida u Bugarskoj u 2000. godini*

Species of Culicoides / Vrsta kulicida	District / O b l a s t			
	Bourgas	Yambol	Haskovo	Kirdjali
N of collections / Broj zbirki				
Period of collections / Period sakupljanja	5.7 – 25.10.2000.	15.7 – 20.11.2000	3.9 – 25.10.2000	1.8. – 1.11.2000.
<i>C. seifadinei</i>	–	+	+	+
<i>C. scoticus</i>	+	+	+	–
<i>C. punctatus**</i>	+	+	+	+
<i>C. delta</i>	–	+	+	–
<i>C. pulicaris**</i>	+	+	+	+
<i>C. halophilus</i>	+	+	+	–
<i>C. obsoletus**</i>	–	+	+	+
<i>C. pictipennis</i>	–	–	+	–
<i>C. fascipennis</i>	+	+	+	+
<i>C. subfascipennis</i>	+	+	+	+
<i>C. vexans</i>	+	+	+	+
<i>C. stigma*</i>	–	–	+	–
<i>C. circumscriptus</i>	+	+	+	+
<i>C. parroti*</i>	+	–	–	–
<i>C. salinarius</i>	–	+	–	–
<i>C. longipennis*</i>	+	–	–	–
<i>C. gejjelensis</i>	+	+	+	+
<i>C. simulator*</i>	+	–	–	–
<i>C. chiopteris</i>	–	+	+	–
<i>C. corsicus*</i>	+	–	–	–
<i>C. derisor*</i>	–	+	–	–
<i>C. kurensis</i>	+	–	–	–
<i>C. nubeculosis</i>	+	+	+	+

\*\* – Species dominating in pool mixture / *Dominantne vrste u pulu mešavine*

\* – Single exemplars / *Pojedinačni primerci*

### Discussion / Diskusija

The spreading of culicoides has so far included territories between latitudes 35° South and 40° North. The main carrier of the virus of AHS and Blue tongue disease, which transmits them to ruminants in South Africa is *C. imicola* [10, 11, 12]. The occurrences of Blue tongue disease in Bulgaria in 1999 and its spreading in the border regions indicates that disease that have characteristic biological carriers can occur in Bulgaria. The active zone of spreading of the transmissible Blue tongue disease has crossed the 42° parallel (near the region of Bourgas and Yambol) and the appearance of species of culicoides not typical to the country reaffirms the danger of the penetration of the AHS virus, which has similar carriers. After concluding the epizootiological observation, it was found that sites in the proximity of the big rivers in southern Bulgaria are of a biotype which is extremely favorable to the reproduction of the culicoides. The climatic peculiarities, the constant trend for warming and the winds from Africa are contributory factors to the spreading of this transmissible disease. The detection of species of culicoides in Bulgaria, which until two years ago were not found at this geographic latitude – *C. punctatas*, *C. subfascipennis*, *C. circumscriptus*, *C. nubeculosum*, etc. confirm this. It is most disturbing that three of these species directly transmit the AHS virus. Usually, AHS appears two or three years after the appearance of Blue tongue disease at a given site [10, 12, 13, 14, 15].

The lack of antibodies to the AHS virus, which was proven during the serological screening investigations of equine animals coming from the same regions and villages during the active period of flight of culicoides is favorable as regards the epizootiological situation in Bulgaria. But the presence of possible vectors of transmission, the occurrence of a disease bearing similarities to the way of transmission of AHS, the favorable climatic and field conditions, necessitate strict measures and observation. Serological and entomological surveillance must be carried out in these regions and equine animals in the regions bordering with Turkey and Greece must be carefully monitored in the next two or three years.

### Conclusion / Zaključak

1. An entomological investigation of the composition of culicoides in regions bordering with Turkey and Greece showed that *C. imicola* was not present there. But the detection of species directly transmitting the AHS virus to horses *C. punctatas*, *C. subfascipennis*, *C. circumscriptus* and *C. nubeculosum* for the first time in Bulgaria as a direct hazard to equine animals.

2. The serological screening investigations of blood sera of equine animals from the same villages and regions during one active period of flight of culicoides by *ELISA* did not establish the presence of antibodies to this dangerous transmissible disease.

3. The present study contributed to working out scientific – methodological diagnostic preparedness in Bulgaria as regards the exotic transmissible disease African Horse Sickness.

#### References / Literatura

1. Глухова В., Неделчев Н., Русев И., Запрянов М., Танчев Т.: Вет. мед. науки, XXV, 1, 63-66, 1991. - 2. Ченчев И., Джуров А., Белемезов П.: Ветер. сб., 7-8, 1991. - 3. Abu-Elzein E.M.E., Mirghami E., Ali B. E.: Rev. Scien. Tech., 8, 3, 785-787, 1989. - 4. Anderson E. C., Mellor P., Hambin C.: Vet. Rec., 125, 19, 489, 1989. - 5. Boudrin P., Sarr J., Le Jan C.: Bull. Off. Int. Epiz.: 86, 717-210, 1989. - 6. Blackburn N. K., Swanepoel R.: Trop. Anim. H. Prod., 20, 4, 203-290, 1988. - 7. Calisher C. H., Mertens P.P.: Arch. Virol. Suppl., 14, 3-11, 1998. - 8. Du Plessis D. H., Wyngaardt W., Bremer C. W.: J. Vir. Meth., 29, 279-290, 1990. - 9. Escribano J. M., Tabares E.: Arch. Virol., 92, 221-238, 1987. - 10. Escribano J. M., Pastor M. J., Arias M., Sanchez-Vizcaino J. M.: Med. Vet., 7, 135 -141, 1990. - 11. Hamblin C., Mertens P.P., Mellor P. S., Burroughs J. N., Crowther J. R.: J. Virol. Methods, 31, 285-292, 1991. - 12. House C., Mikiciuk P., Berlinger M. L.: J. Vet. Diag. Invest.: 2, 44-50, 1990. - 13. Laviada M. D., Babin M., Dominguez J., Sanchez-Vizcaino J. M.: J. Virol. Methods, 38, 229-242, 1992. - 14. Mellor P. S., Boorman J. P. T., Wilkinson P. J., Martinez-Gomez F.: Vet. Rec., 112, 10, 229-230, 1983. - 15. Rov P., Hirasawa T., Fernandes M., Blinov V. M., Sanchez-Vizcaino J. M.: J. Gen. Virol., 72, 1237-1241, 1991. - 16. Sarr J., Diop M., Cissokho S.: Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop., 41, 3, 243-246, 1988.

#### SRPSKI

### ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI POJAVE VIRUSA AFRIČKE KUGE KONJA I PROMENE U VRSTI RODA „KULICIDE” U BUGARSKOJ

I. Chenchev, N. Nedelchev, J. M. Sanchez-Vizcaino, L. Romero

Afrička kuga konja (AHS) do danas se nije pojavljivala u Bugarskoj. Kontakti sa zemljama u kojima se veruje da ima slučajeva ove bolesti, i blizina tih zemalja, nameću potrebu da se obavlja posmatranje konja blizu granica, stroga kontrola životinja koje ulaze u zemlju i izlaze iz nje, a posebno životinje koje se vraćaju u zemlju posle dužeg boravka ili učešća na trkama. Razrađena su uputstva za obavljanje veterinarskih pregleda u slučajevima kada se bolest pojavi u Bugarskoj, pošto je prošle godine bilo pojava bolesti plavog jezika u oblastima zemlje koje se graniče sa Turskom (ova bolest ima iste epizootske vektore širenja).

Serološka ispitivanja krvnog seruma konja iz istih sela i oblasti tokom jednog aktivnog perioda leta kulicida putem ELISA testa nisu pokazala prisustvo antitela na ovu opasnu zaraznu bolest.

Ovaj rad je doprineo izradi naučno-metodološke osnove za dijagnozu egzotične zarazne afričke kuge konja u Bugarskoj.

Ključne reči: afrička kuga konja (AHS), virus, promene, rod „Kulicide”, Bugarska

**ИСПЫТАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЯВЛЕНИЯ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ  
ЛОШАДЕЙ И ИЗМЕНЕНИЯ В ВИДЕ РОДА „CULICIDE” В БОЛГАРИИ**

**И. Ченчев, Н. Неделчев, J. M. Sanchez-Vizcaino, Л. Ромеро**

Африканская чума лошадей (АЧЛ) до сих пор не появлялась в Болгарии. Контакты с странами в которых веруется, что есть случаев этой болезни, и близость этих стран, навязывают нужду, чтобы совершить наблюдение лошадей близко границы, строгий контроль животных, входящие в страну и выходящие из неё, а отдельно животных, возвращаемые в страну после более долгого пребывания в за-границе или участия на бегах. Разработаны указания для совершения ветери-нарных осмотров в случаях, когда болезнь появится в Болгарии, так как прошлого года было явлений болезни синего языка в областях страны, граничмые с Турцией (эта болезнь имеет такие же эпизоотические векторы расширения).

Серологические испытания кровяного серума лошадей из таких же деревень и областей в течение одного активного периода лёта *kulicidov* путём *ELISA* теста не показали присутствие антител на эту опасную заразную болезнь.

Эта работа содействовала выработке научно-методологической осно-вы для диагноза экзотической заразной африканской чумы лошадей в Болгарии.

Ключевые слова: африканская чума лошадей (АЧЛ), вирус, изменения, род „Culicide”, Болгария

**POJAVA INFEKTIVNOG LARINGOTRAHEITISA NA  
FARMAMA U VOJVODINI\***  
*OCCURRENCE OF INFECTIOUS LARINGOTRACHEITIS ON FARMS  
IN VOJVODINA*

**D. Orlić, M. Kapetanov, Mira Kovačević, Maja Velhner,  
Dragica Stojanović\*\***

*Infektivni laringotraheitis je zarazno, virusno oboljenje živine koje je rasprostranjeno po celom svetu, a u određenim vremenskim intervalima pojavljuje se i u Vojvodini. Poslednji put je bolest opisana 1988. godine. Ovu bolest prate velike ekonomske štete usled visokih uginuća i značajnog pada proizvodnih rezultata. Bolest je najčešće akutnog toka, a može da protiče u subakutnom i hroničnom toku. Manifestuje se simptomima respiratorne depresije, otežanog disanja i izbacivanja sluzavog sadržaja sa primesama ugrušane krvi. Bolest izaziva alfa herpes virus. Posle 2 do 6 dana od infekcije stvaraju se intranuklearne inkluzije. Inkluzije su u ćelijama površinskog epitela traheje i boje se po Gimza metodi ili hematoksinom eozinom. Histopatološki nalaz inkluzija, klinička slika i epizootiološko stanje u regionu su dovoljni za postavljanje dijagnoze ILT. Dijagnoza može da se potvrdi direktnom izolacijom virusa ili indirektno serološkim metodama od kojih je najprihvatljivija metoda ELISA test.*

*Ključne reči: Laringotracheitis infectiosa avium, herpes virus, epizootiologija*

**Uvod / Introduction**

Infektivni laringotraheitis (ILT) je veoma zarazna bolest živine koja je utvrđena u mnogim područjima sveta. Bolest su prvi opisali još 1925. godine May i Tittler. O pojavi ILT u bivšoj Jugoslaviji prvi saopštava Turnev, 1961. godine, a potom Velhner i sar. 1988. godine.

\* Rad primljen za štampu 31. 3. 2003. godine

\*\* Dr Dušan Orlić, viši naučni saradnik, dr Miloš Kapetanov, naučni saradnik, dr Mira Kovačević, naučni saradnik, dr Maja Velhner, viši naučni saradnik, dr Dragica Stojanović, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Bolest najčešće ima akutan tok, a u poslednje vreme pojavljuje se inaparentno u subakutnom i ređe u hroničnom toku.

Ispoljava se simptomima respiratorne depresije, dahtanjem i iskašljavanjem sluzavog i krvavog sadržaja.

Infektivni laringotraheitis izaziva alfa herpes virus koji ima sve osobine herpes virusa. Virus je kuboidnog oblika, a jedro sadrži DNK.

Na našim područjima ILT se ne pojavljuje često (1961. i 1988. godine) ali je sigurno u određenim periodima prisutan, a farmeri i stručna javnost ipak o pojavljivanju ove zarazne bolesti nemaju dovoljno saznanja. Iz tih razloga ova istraživanje će doprineti boljem prepoznavanju bolesti i dijagnostici ILT-a.

### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Materijal za ispitivanje potiče iz tri farme sa istog epizootiološkog područja, na kojima se pojavila zaraza ILT-a u leto 2002. godine. Smatramo da je važno anamnestički da se zna da se prvi slučaj infektivnog laringotraheitisa pojavio kod brojlerskih roditelja u uzrastu od 20 sedmica, u drugom i trecem slučaju bolest se javila kod starijih jata u fazi dobre nosivosti. Jata su svakodnevno klinički opservirana. Rađena je obdukcija i uzet je materijal, traheje sa sadržajem, za histološka ispitivanja. Uzorak traheje se stavlja u rastvor formalina, a zatim se prave histološki preparati i boje Giemsa metodom ili hematoksilin eozinom, pri čemu se u ćelijama površinskog epitela zapažaju intranuklearne inkluzije. Ove inkluzije su karakteristične za inkluzije herpes virusa infektivnog laringotraheitisa.

Virus infektivnog laringotraheitisa se u laboratorijskim uslovima kultiviše na embrioniranim pilećim jajima i kulturi tkiva: jetri, plućima, bubrezima pilećeg embriona, bubregu pileta i kulturi leukocita. Na pilećim embrionima virus infektivnog laringotraheitisa izaziva pojavljivanje mnogobrojnih plakova na horioalantoisnoj membrani. Ovi plakovi su neprozirni, a u njihovom centru se pojavljuju nekrotična polja. Plakovi se javljaju najranije dva dana posle inokulacije virusa ili suspektnog zaraznog materijala, a embrion ugine posle dva do dvanaest dana posle inokulacije virusa.

Istovremeno je uzeto po 15 uzoraka krvi iz svakog obolelog jata radi serološkog ispitivanja prisustva specifičnih antitela za virus ILT *ELISA* metodom. Isti serumi su ispitani na infektivni bronhitis *ELISA* metodom i brzom aglutinacijom na mikoplazme radi diferencijalne dijagnoze. Serološka ispitivanja *ELISA* metodom su urađena u laboratoriji za živinarstvo kompanije Babolna u Mađarskoj.

### **Rezultati rada i diskusija / *Results and discussion***

Pojava zaraze ILT se dogodila u leto 2000. godine, u jatu brojlerskih roditelja u uzrastu od 20 sedmica koje nije bilo vakcinisano protiv ove zarazne bolesti. Na užem epizootiološkom području zaraza se pojavila na još dve farme

kod brojlerskih roditelja u punoj nosivosti. Prema podacima iz literature ILT se u intenzivnom živinarstvu Srbije javlja veoma retko. Poslednja zaraza je opisana pre više od deset godina u Vojvodini [6], dok je pojava zaraze ILT u svetu mnogo češća [1].

U prvom slučaju bolest se pojavila iznenada, veoma tiho, sa simptomima potištenosti, smanjenim apetitom. Posle 6 do 7 dana pojavili su se i uočljivi respiratorni simptomi bolesti i uginuća. Na epizootiološkom području Vojvodine u to vreme nije bilo pojave ILT-a. Ovakvo pojavljivanje je karakteristično za subakutnu formu ILT o čemu izveštavaju mnogi autori [1, 4, 5]. Infektivni laringotraheitis se pojavio na još dve susedne farme, ali u nešto oštrijom formi. Respiratorni simptomi su bili jače izraženi sa uočljivim koagulima krvi po zidu i prostirci ispod nipl sistema za napajanje. Kokoške su potištene i stoje sa zatvorenim očima. Izražen je konjunktivitis sa velikom količinom eksudata. Pri inspirijumu ispružaju glavu i vrat, uz istovremeno otvaranje kljuna. U objektu se čuje karakteristično krkljanje. Proizvodnja jaja je počela da opada za 30 posto, i pojavila su se uginuća. Morbiditet se kretao oko 40 posto, mortalitet od 2 do 16 posto, a nosivost se počela da povećava posle treće sedmice od pojavljivanja kliničkih simptoma bolesti. Većina autora opisuje ovakvu kliničku sliku, morbiditet i mortalitet kod ILT, i sa značajnim padom produkcije jaja [6, 1, 4, 5].

U epizootiologiji i patogenezi ILT-a primarni domaćin su pilići i kokoške u uzrastu od 3 do 9 meseci, mada mogu da obole i druge starosne kategorije. Fazani, takođe, mogu da obole od ILT-a, ali su manje osetljivi od pilića. U literaturi postoje podaci da mlade ćurke mogu da obole od ILT-a, dok su starije otporne na ovaj virus. Prirodan način inficiranja virusom ILT-a se odvija preko respiratornog sistema i preko očne konjunktive. Bolest može da se prenosi i peroralnim putem. Prenosjenje virusa ILT-a preko jaja nije dokazano, a inficirani embrioni uginu pre leženja. Vakcinisana živina, takođe, može da bude izvor infekcije kao živina koja je prebolela infektivni laringotraheitis. Kod živine koja je prebolela infektivni laringotraheitis, virus može da se izoluje iz traheje i posle dve godine od infekcije. Jednom inficirano jato je trajni nosilac virusa, iako ne pokazuje kliničke simptome bolesti. Virus kod prebolelih jedinki perzistira u trigeminusnom ganglionu [3].

Pošto virus ILT-a perzistira u gornjim delovima respiratornog sistema patološko-morfološke promene su locirane uglavnom na tom delu respiratornog sistema, naročito na larinksu i traheji. U početnim fazama bolesti larinks i traheja su ispunjeni malim količinama sluzi, a kasnije mogu da se zapaze i krvarenja manjeg obima. U daljem razvoju procesa sadržaj postaje sirast sa prisutnim krvavim ugrušcima, a sluzokoža edematozna, što može da uzrokuje parcijalnu ili potpunu opstrukciju traheje i larinksa i konačno, gušenje. Pluća najčešće nisu promenjena i samo u protrahiranim slučajevima nalaze se pneumonična ognjišta. Kod protrahiranog toka bolesti izraženi su edem i kongestija epitela konjunktiva i infraorbitalnih sinusa [6, 4, 5].

Histopatološke promene su najuočljivije na sluzokoži nosa i traheje. Mikroskopske promene variraju u zavisnosti od stanja bolesti. Prve promene u

ćelijama se zapažaju u jedru za vreme formiranja kapsida virusa. Kako promene u ćelijama napreduju, ćelije se uvećavaju, gube cilije i postaju edematozne. Limfociti, histiociti i plazma ćelije migriraju u sluznicu i submukozu, što uzrokuje ćelijsku destrukciju i kasnije odvajanje sluznice od submukoze, i krvarenja. Kako bolest napreduje, ćelijska infiltracija postaje sve jače izražena u traheji i larinksu. Posle 2 do 6 dana od izbijanja bolesti zapaža se pojavljivanje intranuklearnih inkluzija, a po nekim autorima i ranije od 12 časova posle infekcije. Inkluzije se nalaze u ćelijama površinskog epitela i boje se Gimza metodom ili hematoksilin-eozinom, pri čemu se zapažaju kao ovalne tvorevine koje ispunjavaju najveći deo jedra, a okružene su tankim svetlim prstenom. Ove inkluzije klasične Cowdry-tipa A, karakteristične su za inkluzije herpes virusa ILT-a [2].

Postavljanje dijagnoze infektivnog laringotraheitisa zasniva se na kliničkoj slici, epizootiološkoj anketi u regionu, patološko-histološkom nalazu i naročito u postojanju intranuklearnih inkluzija. Potrebno je da se svi ovi nalazi i potvrde dokazivanjem prisustva virusa ILT, bilo direktnom izolacijom ili indirektno serološkim metodama od kojih je najpraktičniji *ELISA* test. U našem slučaju ispitivani serumi su bili pozitivni u *ELISA* testu na infektivni laringotraheitis, negativni na infektivni bronhitis i mikoplazme.

Za sada nema poznatih lekova za lečenje ILT. Preventiva se sprovodi imunizacijom i podizanjem opštih mera biosigurnosti na viši nivo.

#### **Zaključak / Conclusion**

Infektivni laringotraheitis živine je bolest koja se nalazi na listi zaraznih bolesti koje se po Zakonu obavezno prijavljuju, iako se bolest ne pojavljuje često. Ova opaka i teška zarazna bolest ređe se pojavljuje na epizootiološkom području Vojvodine, u periodima dužim od 10 godina. Morbiditet se kretao oko 40 posto, a mortalitet do 16 posto. Pad proizvodnje jaja je bio više od 30 posto, da bi se posle četiri sedmice vraćao na normalnu proizvodnju.

Posle prestanka kliničkih simptoma bolesti, sprovedenih mera karantina u trajanju od 30 dana i dezinfekcije jaja formaldehidskim parama i 5% vodonik peroksidom, bolest se nije pojavljivala kod izleženih pilića.

Klinička slika i patološko-histološki nalaz su dovoljni i pouzdani dokazi za postavljanje dijagnoze infektivnog laringotraheitisa. Potrebno je da se dijagnoza ILT potvrdi nalazom virusa ili serološki u *ELISA* testu, ispitivanjem seruma obolele živine.

#### **Literatura / References**

1. Bagust T. J., Jones R. C., Guy J. S.: Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 19, 2, 483-492, 2000. - 2. Keller K., Hebel P.: Zooiatria (Chile), 1, 1, 1992. - 3. Kaleta E.F., Redmann T. H., u. Hefelss-Redmann U., Frese K.: Deutsche Tierarztl. Wochenschr. 93, 40-42, 1986. - 4. Resanović Radmila, Palić T., Miljković Biljana, Ivetić V., Orlić D.: Živinarstvo, 5, 5 - 10, 1999. -



5. Rusov Č.: Virusne bolesti živine 1., 177-189, 1999. - 6. Velhner Mirjana, Glavičić M., Orlić D., Stanojević D., Matejić Milanka: Zbornik radova, Živinarski dani, Priština, 73 – 78, 1998.

## ENGLISH

### OCCURRENCE OF INFECTIOUS LARINGOTRACHEITIS ON FARMS IN VOJVODINA

**D. Orlić, M. Kapetanov, Mira Kovačević, Maja Velhner, Dragica Stojanović**

For over 10 years infectious laringotracheitis has occurred rarely in Vojvodina. In such situations morbidity was 40% and mortality was 16%. Drop in egg production was over 30% and after 4 weeks egg production returned to normal.

