

YU ISSN 0350-2457
UDK 619 (05)

VETERINARSKI GLASNIK

**naučni časopis
scientific journal**

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

VET. GLASNIK Vol. 60 Br. 1-2 str. 1 - 120 Beograd, 2006.



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

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

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

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

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Ljubinka Turubatović*

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

GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

Godišnja pretplata: za pravna lica 6 000 dinara
za individualne pretplatnike 2 000 dinara
za inostranstvo 200 USD
(The annual subscription outside Serbia and Montenegro is 200 US \$)

Žiro račun broj: 205-2982-66

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

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

Adresa časopisa:
Veterinarska komora Srbije – Veterinarski glasnik, 11000 Beograd,
Bulevar oslobođenja 18, tel/faks 011/2684-597, 687-475,
e-mail: vetks@eunet.yu; www.vetks.org.yu



VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 60 Br. 1 - 2 str. 1 - 120 Beograd, 2006.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI – ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ РАБОТЫ

- Kulić M., Stanimirović Z., Marković Biljana, Ristić S.: Ispitivanje genotoksičnog potencijala levamizol hidrohlorida na ćelijama kostne srži pacova Wistar soja
Investigations of Genotoxic Potential of Levamisole Hydrochloride in Bone Marrow Cells of Wistar Rats
Испытание генотоксического потенциала левамизоль гидрохлорида на клетках костного мозга крыс *Wister* штамма 3
- Šamanc H., Stojić V., Adamović M., Vujanac I., Petrujkić B.: Acidoza buraga: mogućnost preveniranja korišćenjem mineralnih smeša sa pufernim dejstvom
Rumen Acidosis: Possibilities of Prevention Using Mineral Mix with Buffering Effect
Ацидоз рубца: возможность предупреждения пользованием минеральных смесей с буферным действием 11
- Mišić D., Stošić Zorica, Kiškarolj F., Adamov V., Ašanin Ružica: Ispitivanje multirezistencije *E. coli* i *Salmonella* koje potiču od domaćih životinja na antibiotike i hemioterapeutike
Investigations of Multiresistance to Antibiotics and Chemotherapeutics and Extended Spectrum Beta-lactamase Effect (ESBL Test) in Strains *E. coli* and *Salmonella* Originating from Domestic Animals
Испытание мультисопротивления на антибиотики и химиотерапевтики и бета лактамазы расширенного спектра влияния (ЕСБЛ тест) у штаммов *E. coli* и сальмонелл происхождением от домашних животных 21
- Jezdimirović Milanka, Kulišić Z., Aleksić Nevenka, Bjelić N., Ivanović S.: Efikasnost eugenola u lečenju šuge svinja
Investigations of Eugenol Efficacy in Treatment of Mange in Swine
Испытание эффективности эугенола в лечении парши свиней 33
- Radojičić Sonja, Čilerdžić Milica, Dimić B., Kirčanski Jasmina: Ispitivanje prevalencije antitela na *B. canis* kod pasa luralica na teritoriji grada Beograda
Investigations of Prevalence of Antibodies to *B. canis* in Stray Dogs in Territory of Belgrade
Испытание преобладания антител на *B. canis* у бродячих собак на территории города Белграда 43

■ Marinković D., Pavlović N., Magaš V., Aleksić-Kovačević Sanja: Patohistološka studija tumora testisa i jajnika pasa u periodu od 1999. do 2003. godine Pathohistological Study of Dog Testes and Ovarian Tumors in the Period 1999-2003 Патогистологическое изучение опухолей семенников и яичников собак в периоде от 1999-2003 года	51
■ Ašanin Ružica, Mišić D.: Ispitivanje efikasnosti Peral-S u uslovima <i>in vitro</i> Examinations of Efficacy of Peral-S Under <i>in vitro</i> Conditions Испытание эффективности Peral-S в условиях <i>in vitro</i>	61

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

■ Vakanjac Slobodanka, Pavlović V., Pavlović N.: Profilaksa, imunoprofilaksa i terapija stafilokoknih mastitisa Prophylaxis, Immunoprophylaxis and Therapy of Staphylococcal Mastitis Профилактика, иммунопрофилактика и терапия стафилококковых маститов .	71
■ Pavlović V., Vakanjac Slobodanka, Pavlović M., Pavlović N.: MMA sindrom kod svinja MMA Syndrome in Swine ММА синдром у свиней	81
■ Stošić Zorica, Mitrić M., Kiškarolj F., Mišić D., Ašanin Ružica: Ispitivanje osetljivosti sojeva <i>Salmonella</i> vrsta poreklom od živine sa različitih epizootioloških područja na antibiotike Investigations of Sensitivity to Antibiotics of <i>Salmonella</i> Strain Species Originating from Poultry from Different Epizootiological Areas Испытание чувствительности на антибиотики штаммов сальмонелл видов происхождением от домашних птиц с различных эпизоотологических районов	89
■ Krstić V. , Krstić N.: Endoskopska i radiološka dijagnostika oboljenja jednjaka pasa Endoscopic and Radiological Diagnostics of Esophagus Diseases in Dogs Эндоскопическая и радиологическая диагностика заболеваний пищевода собак	99
■ Hristov S., Mitrović S., Todorović Mirjana, Đermanović V., Cvetković I.: Pojava gubitka perja kod kokoši nosilja Feather Loss in Laying Hens Явление потери перьев у кур несушек	107