After the disappearance of clinical symptoms and after 30 days of quarantine and disinfection of eggs with formaldehyde and 5% hydrogen peroxide there was no appearance of the disease in hatched chickens.

Clinical observation and pathohistology results are valuable proof for diagnosis of ILT. Diagnosis of ILT should be confirmed by virus isolation or applying serological tests such as ELISA on sera from diseased chickens.

Key words: Laringotracheitis infectiosa avium, herpesviruses, epizootiology

## РУССКИЙ

### ЯВЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА НА ФЕРМАХ В ВОЕВОДИНЕ

**Д. Орлич, М. Капетанов, Мира Ковачевич, Мая Велхнер, Драгица Стоянович**

ИЛТ домашних птиц болезнь, которая реже появляется на эпизоотологической подведомственной области Воеводины а именно в периодах линее 10 лет. Заболеваемость двигалась около 40%, а смертность до 16%. Падение производства яиц было сверх 30%, чтобы после 4 недель возвращалось на нормальное производство.

После прекращения клинических симптомов болезни и проведённых мероприятий карантина в продолжении от 30 дней и дезинфекции яиц формальдегидными парами и 5% пероксью водорода, не было явления болезни выведённых цыплят.

Клиническая картина и патогистологический результат достаточные и надёжные доказательства для поставления диагноза ИЛТ. Диагноз ИЛТ нужно подтвердить положительным результатом вируса или серологически в ELISA тесте испытанием серума заболевших домашних птиц.

Ключевые слова: ларинготрахеит *infektiosa avium*, герпес вирус, эпизоотология

## HETERAKIDOZA FAZANSKE DIVLJAČI\* *HETERACIDOSIS IN PHEASANTS*

I. Pavlović, Z. Kulišić, Iulia Florestean\*\*

*Oboljenja parazitske etiologije zauzimaju značajan udeo u patologiji fazanske divljači u prirodnim staništima i veštačkom odgoju. Istraživanja sprovedena u svetu i kod nas pokazala su da heterakidoza, uz kokcidiozu, singamozu i askaridiozu predstavlja jednu od najznačajnijih parazitskih bolesti ovih ptica.*

*Po našim nalazima Heterakis isolonche je ustanovljen u 26,13 posto fazana u uzrastu 4 do 14 nedelja i 14,40 posto fazana starijih od 14 nedelja odgajanih u veštačkom sistemu držanja, a kod 18,13 posto fazana u prirodnim staništima. Heterakis gallinarum je nađen kod 24,88 posto fazana u uzrastu od 4 do 14 nedelja i 4,40 posto odraslih fazana u fazanerijama, a u 15,33 posto fazana iz prirodnih staništa. Iz ovih razloga ovde dajemo nalaz uzročnika, kliničku sliku i patološke promene, kao i mere preventivne i suzbijanja heterakidoze.*

*Ključne reči: fazan, heterakidoza, Heterakis isolonche, Heterakis gallinarum*

### Uvod / Introduction

Parazitske infekcije predstavljaju značajan zdravstveni problem fazanske divljači koji se podjednako javlja kod fazana u slobodnim staništima i kod onih u veštačkom odgoju. Većina vrsta parazita pokazuje malu specifičnost prema domaćinu, tako da se javlja kod velikog broja vrsta ptica čime je olakšano njihovo kruženje u prirodi [13, 14, 23, 32, 36, 39].

Istraživanja faune parazita fazana sprovedena su u više zemalja sa razvijenom lovnom privredom. Praćene su većinom ptice u prirodnim staništima, ređe u veštačkom odgoju i na osnovu tih nalaza došlo se do zaključka da kokcidioza, heterakidoza, singamozu i askaridiozu predstavljaju najčešće i najznačajnije parazitske infekcije fazanske divljači [5, 6, 8, 9, 10, 11, 23, 25, 26].

\* Rad primljen za štampu 15. 3. 2003. godine

\*\* Dr Ivan Pavlović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Zoran Kulišić, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Iulia Florestean, Directia Sanitara Veterinara Iasi, 119A Ciurchi Street Bl.S8 Ap.22,Iasi,Romania

Učestali nalazi heterakidoze fazana u našim odgajilištima i lovištima bili su razlog za detaljnija ispitivanja prisustva ove helmintoze kod fazana.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

Ispitivanja su sprovedena u periodu 1998-2000. godine kod 1389 fazana u veštačkom sistemu gajenja (fazanerije), podeljenih u dve starosne kategorije: grupa A - u uzrastu 4 do 14 nedelja (639 ptica) i grupa B - stariji od 14 nedelja (750 ptica). Iz prirodnih staništa ukupno je pregledano 535 fazana (grupa C).

Feces je pregledan standardnim koprološkim metodama, dok su ugunule i iznurene ptice (posle žrtvovanja) pregledane patološko-anatomskom sekcijom.

Jaja i odrasle parazite determinisali smo na osnovu njihovih morfoloških karakteristika [2, 4, 12].

#### **Rezultati rada i diskusija / Results and discussion**

*Heterakis isolonche* je ustanovljen kod 26,13 posto fazana u uzrastu 4 do 14 nedelja i 14,40 posto odraslih fazana u veštačkom sistemu držanja, dok je kod fazana iz prirodnih staništa ustanovljen kod 18,13 posto. *Heterakis gallinarum* je nađen kod 24,88 posto fazana u uzrastu od 4 do 14 nedelja i 4,40 posto odraslih fazana u fazanerijama, a kod 15,33 posto ptica iz prirodnih staništa (tabela 1).

Tabela 1. Nalaz *Heterakis isolonche* i *Heterakis gallinarum* kod fazana  
Table 1. Find *Heterakis isolonche* and *Heterakis gallinarum* in pheasants

Ispitivana grupa fazana / <i>Research group pheasants</i>	Pregledano fazana / <i>Examined pheasants</i>	Pozitivan nalaz / <i>Positive find</i>			
		<i>Heterakis isolonche</i>		<i>Heterakis gallinarum</i>	
		broj / No.	%	broj / No.	%
Grupa A* / <i>Group A</i>	639	167	(26,13%)	159	(24,88%)
Grupa B / <i>Group B</i>	750	108	(14,40%)	33	(4,40%)
Grupa C / <i>Group C</i>	535	97	(18,13%)	82	(15,33%)
Ukupno / <i>Total</i>	1924	372	(19,33%)	274	(14,24%)

\* Grupa A – fazani u uzrastu 4 do 14 nedelja; Grupa B – fazani stariji od 14 nedelja;  
Grupa C – fazani iz prirodnih staništa

Kliničku sliku kod inficiranih fazana karakterisao je smanjeni apetit i zelenkasti proliv sluzavo kašaste konzistencije. Uginuća su bila znatno veća pri in-

ficiranju sa *Heterakis isolonche*. Naročito su bili ugroženi fazančići kod kojih je bolest imala akutan tok. Kod odraslih fazana heterakidoza je prolazila u hroničnom toku i retko se klinički manifestovala, tako da su ove ptice bile glavni izvor infekcije za mlađe kategorije.

Pri infekciji nastaloj sa *Heterakis isolonche*, na sekciji smo zapažali lezije u vidu noduloznog tiflitisisa, pri čemu je cela površina cekuma bila pokrivena čvorićima koji su prominirali i ispod seroze. Čvorići su često konfluirali i obrazovali difuzna zadebljanja crevnog zida.

Patološko-anatomski nalaz kod infekcija uzrokovanih sa *Heterakis gallinarum* zavisio je od broja parazita, s obzirom da ove heterakide ozleđuju sluzokožu cekuma usled zavlačenja larvi u njen površinski sloj. Takođe je zavisio i od načina fiksacije usnim aparatom (odrasli paraziti). U početku infekcije zapažao se veliki broj sitnih čvorića po sluzokoži creva. U kasnijoj fazi oni su bili ograničeni inflamatornim promenama, a nalažene su i ulceracije. Sluzokoža cekuma je bila otečena i zadebljana (slika 1). Kod infekcija jakog intenziteta cekumi su potpuno bili ispunjeni adultnim parazitima.



Slika 1. *Adulti Heterakis gallinarum* i patomorfološke promene na crevima fazana  
Figure 1. *Adults Heterakis gallinarum* and pathomorphological changes in pheasants

Dobijeni rezultati ukazuju na izuzetan značaj nematoda iz roda *Heterakis* u nastajanju mnogobrojnih zdravstvenih problema fazanske divljači, posebno mlađeg uzrasta. Pored neposrednog patogenog učinka heterakisa, značajnu ulogu ove nematode imaju i kao vektori za protozou *Histomonas meleagridis* i mnoge vrste bakterija [15, 32]. S obzirom da *Histomonas meleagridis* živi i parazitira u cekumima ptica, u kojima su inače i heterakisi, velika je vjerojatnoća da će jaja heterakisa sadržati vegetativne oblike histomonasa. U spoljašnjoj sredini, kišne gliste kao fakultativni prelazni domaćini mogu da pojedu jaja heterakisa, tako da kada fazani pojedu kišne gliste, često se istovremeno inficiraju infektivnim oblicima heterakisa i histomonasa [12, 15, 32].

Tokom naših ispitivanja, često smo bili u situaciji da se uverimo o prisustvu kišnih glista u zemljištu ispusta volijera.

Na perzistiranje, širenje i izbijanje parazitskih infekcija utiču mikroklimat staništa, flora i fauna u njemu, pedološki sastav tla i svi drugi biotički i abiotički faktori. Ovi faktori utiču na preživljavanje i vitalnost jaja i larvi parazita, kao i prelaznih domaćina u njihovom biološkom ciklusu [2, 3, 12, 17, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 39]. Stalni kontakt fazana sa drugim vrstama ptica, nosiocima parazita, uzimanje hrane ili vode kontaminisane jajima parazita, kao i inficiranih fakultativnih prelaznih domaćina osnovni su momenti u inficiranju fazanske divljači [1, 6, 10, 32, 39].

U veštačkom sistemu gajenja, stvorene su velike aglomeracije fazana na malom prostoru, tako da se u slučaju da se pojave infekcije one znatno brže šire i zahvataju veliki broj ptica [5, 8, 21, 22, 24, 25]. U poluotvorenom sistemu držanja fazana parazitske infekcije čine neminovnu pojavu, tako da način držanja i preventivne dijagnostičke, zoohigijenske i tehnološke mere, u mnogome utiču na mogućnost pojavljivanja, odnosno na tok i posledice ovog oboljenja [5, 8, 18, 21, 22, 24, 25].

Položaj fazanerijske tehnologije odgoja u otvorenim volijerama, velika aglomeracija fazana u njima, mikroklimat okoline, mnoštvo drugih vrsta ptica i prelaznih domaćina u okolini činili su predisponirajuće uslove za infekciju, njen intenzitet i ekstenzitet. Iz tih razloga moraju da se obavljaju preventivni parazitološki pregledi, striktno da se razdvajaju starosne kategorije fazana, redovno da se primenjuju dezinfekcija i dezinsekcija i poštuju propisane tehnologije [17, 18, 23, 30, 31]. U slučaju da izbije bolest neophodno je da se pristupi tretiranju celog jata antihelminthicima na bazi mebendazola, fenbendazola, kambendazola, levamizola ili tetramizola i njihovo izdvajanje u posebnu volijeru [7, 11, 19, 20, 23, 34, 35, 37, 38].

## Literatura / References

1. Arara B. M., Chandra R.: *Livestock Adviser* 8, 8, 39-40, 1983. - 2. Boch J., Supperer R.: *Veterinärmedizinische parasitologie*. Paul Parey in Berlin and Hamburg, Germany, 1971. - 3. Draycott R. A., Parish D. M., Woodbum M. I., Carroll J.P.: *Vet. Rec.*, 26, 147, 9, 245-246, 2000. - 4. Euzeby J.: *Diagnosis experimental des helmintoses animales*, ITSV press, Paris, 1981. - 5. Florestea Iulia, Florestean V., Ursachi Gabriela, Costachescu Elena: *Lucrari Stiintifice medicina veterinara* 44, 3, 586-589, 2001. - 6. Greiner E. S.: *Journal of Wildlife Disease* 8, 3, 203-206, 1972. - 7. Hegngi F. N., Doerr J., Cummings T. S., Schwartz R. D., Saunders G., Zajac A., Larsen C. T., Pierson F. W.: *Vet. Parasitol.*, 81, 1, 29-37, 1999. - 8. Hillgarth N.: *American Zoologist*, 30, 2, 227-233, 1990. - 9. Hillgarth N.: *World Pheasants Association Journal*, 15/16, 73-80, 1992. - 10. Hopspes R.: *Parasitoses des Jagdfasans*, Inagural Dissertation fur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Leibig Universität, Giessen, 1996. - 11. Kirsch R.: *Avian Disease*, 28, 2, 311-318, 1984. - 12. Kulišić Z.: *Helmintologija, Veterinarska komora Srbije*, Beograd, 2001. - 13. Lund E. E., Chute A. M.: *American Midland Naturalist*, 87, 1-7, 1972a. - 14. Lund E. E., Chute A. M.: *Journal of Parasitology*, 58, 940-945, 1972b. - 15. McDougald L. R.: *Poult. Sci.*, 77, 8, 1156-1158, 1998. - 16. Mehlholm H., Harder A.: *Parasitol. Res.*, 83, 5, 419-434, 1997. - 17. Nešić Dragica, Pavlović I., Valter D., Radoičić Marina: *Zbornik radova III simpozijum DDD i uklanjanje otpadaka animalnog porekla u funkciji očuvanja životne sredine*, Donji Milanovac, 79-82, 1992. - 18. Nešić Dragica, Pavlović I., Kulišić Z., Vojinović Dragica, Valter D.: *Zbornik radova VI simpozijuma DDD u zaštiti životne sredine*, Donji Milanovac, 264-267, 1995. - 19. Nicolay F., Harder A., von Samson-Himmelestjerna G., Mehlholm H.: *Parasitol. Res.*, 86, 12, 982-992, 2000. - 20. Norton R. A., Yazwinski T. A., Johnson Z.: *Poult. Sci.*, 70, 8, 1835-1837, 1991. - 21. Pavlović I., Hudina V., Blažin Vesna, Ilić Živka, Miljković Biljana: *Zbornik radova i kratkih sadržaja VI simpozijuma male životinje, urbana sredina i ekologija*, Sarajevo, 141-144, 1990b. - 22. Pavlović I., Hudina V., Kerš-Pavlović Valentina, Blažin Vesna, Čupić Violeta: *Veterinarski glasnik*, 44, 6, 467- 471, 1990c. - 23. Pavlović I.: *Ekto i endoparaziti fazana u farmskom odgoju i mere za njihovo suzbijanje*. Magistarska teza, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, 1991. - 24. Pavlović I., Kerš-Pavlović Valentina, Jordanović B., Hudina V.: *Lucrari Stiintifice medicina veterinara*, 26, 104-107, 1992a. - 25. Pavlović I., Kerš-Pavlović Valentina, Jordanović B., Hudina V.: *Abstracts of Scientific Works of Symposium with International Participation Problems of Animal Pathology*, Timisoara, Romania, 53, 1992 b. - 26. Pavlović I., Kulišić Z., Nešić D., Milutinović M.: *Programme and Abstracts of Seventh International Helminthological Symposium*, Košice, Slovak Republic, 43, 1995a. - 27. Pavlović I., Kulišić Z., Milutinović Marija, Nešić Dragica, Valter D.: *Veterinarski glasnik*, 49, 11-12, 745-750, 1995b. - 28. Pavlović I., Ivetić V., Kulišić Z., Valter D., Nešić Dragica : *Veterinarski glasnik*, 50, 3-4, 209-213, 1996a. - 29. Pavlović I., Erski-Biljić M., Mrenoški S., Srbinska J.: *Macedonian Veterinary Review*, 25, 1-2, 113-116, 1996b. - 30. Pavlović I., Kulišić Z., Valter D., Katić V., Erski-Biljić M., Vojinović D.: *Zbornik radova savetovanja Savremeni aspekti gajenja, zaštite i korišćenja lovne divljači u funkciji razvoja brdsko-planinskih područja Jugoslavije*, Požega, 175-178, 1997a. - 31. Pavlović I., Katić V., Nešić Dragica, Valter D., Kulišić Z., Milutinović Marija, Rašković Nataša, Dimitrić A.: *Zbornik radova VIII savetovanja DDDDD u zaštiti životne sredine sa međunarodnim učesćem*, Subotica, 71-72, 1997b. - 32. Permin A., Bisgaard M., Frandsen F., Pearman M., Kold J., Nansen P.: *Br. Poult. Sci.*, 40, 4, 439-443, 1999. - 33. Sage R.B., Putaala A., Woodbum M.I.: *Poult. Sci.*, 81, 8, 1199-1202, 2002. - 34. Sage R.B., Woodbum M.I., Davis C., Aebischer N.J.: *Parasitology*, 124, 5, 529-535, 2002. - 35. Saunders L.M., Tompkins D.M., Hudson P.J.: *Int. J. Parasitol.*, 30, 14, 1481-1485, 2000. - 36. Schrinke E.: *The game pheasants: breeding and disease*, Maison Alfort, Paris, 1991. - 37. Sharma R.K., Singh K., Saxena K.K.: *Vet.*

Parasitol., 30, 3, 213-216, 1989. - 38. Sharma R.K., Singh K., Saxena K.K.: Angew. Parasitol., 31 (2), 101-105, 1990. - 39. Svoboda J.: Vet. Med., 37, 9 -10, 543-547, 1992.

ENGLISH

**HETERACIDOSIS IN PHEASANTS**

**I. Pavlović, Z. Kulišić, Iulia Florestean**

Diseases of parasite etiology present a great part of the pheasant game pathology in both natural domiciles and artificial breeding. Based on the research conducted in our country and abroad, we have come to the conclusion that heteracidosis, along with coccidiosis, syngamosis, and ascaridiosis present one of the most significant parasite diseases in these birds.

Heteracidosis in pheasants is caused by *Heterakis isolonche* and *H. gallinarum*. According to our findings *H. isolonche* is detected in 26,1 % of pheasants aged from 4 to 14 weeks, and 14,4 % of adult pheasants in organized maintenance conditions, and in 18,1 % of pheasants in natural domiciles. *Heterakis gallinarum* is found in 25,1 % of pheasants aged from 4 to 14 weeks and 4,3 % of adult pheasants in pheasant farms, and 15,3 % pheasants in natural domiciles. For these reasons, in this paper we present the carriers, pathological changes and clinical picture of the disease, as well as prevention and control methods.

Key words: pheasants, heteracidosis, *Heterakis isolonche*, *Heterakis gallinarum*

РУССКИЙ

**ГЕТЕРАКИДОЗ ФАЗАНОВОЙ ДИЧИ**

**И. Павлович, З. Кулишич, Iulia Florestean**

Заболевания паразитарной этиологии занимают значительную часть в патологии фазановой дичи в природных местах пребывания и искусственном выращивании. На основе исследования, совершенных в мире и у нас пришлось к выводу, что гетеракидоз, при кокцидозе, сингамозе и аскаридозе представляет собой одну из наиболее значительных паразитарных болезней этих птиц.

Гетеракидоз фазанов причиняют *Heterakis isolonche* и *H. gallinarum*. По нашим результатам *H. isolonche* установлен в 26,1% фазанов им 4-14 недель и 14,4% взрослых фазанов в искусственном содержании, а у 18,1% фазанов в природных местах пребывания. *Heterakis gallinarum* найден у 25,1% фазанов от 4-14 недель и 4,3% взрослых фазанов в фазанериях, а в 15,3% фазанов из природных мест пребывания. По этим причинам, здесь мы даём показ возбудителя, патологические изменения и клиническую картину заболевания словно и мероприятия превентивы и подавления гетеракидоза.

Ключевые слова: фазаны, гетеракидоз, *Heterakis isolonche*, *Heterakis gallinarum*

UPOREDNO ISPITIVANJE REZIDUA ANTIBIOTIKA U  
MLEKU ENZIMSKOM I MIKROBIOLOŠKIM METODAMA\*  
*COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESIDUE IN MILK  
USING ENZYME AND MICROBIOLOGICAL METHODS*

Jelena Petrović, Vera Katić \*\*

Rezidue antibiotika mogu štetno da deluju i na zdravlje ljudi i ometaju preradu mleka u proizvode. Da bi se sprečili ovi nepoželjni efekti rezidua, danas se koriste različite skrining metode. Osnovni zadatak ovoga rada je poređenje skrining metoda prilikom ispitivanja mleka sa različitim mesta u lancu proizvodnje. U radu smo uporedo ispitali tri skrining metode: mikrobiološke metode Delvo SP test i Difuzionu metodu sa *B. stearothermophilus* kao test mikroorganizmom i enzimsku metodu Penzym S test. Ispitano je 20 uzoraka mleka iz sabirnih tankova sa farme, 20 uzoraka mleka iz transportnih cisterni, 10 uzoraka pasterezovanog mleka i 10 uzoraka sterilizovanog mleka iz prometa. Na osnovu uporednih ispitivanja Difuzione metode, Delvo SP testa i Penzym S testa zaključujemo da su sve tri metode u visokoj međusobnoj saglasnosti ( $\kappa$  vrednost se kreće od skoro idealne podudarnosti do idealne podudarnosti) i time ispunjavaju jedan od kriterijuma za uključivanje u sistematsku kontrolu mleka na prisustvo rezidua antibiotika.

Ključne reči: mleko, rezidue, antibiotici, Difuzionna metoda, Delvo SP test, Penzym S test

#### Uvod / Introduction

Beta laktamski antibiotici se široko koriste u terapiji i profilaksi oboljenja mlečnih goveda, pre svega mastitisa, pa stoga ova grupa antibiotika predstavlja najčešću vrstu rezidua koja može da se nađe u mleku [1]. Rezidue veterinarskih lekova obuhvataju izvorni lek i/ili njegove metabolite u bilo kom jestivom delu životinjskog proizvoda [2]. Rezidue veterinarskih lekova u sirovom mleku su posledica izlučivanja, a u mleku za javnu potrošnju posledica su: nepoštovanja

\* Rad primljen za štampu 2.4. 2003. godine

\*\* Mr Jelena Petrović, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr Vera Katić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd



karence, predoziranja, nestručne primene lekova, odsustva ili neadekvatne kontrole.