PRIKAZ KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ	115
---	-----

DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	117
--	-----

ISPITIVANJE GENOTOKSIČNOG POTENCIJALA LEVAMIZOL HIDROHLORIDA NA ČELIJAMA KOSTNE SRŽI PACOVA WISTAR SOJA*

INVESTIGATIONS OF GENOTOXIC POTENTIAL OF LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE IN BONE MARROW CELLS OF WISTAR RATS

M. Kulić, Z. Stanimirović, Biljana Marković, S. Ristić**

Eksperiment je izveden u in vivo uslovima na ćelijama kostne srži pacova Wistar soja. Testirane su doze levamizol hidrohlorida i to: terapijska doza od 2,2 mg/kg, t.m., zatim doza od 4,4 mg/kg t.m., LD₅₀ do 25% mg/kg t.m. i LD₅₀-75% mg/kg t.m.. Praćen je uticaj levamizol hidrohlorida na kinetiku ćelijskog ciklusa i pojavljivanje strukturnih i numeričkih promena na hromozomima u ćelijama kostne srži. Terapijska doza levamizola od 2,2 mg/kg t.m. pokazala je sposobnost povećanja mitotske aktivnosti posmatranih ćelija, tako potkrepljujući saznanja o imunostimulativnom efektu ove doze leka u in vivo uslovima. Ostale testirane doze levamizola u ovom eksperimentu, posmatrano u odnosu na kontrolnu grupu, imale su suprotan efekat, tj. uslovile su smanjenje mitotske aktivnosti ćelija kostne srži. Sve ispitivane doze in vivo pokazuju sposobnost indukcije numeričkih (aneuploidija i poliploidija) i strukturnih (lezije, prekidi i insercije) aberacija hromozoma. Na osnovu toga može da se zaključi da ispitivane doze imaju genotoksični efekat.

Ključne reči: genotoksičnost, citotoksičnost, aneuploidije, poliploidije lezije, prekidi, insercije

Uvod / Introduction

Primena različitih antibiotika, sulfonamida, antiparazitika i drugih hemoterapijskih sredstava u lečenju životinja i čoveka, pored mnogih pozitivnih efekata, prouzrokovala je neke negativne efekte koji mogu da se ispolje i u promena u naslednom materijalu. Jedan od takvih lekova je levamizol hidrohlorid koji

* Rad primljen za štampu 31. 10. 2005. godine

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

ima široku primenu u veterinarskoj i humanoj medicini kao antiparazitik. Naročito je efikasan u lečenju infekcija gastrointestinalnog i respiratornog trakta izazvanih predstavnicima klase *Nematoda*. Međutim, pored ove primarne funkcije, poznato je i njegovo imunostimulirajuće dejstvo [1, 2]. Levamizol je pokazao sposobnost smanjenja učestalosti pojavljivanja tumora i metastaza kod tretiranih životinja [3, 4, 5]. Pored ovih pozitivnih efekata, levamizol hidrohlorid poseduje i toksični efekat izazivajući kod pasa hemolitičnu anemiju i leziju CNS [6], kod ptica slabiju inkoordinaciju pokreta i regurgitaciju hrane, pa čak i uginuće [7]. Kod ljudi kao neželjeni efekti terapije ovim lekom javljaju se agranulocitopenija, leukoreja, anoreksija i nauzeja [8], fotosenzibilna kožna reakcija [9] i kutani nekrotični vaskulitis [10]. Pored ovih prolaznih i relativno benignih poremećaja, ustanovljeni su i slučajevi oštećenja bubrega [11].

Levamizol hidrohlorida u *in vitro* i *in vivo* eksperimentu povećava učestalost razmena sestrinskih hromatida (SCE), hromozomskih i hromatidnih prekida [12, 13].

Materijal i metode / Materials and methods

Eksperiment je izveden *in vivo* na pacovima Wistar soja, muškog pola, uzrasta od 45 do 50 dana i telesne mase od 150 do 200 grama. Eksperiment smo postavili tako što smo ispitivali pet eksperimentalnih grupa: kontrolna grupa koja je dobijala fiziološki rastvor, I eksperimentalna grupa tretirana je terapijskom dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m, II eksperimentalna grupa tretirana je dozom levamizola od 4,4 mg/kg t.m, III eksperimentalna grupa tretirana dozom od LD₅₀ do 25 posto mg/kg t.m. i IV eksperimentalna grupa tretirana je dozom od LD₅₀-75 posto mg/kg telesne mase. Izvedeno je osam eksperimentalnih ciklusa sa intraperitonealnom sedmodnevnom aplikacijom ispitivanih doza leka.