Rezidue antibiotika i sulfonamida u mleku mogu štetno da utiču na zdravlje ljudi uzrokujući alergijske reakcije [3], rezistenciju patogenih mikroorganizama [4] i redukciju normalne mikroflore u organizmu [5]. Pored toga, rezidue antibiotika nepovoljno utiču i na tehnološke procese pri preradi mleka [6]. Da bi se sprečili nepoželjni efekti rezidua, u svetu se primenjuju različiti postupci kontrole, koji obuhvataju kontrolu proizvodnje, distribucije i upotrebe lekova, određivanje nivoa rezidua koji utiče na zdravlje ljudi i razvijanje metoda za otkrivanje te količine. Danas se za dokazivanje rezidua antibiotika i sulfonamida u mleku koriste kvalitativne (mikrobiološke, enzimske, receptor enzimske i imunološke) i kvantitativne metode (*HPLC*, spektrofotometrijske i masenospektrofotometrijske). Kvantitativne metode daju podatke o vrsti i količini prisutne rezidue, međutim, ove metode dugo traju, za njihovo izvođenje je potrebna skupa oprema i obučeni kadar.

U sistematskoj kontroli antibiotika, za ispitivanje i selekciju velikog broja uzoraka, koriste se skrining metode. Uzorci koji su pozitivni ili sumnjivi na prisustvo antibiotika dalje se ispituju nekom od metoda za identifikaciju i kvantifikaciju rezidua. Za identifikaciju se koriste imunološki, enzimski, receptor-vezujući ili modifikovani mikrobiološki testovi inhibicije, a za kvantifikaciju rezidua se koriste *HPLC*, *GC* i *GC/MC*. Pored brzine dobijanja rezultata i jednostavnosti postupka, kriterijum za izbor skrining metoda, koje bi bile uključene u sistematsku kontrolu rezidua je i međusobna saglasnost dobijenih rezultata.

Cilj rada je da se primenom različitih skrining metoda uporedo ispita prisustvo rezidua antibiotika u uzorcima mleka iz različitih faza proizvodnog lanca (od sirovine do gotovog proizvoda).

Izabrane su tri skrining metode koje se najčešće koriste u praksi. Mikrobiološke inhibitorne metode: Delvo SP test i Difuziona metoda sa *B. stearothermophilus* i enzimska metoda Penzym S test.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Ispitano je 20 uzoraka mleka iz sabirnih tankova sa farme, 20 uzoraka mleka sa linija (mleko iz transportnih cisterni sa linija dovoza) u mlekari, 10 uzoraka pasterizovanog mleka i 10 uzoraka sterilizovanog mleka iz prometa. Dokazivanje rezidua antibiotika Difuzionom metodom, sa *B. stearothermophilus* kao test mikroorganizmom, rađeno je metodom po Galeslootu i Hassingu [7]. Metoda je modifikovana u smislu povećanja temperature inkubacije sa 55°C na 63°C. Delvo SP test i Penzym S test su izvođeni prema uputstvu proizvođača. Proizvođač Delvo SP testa je Gist-Brocades N.V. Delft, Holandija, a proizvođač Penzym S testa je UCB-Bioproducts S.A., Belgija.

**Statističke metode.** Saglasnost testova je poređena pomoću kappa vrednosti [8]. Kappa vrednost se kreće u intervalu od 0 (podudarnost je jednaka onoj koja bi se očekivala pri slučajnoj podudarnosti testova) do 1 (potpuna podudarnost). Uobičajeno se uzima da je idealna podudarnost ako je vrednost kappa >0.81, skoro idealna podudarnost je za raspon 0.61 - 0.80, prilična podudarnost 0.41 - 0.60, srednja podudarnost 0.21 - 0.40, beznačajna podudarnost 0.00 - 0.20 i nema podudarnosti 0.00.

### Rezultati rada i diskusija / Results and discussion

Rezultati uporednog ispitivanja uzoraka sirovog mleka Delvo SP testom, Penzym S testom i Difuzionom metodom sa *B. stearothermophilus* prikazani su u tabelama 1 i 2.

Tabela 1. Rezultati uporednog ispitivanja uzoraka sirovog mleka iz tanka sa farme Delvo SP testom, Penzym S testom i Difuzionom metodom sa *B. stearothermophilus*  
Table 1. Results of comparative analysis of raw milk samples from farm tank performed by the Delvo SP test and diffusion method with *B. stearothermophilus*

Naziv testa / Method used		Difuziona metoda sa <i>B. stearothermophilus</i> / Diffusion method with <i>B. stearothermophilus</i>		Penzym S test / Penzym S test	
		pozitivno / positive	negativno / negative	pozitivno / positive	negativno / negative
Delvo SP test / Delvo SP test	pozitivno / positive	5	1	5	1
	negativno / negative	1	13	1	13
Penzym S test / Penzym test	pozitivno / positive	5	1	/	/
	negativno / negative	1	13	/	/

Na osnovu obavljenih ispitivanja u sirovom mleku iz tanka sa farme ustanovljeno je 30 posto pozitivnih uzoraka svakim od testova. Sva tri testa u međusobnoj saglasnosti, imaju kappa vrednost od 0.76, ova vrednost pripada intervalu kappa vrednosti od 0.61 do 0.80 koji predstavlja skoro idealnu podudarnost. Visoku međusobnu podudarnost ova tri testa prilikom ispitivanja mleka iz tanka sa farme su ustanovili i Seimour i sar. [9].

Ispitivanjem sirovog mleka iz transportnih cisterni sa linija dovoza u mlekari ustanovljeno je Delvo SP testom i Penzym S testom 15 posto pozitivnih uzoraka, dok je Difuzionom metodom ustanovljeno 20 posto pozitivnih uzoraka. Penzym S i Delvo SP test imaju istu kappa vrednost prema Difuzionoju metodi sa *B. stearothermophilus*, ova vrednost iznosi 0.83 i pripada intervalu idealne podudar-

nosti. Kappa vrednost saglasnosti Penzym S testa i Delvo SP testa je, takođe, idealna, pošto iznosi 1.00. Interval idealne podudarnosti se odnosi na kappa vrednost veću od 0.81.

Tabela 2. Rezultati uporednog ispitivanja uzoraka sirovog mleka sa linija Delvo SP testom, Penzym S testom i Difuzionom metodom sa *B. stearothermophilus*  
 Table 2. Results of comparative analysis of raw milk samples from production lines performed by the Delvo SP test, Penzym S test and diffusion method with *B. stearothermophilus*

Naziv testa / Method used		Difuzionna metoda sa <i>B. stearothermophilus</i> / Diffusion method with <i>B. stearothermophilus</i>		Penzym S test / Penzym S test	
		pozitivno / positive	negativno / negative	pozitivno / positive	negativno / negative
Delvo SP test / Delvo SP test	pozitivno / positive	3	0	3	0
	negativno / negative	1	16	0	17
Penzym S test / Penzym test	pozitivno / positive	3	0	/	/
	negativno / negative	1	16	/	/

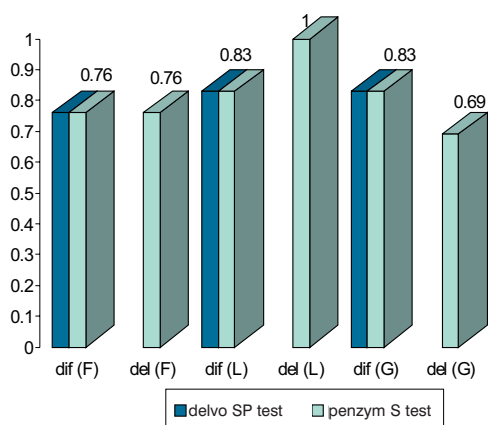
Rezultati uporednog ispitivanja 20 uzoraka pasterizovanog i sterilizovanog mleka iz prometa Delvo SP testom, Penzym S testom i Difuzionom metodom sa *B. stearothermophilus* su prikazani u tabeli 3.

Tabela 3. Rezultati uporednog ispitivanja uzoraka pasterizovanog i sterilizovanog mleka Delvo SP testom, Penzym S testom i Difuzionim testom sa *B. stearothermophilus*  
 Table 3. Results of comparative analysis of pasteurized and sterilized milk performed by the Delvo SP test, Penzym S test and diffusion method with *B. stearothermophilus*

Naziv testa / Method used		Difuzionna metoda sa <i>B. stearothermophilus</i> / Diffusion method with <i>B. stearothermophilus</i>		Penzym S test / Penzym S test	
		pozitivno / positive	negativno / negative	pozitivno / positive	negativno / negative
Delvo SP test / Delvo SP test	pozitivno / positive	3	1	3	1
	negativno / negative	0	16	1	15
Penzym S test / Penzym test	pozitivno / positive	3	1	/	/
	negativno / negative	0	16	/	/

Ispitivanjem pasterezovanog i sterilizovanog mleka ustanovljeno je 20 posto pozitivnih uzoraka pomoću Penzym S testa i Difuzione metode, dok je pomoću Delvo SP testa ustanovljeno 25 posto pozitivnih uzoraka. Difuziona metoda se prema oba testa nalazi u intervalu idealne podudarnosti (kappa je 0.83), dok se Delvo SP test sa Penzym S testom nalazi u intervalu skoro idealne podudarnosti (kappa 0.69).

Kappa saglasnost testova prilikom ispitivanja sve tri grupe uzoraka je prikazana na slici 1.



Slika 1. Kappa saglasnost ispitanih metoda za određivanje rezidua antibiotika u sirovom mleku iz tanka sa farme, iz transportnih cisterni i pasterezovanom i sterilizovanom mleku  
Legenda: dif - Difuziona metoda, F - mleko iz tanka sa farme,  
L - mleko sa linija, G - pasterezovano i sterilizovano mleko

Figure 1. Kappa coincidence of analyzed methods for detecting antibiotic residue in raw milk from farm tank, transport cisterns and pasteurized and sterilized milk

Legend 1. dif - diffusion method, F - milk from farm tank, L - milk from production lines,  
G - pasteurized and sterilized milk

Razlike koje se javljaju prilikom ispitivanja istog uzorka sa tri različite metode proističu iz različite osetljivosti ovih metoda. Delvo SP test je osetljiv prema antibioticima, sulfonamidima, dezinficijensima i promenjenom mleku. Difuziona metoda je osetljiva prema antibioticima, dok je Penzym S test osetljiv samo prema beta laktamskim antibioticima. Visoka podudarnost Penzym S testa sa ostala dva testa ide u prilog navodima drugih autora [10, 11], po kojima su beta laktamski antibiotici najčešća vrsta rezidua koja može da se nađe u mleku. Razlike u rezultatima, takođe, mogu da nastanu i zbog razlika u pragu detekcije prema istim antibioticima, tako je prema ceftiofuru najosetljiviji Delvo SP test, jer detektuje količine od 50 µg/kg, dok Difuzioni test detektuje količine od 75 µg/kg, a Penzym S test detektuje količine od 80 µg/kg ceftiofura, [12].

### **Zaključak / Conclusion**

Na osnovu uporednih ispitivanja Difuzione metode, Delvo SP testa i Penzym S testa zaključujemo da su sve tri metode u visokoj međusobnoj saglasnosti (kappa vrednost se kreće od skoro idealne podudarnosti do idealne podudarnosti) i time ispunjavaju jedan od kriterijuma za uključivanje u sistematsku kontrolu mleka na prisustvo rezidua.

### **Literatura / References**

1. Heeschen W., Suchren G.: Proceedings from Symposium on residues of antimicrobial drugs and their inhibitors in milk. Kiel, Germany, 107-114 1995. - 2. Codex Alimentarius, Vol three Food and Agriculture Organisation of United Nations, WHO. Rome 1993. - 3. Dewdney J. M., Maes L., Raynaud J. P., Blanc F., Scheid J. P., Jackson T., Lens S., Verschueren C.: Food Chem Toxicol, Jul; 29, 7, 477- 483, 1991. - 4. Corpet D. E., Lumeau S., Corpet F.: Antimicrob Agents Chemoter, Apr; 33, 4, 535-540, 1989. - 5. Corpet D. E.: Vet. Hum. Toxicol. 35 Suppl 1, 37-46, 1993. - 6. Mayra-Makinen: citat po Mijačević Zora i Bulajić Snežana, Zlatibor, Zajednica stočarstva, Zbornik radova 78-85, 2000. - 7. Miljković V., Šipka M.: Metode pregleda mleka i mlečnih proizvoda, Naučna knjiga Beograd 66-67, 1975. - 8. Valčić M.: Opšta epizootologija. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, 1998. - 9 Seymour E. H., Jones G. M., Mc Gilliard M. L.: J Dairy Sci, Feb; 71, 2, 539-544, 1988. - 10 Heeschen W., Suchren G.: Proceedings from Symposium on residues of antimicrobial drugs and their inhibitors in milk. Kiel, Germany, 107-114, 1995. - 11 Long T.: Mater of Science-thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Publikation no 98. Uppsala 1999. - 12. FDA memorandum M-a-85, revision 1, September 1994.

### **ENGLISH**

#### **COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESIDUE IN MILK USING ENZYME AND MICROBIOLOGICAL METHODS**

**Jelena Petrović, Vera Katić**

Antibiotic residue can have a harmful effect on human health and can disrupt the processing of milk and milk products. In order to prevent these unwanted effects of residue, different screening methods are used today. The basic goal of this paper is to compare screening methods performed during the testing of milk from different points of the production chain. In this paper we have comparatively analyzed three screening methods: microbiological methods – the Delvo SP test and the diffusion method with *B. stearothermophilus* as the test microorganism, and an enzyme method – the Penzym S test. Twenty samples of farm milk from collective tanks were analyzed, as well as 20 samples of milk from transport cisterns, 10 samples of pasteurized milk and 10 samples of sterilized market milk. Based on the comparative analysis of the diffusion method, Delvo SP test and Penzym S test, we conclude that all three methods are in high mutual accordance (the kappa value oscillates from nearly ideal to ideal coinciding) and thus meet one of the criteria for being included in the systematic control of milk for the presence of antibiotic residue.

Key words: milk, residue, antibiotics, diffusion method, Delvo SP test, Penzym S test

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПЫТАНИЕ ОСТАТКОВ АНТИБИОТИКОВ В МОЛОКЕ  
ЭНЗИМНЫМ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

**Елена Петрович, Вера Катич**

Остатки антибиотиков могут вредно действовать и на здоровье людей и мешают переработку молока в продукты. Чтобы предупредились эти нежелательные эффекты остатков в настоящее время пользуются различные скрининг методы. Основная задача этой работы сравнение скрининг методов при испытании молока с различных мест в цепи производства. В работе мы сравнительно испытали три скрининг метода: микробиологические методы Дельво *SP* тест и Диффузионный метод с *B. stearothermophilus* как тест микроорганизмом и энзимный метод *Penzym S* тест. Испытано 20 образчиков молока из собирательных баков с фермы, 20 образчиков молока из транспортных цистерн, 10 образчиков стерлизованного молока из оборота. На основе сравнительных испытаний Диффузионного метода, Дельво *SP* теста и *Penzym S* теста мы сделаем вывод, что все три метода в высоком междусобном согласии (каппа стоимость двигалась от почти идеальной до идеального совпадения и тем выполняют один из критериев для включения в систематический контроль молока на присутствие остатков антибиотиков.

Ключевые слова: молоко, остатки, антибиотики, Диффузионный метод, Дельво *SP* тест, *Penzym S* тест

## ENTROPIJUM KOD PASA I NJEGOVO KORIGOVANJE\* *ENTROPIUM IN DOGS AND ITS CORRECTION*

M. Hadžimilić\*\*

*Entropium ili uvrtnanje očnih kapaka predstavlja jedno od najčešćih oboljenja očnih kapaka kod pasa, a samim tim i njegova hirurška korekcija je jedna od najzastupljenijih hirurških procedura u veterinarskoj oftalmohirurgiji. Zbog nedovoljne edukovanosti i primene neadekvatne tehnike često nastaju takvi deformiteti koji ugrožavaju i samu očnu jabučicu. Na kraju, najčešće se javlja i ulcerativni keratitis kod koga se, kao posledica, može da javi perforacija rožnjače, a samim tim, u najvećem broju slučajeva, i gubitak oka.*

*Postavljanje dijagnoze najčešće nije teško, pogotovo kada je prisutno uvrtnanje kapaka.*

*U terapiji entropijuma hirurški tretman je imperativ. Ostale metode imaju manje-više istorijski značaj. Hirurška korekcija je neophodna u skoro svim slučajevima entropijuma. Postoji veliki broj hirurških tehnika koje su opisane za korekciju entropijuma, a one su često nepotrebno komplikovane i ne postižu se značajno bolji rezultati.*

*Izbor same tehnike zavisi od datog slučaja, dela kapka koji je zahvaćen, kao i intenziteta entropijuma. Najčešće primenjivana tehnika u korekciji entropijuma je procedura po Hotz-Celsusu. Od svih tehnika njom se postižu najbolji rezultati, a ujedno je i najlakša za izvođenje, pogotovo za nedovoljno iskusnog hirurga. Hotz-Celsus tehnika se izvodi na taj način što se deo kože blizu ivice kapka odstrani u obliku elipse, rana se zašije i time kapak zategne, tj. vrati u normalan položaj.*

*Y i V tehnika je komplikovanija, ali i preciznija tehnika koja se sprovođi prvenstveno na centralnom delu kapka.*

*Medijalna kantalna V plastika se prvenstveno radi kao korekcija medijalnog entropijuma.*

\* Rad primljen za štampu 15. 4. 2003. godine

\*\* Mr Milan Hadžimilić, asistent, Katedra za hirurgiju, oftalmologiju i onihologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

*Materijal koji preporučujem je Nylon, a na ovoj lokaciji može slobodno da se koristi i svila od 0.6 do 4.0.*

*Ključne reči: pas, entropijum, korekcija*

## **Uvod / Introduction**

*Entropium* ili uvrtnje očnih kapaka predstavlja veoma često, ako ne i najčešće, oboljenje očnih kapaka kod pasa. Po nekim autorima i najnovijim podelama entropijum se ubraja u takozvana strukturalna oboljenja kapaka. Samim tim, njegova hirurška korekcija je jedna od najzastupljenijih hirurških procedura u veterinarskoj oftalmohirurgiji. Neadekvatno korigovani entropijumi su uzrok nastanka ozbiljnih deformiteta kapaka koji se teško ili uopšte ne mogu da se isprave, a često nastaju takvi deformiteti koji ugrožavaju i samu očnu jabučicu.

Uzrok nastanka ovakvih grešaka je, pre svega, u nedovoljnoj edukovanosti kolega koji se prihvataju naizgled lakog operativnog zahvata koji najviše zadire u domen plastično-rekonstruktivne hirurgije, i zahteva razvijenost veštine zrelog plastičnog hirurga. Situacija se dodatno komplikuje obiljem ponuđenih kako starih tako i novih tehnika koje se najčešće neadekvatno primenjuju. Neophodno je poznavanje i primena adekvatnog instrumentarija, igala i materijala za šivenje kako bi rezultati bili što bolji.

## **Anatomski uvod / Anatomic introduction**

Oko ili organ vida (*organum visus*) sastoji se od:

- Očne jabučice (*bulbus oculi*),
- Optičkih puteva (vidni putevi) i
- Pomoćnih organa oka (*organa oculi accesoria*).

U pomoćne organe oka (*organa oculi accessoria*) ubrajaju se: gornji očni kapak (*palpebra oculi superior*), donji očni kapak (*palpebra oculi inferior*), treći očni kapak (*palpebra tertia*), suzni aparat (*apparatus lacrimalis*), vežnjača (*conjunctiva*), spoljašnji mišići očne jabučice (*mm. oculi externi*), masno jastučice orbite (*paniculus adiposus orbitae*), pokosnica (*periorbita*) i koštani zidovi (*orbita*).

Ovi pomoćni organi oka imaju prvenstveno ulogu da zaštite očnu jabučicu i da omoguće normalno odvijanje svih onih složenih funkcija koje su neophodne u procesu viđenja.

**Kapci** predstavljaju nabor kože koji prekriva očnu jabučicu. Oni mehanički štite očnu jabučicu, a svojim pokretima, odnosno treptanjem doprinose rasprostiranju i oticanju suza, koje odnose nečistoću sa prednje površine oka u nosnu šupljinu.

Spoljašnju površinu kapaka čini savitljiva, tanka i pokretljiva koža, koja se sastoji od pločasto slojevitog epitela koji leži na dermisu. Na koži kapaka se nalaze i fine dlačice, znojne i lojne žlezde.



Trepavice (*ciliae*) nalaze se na ivici gornjeg kapka, ali ne i na donjem kapku. Znojne i lojne žlezde su udružene sa trepavicama, odnosno one se nalaze u folikulu trepavica.

Na ivici kapaka koža se nastavlja u muko-kutanu membranu - vežnjaču.

Gusto, belo fibrozno vezivno tkivo dermisa i *laminae propriae mucosae* spajaju se u *tarsus*. Tarsus se sastoji od lamine i kolagenih vlakana. On nije tako dobro razvijen kod pasa kao što je to kod čoveka.

Kapci su dobro snabdeveni žlezdama koje se razlikuju kako po sadržaju tako i po zastupljenosti. Palpebralne žlezde su: *gll. Meibomi, Molli, Zeiss, Kraus, Wolfring*, kao i peharaste ćelije vežnjače čija je koncentracija najveća u donjem fornixu.

Ispod kože kapaka nalazi se rastresito vezivno tkivo, najčešće bez ili sa malo masnog tkiva, u koje, pod patološkim uslovima, može da se izlije znatna količina transudata, eksudata ili krvi.

Sledeći sloj čine mišići. Kružni mišić oka *m. orbicularis oculi* je cirkularnog oblika i deluje kao sfinkter. Na ovaj način zatvara palpebralnu fisuru, odnosno njegova kontrakcija uzrokuje blefarospazam. *M. orbicularis oculi* je inervisan *n. palpebralis*-om, granom facijalnog nerva (VII). *M. orbicularis* je vezan medijalno za zid orbite medijalnim palpebralnim ligamentom. Deo orbikularnog mišića je *m. horneri* koji prolazi iza lakrimalne vrećice, a njegova insercija je u predelu medijalnog zida orbite. On ima ulogu u odvođenju suza - pa se i naziva „lakrimalna pumpa”. Orbikularni mišić je vezan lateralno pomoću *m. retractor anguli oculi lateralis* (lig. *palpebrale laterale*) koji daje eliptičan oblik palpebralne fisure. Zahvaljujući tome sprečava se da fisura postane kružna za vreme kontrakcije orbikularnog mišića.