Nakon sedmodnevnog tretmana, životinje su žrtvovane, a materijal za citogenetičke analize dobijen je u skladu sa procedurom koju su postavili Hsu i Patton [14], modifikovano po Zimonjiću *et al.* [15]. Tehnika G-traka je obavljena po metodi Seabrighta *et al.* [16], modifikovano po Zimonjiću *et al.* [15]. Procena citogenetičkih efekata (proliferativna aktivnost ćelija), kao i sposobnost levamizol hidrohlorida da indukuje transformacije kariotipa (strukturne i numeričke aberacije) obavljena je na ćelijama kostne srži. U tu svrhu analizirano je 100 metafaznih figura po životinji. Statistička obrada dobijenih podataka je urađena primenom Studentovog t-testa.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Rezultati ispitivanja uticaja odgovarajućih doza levamizol hidrohlorida na srednje vrednosti mitotskog indeksa, kao mere proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži pacova prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1. Srednje vrednosti mitotske aktivnosti ćelija kostne srži pacova Wistar soja kontrolne grupe i eksperimentalnih grupa pri tretmanu rastućim dozama levamizol hidrohlorida

Table 1. Mean values of mitotic activity in bone marrow cells of Wistar rats of control group and experimental groups treated with increasing doses of levamisole hydrochloride

Ponavljanja / Repetitions	Kontrola / Control	2,2 mg/kg t.m.	4,4 mg/kg t.m.	LD ₅₀ -25% mg/kg t.m.	LD ₅₀ -75% mg/kg t.m.
1	6,20	8,82	6,00	3,50	2,20
2	6,00	8,15	5,40	3,60	2,60
3	5,80	7,78	5,60	2,30	1,80
4	5,75	7,62	5,80	2,70	1,90
5	6,01	8,20	6,20	2,80	2,80
6	6,22	8,84	6,40	2,50	3,10
7	6,31	9,11	5,40	3,10	2,00
8	6,27	9,01	5,60	2,95	2,28
X	6,07	8,45	5,80	2,93	2,34

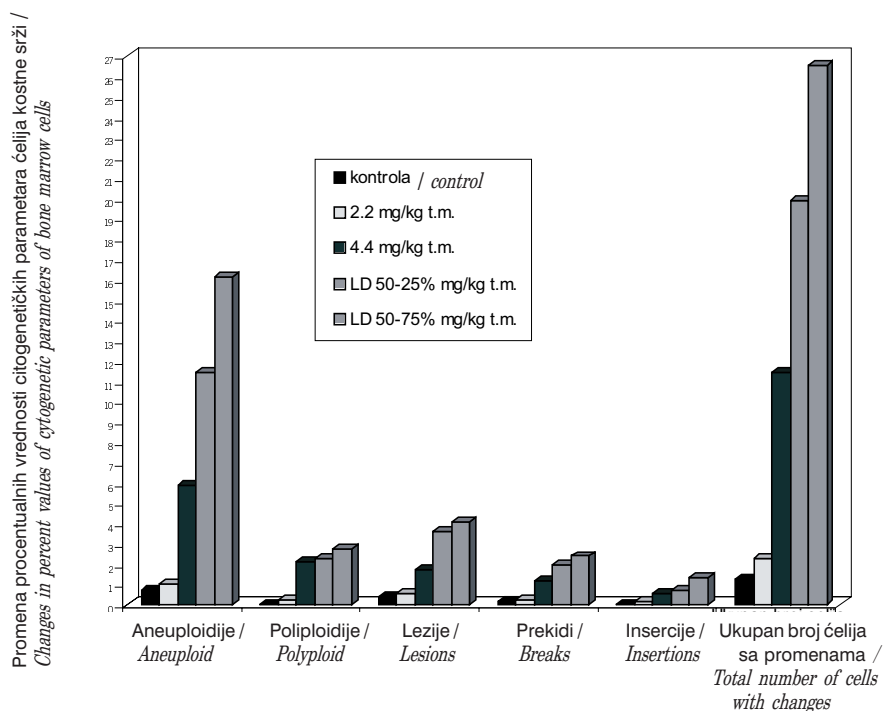
Terapijska doza levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. omogućila je povećanje proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži, dok ostale testirane doze smanjuju proliferativnu aktivnost ćelija kostne srži. U kontrolnoj grupi životinja, srednja vrednost mitotičke aktivnosti (mitotski indeks=MI) bila je 6.07. Kod životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. srednja vrednost je MI=8.45. U grupi životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 4,4 mg/kg t.m. srednja vrednost je MI=5.80. Kod životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od LD₅₀ do 25 posto mg/kg t.m. srednja vrednost je MI=2.93, dok je kod doze od LD₅₀ do 75 posto mg/kg t.m. srednja vrednost MI=2.34.

Primenom t-testom utvrđene su visoko statistički značajne razlike ($p < 0,001$) u povećanju vrednosti mitotskog indeksa kod grupe životinja tretiranih dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg t.m. u odnosu na kontrolnu grupu koja je primala fiziološki rastvor. Isto tako, t-testom smo utvrdili visoko statistički značajne razlike, kao u smanjenju vrednosti mitotskog indeksa između kontrolne grupe i svih ostalih eksperimentalnih grupa životinja, kao i između samih eksperimentalnih grupa životinja.