Gornji kapak je više pokretljiv od donjeg. U gornjem kapku se nalaze mišići podizači gornjeg kapka od kojih su najvažniji *m. levator palpebre superioris*, čiji se početak nalazi blizu *foramen-a opticus-a*, a insercija (*insertio*) je u tarsusu, inervisan je *n. oculomotorius*-om (III), kao i Millerov mišić koji je adrenergično inervisan. Millerov mišić leži posteriorno od levatora i širi otvor kapka.

Donji kapak je pritisnut malarnim mišićem (*m. malaris*) koji je inervisan dorzalnom bukalnom granom facijalnog nerva.

Senzorna inervacija kapaka i periokularnog regiona odvija se preko: *n. frontalis-a, n. intratrochlearis-a, n. infraorbitalis-a, n. auriculotemporalis-a, n. lacrimalis-a, n. zygomaticus-a* i *n. mentalis-a*.

Funkcije kapaka mogu da se sagledaju kroz senzorni i zaštitni efekat cilija gornjeg kapka, zatim kroz sekreciju tarzalnih žlezda kapaka i peharastih ćelija vežnjače koje učestvuju u stvaranju spoljašnjeg lipidnog i unutrašnjeg mukopolisaharidnog sloja prekornealnog suznog filma (PSF). Kapci čine fizičku zaštitu oka od traume, smanjuju isparavanje suza i obavljaju distribuciju PSF svojim pokretima. Kapci dovode do „pumpanja” suza prema nazolakrimalnom kana-

Iu, preveniraju pojavu epifore i stalno održavaju konstantne osobine PSF, tačnije njegovu debljinu i optičke osobine.

Entropijum ili inverzija ivica očnih kapaka, predstavlja uvrtnje celog ili dela očnog kapka prema očnoj jabučici. Zbog toga trepavice i/ili dlačice kapaka dolaze u dodir sa rožnjačom i vežnjačom, uzrokujući njihovu iritaciju.

Entropijum može da se podeli u tri zasebne kategorije:

- kongenitalni/razvojni (anatomski),
- spastični i
- ožiljni (cikatrikalni).

*Razvojni entropijum* se javlja kod čistokrvnih rasa pasa sa predispozicijom i ređe kod drugih rasa, kao i kod mešanaca. Ovaj tip se relativno često javlja i kod mačaka. Ovu, može se reći, učestalu abnormalnost očnih kapaka, najčešće uzrokuje nedovoljna čvrstina (rigiditet) kapaka, prevelika dužina kapka, udruženi sa određenim karakteristikama rase (na primer, kvalitet kože, raspored kožnih nabora, oblik glave i drugo) koja ima predispoziciju ka njenom nastanku.

Naravno, entropijum može da se javi kod svake rase, kao i kod mešanaca, ali najčešće kod rasa sa izraženom predispozicijom, kao što su: čau-čau, šar-pei, bernandinac, rotvajler, engleski buldog, zlatni retriever, labrador retriever, norveški pas (elkhound, pas, čuvar losova), engleski i američki koker španijel, engleski springer španijel, patuljaste pudle, doberman ponč, irski seter, krvoslednik, doga i bulmastif.

Svaka rasa često ima specifičan deo kapka koji je zahvaćen entropijumom. Ređe se javlja entropijum gornjeg kapka. Najčešće se javlja entropijum spoljašnje 2/3 donjeg kapka. Često se javlja i u predelu lateralnog kantusa, a zahvaćena je najčešće lateralna četvrtina donjeg i gornjeg kapka, kao i sam kantus. Nešto ređa pojava je entropijum u predelu medijalnog kantusa. Kod određenih rasa kao što su čau-čau i šar-pei, mogu da budu zahvaćena sva četiri kapka istovremeno.

Kod određenih rasa pasa, susedne regije, kao što je nosni kožni nabor, kao i prekomerni facijalni kožni nabor, zajedno sa uvrnutim kapkom iritiraju rožnjaču i vežnjaču.

*Spastični entropijum* nije čest kod pasa. Može da nastane usled blefarospazma izazvanog bolom, koji najčešće nastaje pod uticajem stranih tela rožnjače, ulceracija rožnjače, hroničnog konjunktivitisa, blefaritisa i keratitisa.

Entropijum koji započinje spazmom, koji predstavlja privremeno stanje kapka, može kasnije da postane trajan (permanentan) ako se bol nastavi.

*Ožiljni entropijum* se najčešće javlja kao posledica povrede kapka ili je arteficialno izazvan neadekvatnom intervencijom na kapku.

Entropijum, takođe, može da nastane pod uticajem starosti i promene u čvrstini kapaka, što je kod pasa izuzetno retko, najčešće kod bernandinca (karakteristično je za ljude).

Klinička slika je raznolika i najčešće zavisi od intenziteta, trajanja i mesta na kome se javlja entropijum.

Kod vrlo blagih slučajeva može da se uoči samo vlaženje, a kasnije može da nastane epifora.

Kod srednje izraženih slučajeva najmarkantniji znak je zapaljenje vežnjače sa izraženim očnim sekretom, kao i primetno uvrtanje kapka.

Kod težih slučajeva javljaju se blefarospazam, konjunktivitis koji je najčešće purulentan sa obilnim sekretom. Uvrtanje kapaka je izraženo, a u većini slučajeva se javljaju i fotofobija, depigmentacija ivice kapka, kao i neovaskularizacija rožnjače.

Na kraju, najčešće se javlja i ulcerativni keratitis kod koga se kao posledica može da javi perforacija rožnjače, a samim tim, u najvećem broju slučajeva, i gubitak oka.

Postavljanje dijagnoze uglavnom nije teško, pogotovo, kada je prisutno uvrtanje kapka.

Dijagnoza se postavlja vrlo pažljivim pregledom kapka, kao i manuelnom retrakcijom da bi se ekspirirao uvrnuti deo kapka. Sedacija, kao i opšta anestezija su kontraindikovane kao deo pregleda, jer će uticati na izraženost samog entropijuma, njegovim smanjenjem.

Jedina situacija u kojoj je dozvoljeno instiliranje lokalnog anestetika na rožnjaču jeste dijagnostikovanje spastičnog entropijuma.

Diferencijalna dijagnoza ne sme da se zaboravi, jer je bitno da se razlikuju određena stanja od entropijuma. To su:

1. Drugi uzroci epifore: *distichiasis*, *trichiasis*, *ectopic cilia*, *puncta lacrimalia imperforata* i *dacryocystitis*.

2. Drugi uzroci blefarospazma: *distichiasis*, *ectopic cilia*, ulceracija rožnjače i izraženi (jaki) uveitis.

3. *Enophthalmos* i *phthisis bulbi* do arteficialne pojave entropijuma. Bol i epifora se najčešće ne javljaju.

Kod postavljanja dijagnoze bitno je da se razlikuju entropijum lateralnog dela donjeg kapka koji je kongenitalni od lateralnog entropijuma, odnosno entropijuma lateralnog kantusa koji zahvata lateralne delove i donjeg i gornjeg kapka, koji najčešće nastaje usled slabosti mišića retraktora očnog ugla (*m. retractor anguli oculi*).

U terapiji entropijuma hirurški tretman je imperativ. Ostale metode imaju manje-više istorijski značaj.

#### **Nehirurški tretman entropijuma / *Non-surgical treatment of entropium***

Kod malih životinja se koristi nekoliko nehirurških metoda u terapiji entropijuma, sa promenljivim ili češće, nezadovoljavajućim rezultatima. Od metoda se koriste potkožne injekcije antibiotika, parafina, mineralnih ulja, kao i elektroskalpel ili termokauter kojima se formira ožiljno tkivo, a ono tracionim silama utiče na korekciju entropijuma.

### **Hirurški tretman entropijuma / *Surgical treatment of entropium***

Hirurška korekcija je neophodna u skoro svim slučajevima entropijuma. Postoji veliki broj hirurških tehnika koje su opisane za korekciju entropijuma, a one su često nepotrebno komplikovane i ne daju značajno bolje rezultate.

U daljem tekstu biće opisane tehnike koje nisu komplikovane i pružaju provereno dobre rezultate, što je za hirurga praktičara od primarnog značaja.

Kod veoma mlade štenadi u sanaciji entropijuma mogu da se koriste privremeni šavovi (*suturae*) koji evertiraju kapke ili, pak, privremeno zatvaranje (zašivanje) kapaka. Ako je moguće, najbolje je da se odloži definitivna korekcija za šest meseci ili još bolje i kasnije.

Izbor same tehnike zavisi od datog slučaja, dela kapka koji je zahvaćen, kao i intenziteta entropijuma.

Bez obzira koja se tehnika koristi mesto i intenzitet korekcije moraju da budu utvrđeni pre anestezije. Odnos očne jabučice i kapaka se značajno menja u anesteziji i validna procena veličine korekcije u anesteziji je skoro nemoguća.

Sve procedure se sprovode u opštoj anesteziji posle sprovedene klasične pripreme pacijenta u vidu premedikacije, šišanja, brijanja, čišćenja, dezinfekcije (pov. jodid rastvor za primenu u oftalmologiji) i postavljanja kompresa.

Koriste se instrumenti specifični za date procedure u oftalmo-hirurgiji, kao i u plastičnoj i rekonstruktivnoj hirurgiji. Posebno bih izdvojio Bishop-Harmon pincetu, Jaeger pločicu-špatulu za kapke, Beaverov držač za nožice (okrugli) i nožić br. 64, Stevensove ili Westcottove makaze za tenotomiju kao i Castroviejo iglodržač.

#### *Hotz-Celsus tehnika / The Hotz-Celsus technique*

Najčešće primenjivana tehnika u korekciji entropijuma je procedura po Hotz-Celsusu. Od svih tehnika ovom se postižu najbolji rezultati, a ujedno je i najlakša za izvođenje, pogotovo za nedovoljno iskusnog hirurga. Hotz-Celsus tehnika se izvodi na taj način što se deo kože blizu ivice kapka odstrani u obliku elipse, rana zašije i time kapak zategne, tj. vrati u normalan položaj.

Zbog praktičnosti i lakoće izvođenja, kao i primenljivosti, ova tehnika je doživela najveći broj modifikacija i praktično može da se koristi na skoro svim delovima očnih kapaka pri korekciji entropijuma.

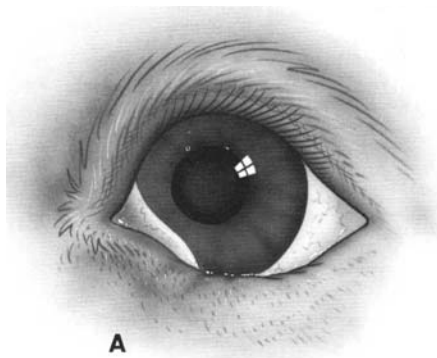
Najčešći problem je u nedovoljno dobroj proceni veličine dela kože koji se odstranjuje, kao i nedovoljno precizno sprovedenoj eksciziji, koja se najčešće obavlja makazama, što je u slučaju kapaka dosta neprecizno.

Osnovna tehnika je prikazana na crtežima.

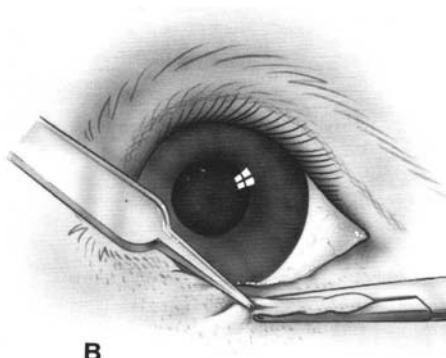
Intenzitet delovanja metode se pojačava približavanjem reza ivici kapka, ali se rez ne sme da postavi na manjem rastojanju od 2 mm od ivice kapka.

Rana se šije neresoptivnim sintetičkim ili prirodnim materijalom kao što su Nylon ili svila. Preporučio bih korišćenje Novafila sa špatulastom iglom koji

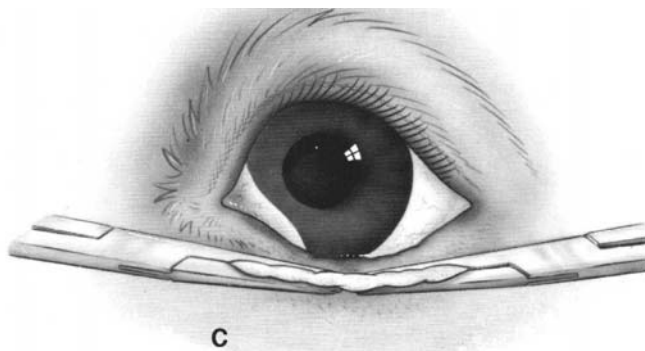
se najviše koristi u humanoj plastičnoj hirurgiji. Postavljaju se isključivo pojedinačni priljubljujući šavovi.



Slika 1A. Najčešći vid, entropijum donjeg kapka  
*Figure 1A. The most common case, lower eyelid entropium*



Slika 1B. Deo uvrnutog kapka se zahvata peanom  
*Figure 1B. Part of the twisted eyelid is gripped with pean*



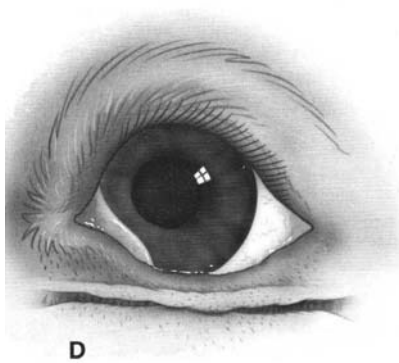
Slika 1C. Zahvata se peanima toliko kože koliko je potrebno da dođe do izvrtnja kapaka, ali ne u anesteziji  
*Figure 1C. Sufficient skin is gripped with peans to twist the eyelid, but not under anesthesia*

Razmak između šavova je veoma bitan i iznosi od 1,5 do 2 mm.

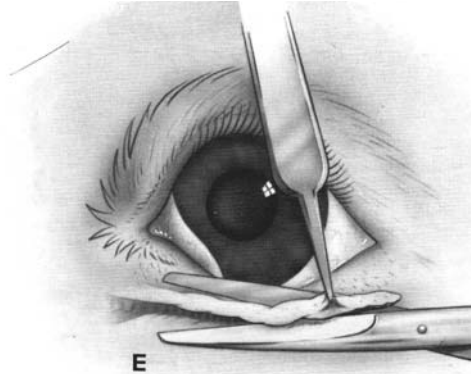
Danas se sve više pri obavljanju ove procedure umesto makaza i peana koristi skalpel, što svesrdno preporučujem, a u forniks se, kao podloga, postavlja metalna pločica ili špatula po Jaegeru ili Berke-Jaegeru. Rez se postavlja skalpelom po ranije napravljenom crtežu sterilnim flomasterom, što u mnogome olakšava orijentaciju, a samim tim i uspešnost u radu.

Strelica na slici „F” označava modifikaciju (varijantu) ove tehnike koja se primenjuje kod entropijuma koji se javlja u predelu lateralnog (temporalnog)

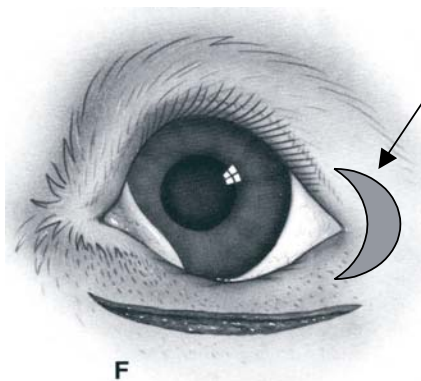
kantusa. Način postavljanja reza ili ekscizije je identičan, kao i u prethodnom slučaju, kao i materijali i tehnika zašivanja rane.



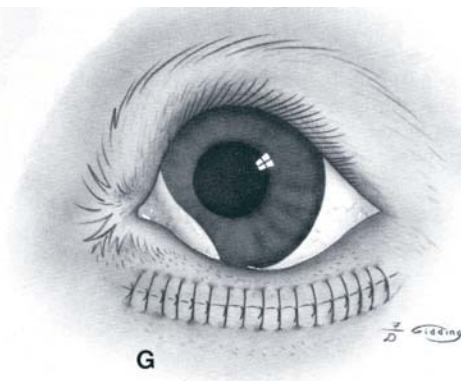
Slika 1D. Peani su uklonjeni  
Figure 1D. The peans are removed



Slika 1E. Obavlja se ekscizija nabranog dela kože  
Figure 1E. The wrinkled part of the skin is excised



Slika 1F. Urađena je ekscizija samo kože  
Figure 1F. Only the excision of the skin is performed



Slika 1G. Rana se zašiva Nylonom ili svilom 6.0 do 4.0  
Figure 1G. The wound is stitched with Nylon or silk from 6.0 to 4.0

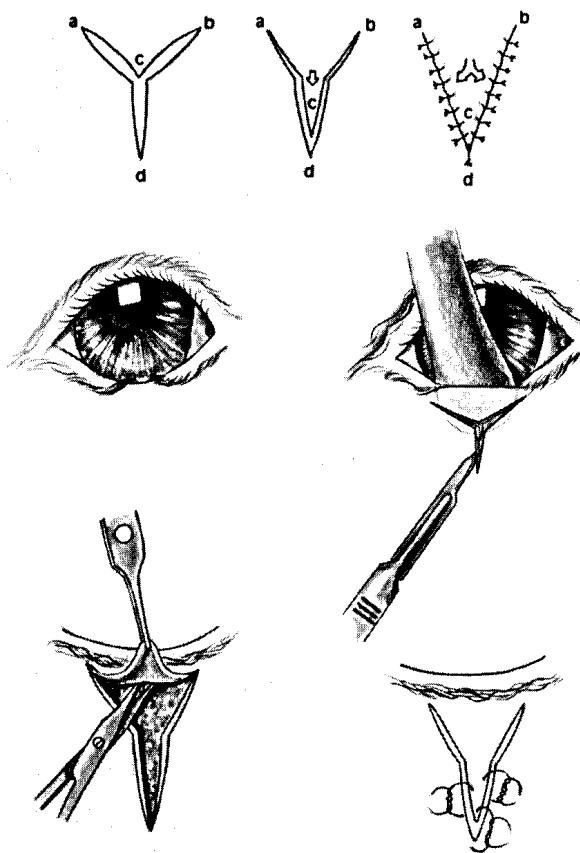
#### Y u V korekcija / The Y i V correction

Komplikovanija, ali i preciznija tehnika koja se sprovodi na centralnom delu kapka.

Najčešće se koristi kod korekcije ožiljnog entropijuma. Po stabilizaciji kapaka, pravi se Y incizija kože preko entropične regije sa raširenim ručicama postavljenim upravo preko promenjenog dela kapka. Uradi se disekcija kože što

bliže ivici kapka da bi se odvojile fibrozne veze koje leže ispod kože, kao i dva do tri milimetra sa svake strane stabla i pripoja ručica slova Y.

Everzija se izvodi, prvo postavljanjem pojedinačnog priljubljujućeg šava na vrhu novoformiranog oblika latiničnog slova V. Zatim sledi postavljanje dodatnih pojedinačnih apozicionih šavova da bi se rana zatvorila. Razmak između šavova je 2-3 mm. Materijal koji preporučujem je Nylon, a na ovoj lokaciji može slobodno da se koristi i svila (silk).

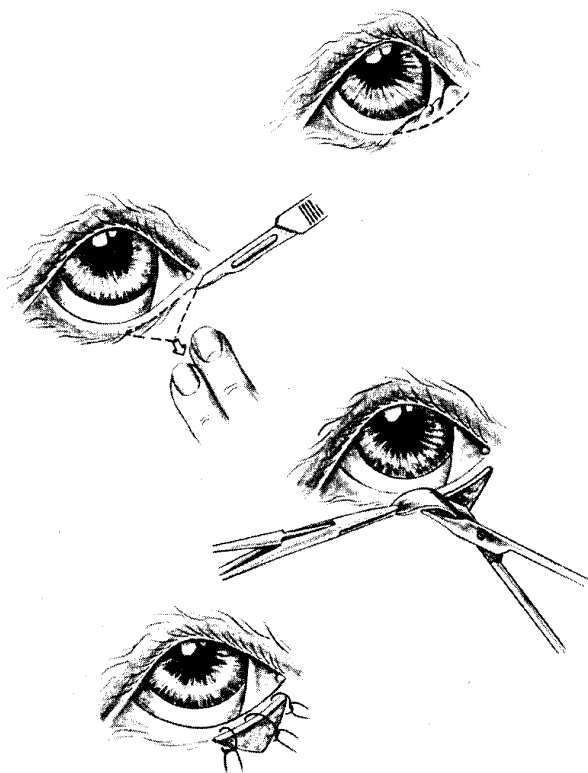


Slika 2. Y u V korekcija  
Figure 2. Y and V correction

*Medijalna kantalna V plastika / Medial canthal V plastic*

Ova plastika se prvenstveno radi kao korekcija medijalnog entropijuma, pogotovo kod brahicefaličnih rasa pasa, ali se sa uspehom može da koristi i kod cikatrikalnih entropijuma nastalih neadekvatnom korekcijom entropijuma u medijalnom kantungu.

Rez u obliku latiničnog slova V se postavlja tako da jedan kraj bude upravo latero-ventralno od donje lakrimalne punkte (*puncta lacrimalia*), a od same ivice kapka udaljen 3 mm. Dužina reza se kreće od 8 do 12 mm, a razmak od baze do vrha je oko 5 mm. V incizija se produži u trougao i makazama uradi oštra disekcija kože. Uklanja se samo koža i posebno se pazi na lakrimalni kanalikus. Posle uklanjanja kože, rana se zašije monofilamentnim neresorbujućim koncem od 4-0 do 6-0. Inicijalni šav se postavlja od baze trougla do vrha. Postavlja se 5-6 šavova.



Slika 3. Medijalna kantalna V plastika  
*Figure 3. Medial canthal V plastic*

Postoperativno je od velikog značaja primena „Elizabetske kragne”, da ne bi došlo do samopovređivanja pacijenta, naročito trećeg i četvrtog dana kada je pruritus i najviše izražen.

Konci se skidaju, zavisno od debljine kože i korišćenog materijala od 6 do 12 dana. Preporučujem obavljanje ove intervencije u sedaciji ili neurolept analgeziji.



Upotreba antibiotika nije indikovana, ako su primenjeni svi principi asepsa i antiseptika, jer značajno usporava zarastanje rane.

#### **Literatura / References**

1. Gelatt K. N., Gelatt J. P.: Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques for the Veterinarian, Butterworth-Heinemann, 90-95, Oxford, 2001. - 2. Moor C. P., Constantinescu G. M.: Surgery of the Adnexa, Surgical Management of Ocular Disease, THE VETERINARY CLINICS OF NORTH AMERICA, p.1011-1028, W.B.SAUNDERS COMPANY 9. 1997. - 3. Barnett K. C. et al: Canine Ophthalmology An Atlas and Text p.43-57, W.B. SAUNDERS COMPANY 2002.

### **ENGLISH**

#### **ENTROPIUM IN DOGS AND ITS CORRECTION**

**M. Hadžimilić**

Entropium or the twisting of eyelides presents one of the most common eyelid diseases in dogs, and therefore its surgical correction is one of the most frequent surgical procedures in veterinary eye surgery. Due to insufficient training and the application of inadequate techniques, deformities occur that affect even the eyeball. Eventually, ulceral keratitis usually appears, which can result in the perforation of the cornea, and, consequently, in most cases, the loss of an eye.

It is usually not very difficult to make a diagnosis, especially when the eyelid is twisted.

In entropium therapy, surgical treatment is an imperative. Other methods have a more or less historical significance. A surgical correction is necessary in almost every case of entropium. A great number of surgical techniques for correcting entropium have been described, but they are often unnecessarily complicated and do not provide significantly better results.

The choice of the technique itself depends on the case, the size of the affected eyelid surface, and the intensity of entropium. The most commonly applied technique for the correction of entropium is the Hotz-Celsus procedure. This technique yields the best results, and at the same time is the easiest to perform, especially for a surgeon who is not very experienced. The Hotz-Celsus technique is performed in the following manner: part of the skin close to the edge of the eyelid is removed in the shape of an ellipse, the wound is then stitched and the eyelid is thus tightened, i.e. restored to its normal position.

The Y and V technique is more complicated but more precise, and it is performed mostly on the central part of the eyelid.

The medial canthal V plastic is primarily done in corrections of medial entropium.

The recommended material is Nylon, and in this area silk from 6.0 to 4.0 also be used.

Key words: dog, entropium, correction

## ЭНТРОПИУМ У СОБАК И ЕГО КОРРИГОВАНИЕ

М. Хаджимилич

Энтропиум или выворот век представляет собой одно из наиболее частых заболеваний век у собак, а тем самым и его хирургическая коррекция одна из наиболее представленных хирургических процедур в ветеринарной офтальмохирургии. В результате недостаточной образованности и применения неадекватной техники часто приходит и до таких деформитетов, угрожающие и самое глазное яблоко. На конце, обыкновенно является и язвенный кератит у кого как последствие может явиться перфорация роговицы, а тем самым, в наибольшем числе случаев и потеря глаза.

Поставление диагноза обыкновенно не трудно тем более, когда присутствующий выворот век.

В терапии энтропиума хирургическое лечение требование. Остальные методы имеют более или менее историческое значение. Хирургическая коррекция необходима в почти всех случаях энтропиума. Существует большее число хирургических техник, описанные для коррекции энтропиума, а они часто ненужно осложнённые и не дают значительно более хорошие результаты.

Выбор самой техники зависит от данного случая, части века, охваченный словно и интенсивности энтропиума. Чаще всего применённая техника в коррекции энтропиума процедура по Hotz-Celsusu. Из всех техник она даёт наиболее хорошие результаты, а вместе и наиболее лёгкая для выполнения, тем более для недостаточно опытного хирурга. Hotz-Celsus техника выводится таким образом, что часть кожи близко края века устранится в виде эллипса, рана зашъётых и тем веко затянется, т.е. вернётся в нормальное положение.

У и V техника более осложнённая, но и более точная техника, проводимая в первую очередь на центральной части века.

Медиальная кантальная V пластика в первую очередь работает как коррекция медиального энтропиума.

Материал, который я рекомендую Nylon, а на этой локации можно свободно пользоваться и шёлк от 6.0 до 4.0.

Ключевые слова: энтропиум, собака, коррекция

**IMUNOENZIMSKA – ELISA DIJAGNOSTIKA U  
VETERINARSKOJ MEDICINI\***  
*IMMUNOENZYME – ELISA DIAGNOSTICS IN VETERINARY  
MEDICINE*

S. Đurišić, S. Lazić, T. Petrović, Sara Savić-Jevđenić, Diana Lupulović\*\*

*ELISA tehnika je danas jedna od najčešće korišćenih laboratorijsko-dijagnostičkih metoda u postupcima dijagnostikovanja mnogih infektivnih oboljenja ljudi i životinja. Zahvaljujući visokoj specifičnosti i osetljivosti ova tehnika se smatra metodom izbora u postupcima dijagnostikovanja mnogih virusnih oboljenja. Masovna upotreba ELISA tehnike, kao i veliki zahtevi laboratorijske dijagnostike uslovljavaju stalno usavršavanje svih njenih faza i komponenata. Prema tome, neophodno je da se stručna javnost kontinuirano upoznaje sa svim novinama, oblicima i mogućnostima ELISA tehnike.*

*U radu su opisani činioci koji su usloveli nastanak ELISA tehnike i prikazani su njeni oblici. Takođe, predstavljeni su metodološki i praktični aspekti ELISA tehnike kada se primenjuje u laboratorijskoj dijagnostici veterinarske medicine.*

*Ključne reči: imunoenzimska - ELISA tehnika, laboratorijska dijagnostika, veterinarska medicina*

**Uvod / Introduction**

Krajem sedamdesetih godina prošloga veka u laboratorijskoj dijagnostici oboljenja ljudi i životinja, radi postavljanja rane i sigurne dijagnoze, koja bi omogućila uspešno lečenje i ograničila širenje bolesti, intenzivno su se koristile metode sa „obeležanim“ antitelima ili antigenima. To su bile metode imunofluorescencije i radioimunog testa. Navedene metode su se često upotrebljavale za

\* Rad primljen za štampu 2. 4. 2003. godine

\*\* Dr Slavko Đurišić, naučni savetnik, dr Sava Lazić, viši naučni saradnik, mr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, mr Sara Savić-Jevđenić, istraživač saradnik, Diana Lupulović, istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad  
Rad je finansiran sredstvima Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj R. Srbije po projektu BTR 4331.

otkrivanje virusa u kliničkom materijalu (imunofluorescencija) ili za utvrđivanje ekstremno niskih koncentracija hormona u telesnim tečnostima (radioimuni test). Međutim, ubrzo su uočeni njihovi nedostaci. Imunofluorescentni test iziskuje skupu opremu (fluorescentni mikroskop, kriptom), stručnjak sa iskustvom, a očitavanje rezultata je subjektivno. Radioimuni test je skup, zahteva posebne uslove za izvođenje, posebno obučene kadrove, a za izvođenje testa upotrebljavaju se reagensi kratkog roka upotrebe koji potencijalno mogu da budu štetni za zdravlje.

Ova saznanja su bila povod za iznalaženje alternativnih „obeleživača” antigena i antitela. Tako su Miles i Hales [1] 1968. godine objavili mogućnost da enzim može da se koristi umesto izotopa. Tri godine kasnije Van Weemen i Schuurs [2] i Engvall i Perlmann [3] objavljuju nezavisno jedni od drugih detaljan opis enzimskih imunitestova, koje su nazvali *ELISA*, što predstavlja skraćenicu početnih slova engleskih reči „Enzyme Linked Immunosorbent Assay”. *ELISA* tehnika objedinila je prednosti imunofluorescencije i radioimunog testa, a isključila je njihove nedostatke [4]. Pre svega, isključena je subjektivnost. Reagensi koji se koriste nisu skupi i stabilni su, a osetljivost je slična kao kod radioimunog testa. Objavljena su mnogobrojna saopštenja o *ELISA* tehnici u kojima je predočen značaj i ukazana je velika mogućnost kombinacija komponenata *ELISA* tehnike [4, 5]. *ELISA* tehnika, kao laboratorijsko-dijagnostički postupak, stalno se usavršava. Nedavno je kompanija „Bender Medsystems” iz Beča predstavila novi oblik *ELISA* tehnike, sa mnogo manje proceduralnih faza, koji je nazvan INSTANT *ELISA*.

Cilj ovog saopštenja je da se predstave i objasne metodološki i praktični aspekti *ELISA* tehnike koji se primenjuju ili mogu da se primene u laboratorijskoj dijagnostici veterinarske medicine.

#### **Komponente *ELISA* tehnike / *Components of the ELISA technique***

U laboratorijskoj dijagnostici *ELISA* tehnika se koristi u obliku raznih komercijalnih *ELISA* set kitova. Svaki *ELISA* set kit u osnovi ima komponente:

1. Čvrstu površinu,
2. Antigen ili antitelo vezano za čvrstu površinu,
3. Uzorke pozitivne i negativne kontrole,
4. Konjugat,
5. Supstrat,
6. Tečnost za ispiranje,
7. Rastvor za zaustavljanje enzimske reakcije.

**Čvrsta površina** može da bude u obliku diskova, zrna (perli), epruveta i mikro ploča, a može da se napravi od više raznih materijala kao što su: celuloza, unakrsno povezani dekstrani, poliakrilamidi, polipropileni, polivinili. Iskustvo je pokazalo da je za izvođenje *ELISA* tehnike najpogodniji oblik čvrste površine u vidu mikro ploče, posebno kada se obrađuje veliki broj uzoraka.

**Antigen ili antitelo**, koji su putem pasivne adsorpcije vezani i prekrivaju „čvrstu površinu”, su poznati antigen ili poznata antitela. Pasivna adsorpcija se najčešće koristi za vezivanje antigena i antitela za čvrstu površinu, mada mogu da se koriste i drugi postupci. U pasivnoj adsorpciji antitela ili antigena, ukoliko je on proteinske prirode, koristi se 0,5 M karbonatni pufer pH 9,6 uz dodatak Tweena 20, kojim se onemogućava nespecifična adsorpcija. Ovako pripremljena ploča može da ostane aktivna više meseci, ukoliko se čuva u sredini bez prisustva vlage.

**Uzorci pozitivne i negativne kontrole** su poznati materijali, zavisno od toga šta se ispituje. Mogu da se razređuju puferom koji često sadrži Tween 20. Optimalno razređenje i odgovarajuće vreme inkubacije uzoraka utvrđuje se u fazi standardizacije *ELISA* set kita.

**Konjugat** je antigen ili antitelo za koje je vezan jedan enzim. Kao enzimi najčešće se koriste: alkalna fosfataza ili horsrediš peroksidaza [4]. Danas se za konjugat veoma često koriste monoklonska antitela, što *ELISA* tehnicima povećava osetljivost i specifičnost [6].

**Supstrat** je bezbojna i tečna supstancija, koja se oboji tako što će enzim da obavi destrukciju supstrata. Supstrat izbora za enzim alkalnu fosfatazu je p-nitrofenil fosfat. Za enzim horsrediš peroksidazu koriste se diaminobenzidin, 5-aminosalicilna kiselina ili ortofenil diamin. Ortofenil diamin se pokazao kao veoma dobar supstrat za potrebe visoko osetljivih imunoenzimskih reakcija, međutim, utvrđeno je da je fotosenzitivan i da ima mutagena svojstva.

**Tečnost za pranje** je najčešće fosfatni puferisani rastvor koji sadrži i Tween 20. Ova tečnost se koristi za pranje čvrste površine posle vezivanja antigena ili antitela u fazi proizvodnje *ELISA* set kitova, zatim posle inkubacije uzoraka koji se ispituju i posle inkubacije konjugata. Pranjem čvrste površine eliminiše se sve što se nije u imuno- hemijskoj reakciji vezalo, a sprovodi se tri puta u trajanju od po 3 do 5 minuta.

**Rastvor za zaustavljanje enzimske reakcije (stop-rastvor) *ELISA*** testa je jaka kiselina ili jaka baza, kojom se narušava pH vrednost i zaustavlja hemijska reakcija u testu.

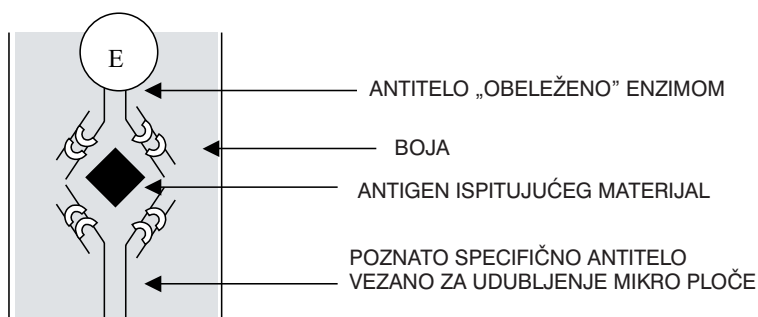
#### **Princip *ELISA* tehnike / Principle of the *ELISA* technique**

Osnovna namena *ELISA* tehnike je otkrivanje solubilnih antigena i antitela u telesnim tečnostima i tkivima životinja i ljudi [5]. U zavisnosti od namene *ELISA* tehnika može da bude: direktna ili sendvič ili *ELISA* tehnika koja koristi dva puta antitelo (The double antibody *ELISA*), zatim kompetitivna ili blokirajuća *ELISA* tehnika i inhibiciona *ELISA* tehnika [5]. Navedeni oblici *ELISA* tehnike koriste se za otkrivanje antigena. Za otkrivanje antitela *ELISA* tehnika može da bude direktna kompetitivna ili blokirajuća i indirektna *ELISA* tehnika. U osnovi *ELISA* tehnike postoje dve reakcije: imunološka i hemijska. Imunološku reakciju predstavlja reakcija antigena i antitela i ona se ne vidi, a reakcija enzima i supstrata predstavlja hemijsku reakciju, pri čemu se bezbojni supstrat oboji i reakciju načini vidljivom [3].

### Metodološki aspekti ELISA tehnike za dokazivanje antigena / *Methodological aspects of the ELISA technique for detecting antigens*

#### 1. Direktna „sendvič” ili The double antibody sandwich ELISA / *1. The direct „sandwich” or the double antibody sandwich ELISA*

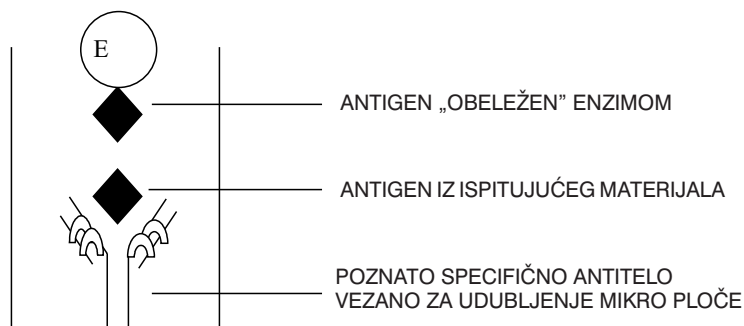
Metodološki posmatrano kod ovog oblika ELISA tehnike poznato specifično antitelo je vezano za dno udubljenja mikro ploče. Za njega će se vezati antigen iz materijala koji se ispituje, ukoliko je prisutan. Posle ispiranja dodaje se konjugat koga čine specifična antitela za ispitujući antigen „obeležena” enzimom. Ova antitela se vezuju za antigen, ukoliko se on u prethodnoj fazi vezao za ploču i nije ispran. Enzim tada stupa u reakciju sa supstratom i pojavljuje se boja. Pojava boje označava pozitivan nalaz, a intenzitet boje je proporcionalan količini prisutnog antigena u materijalu koji se ispituje [5].



Slika 1. Shematski prikaz direktne „sendvič” ELISA tehnike /  
*Figure 1. Schematic presentation of direct „sandwich” ELISA technique for detecting antigens*

#### 2. Kompetitivna (takmičarska) ili blokirajuća ELISA tehnika / *2. The competitive or blocking ELISA technique*

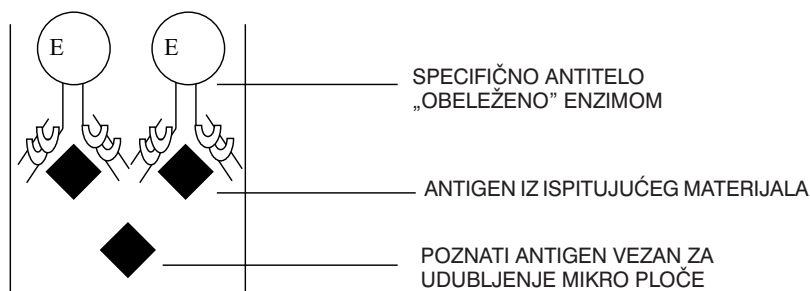
U ovom obliku ELISA tehnike, poznato specifično antitelo vezano je za dno udubljenja mikro ploče. U udubljenje mikro ploče dodaje se materijal koji se ispituje, a zatim konjugat koga čini poznati antigen „obeležen” enzimom. Nadmetanje, odnosno takmičenje koje se obavlja između antigena iz materijala koji se ispituje i obeleženog antigena za specifično antitelo vezano u mikro ploči predstavlja suštinu ove metode. Svakako da prednost ima antigen iz materijala koji se ispituje, ukoliko ga u njemu ima, jer se prvi dodaje. Antigen će se vezati za antitelo u mikro ploči i onemogućiti vezivanje antigena „obeleženog” enzimom koji će se ispiranjem odstraniti [7]. Ispiranjem konjugata, odnosno antigena „obeleženog” enzimom, supstrat će ostati nepromenjen, odnosno bezbojan i reakcija se neće završiti pojavom boje. Prema tome, izostanak boje označava pozitivan nalaz.



Slika 2. Shematski prikaz kompetitivne ELISA tehnike za dokazivanje antigena /  
Figure 2. Schematic presentation of competitive ELISA technique for detecting antigens

### 3. Inhibiciona ELISA tehnika / 3. The inhibitory ELISA technique

U ovoj tehnici, poznati antigen je vezan za dno udubljenja mikro ploče. Prilikom izvođenja reakcije prvo se dodaje materijal koji se ispituje, a zatim konjugat koga čine specifična antitela za antigen vezan za dno udubljenja mikro ploče „obeležna“ enzimom. Ova „obeležena“ antitela će pre reagovati sa antigenom iz materijala koji se ispituje, ukoliko ga u njemu ima i ukoliko su specifična, jer će se sa njime pre „sresti“, nego sa antigenom koji je vezan u dno udubljenja mikro ploče. Prilikom ispiranja, imuni kompleks, antigen iz materijala koji se ispituje i antitela „obeležena“ enzimom, biće odstranjen, a supstrat će ostati nepromenjen, odnosno izostaće pojava boje. Prema tome, izostanak boje u ovoj reakciji ukazuje da je u materijalu koji se ispituje postojao traženi antigen i reakcija se označava pozitivnom.



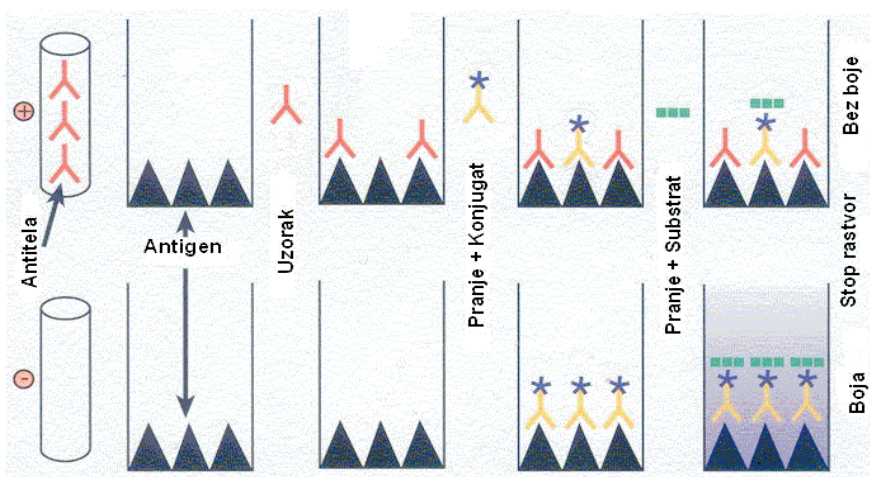
Slika 3. Shematski prikaz inhibicione ELISA tehnike za dokazivanje antigena /  
Figure 3. Schematic presentation of inhibitory ELISA technique for detecting antigens

**Metodološki aspekti ELISA tehnike za dokazivanje antitela /**  
*Methodological aspects of the ELISA technique for detecting antibodies*

1. Direktna kompetitivna ili blokirajuća ELISA tehnika /

1. The direct competitive or blocking ELISA technique

Kod ovog oblika ELISA tehnike, poznati antigen je vezan za dno udubljenja mikro ploče. Ispitujući materijal, najčešće krvni serum, koji može i da se razređuje, prvo se dodaje u udubljenja mikro ploče, a zatim konjugat, koji predstavlja specifična antitela za vezani antigen „obeležena” enzimom. Antitela iz materijala koji se ispituje, ukoliko su specifična, vezaće se za antigen koji je adsorbovan u udubljenju mikro ploče i onemogućiće vezivanje konjugata, odnosno antitela „obeleženih” enzimom. Na taj način se odvija nadmetanje, kompeticija antitela iz materijala koji se ispituje i „obeleženih” antitela iz konjugata. Ispiranjem mikro ploče odstraniće se konjugat, odnosno enzimom „obeležena” antitela, pa će supstrat ostati nepromenjen, odnosno u reakciji se neće razviti boja. Prema tome, izostanak boje ukazuje da je u materijalu koji se ispituje bilo antitela, a reakcija se označava pozitivnom.