Naši rezultati ukazuju na imunostimulativni efekat levamizol hidrohlorida, jer on podstiče umnožavanje ćelija kostne srži, što se manifestuje povećanjem vrednosti mitotskog indeksa. Ovako shvatanje je istovremeno u saglasnosti sa nalazima Symoentsa [1] i Al-Ibrahima [2]. Pored toga, naši rezultati ukazuju da je levamizol hidrohlorid ciklus-specifični agens koji na ćeliju deluje u tačno određenoj fazi ćelijskog ciklusa, ostvarujući svoj citotoksični ili citostatski efekat na najosetljivijim ćelijama, tako da u prvo vreme u životu opstaju samo one ćelije koje su najmanje osetljive ili neosetljive na datu dozu u određenoj fazi ce-

lijskog ciklusa. Manje osetljive ćelije uvećavaju svoju ćelijsku populaciju, jer nesmetano prolaze kroz ćelijsku deobu sve dok se tokom vremena i povećavanjem doze ne ostvari potpun citostatički ili citotoksični efekat. Ovakvo shvatanje je u saglasnosti sa nalazima više autora [17, 18, 19, 20, 21, 22] i ono daje vrlo prihvatljivo objašnjenje povećanja proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži pacova tretiranih ispitivanim dozama levamizol hidrohlorida. Povećan broj ćelija u mitozu može da ukaže na sposobnost levamizol hidrohlorida da ubrza ćelijski ciklus, tj. smanji vreme njegovog trajanja što utiče na smanjenje vrednosti replikacije, a smanjena vrednost replikacije ima kao posledicu mutabilnost [23], što je u saglasnosti sa našim nalazima o povećanju učestalosti prekida na hromozomima i pojavljivanje specifičnih strukturnih aberacija.

Pored uticaja na mitotsku aktivnost ćelija kostne srži ispitivane doze levamizol hidrohlorida pokazale su sposobnost da indukuju kako numeričke promene tipa aneuploidija i poliploidija, tako i strukturnih aberacija hromozoma tipa lezija, prekida i insercija (grafikon 1).



Grafikon 1. Prikaz citogenetičkih parametara ćelija kostne srži pacova kod kontrolne i eksperimentalnih grupa

Graph 1. Graphic presentation of cytogenetic parameters of bone marrow cells in rats of control and experimental groups

Kod životinja koje su tretirane dozom levamizol hidrohlorida od 2,2 mg/kg telesne mase procentne vrednosti numeričkih aberacija tipa aneuploidija bile su 1,02 posto, a poliploidija 0,23 posto, dok su za strukturne hromozomske aberacije tipa lezija te vrednosti 0,52 posto, prekida 0,27 posto i insercija 0,14 posto. Kod životinja koje su tretirane dozom levamizola od 4,4 mg/kg telesne mase vrednost ovih parametara su: za numeričke aberacije tipa aneuploidija 5,90, poliploidija 2,08 posto, dok su za strukturne hromozomske aberacije tipa lezija 1,75 posto, prekida 1,21 posto i insercija 0,52 posto. Prilikom tretmana sa dozom levamizola od LD₅₀ - 25 posto mg/kg telesne mase vrednost ovih parametara bile, za numeričke aberacije tipa aneuploidija 11,42 posto, poliploidija 2,29 posto, strukturne aberacije tipa lezija 3,58 posto, prekida 1,94 posto i insercija 0,68 posto. Konačno, kod životinja koje su tretirani dozom levamizola LD₅₀ - 75 posto mg/kg telesne mase procentne vrednosti ispitivanih promena su bile, za numeričke aberacije tipa aneuploidija 16,14 posto, poliploidija 2,73 posto, strukturne aberacije tipa lezija 4,10 posto, prekida 2,39 posto i insercija 1,35 posto.

Dobijeni rezultati ukazuju da levamizol hidrohlorida omogućava visoko statistički značajno povećanje ($p < 0,001$) učestalosti numeričkih i strukturnih promena hromozoma u ćelijama kostne srži u odnosu na kontrolu. U ovom testu postoji linearni odnos doze i efekta što znači, ako su doze leka veće, to je i njihov efekat na naslednu osnovu veći. Posebno je značajno istaći pojavu insercija na hromozomu prvog para autozoma, nastalu kao posledica indukovane amplifikacije segmenta između traka q 21 i q 22, što predstavlja specifičnu promenu pod uticajem levamiza-hidrohlorida [21, 22, 24].

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata može da se zapazi da levamizol hidrohlorid u *in vivo* uslovima omogućava značajno povećanje proliferativne aktivnosti ćelija kostne srži i ima sposobnost indukcije numeričkih aberacija (aneuploidije i poliploidije) i strukturnih (lezije, prekidi i insercije), izazivajući transformaciju kariotipa životinja koje se ispituju. Na osnovu navedenog može da se zaključi da ispitivane doze leka imaju genotoksični efekat. Ovakav zaključak je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim na osnovu rezultata *in vitro* ispitivanja genotoksičnog efekta levamizol hidrohlorida na humanim limfocitima iz kulture ćelija primenom SCE i mikronukleus testa [12, 13, 25].