Slika 4. Shematski prikaz izvođenja i dobijenog rezultata direktne kompetitivne ELISA tehnike

Figure 4. Schematic presentation of realization and results obtained from direct competitive ELISA technique

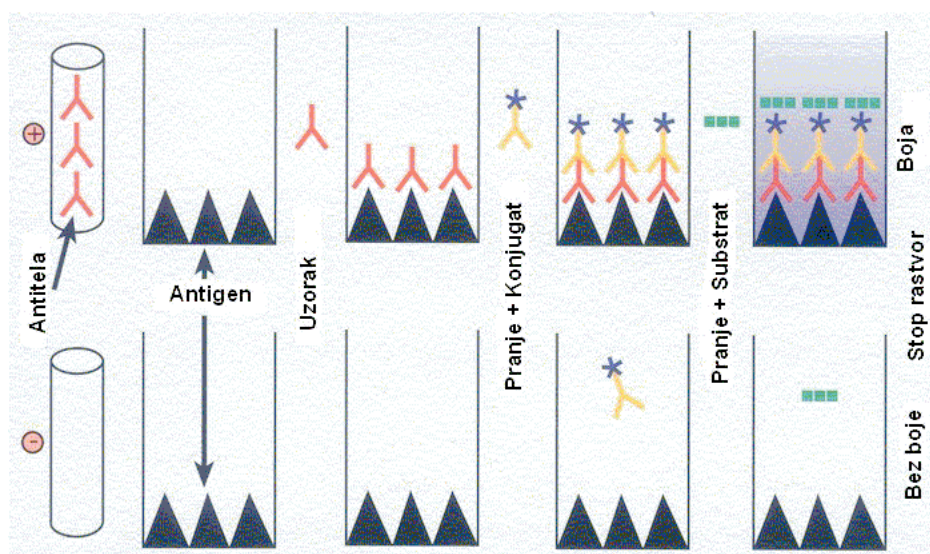
2. Indirektna ELISA tehnika /

2. The indirect ELISA technique

U ovoj metodi kao konjugat koriste se anti imunoglobulini, najčešće anti IgG one životinjske vrste čiji serum se ispituje, ili monoklonska antitela „obeležena” enzimom. Na primer, ukoliko se obavlja ispitivanje krvnih seruma



goveđa onka konjugat predstavlja anti goveđi IgG ili monoklonska antitela za Fc fragment IgG goveđa „obeležena” enzimom. U udubljenju mikro ploče vezan je poznati antigen. U udubljenje mikro ploče dodaje se serum koji se ispituje, koji može da se razređuje. Zatim se obavlja ispiranje i dodaje se konjugat. Ukoliko je u ispitujućem serumu bilo specifičnih antitela ona će se vezati za antigen iz ploče, nastaje stabilni imuni kompleks na koji će se vezati konjugat. Dakle, enzim je uključen u reakciju i obaviće destrukciju supstrata, odnosno pojaviće se boja. Prema tome, pojava boje ukazuje da je u serumu koji se ispituje bilo specifičnih antitela i reakcija se označava pozitivnom, a intenzitet boje je proporcionalan koncentraciji antitela u serumu koji se ispituje [5].



Slika 5. Shematski prikaz izvođenja i dobijenog rezultata indirektna ELISA tehnike  
Figure 5. Schematic presentation of realization and results obtained from indirect ELISA technique

Usavršavajući ELISA tehniku kompanija „Bender Medsystems” iz Beča je nedavno objavila da su proizveli mnogo jednostavniji, sa manje proceduralnih faza i precizniji test od ELISA tehnike, kojeg su nazvali INSTANT ELISA. Ovaj test uključuje 4 proceduralne faze, jedno ispiranje i jedan inkubacioni period, odnosno sastoji se u sledećem:

1. U dno udubljenja mikro ploče dehidrirane su sledeće komponente: monoklonsko antitelo, antigen, Biotin konjugat, Streptavidin-HRP.
2. Pomenute komponente se rehidriraju dodavanjem uzorka, a zatim se obavlja inkubiranje.

3. Posle pranja dodaje se supstrat, reakcija se zaustavlja i na kraju se očitavaju rezultati.

**Upotreba *ELISA* tehnike u veterinarskoj medicini /**  
*Use of the ELISA technique in veterinary medicine*

*ELISA* tehnika je našla višestruku primenu u veterinarskoj medicini, posebno u laboratorijskoj dijagnostici zaraznih bolesti. Danas je nezamisliva dijagnostika, na primer, enzootske leukoze goveda, bez upotrebe *ELISA* tehnike. Carlson i sar. [8] prvi su *ELISA* tehnikom ustanovili antitela za „O” antigen bakterije *Salmonella*. Ova tehnika je korišćena i za otkrivanje antitela protiv *E. coli* [9], *Brucella* [10] i drugih. Međutim, *ELISA* tehnika je svoju primenu najviše našla u dijagnostici zaraznih bolesti virusne etiologije [11, 12]. Bolesti kao što su: enzootska leukoza goveda, infektivni bovini rinotraheitis, virusna bovina dijareja, slinavka i šap, bolest plavog jezika, rinopneumonitis konja, virusni arteritis konja, infektivna anemija kopitara, Aujeskijeva bolest svinja, parvoviroza svinja, klasična kuga svinja, transmisibilni gastroenteritis svinja, reproduktivni i respiratorni sindrom svinja, cirkovirusne infekcije svinja, atipična kuga živine, Gumboro bolest, infektivni bronhitis živine, avijarni encefalomijelitis živine, laringotraheitis živine, virusna anemija pilića, infekcije mikoplazmama, prolećna viremija šarana i druge bolesti, danas se veoma uspešno dijagnostikuju *ELISA* tehnikom [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20]. Serološka dijagnostika trihineloze svinja *ELISA* tehnikom [21] pokazala se veoma uspešnom, ali i dijagnostika drugih parazitoza kao što je šistosomijaza, serotipizacija uzročnika malarije, kao i dijagnostika toksoplazmoze [22, 23]. Danas se *ELISA* tehnikom mogu da utvrde vrlo niske koncentracije mikotoksina ili proteina goveđeg porekla u raznim hranivima. U endokrinologiji, Van Weemen i Schuurs [24] u svojim studijama su uspešno koristili *ELISA* tehniku za merenje gonadotropina, luteinizirajućeg hormona i estrogena. Miedema i sar. [9] koriste *ELISA* tehniku za utvrđivanje koncentracije insulina. U imunopatologiji Engvall i Perlmann [3] prvi su koristili i opisali *ELISA* tehniku za merenje IgG klase kod kunića, a Hoffman je merio IgE klase [9]. Pesce i sar. [9] koristili su *ELISA* tehniku za merenje DNA antitela kod oboljenja lupus eritematozus, a Maiolini i Masseyeff [9] kvantificirali su alfafetoprotein. U hematologiji *ELISA* tehnikom su uspešno merena specifična antitela za antigene eritrocita [9], zatim antigen srodan faktoru VIII u plazmi. Preliminarnim ispitivanjima utvrđeno je da se *ELISA* tehnikom mogu da mere produkti nastali degradacijom fibrina. Intenzivna primena, kao i stalno unapređenje sigurno će omogućiti još širu primenu *ELISA* tehnike u mnogim disciplinama veterinarske medicine.

**Literatura / References**

1. Miles L. E. M., Holes C. N.: Nature 219, 186-188, 1968. - 2. Van Weemen B. K., Schuurs A. H. W. M.: FEBS Letters 15, 232-236, 1971. - 3. Engvall E., Perlman P.: Immunochimistry 8, 871-874, 1971. - 4. Mihajlović B.: Priručnik za laboratorijsku dijagnostiku,

Savez veterinarar i veterinarskih tehničara Jugoslavije, Odbor za izdavačku delatnost, Beograd, 375-378, 1984. -5. Tizard R. I.: *Veterinary Immunology*, fifth edition, 216-237, 1996. - 6. Juntii N., Larsson B., Fossum C.: *J. Vet. Med.* 34, 356-363, 1987. - 7. Katz J. B., Hanson S. K.: *J. Virol. Methods* 15, 167-175, 1987. - 8. Carlsson H. E., Lindberg A. A., Hammarstrom S.: *Infect. Immunity* 6, 703-708, 1972. - 9. Voller A., Bidwell D.E., Bartlett Ann: *Bull. World Health Org.* 53, 55-65, 1976. -10. Engvall E., Carlsson H. E.: In *Immunoenzymatic techniques*, Paris, INSERM, 1976. - 11. Voller A., Bidwell D. E.: In *Biomedical Applications of immobilized enzymes and proteins*, Ed. Chang, W.Pub. Alenum Press, 1977. - 12. Voller A., Bartlett A., Bidwell D. E., Clark M. E., Adams A. M.: *J. Gen. Virol.* 33, 165-167, 1976. - 13. Saunders G. C.: *Am. J. Vet. Sci.* 38, 21-25, 1972. -14. Bock R. E., Burgess G. W., Douglas I. C.: *Aust. Vet. J.* 63, 406-408, 1986. -15. Durham P. J. K., Hassard L. E.: *Veterinary Microbiology* 22, 1-10, 1990. -16. Chu H. J., Zee Y. C., Ardens A. A., Dai K.: *Vet. Microbiology* 10, 325-333, 1985. -17. Howard C. J., Clarke M. C., Brownlie J.: *Veterinary Microbiology* 10, 359-369, 1985. -18. Liauw H., Eugster A. K.: *Southwest. Vet.* 37, 47-50, 1986. - 19. Mengeling W. L., Lager K. M., Vorwald A. C. *Animal Reproduction Science* 60-61, 199-210, 2000. - 20. Benfield D. A., Collins J. E., Dee S. A., Halbur P. G., Joo H. S., Lager K. M., Mengeling W. L., Murtaugh M. P., Rossow K. D., Stevenson G. W., Zimmerman J. J.: *Viral Disease W.L. Mengeling Chapter 18, Section 2*, 201-232. -21. Rutenberg E. J.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 254, 296, 1975. -22 WHO Memorandum: *Bull. World Health Org.* 54, 129-139, 1976. -23. Huldtt G.: *An. Trop. Med. Parasitol.* 69, 483-488, 1975. -24. Van Weemen B.K., Schuurs A. H. W. M.: *FEBS Letters* 43, 215-217, 1974.

ENGLISH

**IMMUNOENZYME – *ELISA* DIAGNOSTICS IN VETERINARY MEDICINE**

**S. Đurišić, S. Lazić, T. Petrović, Sara Savić-Jevđenić, Diana Lupulović**

The *ELISA* technique is one of the most commonly used laboratory-diagnostic methods for diagnosing many infective diseases in humans and animals today. Due to its high specificity and sensitivity this technique is considered a method of choice in diagnosing many viral diseases. The phases and components of the *ELISA* technique are constantly improved because of its mass use, as well as the high demands of laboratory diagnostics. Therefore, it is necessary to continually inform the expert public of all the innovations, forms and possibilities of the *ELISA* technique.

This paper describes the factors that caused the genesis of the *ELISA* technique and shows its forms. The methodological and practical aspects of the *ELISA* technique, when applied in laboratory diagnostics of veterinary medicine, are also presented.

Key words: immunoenzyme - *ELISA* technique, laboratory diagnostics, veterinary medicine

**ИММУНОЭНЗИМНАЯ - *ELISA* ДИАГНОСТИКА В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ**

**С. Джуришич, С. Лазич, Т. Петрович, Сара Савич-Евдженич, Диана Лупулович**

*ELISA* техника в настоящее время одна из чаще всего использованных лабораторно-диагностических методов в поступках диагностирования многих инфекционных заболеваний людей и животных. Благодаря высокой специфичности и чувствительности эта техника считается методом выбора в поступках диагностирования многих вирусных заболеваний. Массовое употребление *ELISA* техники, словно и большие требования лабораторной диагностики обуславливают постоянное усовершенствование всех её фаз и компонентов. Согласно этому, необходимо, что специальная общественность непрерывно знакомится со всеми новинками, формами и возможностями *ELISA* техники.

В работе описаны факторы, которые обусловили возникновение *ELISA* техники и показаны её формы. Также, представлены методологические и практические аспекты *ELISA* техники, когда применяется в лабораторной диагностике ветеринарной медицины.

Ключевые слова: иммуноэнзимная *ELISA* техника, лабораторная диагностика, ветеринарная медицина

## INFEKTIVNI ABORTUSI SVINJA\* *INFECTIOUS ABORTIONS IN SWINE*

Slobodanka Vakanjac, Sonja Obrenović, T. Petrujkić, Đ. Dobrić\*\*

*Abortusi svinja mogu da budu izazvani infektivnim ili neinfektivnim uzročnicima. Od svih ispitivanih pobačaja kod svinja oko 38 posto dijagnostikovanih pobačaja izazvano je infektivnim agensima. Posledice infekcije mogu da se jave kao rana embrionalna uginuća ili kao pobačaji koji se javljaju posle četrdesetog dana od koncepcije.*

*Među uzročnicima abortusa su različite vrste virusa (parvovirusi, enterovirusi, pseudorabijes virusi, PRRS) i bakterija (Brucella, Leptospira i druge). Za terapiju i prevenciju abortusa svinja veoma je važna tačna dijagnostika, kao i mere koje mogu da se preduzmu da ne dođe do reproduktivnih poremećaja svinja.*

*Ključne reči: svinja, infektivni abortusi*

### Uvod / Introduction

Abortusi svinja mogu da budu prouzrokovani infektivnim ili neinfektivnim agensima. Od svih ispitanih pobačaja kod svinja oko 38 posto je bilo uzrokovano infektivnim agensima. U intenzivnom uzgoju svinja, prihvatljivi gubitak je oko 2 posto pobačaja različite etiologije. Veći broj oboljenja uzrokovanih virusima i bakterijama može da izazove uginuća i pobačaje. Ako je infekcija nastala 35. dana gestacije, fetus će biti resorbovan. Mumifikacija ploda nastaje ako infekcija nastaje u periodu od 35. do 70. dana gestacije. Rađanje slabo vitalne ili mrtvorodne prasadi, kao i kasni abortusi događaju se ako infekcija nastaje posle 70. dana gestacije. Abortusi, sterilitet i reproduktivni poremećaji najčešće su uzrokovani virusima i bakterijama. U ovom radu ćemo ukratko dati osnovne podatke o najčešćim infekcijama virusne i bakterijske etiologije, koje uzrokuju reproduktivne poremećaje i abortuse kod svinja.

\* Rad primljen za štampu 28. 1. 2003. godine

\*\* Mr Slobodanka Vakanjac, asistent, mr Sonja Obrenović, asistent, dr Tihomir Petrujkić, profesor, dr Đorđe Dobrić, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

## **Virusne infekcije / Viral infections**

### **Parvovirusna infekcija / Parvoviral infections**

#### *Etiologija / Etiology*

Uzročnik parvovirusnih infekcija je parvovirus (*porcine parvovirus*, *PPV*) koji je široko rasprostranjen u svetu i u nekim delovima sveta uzrokuje, čak i do 99 posto infekcija svinja [Hogg, 1997]. Ovaj virus se na farme unosi kupovinom inficiranih plotkinja i nerastova, koji mogu da izlučuju virus fecesom, urinom (u toku 14 dana) i nosnim sekretom, a nerastovi i spermom do 21. dana posle infekcije. Infekcija se širi direktnim kontaktom, a zatim kontaminisanom hranom, vodom i predmetima.

#### *Klinička slika / Clinical picture*

Parvovirus svinja je ubikvitaran i ima ga u populacijama svinja širom sveta. Svinja je jedini prirodni domaćin za *PPV*; patogenost ispoljava kod neimunih gravidnih svinja, delujući destruktivno na blastocite, embrione i fetuse, a tok i ishod infekcije zavise od imunološkog statusa plotkinja i stadijuma graviditeta u momentu inficiranja. Kod imunih gravidnih svinja, kao i kod neimunih plotkinja posle 70. dana graviditeta virus *PPV* ne izaziva reproduktivne poremećaje, zato što u tom periodu fetus počinju da budu imunokompetentni prema virusu *PPV*, razvijajući sopstveni imuni odgovor koji ih štiti od infekcije. *PPV* virus prvenstveno uzrokuje reproduktivne poremećaje kod svinja, koje karakterišu infekcija embriona i njihovo uginuće. Infekcija izazvana parvovirusima, uglavnom, protiče bez kliničkih manifestacija kod suprasnih krmača.

Parvovirus prolazi kroz placentu i oštećuje fetus, odnosno, uzrokuje uginuće embriona i fetusa. Često se kod nazimica nađe po nekoliko mumificiranih plodova, kao posledica inficiranja ovim virusom. Sterilitet, mrtvorodena prasad, slabo vitalna prasad (pojava tremora) i embrionalna uginuća često se nađu kod parvovirusne infekcije, dok su abortusi, u kasnom stadijumu graviditeta, retki.

#### *Dijagnoza / Diagnosis*

Dijagnoza se postavlja na osnovu epizootološke anamneze, kliničke slike, patološko-morfološkog nalaza i laboratorijskim metodama. Na laboratorijska ispitivanja šalje se nekoliko mumificiranih fetusa (veličine od 10 do 16 cm). Ne preporučuje se da se pošalju veći pobačeni plodovi, osim ako nisu jedini dostupni uzorci. Na pregled mogu da se pošalju i uterus i ostaci fetalnog tkiva (posle uginuća i prinudnog klanja). Da bi se postavila definitivna dijagnoza treba da se izoluju i identifikuju uzročnici. Izolovanje virusa na kulturi tkiva je manje pogodno kao rutinska dijagnostička metoda. Postupak je dugotrajan, a mogućnost kontaminacije je velika. Za identifikaciju fetalnog antigena najčešće se koristi imunofluorescencija (IF), zato što je dostupna i osetljiva metoda, zatim se koristi hemaglutinacija (aglutinirajuća sposobnost virusa prema eritrocitima zamorca).

Kada serum nije dostupan, za dokazivanje antitela mogu da se koriste telesne tečnosti fetusa ili njihova creva.

#### *Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija parvovirusnih infekcija ne postoji. S obzirom da infekcija nastaje, najčešće, pri prvom osemenjavanju ili graviditetu, program vakcinacije treba da ima za cilj da nazimice i nerastovi steknu imunitet pre nego što se uvedu u priplod. Na farmama koje imaju problema sa PPV - infekcijama sprovodi se vakcinacija inaktivisanom vakcinom 3 do 6 sedmica pre prvog pripusta. Nerastove bi trebalo vakcinisati svakih 6 meseci, a prvu vakcinu treba da dobiju pre prvog pripusta. Imunitet kod vakcinisanih jediniki je zadovoljavajući.

#### **Enterovirusne infekcije / Enteroviral infections**

##### *Etiologija / Etiology*

Uzročnik enterovirusnih infekcija je jedan od deset serotipova enterovirusa (porcine enterovirus) – familija *Picornaviridae* – rod enterovirus.

##### *Klinička slika / Clinical picture*

Klinička slika enterovirusnih infekcija je slična onoj kod parvovirusnih infekcija, zato što oba uzročnika pripadaju grupi SMEDI virusa. Termin SMEDI sindrom (Stillbirt, Mumification, Embryonic Death, and Infertily – prerano rođeni, mumificirani plodovi, embrionalna uginuća, sterilitet) opisan je još 1966. godine i obuhvatao je grupu reproduktivnih poremećaja kao što su abortusi, mrtvorodena prasad, mumificirani plodovi, uginuća embriona, što su zajednički klinički simptomi za većinu virusnih infekcija. Infekcija nastaje u prvim danima gestacije. Posle 4 do 6 sedmica suprasnosti fetusi se teže inficiraju. Simptomi infekcije se često uočavaju posle porođaja: mala legla (1-4 praseta), rađanje mrtve, žive i bolesne ili klinički zdrave prasadi. Prilikom uginuća fetusa najčešće se graviditet prolongira za jednu sedmicu, mesec dana ili duže. Ukoliko je u uterusu preostao bar jedan živi plod, porođaj dolazi u očekivanom terminu. Nalaz mumificiranih plodova ukazuje na to da su oni uginuli u periodu između 40. i 65. dana intrauterinog života. Patološki procesi koji nastaju na endometrijumu i jajnicima ostavljaju posledice na reproduktivne sposobnosti svinja. Klinički zdrava prasad, kada dostignu polnu zrelost predstavljaju veliki rizik za širenje infekcije. Kod enterovirusnih infekcija, osim SMEDI - sindroma, u kliničkoj slici mogu da se ispolje simptomi encefalomijelitisa, pneumonije i dijareje.

##### *Dijagnoza / Diagnosis*

Dijagnoza se postavlja na osnovu epizootološke anamneze, kliničke slike, patološko-morfološkog nalaza i laboratorijskim metodama. U laboratoriji se radi izolovanje i identifikacija virusa iz mumificiranih plodova, placente i pluća, kao i primena seroloških testova, pri čemu se kao materijal koristi transudat trbušne i grudne duplje.

#### *Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija enterovirusnih infekcija ne postoji. Za preveniranje ove bolesti vodi se računa o higijeni podova, uklanjanju fecesa, a novonabavljena grla ne treba da se mešaju sa već prisutnim grlima. Vakcinacija se, za sada, ne sprovodi, mada postoji mogućnost veštačkog imunizovanja koje podrazumeva kontakt nazimica, krmača i nerastova sa fecesom, plodovim ovojnicama ili pobačenim fetusima inficiranih životinja i to najmanje tri sedmice pre pripusta da bi se postigla adekvatna imunološka zaštita.

#### **Pseudorabijes (PRV, Morbus Aujeszky)**

##### *Etiologija / Etiology*

*Morbus Aujeszky* je akutna infektivna bolest mnogih domaćih i divljih životinja, koja se masovno javlja jedino kod svinja, dok se kod drugih vrsta javlja, uglavnom, sporadično. Uzročnik *PRV* pripada herpesvirusima (herpes virus 1). Smatra se da je oko 10 posto ukupnog fonda svinja inficirano ovim virusom. Infekcija nastaje aerogenim putem.

##### *Klinička slika / Clinical picture*

Klinička slika ovog oboljenja je specifična i u njoj dominiraju salivacija, apatija, visoka telesna temperatura pojava konvulzija, saplitanje o prepreke i manježno kretanje. Mogu da se jave i simptomi pneumonije sa blagim kašljem, artritis i prolivi, kod gravidnih krmača čest je pobačaj i rađaju se mrtva i avitalna prasad. U uterusu virus se širi alantoisnom tečnošću. Time može da se objasni nalaženje živih i mrtvih plodova u uterusu. Inficirane krmače u stadijumu viremije, virus izlučuju mlekom, pa se prasad mogu da inficiraju i na taj način. Posle infekcije svinje su nosioci virusa i do 6 meseci. Gravidne životinje pobace ako je infekcija nastala u kasnom graviditetu ili dolazi do resorpcije ploda ako je infekcija nastupila u ranom gestacionom periodu. Može da se javi i maceracija ploda, a mogu da se rađaju i mrtvi plodovi.

##### *Dijagnoza / Diagnosis*

Definitivna dijagnoza se postavlja izolovanjem i identifikacijom virusa, kao i dokazom specifičnih antitela u serumu inficirane životinje. Radi izolovanja virusa na pregled treba da se pošalju mozak, tonzile i nazofaringealna sluz. U laboratorijskoj dijagnostici mogu da se koriste i imunofluorescencija, imunoperoksidazni test i metoda neutralizacije specifičnim antiserumom. Za utvrđivanje prisustva specifičnih antitela mogu se koristiti virusneutralizacioni testovi (VNT), *ELISA* test i lateks-aglutinacija. Diferencijalno-dijagnostički treba da se uzmu u obzir i druge bolesti svinja, kod kojih se ispoljavaju nervni simptomi.



*Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija ne postoji. Za sprečavanje ove bolesti preporučuje se vakcinacija atenuiranom vakcinom svakih 6 meseci, odnosno 3 do 4 sedmice pre prašenja krmača.

**Klasična kuga svinja (Hog Cholera, Classical swine fever)**

*Etiologija / Etiology*

Klasična kuga svinja je infektivna bolest uzrokovana virusom iz familije *Togaviridae*, rod pestivirus. Infekcija nastaje alimentarno, aerogeno preko ozleda na koži i preko konjunktiva.

*Klinička slika / Clinical picture*

Tipični oblik klasične kuge svinja (KKS) u perakutnom toku ispoljava se najčešće visokom temperaturom, tahikardijom, tahipnejom i letalnim ishodom. Akutni tok karakterišu postepeni rast telesne temperature, pojava prvo opstipacije, a zatim profuzanog proliva.

U kliničkoj slici dominiraju simptomi: inapetencija, visoka telesna temperatura (41,5° C), letargija, konjunktivitis, cijanoza kože abdomena i zanošenje zadnjeg dela tela. Ako je krmača gravidna javljaju se abortusi i mumifikacija ploda, rađaju se mrtva prasad ili slabo vitalna prasad. Subakutni tok je sličan akutnom, ali su simptomi slabije izraženi. U hroničnom toku bolesti mogu da se pojave verukozni endokarditis, artritis i nekroza kože.

*Dijagnoza / Diagnosis*

Sumnja na klasičnu kugu svinja se postavlja na osnovu etiološke anamneze, patološko-morfološkog nalaza i kliničke slike. Definitivna dijagnoza se postavlja u laboratoriji izolovanjem i identifikovanjem uzročnika. Za izolovanje i identifikaciju virusa na pregled se šalju: slezina, tonzile, limfni čvorovi i bubrezi. Izolovanje virusa se radi na kulturi tkiva, a identifikacija pomoću tehnike fluorescentnih tela (TFA) i agar-gel-imunodifuzionog testa (AGID).

Za detekciju specifičnih antitela, postoji veliki broj testova: reakcija vezivanja komplementa (RVK), neutralizacioni test (SN test), *ELISA* test (koji uz upotrebu monoklonskih antitela, omogućuje razlikovanje vakcinalnih i terenskih sojeva virusa, kao i razlikovanje virusa KKS od drugih pestivirusa). U dijagnostici KKS može da se koristi i biološki ogled na prasadi.

*Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija ne postoji. Radi eradikacije ove bolesti sprovodi se „*stamping out*” metoda. Profilaksa obuhvata primenu opštih veterinarsko-sanitarnih mera, kao i specifičnu imunoprofilaksu. Za imunoprofilaksu se koristi atenuirana vakcina (CHINA-soj). Mogu da se vakcinišu plotkinje 15 do 20 dana pre pripusta i od 80. do 100. dana graviditeta. Prasad koja potiču od vakcinisanih

krmača treba vakcinisati u uzrastu od 45. do 50. dana, a revakcinisati u uzrastu od 90 do 95 dana.

### **PRRS (*Porcine reproductive and respiratory syndrome*)**

#### *Etiologija / Etiology*

Uzročnik je *Lelystad* ili *PRRS* virus. Danas u svetu postoje dva tipa *PRRS*-virus evropski i američki tip. Ovaj virus ima prvenstveno afinitet za alveolarne makrofage.

#### *Klinička slika / Clinical picture*

Krajem osamdesetih godina pojavio se kod gravidnih krmača veliki procenat abortusa, mrtvorodne prasadi, kao i mumificiranih plodova. Reproductivni i respiratorni sindrom svinja karakterišu reproductivni poremećaji svinja i respiratorne smetnje kod prasadi. Reproductivni poremećaji se ispoljavaju abortusima i rađanjem slabo vitalne prasadi, kod kojih se posle rođenja javljaju respiratorni poremećaji (intersticijalna pneumonija) i sekundarne infekcije.

#### *Dijagnoza / Diagnosis*

Laboratorijska dijagnostika se bazira na izolovanju virusa iz ascitne tečnosti ili različitih organa (pluća, srce, tonzile i slezina) koji potiču od žive i mrtvorodne prasadi. Kod prasadi na sisi, zalučene i tovne prasadi pluća su najpogodnija za izolovanje virusa. Virus se teško izoluje iz mumificiranih fetusa. Za njegovo izolovanje koristi se kultura tkiva alveolarnih makrofaga, a identifikacija se radi primenom odgovarajućeg antiseruma. Od seroloških metoda koriste se *ELISA*, virusneutralizacioni test, imunofluorescencija i imunoperoksidazni test.

#### *Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija ne postoji, a primenjuje se potporna terapija antibioticima da bi se sprečile sekundarne infekcije. Za imunoprofilaksu se koristi atenuirana vakcina koja se daje u uzrastu od 3 do 18 sedmica. Radi sprečavanja širenja ove bolesti važnu ulogu imaju izolacija obolelih životinja i karantin novonabavljenih grla, kao i kontrola kretanja i prometa životinja (uvoz, prodaja i slično) i druge opšte veterinarsko-sanitarne mere.

### ***Influenca svinja / Porcine influenza***

#### *Etiologija / Etiology*

Uzročnik influence svinja je virus iz familije *ortomyxoviridae* (tip A). Pored svinja mogu da obole psi, goveda i čovek (antropozoonoza).

#### *Klinička slika / Clinical picture*

U kliničkoj slici dominiraju simptomi karakteristični za oboljenja respiratornog sistema: zapaljenje pluća, spazmatični kašalj, visoka telesna tempera-

tura od 40 do 41,5°C i potpuni gubitak apetita. Reproductivni poremećaji su retki kod influence, ali može da dođe do pobačaja u kasnom graviditetu, kao i resorpcije ploda u ranoj embrionalnoj fazi. Prasad prebolelih krmača stiče imunitet preko kolostruma, koji traje do tri meseca.

*Dijagnoza / Diagnosis*

Sumnja na influencu se postavlja na osnovu kliničke slike, a dijagnoza izolovanjem i identifikacijom virusa. Na pregled treba da se pošalju promenjeni delovi pluća, a od žive životinje se šalje krv. Za izolovanje se koriste embrionirana jaja. Virusni antigen može da se detektuje imunofluorescencijom i *ELISA* testom.

*Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija ne postoji. Za profilaksu se preporučuje upotreba antibiotika za sprečavanje sekundarnih bakterijskih infekcija. Nema zadovoljavajućih vakcina, pa osnovno težište treba da se stavi na poboljšanje uslova držanja i ishrane.

**Encefalomiokarditis svinja (EMCV)**

*Etiologija / Etiology*

Uzročnik ove bolesti pripada grupi *picornaviridae*, rod *enterovirus*. Pored svinja mogu da obole i ljudi. U prirodi, virus se održava u organizmu glodara koji ga izlučuju fecesom. Inficiranje nastaje, najčešće, unošenjem zagađene hrane i vode. Moguće je transplacentarno prenošenje virusa.

*Klinička slika / Clinical picture*

Virus *EMCV* može da uzrokuje pobačaje, rađanje slabo vitalne prasadi, mumificiranih i maceriranih plodova. Uzrokuje oštećenje srčanog mišića, kao i iznenadna uginuća prasadi u uzrastu od 21 dana, kao i onih u uzrastu do godinu dana života. Kod obolelih jedinki može da se javi visoka temperatura (41°C), teturanje i otežano disanje.

*Dijagnoza / Diagnosis*

Definitivna dijagnoza se postavlja u laboratoriji izolovanjem i identifikacijom virusa iz miokarda, slezine, jetre i mezenterijalnih limfnih čvorova. Uzročnik se umnožava na kulturi mišijih fetalnih fibroblasta, uz pojavu citopatogenog efekta (CPE). Od seroloških metoda koriste se virusneutralizacioni test (VN) i hemaaglutacioni test (HA).

*Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Etiološka terapija ne postoji. Osnovna veterinarsko-sanitarna mera je deratizacija farmi.

## **Bakterijske infekcije / *Bacterial infections***

### **Bruceloza (*Brucellosis*)**

#### *Etiologija / Etiology*

Bruceloza je infektivna bolest prouzrokovana bakterijom *Brucella suis*. Infekcija nastaje direktnim kontaktom, alimentarno, odnosno preko genitalnog i respiratornog trakta.

#### *Klinička slika / Clinical picture*

U kliničkoj slici bruceloze dominira abortus koji može da se javi u svakom periodu graviditeta, kao i jednostrani ili obostrani orhitis. Infekcija uzrokovana brucelama uslovljava pojavljivanje steriliteta koji traje u dužem vremenskom periodu (nekoliko meseci, pa i duže). Infekcija koja nastaje prilikom pripusta ili veštačkog osemenjavanja ne remeti oplodjenje i implantaciju, ali se pobačaj najčešće javlja oko treće sedmice. Ti rani pobačaji uglavnom se previde, a inficirane plotkinje povadaju 3 do 8 sedmica posle pripusta [1]. Pre abortusa može da se poremeti opšte stanje i javljaju se povišena telesna temperatura, uznemirenost, otok vulve i dojki, obilan muko-purulentan iscedak iz vulve i artritis i tendovaginitis. U narednom graviditetu mogu da se rađaju zdrava prasad, ali se češće, kao posledica infekcije i pobačaja u prethodnom graviditetu, javljaju poremećaji koncepcije i sterilitet. Kao posledica infekcije uzrokovane sa *Brucella suis* javlja se milijarna bruceloza uterusa (zadebljanje endometrijuma veličine zrna prosa ili graška, takozvani granulomi ili brucelomi, koji su delimično zagnojani ili usireni), iz kojih se zatim razvija endometritis, koji je uzrok abortusa. Patološko-morfološki se kod abortiranih plodova uočavaju serozno-hemoragični podlivi u supkutisu i seroznim šupljinama. Na placenti se zapažaju krvarenja i fibrinozno-purulentni eksudat.

#### *Dijagnoza / Diagnosis*

Definitivna dijagnoza se postavlja izolovanjem i identifikacijom uzročnika, kao i serološkim metodama dijagnostike. Materijal za pregled su abortirani plodovi, vaginalna sluz, sperma, promenjeni zglobovi i krv. Serološka dijagnostika se najčešće koristi, ali je često nepouzdana (stadijum bolesti i unakrsna reaktivnost). Zbog toga je potrebno da se urade najmanje dva testa. Za ispitivanje abortiranih plodova mogu da se koriste tehnika fluorescentnih antitela (TFA), brza aglutinacija na pločici (Rose Bengal), spora aglutinacija u epruveti (SAT), reakcija vezivanja komplementa (RVK), tehnika imunofluorescentnih antitela (IFA) i ELISA-test.

#### *Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Terapija i imunoprofilaksa se ne sprovode. Bruceloza je zoonoza i zato su veoma važne mere opšte profilakse u suzbijanju ove infekcije. Pozitivne jedinice se uništavaju i neškodljivo uklanjaju.

### **Leptospiroza (*Leptospirosis*)**

#### *Etiologija / Etiology*

Leptospiroza je infektivna bolest uzrokovana bakterijom iz roda *spiroheta* i to *L. interrogans* (23 serotipa i 196 serovarijeteta). Infekcija nastaje alimentarno, preko oštećene kože i sluzokože. Leptospiroza je akutna, subakutna, ređe hronična zarazna bolest domaćih životinja i ljudi. Leptospirozu svinja najčešće uzrokuje: *L. pomona*, *L. grippothyphosa*, *L. canicola*, *L. sejrøe*, *L. icterohaemorrhagiae*.

Od simptoma koji se uobičajeno javljaju kod leptospiroze navode se: febra, vidljive sluzokože koje su u početku hiperemične, a kasnije ikterične, zatim hemoglobinurija i dijareja. Primarni simptomi akutne i subakutne leptospiroze kod svinja su abortusi u kasnom graviditetu, mrtvorodena prasada, inapetencija, apatija i povišena telesna temperatura. Ako prebole subakutni tok svinje ostaju klinički. Abortirane fetalne ovojnice su žutomrke boje.

#### *Dijagnoza / Diagnosis*

Sumnja se postavlja na osnovu epizootiološke anamneze, kliničke slike, patološko-morfološkog nalaza, a definitivna dijagnoza izolovanjem bakterija i serološkim metodama. Leptospire mogu da se izoluju iz krvi u toku prvih 7 do 10 dana infekcije i iz urina tokom dve sedmice posle inficiranja. Leptospire mogu da se otkriju TFA u tkivima, a koristi se i metoda impregnacije srebrom. Kao standardni referentni test koristi se mikroaglutinacija. U serološkoj dijagnostici mogu da se rade RVK i ELISA.

#### *Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

Terapija se sprovodi antibioticima (streptomycinom ili tetraciklinima) i to u dozi od 1 grama dnevno, po svinji, u toku 10 dana. Vakcinacija protiv leptospiroze se radi u uzrastu od tri meseca, a revakcinacija za 14 dana. Bitna je primena opštih profilaktičnih mera i uništavanje glodara na farmama.

### **Crveni vetar / *Erysipelas suum***

#### *Etiologija / Etiology*

Uzročnik crvenog vetra je bakterija *Erysipelotrix rhusiopathiae*. Infekcija nastaje alimentarnim i nazalnim putem.

#### *Klinička slika / Clinical picture*

Perakutni tok karakterišu nagla uginuća bez drugih kliničkih simptoma.

U kliničkoj slici akutnog toka dominiraju simptomi opšte slabosti organizma, visoka telesna temperatura (viša od 42°C), crvene fleke po koži ušiju, stomaka i zadnjih nogu, kao i abortusi, ako je krmača gravidna. Mogu da se jave konjunktivitis i proliv. U hroničnom toku bolesti nema abortusa. Glavni simptomi su: difuzna nekroza kože, endokarditis i artritis.

*Dijagnoza / Diagnosis*

Dijagnoza se uglavnom postavlja na osnovu epizootiološke anamneze i kliničke slike; ređe na osnovu patološko-morfološkog nalaza, izolovanjem i identifikacijom uzročnika.

*Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis*

U terapiji se koriste antibiotici (penicilinski preparati ili tetraciklini). Za imunoprofilaksu se daje inaktivisana vakcina, dva puta godišnje (proleće i jesen). Treba se pridržavati opštih veterinarsko-sanitarnih mera.

**Literatura / References**

1. Corbel J. M., Mac Milan P. A.: Brucellosis. Topley and Witsans Microbiology and Microbial infections. 3, 819-847, 1998. - 2. Cvetić S.: Virusne bolesti životinja, 1977. - 3. Erski-Biljić Milanka, Dobrić Đ.: Bakteriologija veterinarske medicine, NIVS, Beograd, 1998. - 4. Goyal S. M.: Porcine reproductive and respiratory syndrome. Review article. J. of Vet. Diagnost. Investig. 5, 656-664, 1993. - 5. Huysman C. N. et al.: Reproductive failure associated with porcine parvovirus in an enzootically infected pig herd. Vet. Record 131, 503-506, 1992. - 6. Hogg A., Donald G. L.: Swine Reproductive Problems: Infectious Causes. Cooperative Extension Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, 1989. - 7. Jeanette L. Floss, Tubbs R. C.: Infectious Causes of Infertility in Sows. University of Missouri, Columbia, 1993. - 8. Lin F. et al.: The persistent of swine vesicular disease virus infection in pig. Epidemiol. and infect. 121, 459-472, 1998. - 9. Lolin Miroslava: Zarazne bolesti životinja-bakterijske etiologije, Veterinarski fakultet, Beograd, 1990. - 10. Lončarević A.: Klasična kuga svinja. Monografija, Beograd, 1995. - 11. Lončarević A.: Zdravstvena zaštita svinja u intenzivnom odgoju. Beograd, 1997. - 12. Lončarević A.: Bruceloza svinja. Monografija, Beograd, 2000. - 13. Maes R. K. et al.: Recent developments in latency and recombination of Aujeszky' s disease (pseudorabies) virus. Vet. Microbiol. 55, 13-27, 1997. - 14. Krstić Lj.: Medicinska virusologija. Beograd, 2000. - 15. Oie Manual of Standards for Diagnostic tests and Vaccines. Third Edition, 1996. - 16. Panjević Đ.: Zarazne bolesti životinja - virusne etiologije, Veterinarski fakultet, Beograd, 1990. - 17. Petrujković T., Bojkovski J., Vuković D.: Reprodukacija i veštačko osemenjavanje svinja. Udžbenik, Draganić, Beograd, 2000. - 18. Zaharija I.: Zarazne bolesti domaćih životinja. Školska knjiga, Zagreb, 1978. - 19. Quinn P. J. et al.: Clinical veterinary Microbiology. Mosby – Book Europe Limited, London, England, 1994. - 20. Wensvoort G. et al.: An enzyme immunoassay employing monoclonal antibodies to classical swine fever virus. Vet. Microbiol. 17, 129 -140, 1988.

Infektivni abortusi svinja / Infectious abortions in swine

Naziv bolesti / Name of disease	Etiologija / Etiology	Klinička slika / Clinical picture	Patoloanatomski nalaz / Pathoanatomical finding	Diagnoza / Diagnosis	Terapija / Therapy	Profilaksa / Prophylaxis
Parvovirusne infekcije / Parvoviral infections	Parvovirus (porcine parvo- virus PPV) / Parvovirus (porcine parvovirus PPV)	Fetalna uginuća posle 60. dana, mumificirani plodovi, mrtvorodna prasad, abortusi / Fetal deaths after 60 <sup>th</sup> day, mummified fetuses, stillborn piglets, abortions	Abortirani plodovi, mu- mificirani plodovi / Aborted fetuses, mummified fetuses	Izolacija, sero- loške metode (IFA, HA) / Isola- tion ser. metode (IFA, HA)	Specifična tera- pija se ne spro- vodi / Specific therapy not applied	Inaktivisana vakcina 3 do 6 nedelja pred prašenje / Inactivated vaccine 3 do 6 weeks before delivery
Enterovirusne infekcije / Enteroviral infections	Enterovirus (Porcine enterovirus) / Enterovirus (porcine enterovirus)	Fetalna uginuća, mumificirani plodovi, mrtvorodna prasad, abortusi, pneumonije, encefalo- mijelitis, dijareja / Fetal deaths, mu- mified fetuses, stillborn piglets, abor- tions, pneumonia, encephalomyelites, diarrhea	Promene na plućima, mozgu, abortirani plo- dovi, prolivi / Changes on lungs, brain, aborted fetuses, mummified fetuses, diarrhea	Izolacija virusa / Isolation of virus	Specifična tera- pija se ne spro- vodi / Specific therapy not applied	Opšte profilak- tičke mere / General prophylac- tic measures
Morbus Aujesz- ky (Pseudorabi- es) / Morbus Au- jeszky (pseudora- bies)	Herpes virus – alfa / Herpes virus alpha	Salivacija konvulzija, pneumoni- je, abortusi, maceracija i mumi- fikacije plodova, zanošenje, kre- tanje u stranu / Salivation, convul- sion, pneumonia, abortions, maceration and mummification of fetuses, faintnes, skidding	Promene na CNS, pluć- ma, abortirani, macerira- ni plodovi, mumificirani plodovi / Changes in the CNS, lungs, aborted, macer- ated, mummified fetuses	Izolacija, sero- loške metode (IFA, SN, ELISA) / Isolation, serolo- gical methods (IFA, AGID, RVT, NPLA test, ELISA)	Specifična tera- pija se ne spro- vodi / Specific therapy not applied	Atenuirana vakcina svakih 6 meseci / At- enuated vaccine („Stamping out“ of diseased)

(nastavak tabele)

Naziv bolesti / Name of disease	Etiologija / Etiology	Klinička slika / Clinical picture	Patoanatomski nalaz / Pathoanatomical finding	Dijagnoza / Diagnosis	Terapija / Therapy	Profilaksa / Prophylaxis
Klasična kuga svinja (Hog Cholera) / Hog cholera	Togaviridae-pestiviridae / Togaviridae - pestiviridae	Visoka telesna temperatura, cijanoza kože, konjunktivitis, za-nošenje, abortusi, malformacije ploda, mrtvorodena prasad / Fever, skin cyanosis, conjunctivitis, stillborn piglets, abortions, malformations of fetuses, stillborn piglets	Mramorirani lim. čvorovi, infarkti slezine, krvarenja po limfnim čvorovima, bubrezima, mokraćna bešika, butoni po crevima / Marble lymph nodes, spleen infarct, bleeding in lymph nodes, kidneys, bladder; buttons in intestines	Izolacija, serološke metode (TFA, AGID, RVK, NPLA test, ELISA) / Isolation, ser. methods (TFA, AGID, RVK, NPLA test, ELISA)	Specifična terapija se ne sprovodi / Specific therapy not applied	Atenuirana vakcina („Stamping out“ obolelih) / Attenuated vaccine (Stamping out“ of diseased)
PRRS / Porcine reproductive and respiratory syndrome	Grupa arterivirusa / Group of arteriviruses	Abortus, mrtvorodena prasad, slabo vitalna prasad, pneumonija prasadi svih uzrasta, kašalj / Abortion, stillborn piglets, apathy, pneumonia in piglets of all ages, coughing	Nekrotična pneumonija, purulentna bronhopneumonija, abortirani plodovi / Necrotic pneumonia, purulent bronchopneumonia, aborted fetuses	Izolacija, serološke metode (VN, ELISA, TFA) / Isolation, ser. methods (VN, ELISA, TFA)	Specifična terapija se ne sprovodi / Specific therapy not applied	Opšte profilaktične mere, Atenuirane vakcine / General prophylactic measures, attenuated vaccine
Influenca svinja / Porcine influenza	Ortomyxoviridae tip A / Orthomyxoviridae type A	Simptomi oboljenja resp. trakta, ubrzano disanje, visoka temperatura, retko pobačaj u kasnom graviditetu / Symptoms - diseases of the respiratory tract, intense breathing, fever, rarely abortions in late gravidity	Promene na plućima, retko abortirani plodovi / Changes on the lungs, rarely aborted fetuses	Izolacija, serološke metode (IFA, IHA, ELISA) / Isolation, ser. methods (IFA, IHA, ELISA)	antibiotici širokog spektra, potporna terapija / Wide-spectrum antibiotics, supportive therapy	Opšte profilaktične mere / General prophylactic measures
Encefalomyokarditis svinja / Porcine encephalomyocarditis	Picornaviridae / Picornaviridae	Mogući pobačaji, mumifikacija plodova, iznenadna uginuća / Possible abortions, mummification of fetuses, sudden deaths	Retko abortirani plodovi, mumifikacije plodova, lezije srčanog mišića / Rarely aborted fetuses, mummification of fetuses, lesions in cardiac muscle	Izolacija, serološke metode (VN, HA) / Isolation, ser. methods (agglut. RVK, AGID, ELISA)	Specifična terapija se ne sprovodi / Specific therapy not applied	Opšte profilaktične mere / General prophylactic measures