Literatura / References

1. Symoens J., Rosenthal M.: Levamisole in the modulation of the immune response. The current experimental and clinical state. *Journal Of The reticuloendothelial Society*, 21, 175-221, 1977. - 2. Al-Ibrahim M. S., Chirigos M. A.: Immune modulation and control of neoplasia by adjuvant therapy. *In vitro* efekts of levamisole on human mononuclear cells. *Progress In Cancer Res. And Therapy*, 7, 39-47, 1978. - 3. Renoux G., Renoux M.: Levamisole inhibits and cures a solid malignant tumor and its pulmonary metastases in mice.

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

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF GENOTOXIC POTENTIAL OF LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE IN BONE MARROW CELLS OF WISTAR RATS

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

An experiment was performed under *in vivo* conditions on bone marrow cells of Wistar rats. The following doses of levamisole hydrochloride were tested: a therapeutic dose of 2.2 mg/kg bm, a dose of 4.4 mg/kg bm, LD₅₀-25% mg/kg bm, and LD₅₀-75% mg/kg bm. We followed the effect of levamisole hydrochloride on kinetics of the cell cycle and the appearance of structural and numeric changes in chromosomes in bone marrow cells. The therapeutic dose of levamisole of 2.2 mg/kg bm exhibited a capability to increase mitotic activity in the observed cells, thus confirming knowledge of the immunostimulative effect of this dose of the medicine under *in vivo* conditions. The other tested doses of levamisole in this experiment, observed in comparison with the control group, had an opposite effect, namely, they caused a reduction in the mitotic activity of bone marrow cells. All the examined doses *in vivo* exhibited the ability to induce numeric (aneuploid and polyploid) and structural (lesions, breaks and insertions) chromosomal aberrations. It can be concluded on the grounds of these findings that the examined doses have a genotoxic effect.

Key words: Genotoxicity, cytotoxicity, aneuploid, polyploid lesions, breaks, insertions

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛЕВАМИЗОЛЬ ГИДРОХЛОРИДА НА КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА КРЫС WISTAR ШТАММА

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

Эксперимент выведен в *in vivo* условиях на клетках костного мозга крыс Wistar штамма. Тестированы следующие дозы левамизоль гидрохлорида а именно: терапевтическая доза от 2,2 мг/кг, м. т., затем доза от 4,4 мг/кг м. т., LD₅₀-25% мг/кг м. т. Слежено влияние левамизоль гидрохлорида на кинетику клеточного цикла и явление структурных и нумерических изменений на хромосомах в клетках костного мозга. Терапевтическая доза левамизоля от 2,2 мг/кг м. т. показала способность увеличения митотической активности наблюдаемых клеток, так подкрепляя со-знания о иммуностимулирующем эффекте этой дозы лекарства в *in vivo* условиях. Остальные тестированные дозы левамизоля в этом эксперименте нами наблюано в отношении контрольной группы, имели противоположный эффект т.е. обусловили уменьшение митотической активности клеток костног мозга. Все испытанные дозы *in vivo* показывают способность индукции нумерических (анеуплоидии и полиплоидии) и структурных (повреждения, разрывы и инсерции) aberrаций хромосом. На основе этого можно следать вывод, что испытанные дозы имеют генотоксический эффект.

Ключевые слова: генотоксичность, цитотоксичность, анеуплоидии, полиплоидии, повреждения, разрывы, инсерции

ACIDOZA BURAGA: MOGUĆNOST PREVENIRANJA KORIŠĆENJEM MINERALNIH SMEŠA SA PUERNIM DEJSTVOM*

RUMEN ACIDOSIS: POSSIBILITIES OF PREVENTION USING OF MINERAL MIX WITH BUFFERING EFFECT

H. Šamanc, V. Stojić, M. Adamović, I. Vujanac, B. Petrujkić**

Poremećaji u procesima razlaganja hrane u predželucima i nastala acidoza prouzrokuju mnogobrojne patološke procese, uključujući i morfološke promene sluzokože buraga. Prvo se smanjuje motorička aktivnost predželudaca i usporava se pasaža sadržaja. Zatim nastaju ruminitis i parakeratoza. Kao posledica toga značajno se smanjuje resorptivna površina sluzokože buraga i stepen resorpcije proizvoda razlaganja hrane. Njihov smanjen priliv može da naruši metaboličku ravnotežu, pre svega stabilnost energetskeg metabolizma. Imajući u vidu da je kod acidoze buraga smanjen apetit, onda je sasvim razumljivo što je krajnji rezultat ovih poremećaja smanjena proizvodnja mleka.

U ovom radu se razmatraju novija saznanja o uzrocima nastanka i posledicama koje nastaju usled acidoze buraga, pre svega visoko proizvodnih krava u prva dva do tri meseca laktacije. Utvrđeno je da se acidoza buraga može uspešno da prevenira korišćenjem mineralnih smeša sa puernim dejstvom, na bazi bentonita, zeolita, magnezijum oksida i natrijum bikarbonata (Mix Plus). Uključivanje ove mineralne smeše u koncentrat (u količini od 1%) pored preveniranja acidoze buraga doprinosi povećanju količine mleka i sadržaja masti u mleku.

Ključne reči: krava, burag, acidoza, preventiva

Uvod / Introduction

U poslednje dve decenije sve je više publikacija u kojima se razmatraju mnogobrojni mehanizmi odgovorni za nastajanje acidoze buraga kod junadi

* Rad primljen za štampu 3. 4. 2006. godine

** Dr Horea Šamanc, redovni profesor, dr Velibor Stojić, redovni profesor, Ivan Vujanac, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Milan Adamović, naučni savetnik, ITNMS, Beograd, Branislav Petrujkić, dipl. vet. istraživač saradnik na projektu 6807

u tovu i krava u laktaciji. Acidoza buraga predstavlja poremećaj varenja hrane koga u osnovi karakteriše prekomerno nakupljanje mlečne kiseline u sadržaju buraga kao posledica ishrane prekomernim količinama lako svarljivih ugljenih hidrata. U sadržaju buraga progresivno se povećava broj bakterija koje proizvode mlečnu kiselinu, a opada zastupljenost vrsta koje za svoje metaboličke potrebe koriste ovu kiselinu.

Kvantitativne i kvalitativne promene u sastavu bakterijske flore su posledica naglih promena u hemijskom sastavu i elektrohemijskoj reakciji sadržaja buraga. *Streptococcus bovis* proizvodi mlečnu kiselinu u procesu razlaganja ugljenih hidrata i vrlo brzo postaje dominantna vrsta mikroorganizama u sadržaju buraga. Kako proces napreduje dalje, drastično se smanjuje zastupljenost *Megasphaera elsdenii* i *Selenomonas ruminantium*, kao i drugih vrsta bakterija, koje za svoje metaboličke potrebe, koriste mlečnu kiselinu. Pri daljem smanjenju elektrohemijske reakcije usporava se razmnožavanje bakterije *Streptococcus bovis*, ali zato laktobacili nastavljaju da proizvode mlečnu kiselinu i doprinose daljem povećanju koncentracije mlečne kiseline u sadržaju buraga. Na ovaj način se zaokružuje jedan niz lančanih reakcija koje se aktiviraju zbog unošenja hrane sa većim količinama lako svarljivih ugljenih hidrata [3, 12].

Kao što je već navedeno obroci krava u prvoj fazi laktacije sadrže značajno veće količine lako svarljivih ugljenih hidrata. Zbog toga u toku dana nastaju velike promene u elektrohemijskoj reakciji sadržaja buraga, a najniže vrednosti pH sredine se uočavaju u toku noći i u ranim jutarnjim časovima (dnevna kolebanja ili oscilacije elektrohemijske reakcije sadržaja buraga). Održavanje optimalnog nivoa kiselosti tečnog sadržaja buraga posebno je izraženo kod visokomlečnih krava u prvoj fazi laktacije, kada moraju da pojedu velike količine hrane. Odstupanje pH vrednosti sadržaja buraga od fizioloških vrednosti (6,2-6,8) ima kao posledicu nepovoljan uticaj na razvoj mikroflore buraga, a time i procese varenja hrane, što se negativno odražava na proizvodnju i sadržaj masti u mleku. Uzroci acidoze buraga najčešće su upotreba suviše vlažnih i kiselih hraniva, nedovoljno vlakana u obroku, veća količina sitno mlevenih ugljeno-hidratnih hraniva i manji broj hranjenja, odnosno suviše dug raspon između dva obroka. U ovakvim slučajevima sve više se smanjuje lučenje pljuvačke, koja je inače prirodni regulator elektrohemijske reakcije sadržaja buraga. Ovi problemi su posebno izraženi u letnjim mesecima, u vezanom sistemu držanja, kada se zbog visoke spoljašnje temperature naglo smanjuje količina pojedene hrane. Pod ovakvim uslovima hrana je podložna kvarenju, silaža refermentiše, stvaraju se plesni koje proizvode mikotoksine, što ceo problem čini većim i težim za rešavanje. Za održavanje pH buraga i stvaranje uslova za optimalan razvoj i funkciju mikroflore koriste se puferi koji imaju sposobnost neutralizacije povećane kiselosti sadržaja buraga. To su najčešće preparati na bazi prirodnih mineralnih sirovina kao što su bentonit, zeolit, magnezijum oksid i natrijum-bikarbonat i njima slični materijali. Dodaju se u krmne smeše u količini od 1 do 2 posto [1, 2, 5, 6, 10, 11, 17, 20, 21].

Pored toga što ovi materijali doprinose regulisanju kiselosti sadržaja buraga, ispoljavaju i druge korisne efekte. Magnezijum oksid doprinosi boljoj resorpciji sirćetne kiseline. Bentonit i zeolit vezuju mikotoksine, višak amonijaka, teške metale, radionuklide, suvišnu vodu i drugo. Bentonit pored navedenog usporava prolaženje hrane kroz digestivni trakt, što doprinosi njenom boljem varenju i iskorišćavanju [1, 16, 17].