(nastavak tabele)

Naziv bolesti / Name of disease	Etiologija / Etiology	Klinička slika / Clinical picture	Patoloanatomski nalaz / Pathoanatomical finding	Dijagnoza / Diagnosis	Terapija / Therapy	Profilaksa / Prophylaxis
Bruceloza (Brucellosis) / Brucellosis	<i>Brucella suis</i> / <i>Brucella suis</i>	Dominira abortus u svakom pe- riodu graviditeta, orhitis, po- većana temperatura, uznemire- nost, slabo vitalna prasad / <i>Domi-</i> <i>nant abortion in every period of gravid-</i> <i>ity, orchitis, increased body tempera-</i> <i>tures, disturbed and apathetic piglets</i>	Placentitis sa edemom i nekrozom, abortirani plo- dovi / <i>Placentitis with edema</i> <i>and necrosis, aborted fetuses</i>	Izolacija, sero- loške metode (aglut. RVK, AGID, ELISA) / <i>Isolation, ser. me-</i> <i>thods (agglut.</i> <i>RVK, AGID,</i> <i>ELISA)</i>	Specifična te- rapija se ne sprovodi / <i>Spe-</i> <i>cific therapy not</i> <i>applied</i>	Opšte profilak- tične mere / <i>Ge-</i> <i>neral prophylactic</i> <i>measures</i>
Leptospiroza (leptospi- rosis) / Leptospirosis	<i>Leptospira in-</i> <i>terrogans</i> / <i>Lep-</i> <i>tospira interrogans</i>	Abortusi u kasnom graviditetu, mrtvorodena Prasad, apatija, in- apetencija, povećanje tempera- ture, ikterus / <i>Abortions in late</i> <i>gravidity, stillborn piglets, apathy, in-</i> <i>petence, increased body temperatures,</i> <i>icterus</i>	Pobaćeni plodovi, plodovi omotači edematozni žuto mrke boje / <i>Aborted fetuses,</i> <i>extraembryonic membranes ede-</i> <i>matous, dark yellow in colour</i>	Izolacija, sero- loške metode (MAT, Aglut- liza) / <i>Isolation,</i> <i>ser. methods (MAT,</i> <i>agglut-lisa)</i>	Streptomycin, tetraciklini / <i>Streptomycin,</i> <i>tetracyclines</i>	Inakt. vakcina 3-4 nedelje pred prašenje / <i>Inactivated vaccine</i> <i>3-4 weeks before</i> <i>delivery</i>
Crveni vetar (Erysipelas sum) / <i>Erysipe-</i> <i>las (Erysipelas</i> <i>sum)</i>	<i>Erysipelotrix</i> <i>rhusiopathiae</i> / <i>Erysipelothrix</i> <i>rhusiopathiae</i>	Visoka temperatura, osip po koži, proliv, konjuktivitis, moguć- nost abortusa, upala pluća / <i>Fer-</i> <i>ver, skin rash, diarrhoea, conjunctivitis,</i> <i>possible abortions, pneumonia</i>	Hiper. creva, hiper. kože, hiper. otok slezine, zapalje- nje creva i želuca / <i>Intestine</i> <i>hyper., skin hyper., spleen swell-</i> <i>ing hyper., inflam. of intestines</i> <i>and stomach</i>	Izolacija i de- terminacija ba- kterija / <i>Isolation</i> <i>and determination</i> <i>of bacteria</i>	Tetraciklini, pe- nicilin, strepto- micin, kortikos- teroidi / <i>Tetracy-</i> <i>clines, penicilin,</i> <i>streptomycin, cort-</i> <i>icosteroids</i>	Inaktivisana vakcina / <i>Inacti-</i> <i>vated vaccine</i>

ENGLISH

**INFECTIOUS ABORTIONS IN SWINE**

**Slobodanka Vakanjac, Sonja Obrenović, T. Petrujkić, Đ. Dobrić**

Abortions in pigs can be caused by infectious or non-infectious factors. About 38% of all diagnosed abortions in pigs were caused by infectious agents. Consequences of infection can be early embryonal deaths or abortions which occur after the 40<sup>th</sup> day following conception.

Causes of abortions include different species of viruses (parvoviruses, enteroviruses, pseudorabies viruses, PRRS) or bacteria (*Brucella*, *Leptospira*, and others). A precise diagnosis is imperative for therapy and prevention of abortions in pigs, and it is necessary to apply measures to prevent reproductive disorders in pigs.

Key words: pig, infectious abortions

РУССКИЙ

**ИНФЕКЦИОННЫЕ АБОРТЫ СВИНЕЙ**

**Слободанка Ваканяц, Соня Обренович, Т. Петруйкич, Дж. Добрич**

Аборты свиней могут быть вызваны инфекционными или неинфекционными возбудителями. Из всех испытаний выкидышей у свиней около 38% диагностированных выкидышей было вызвано с инфекционными агентами. Последствия инфекции могут явиться как ранние эмбриональные околения или как выкидыши, являемые после 40-ого дня от концепции.

Между возбудителями аборта различные виды вирусов (парвовирусы, энтеровирусы, псевдорabies вирусы, ПРРС) и бактерий (*Brucella*, *Leptospira* и другие). Для терапии и превенции абортов свиней очень важна точная диагностика, словно и меры, которые можно предпринимать, что до репродуктивных расстройств свиней не пришло.

Ключевые слова: свинья, инфекционные аборты

## POVODOM NAJNOVIJEG UPUTSTVA O PREGLEDU MESA NA TRIHINELOZU

Nedavno je objavljeno (januar 2003) Uputstvo o načinu i postupku utvrđivanja larvi *Trihinella spiralis* u mesu svinja... i mišljenje članova komisije (Ministarstvo za poljoprivredu) za prilagođavanje Uputstva iz 1997. godine i predloga Uputstva iz 2001. godine tadašnje republičke komisije za trihinelozu. Zanimajući pogrešno poistovećivanje pojma „Pravilnik” i „Uputstvo” smatram da Uputstvo ima nedostataka koji nisu smeli da se dese.

Pored izostavljanja određenih detalja glavni nedostatak ovog sadašnjeg Uputstva je to što su zapostavljene neke od bitnih preporuka Međunarodne komisije za trihinelozu, a to su – kontrola sigurnosti kvaliteta pregleda i veštine pregledača. Bez obzira na obuku, odnosno da li su pregledači mesa obučeni i da li su u pitanju veterinari koji obavljaju pregled, ili se radi o bilo kojim institucijama koje se bave tim pregledom, svi oni moraju da podležu sistemu osiguranja kvaliteta pregleda i veštine pregledača.

Međunarodna komisija za trihinelozu predlaže da ta promena bude četiri puta godišnje, s tim što je u predlogu Uputstva iz 2001. godine bilo predloženo da to bude dva puta godišnje u našoj zemlji. Interesantno je da je ovo poglavlje prihvatilo Ministarstvo za poljoprivredu Republike Srbije 2001. godine. Ta kontrola kvaliteta pregleda i veštine pregledača mora da ima svoju proceduru da u njoj obavezno učestvuju i nadležni veterinarski inspektori. Prema tome da bi se to sprovelo, moraju prvo veterinarski inspektori da budu obučeni/stručni za sve parazitološke metode pregleda i da znaju kako pregledači rade, prvenstveno zato što u obrascu 12 (Pravilnika) koga oni potpisuju postoji rubrika za odgovorno lice u organu. Inspektor će imati poverenje pregledača ako i on vlada metodama. To je izuzetno značajno bez obzira što je obučeni pregledač odgovorno lice za pregled mesa na trihinelozu, bilo koje struke, jer inspektor odobrava obuku i takođe ocenjuje njegov rad bez obzira na dobijenu potvrdu o obuci od nadležne institucije.

Da je primenjivano Uputstvo iz 1997. godine i da je u sadašnjem ugrađen deo kontrole kvaliteta pregledača, sprečilo bi se da na terenu imamo neobučene pregledače, i sudske slučajeve u odnosu na veterinare (Apatin i dr.) koji su obavljali pregled, odnosno na veterinarske inspektore, a da je stupilo na snagu predloženo Uputstvo iz marta 2001. godine ne bi bilo sudskih slučajeva Surčin, Kumane i drugi.

S obzirom da je cilj ovog Uputstva, kao što je bio u tadašnjem trenutku i onog br. 323-02-922/97-05, da nadoknadi nedostatak naših propisa u ovoj oblasti, očekivao sam da će ono biti sveobuhvatnije.

Smatram da je ovo Uputstvo trebalo uraditi u skladu sa najnovijim saznanjima nauke, preporukama MKT/Veterinary parasitology 93 (2000) 393-408, i propisima Evropske unije:

– European Economic Community, 1977, Commission Directive 77/96/EEC. Off. J. Eur. Comm. 26, 67-77,

– European Economic Community, 1984. Commission Directive 84/319/EEC. Off. J. Eur. Comm. 167, 34-43,

– Office Internationale des Epizooties, 1999, International Animal Health Coded, 8th Edition, Office Internationale des Epizooties, Paris,

i maksimalno sve prilagoditi našim uslovima rada i stvoriti veterinarske inspektore koji će biti kadri da ga sprovode.

Preporuke MKT su bazirane na osnovu dugogodišnjeg iskustva u svetu, jer su propusti pravljani u mnogim zemljama „Subjektivni faktor je čudo”, pa pregled mora da bude obavljen priznatim parazitološkim metodama (kompresija ili veštačka digestija) isti i u Sibnici i u Subotici ukoliko postoji namera za uključivanjem u svet.

**Dr Milovan Đorđević**

Stalni član Svetske komisije za trihinelozu

## „ETIKA NAUČNOISTRAŽIVAČKOG RADA U BIOMEDICINI”

Izdavač: I.P. Nauka, Beograd, 2002. godina

---

Ova značajna i jedinstvena monografija je publikovana odmah posle održanog naučnog skupa „Etika naučnoistraživačkog rada u biomedicini”, koji je organizovala Akademija medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva i Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu. Autorima, ukupno trinaest, a posebno urednicima dr Ljiljani Vučković-Dekić, dr Pavlu Milenkoviću i dr Veri Šobić pripada zasluga i zahvalnost što su napisali ovu vrednu knjigu o najnovijim saznanjima i etičkim standardima naučnoistraživačkog rada. U knjizi je dat detaljan pregled svih pitanja, nedoumica i prihvaćenih standard, kao i istorijski pregled etike i naučnih istraživanja u prvom poglavlju, pa do zaštite ispitanika u kliničkom ispitivanju u trinaestom poglavlju. I u ostalim poglavljima se na zanimljiv, jasan i poučan način opisuju evropska iskustva regulacije etičnosti naučnog rada, definiše intelektualno (ne)poštenje u nauci, iznose primeri prevare u nauci, etička pitanja publikovanja naučnih radova, govori se o autorstvu i koautorstvu, o principima i problemima vrednovanja naučnih radnika, govori se i o edukaciji naučnoistraživačkog kadra, o instituciji ombudsmana u naučnoistraživačkom radu, o etičkom kodeksu naučnoistraživačkog rada, kao i o principima dobre kliničke prakse i o obavezama glavnog istraživača.

U dodacima, kojih ima šest, prikazani su glavni međunarodni dokumenti koji definišu etičnost naučnih istraživanja, i posebno dokument o dobroj naučnoj praksi - etički kodeks naučnoistraživačkog rada, koji su doneli i primenjuju Institut za onkologiju i radiologiju Srbije i Institut za medicinska istraživanja iz Beograda.

Knjigu preporučujemo nadležnim Ministarstima i Univerzitetima Republike Srbije, radi upoznavanja i eventualnog donošenja zakonskih propisa o nekim navedenim pitanjima, zatim, i, pre svega, svima koji se bave naučnoistraživačkim radom, a posebno mladim istraživačima kako bi mogli da od početka svoga rada poštuju etičke principe naučnoistraživačkog rada.

**Dr sc. vet. med. Čedomir Rusov,  
naučni savetnik**



KALENDAR NAUČNIH I STRUČNIH SKUPOVA U ZEMLJI  
ZA APRIL–DECEMBAR 2003.GODINE

- 7 - 11. maja Zlatibor  
**Savremeni trendovi u mlekarstvu**  
Informacije: prof. dr Zora Mijačević, Katedra za higijenu mleka, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel.011/685 653 ili 36 15 436 lok. 236 ili organizator Zajednica za stočarstvo – Grupacija za mlekarstvo, Beograd
16. maja Beograd  
**Neurologija** – Edukativni skup YASAP-a  
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/fax. 011/ 684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
- 17 - 23. maja Novi Sad  
**70. međunarodni poljoprivredni sajam**  
Informacije: Novosadski sajam, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 2, tel.021/125-155
- 28 - 31. maja Subotica  
**14. savetovanje „DDDD u zaštiti životne sredine”**  
Informacije: prof. dr Brana Radenković, Zoohigijena, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 684 173 ili 36 15 436 lok. 225
- 9 - 13. juna Budva  
**5. savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja**  
**Clinica veterinaria 2003**  
Informacije: prof. dr Dragiša Trailović, Katedra za dijagnostiku, patologiju i terapiju oboljenja domaćih životinja, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel.011/36 11 810; e-mail: trailo@net.yu
- 4 - 7. juna Teslić – Republika Srpska  
**9. savetovanje veterinara Republike Srpske**  
Informacije: Društvo veterinara Republike Srpske, Banja Luka, Knjaza Miloša 21, tel. 051/313 067, fax. 348 283. e-mail:vetkomrs@teol.net
- Treća nedelja juna (pet dana) Kragujevac  
**Škola ultrazvuka – Edukacioni centar ultrazvuka u medicini i veterini**  
Informacije: prof. dr Vojislav Pavlović, Katedra za porodiljstvo, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/684-184 ili 36 15 436, lok. 252
- 9 - 13. septembra Zlatibor  
**15. savetovanje veterinara Srbije**  
Informacije: Srpsko veterinarsko društvo, prof. dr Zoran Aleksić, sekretar, 11000 Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/657-081 ili 36 15 436, lok. 327
- 23 - 27. septembra Vrbas  
**Simpozijum iz govedarstva**  
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/fax. 011/ 684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
- 23 - 27. septembra  
**12. savetovanje živinara Jugoslavije**  
Informacije: Časopis „Živinarstvo”, Bulevar JNA 18, 11000 Beograd, tel. 011/657 953, fax. 644 841.
- 15 - 17. oktobra  
**52. savetovanje industrije mesa**  
Informacije: Institut za tehnologiju mesa, 11000 Beograd, Kačanskog 13, tel. 011/650 655, fax. 651 825, e-mail: meatinst@beotel.yu
22. novembra Beograd  
**2. savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela**  
Informacije: prof. dr Zoran Stanimirović, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine
- Treća nedelja decembra Beograd  
**Edukativni simpozijum o aktuelnim zoonozama**  
Informacije: prof. dr Bosiljka Đuričić, Katedra za zarazne bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 685 080 ili 36 15 436 lok. 352, e-mail: bosa@beotel.yu

**FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE  
U BEOGRADU 2002. GODINE**

---

**Doktorirali:**

Kapetanov Miloš  
Šefer Dragan  
Maslić-Strižak Danka  
Zurovac Olivera  
Bajić Vladan  
Tuvić Borislav  
Pavlović Miloš

**Magistrirali:**

Bacić Dragan  
Bugarski Dejan  
Prokopijević Olgica  
Palić Dušan  
Rajčić Saša  
Petrović Tamaš  
Anđelković Radivoje  
Magaš Vladimir  
Ćirković Dragan

**Specijalizirali:**

Lazić Milica  
Miteva Verica  
Dakić Zorica  
Radanović Radmila  
Milojević Milica  
Gergelj Ilona  
Krstić Bosiljka  
Stepanović Petar  
Balbotinović-Spasić Dragica  
Vukićević Zoran  
Vuković Silvija





**DIPLOMIRANI STUDENTI – DOKTORI VETERINARSKJE MEDICINE  
– GRADUATE STUDENTS – DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE**

**Tomišić Č. Goran**

Rođen 25. 4. 1974. u Beogradu  
Diplomirao 24. 4. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Novi Beograd  
III bulevar 120/g

**Dumanović Ž. Dušan**

Rođen 2. 6. 1974. u Beogradu  
Diplomirao 25. 6. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Stanka Paunovića Veljka 49/22

**Milojević R. Ana**

Rođena 21. 8. 1971. u S. Palanci  
Diplomirala 28. 6. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Mladenovac  
Slavka Manojlovića 125

**Stranjanac M. Predrag**

Rođen 21. 8. 1969. u Čačku  
Diplomirao 19. 9. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Mršinci

**Filipović N. Mirko**

Rođen 6. 11. 1975. u Osijeku  
Diplomirao 25. 10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Prnjavor  
Mačvanski  
29. novembra 134

**Ilić M. Dragan**

Rođen 8. 2. 1875. u Nišu  
Diplomirao 25. 10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Niš  
Cara Uroša 14

**Lazarević M. Slaviša**

Rođen 3. 1975. u Bijeljini  
Diplomirao 25. 10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Bijeljina  
S. Dečanskog 216

**Ribić F. Jasna**

Rođena 10. 3. 1969. u Beogradu  
Diplomirala 25. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Crnotravska 11a

**Terzić M. Dragan**

Rođen 31. 8. 1970. u Čačku  
Diplomirao 25. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Čačak  
Bul. Vuka Karadžića 42

**Ljubisavljević S. Dejan**

Rođen 13. 5. 1976. u Paraćinu  
Diplomirao 26. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Paraćin  
Kralja Milutina 9/15

**Marjanović S. Mladen**

Rođen 30. 5. 1976. u Bijeljini  
Diplomirao 26. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Velika Obarska  
Miljevići 46

**Mitić I. Dalibor**

Rođen 4. 6. 1975. u Leskovcu  
Diplomirao 27. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Živkovo,  
Leskovac

**Bogdanović D. Goran**

Rođen 5. 8. 1973. u Požarevcu  
Diplomirao 27. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Požarevac  
Čede Vasovića 14/20

**Mirković S. Sanja**

Rođena 17. 7. 1975. u S. Palanci  
Diplomirala 27. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Smederevska  
Palanka

**Stojilković M. Mile**

Rođen 25. 2. 1953. u Gradskoj  
Diplomirao 4. 10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Gradska

**Matijašević M. Slađana**

Rođena 14. 1. 1973. u Čačku  
Diplomirala 19. 9. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
16. oktobra 11

**Đorđević D. Aleksandar**

Rođen 4. 9. 1967. u Kraljevu  
Diplomirao 28. 10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Šabac  
Sindelićeva 7

**Rajković P. Gordana**

Rođena 19. 10. 1969. u Golupcu  
Diplomirala 29.10. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Golubac

**Šuvački V. Aleksandra**

Rođena 28. 8. 1968. u Beogradu  
Diplomirala 27. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Gospodara Vučića 136

**Orlić R. Bojana**

Rođena 14. 7. 1973. u Piura, Peru  
Diplomirala 28. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Ljubiše Jovanovića 1

**Radosavljević I. Vladimir**

Rođen 12. 11. 1974. u Beogradu  
Diplomirao 28. 11. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Vojislava Ilića 14

**Glavaški G. Ivan**

Rođen 29. 5. 1972. u Bečeju  
Diplomirao 23. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Bečej  
Svetozara Markovića 47

**Lekić B. Mirko**

Rođen 28. 5. 1970. u B. Crkvi  
Diplomirao 24. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Bela Crkva  
I oktobra 9

**Tričković D. Nenad**

Rođen 23. 7. 1976. u Beogradu  
Diplomirao 25. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Omladinskih brigada 89/21

**Tintor M. Slobodan**

Rođen 22. 10. 1969. u Glini  
Diplomirao 25. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Braće Marić 27

**Stepanov D. Marko**

Rođen 7. 2. 1977. u Sremskoj Mitrovici  
Diplomirao 26. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Sremska  
Mitrovica  
Čukovac 4

**Đorđević M. Valentina**

Rođena 7. 11. 1967. u Beogradu  
Diplomirala 26. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Partizanska 47/8

**Palamarević M. Nikola**

Rođen 13. 9. 1976. u Nišu  
Diplomirao 26. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Niš  
Kruševačka 15

**Trajković D. Ivica**

Rođen 26. 9. 1977. u Surdulici  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Vranje  
Pariske komune 14/20

**Lekić N. Nenad**

Rođen 13. 8. 1972. u Vršcu  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Vršac  
Bregalnička 105

**Stanišić Lj. Đorđe**

Rođen 16. 3. 1976. u Beogradu  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Beograd  
Ul. Topola 65

**Fenjac S. Ivan**

Rođen 28. 7. 1976. u Novom Sadu  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Novi Sad  
Kraljevića Marka 11

**Milinković D. Aleksandar**

Rođen 6. 12. 1976. u Šapcu  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Šabac  
Stefana Dečanskog 26

**Lazić D. Vladimir**

Rođen 24. 8. 1973. u Bijeljini  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Bijeljina  
Neše Selimovića 41

**Vlahović B. Jelena**

Rođena 29. 3. 1976. u Šapcu  
Diplomirala 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Novi Beograd  
III bulevar 50/27

**Mirčeta M. Jovan**

Rođen 26. 7. 1978. u Kninu  
Diplomirao 27. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Srbobran  
Proleterska 4

**Ranković P. Živorad**

Rođen 25. 4. 1974. u Krupnju  
Diplomirao 30. 12. 2002. godine  
Stalno mesto boravka Bela Crkva