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

U ogled su uključene dve grupe od po 129 krava (kontrolna i ogledna) holštajn rase na gazdinstvu Padinska Skela, PKB Korporacije. Krave su držane na vezu u staji zatvorenog tipa. Krave ogledne grupe, za razliku od kontrolne grupe, dobijale su krmnu smešu u koju je bila uključena mineralna smeša sa puferkim dejstvom u količini od 1 posto. Mineralna smeša na bazi prirodnih mineralnih sirovina (bentonit i zeolit), magnezijum oksid i natrijum bikarbonat (komercijalni naziv Mix PLUS) proizvedena je u Institutu za nuklearne i druge mineralne sirovine u Beogradu. Kontrola potrošnje hrane obavljena je svakodnevno, a pH sadržaja buraga je meren mesec dana nakon hranjenja krava krmnom smešom u koju je dodata mineralna smeša. Uzorci sadržaja buraga su uzimani u ranim jutarnjim časovima (5 h) i četiri časa posle davanja jutarnjeg obroka (10 h). Za uzimanje sadržaja buraga korišćena je specijalna sonda sa zatvaračem kako bi se onemogućilo mešanje sadržaja sa pljuvačkom prilikom sondiranja. Sadržaj buraga za ispitivanje je uziman od po 10 krava iz kontrolne i ogledne grupe. Elektrohemijska reakcija u uzorcima sadržaja buraga je merena na pH metru (WTW 330 i) neposredno posle uzorkovanja. Iz svakog uzorka sadržaja buraga odmah posle merenja elektrohemijske reakcije napravljen je nativni preparat za mikroskopski pregled. U vidnom polju su izbrojane prisutne infuzorije i procenjena je njihova pokretljivost. Istog dana merena je količina mleka i uzimani su uzorci mleka u kojima je utvrđivan sadržaj masti i proteina. Hemijska analiza mleka je izvedena automatskim aparatom Milkoskan.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Rezultati ispitivanja elektrohemijske reakcije pH sadržaja buraga krava kontrolne i ogledne grupe prikazani su u tabeli 1.

Iz prikazanih rezultata jasno se vidi da je korišćenje mineralne smeše Mix PLUS povoljano uticalo na pH sadržaja buraga pre jutarnjeg hranjenja i posle toga. To jasno ukazuje da prisustvo mineralne smeše u sadržaju buraga omogućava održavanje elektrohemijske reakcije u kontinuitetu u fiziološkim granicama ($x = 6,79 \pm 0,89$ do $6,92 \pm 1,01$). Praktično, vrednost pH sadržaja buraga je stabilna i približno ista pre i posle uzimanja obroka. Osim toga, kod ove grupe krava bile su veoma male pojedinačne razlike, što nije bio slučaj kod krava kontrolne grupe, kod kojih je pH sadržaja buraga bio na donjoj fiziološkoj granici, a

kod nekih životinja ispod te granice ($6,01 \pm 2,8$ do $6,25 \pm 1,5$). U takvim slučajevima životinje ne uzimaju dovoljno hrane u jutarnjem obroku i najčešće velike količine hrane ostaju u jaslama sve do davanja narednog obroka (slika 1 i 2). Slične rezultate, pri korišćenju iste mineralne smeše, u ishrani krava u ranoj laktaciji utvrdili su Adamović i sar [1] i Vujanac i sar [19].

Tabela 1. *Elektrohemijska reakcija (pH) sadržaja buraga krava pre i posle uzimanja hrane*
Table 1. *Electrochemical reaction (pH) of rumen content before and after taking feed*

Vreme uzimanja sadržaja buraga / Time of taking rumen content	pH sadržaja buraga / pH of rumen content		Statistička značajnost / Statistical significance
	Ogledna grupa / Experimental group (n 10)	Kontrolna grupa / Control group (n 10)	
Pre davanja hrane (5 h) / Before administration of feed (5 h)	$6,79 \pm 0,89^*$	$6,25 \pm 1,5$	$p < 0,05$
Posle davanja hrane (10 h) / After administration of feed (10 h)	$6,92 \pm 1,01$	$6,01 \pm 2,8$	$p > 0,05$



Slika 1. Krmni sto krava ogledne grupe
četiri časa nakon hranjenja
Figure 1. Feeding floor of experimental group of cows
4 hours after feeding



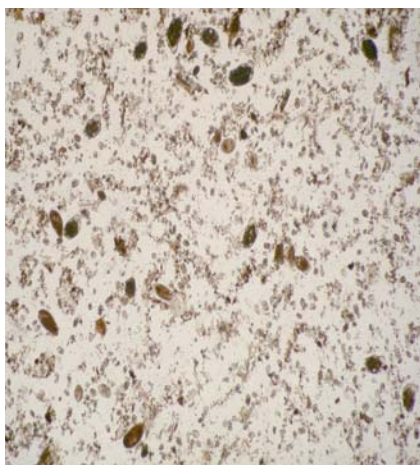
Slika 2. Krmni sto krava kontrolne grupe
četiri časa nakon hranjenja
Figure 2. Feeding floor of control group of cows
4 hours after feeding

Ovi podaci upućuju na zaključak da planskoj ishrani krava na početku laktacije treba da prethodi prelazni period prilagođavanja organa za varenje,

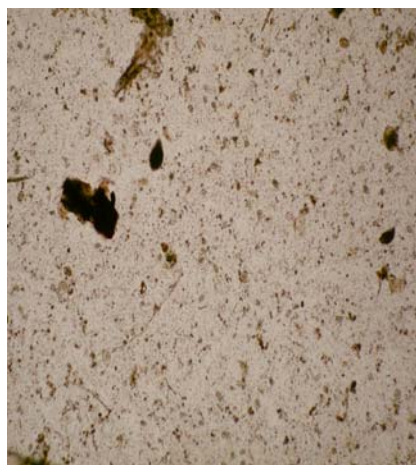
posebno predželudaca, na ishranu velikim količinama koncentrovane hrane. U prilog tome govori i činjenica da pri nastajanju acidoze buraga koliko god da je važno nekontrolisano stvaranje velike količine mlečne kiseline, isto toliko je značajno i to što je koriste neke vrste bakterija. Zbog toga neki istraživači konstatuju da u etiologiji acidoze buraga podjednak značaj imaju i *Streptococcus bovis* i *Megasphaera elsdenii* [9]. Kao što je poznato *Megasphaera elsdenii* ne može da razlaže skrob, dok *Streptococcus bovis* raspolaže enzimima kojima razlaže skrob do maltoze. Oba ova mikroorganizma mogu dalje da razlažu maltozu, stim što *Streptococcus bovis* proizvodi mlečnu kiselinu, dok *Megasphaera elsdenii* je koristi za svoje metaboličke potrebe. Step en efikasnosti korišćenja maltoze kod dve vrste mikroorganizama zavisi od elektrohemijske reakcije sadržaja buraga [9, 12, 16]. Ukoliko je pH kiseline daleko su povoljniji uslovi za razlaganje maltoze pod uticajem bakterije *Streptococcus bovis*. Pošto se tom prilikom oslobađaju velike količine mlečne kiseline pH sadržaja buraga postaje još kiseli i samim tim populacija ove vrste bakterija se sve više brojno povećava. Na drugoj strani, naglo se smanjuje prisustvo bakterija koje mogu da koriste mlečnu kiselinu, pogotovo *Megasphaera elsdenii* koja treba da je najaktivnija u tom periodu. To praktično znači da u optimalnim uslovima varenja, bakterije za svoje potrebe mogu da koriste mlečnu kiselinu, a pri tome samo male količine da ostanu, resorbuju se i uključe u druge metaboličke tokove. U takvim uslovima elektrohemijska reakcija sadržaja buraga i krvi bitno se ne menja u odnosu na fiziološke vrednosti. Kada se poremete procesi varenja i stvaraju velike količine mlečne kiseline, pH sadržaja opada niže od 5,5, smanjuje se motorička aktivnost i usporava pasaja sadržaja iz buraga, pa se zato smanjuje resorpcija hranljivih materija i sve više povećava opasnost od opšte acidoze. Ključni regulatorni činilac za očuvanje acido-bazne ravnoteže buraga je svakako bikarbonatni pufer. Međutim, u uslovima acidoze buraga, smanjuje se lučenje pljuvačke i zbog toga mnogo manje količine bikarbonata dospevaju u sadržaj buraga. Efikasnost prispele, ali mnogo manje količine bikarbonata, skoro je bez značaja zbog nastale atonije predželudaca i nedovoljnog mešanja sadržaja u buragu. Zbog atonije se smanjuje stepen resorpcije nastalih kiselina i potpuno minimizira uloga bikarbonatnog pufera. Bentonit i zeolit se ubrajaju u grupu prirodnih alumosilikatnih minerala koji imaju izraženu površinsku aktivnost, koja je posledica površinskog naelektrisanja. Njihova hemijska aktivnost može da se kontroliše i usmerava, što im daje mogućnost široke primene. Hemijska stabilnost osnovne strukture, pri različitim pH vrednostima, kao i bazne hemijske osobine čini ih interesantnim i za primenjivanje u industriji stočne hrane, odnosno u ishrani domaćih životinja. Obe grupe ovih minerala imaju puferku aktivnost.

U kiseloj sredini katjonskom izmenom vežu H^+ jon a oslobađaju kation koji se prirodno nalazi u izmenljivom položaju, što kao rezultat ima povećanje pH sredine. Ove promene se dešavaju samo dok se ne postigne neutralna sredina (pH 7). Pri povećanju pH i prelaskom u alkalnu sredinu, prisustvo ovih minerala uzrokuje sniženje pH na neutralnu vrednost. Rivera i sar [11], dokazali su

da zeolit ima tendenciju da neutrališe vodenu sredinu bez obzira da li treba da služi kao donor ili akceptor protona, što ukazuje na njegov amfoterni karakter. Ovo je naročito važno kada se ovi minerali upotrebljavaju zajedno sa MgO, kao što je slučaj u ovom istraživanju. Prisustvo MgO (Mg(OH)_2) u vodenoj sredini uzrokuje povišenje pH i prelazak u alkalnu sredinu, što nije poželjno. Upotrebom mineralne smeše sačinjene od bentonita, zeolita, magnezijum-oksida i natrijum bikarbonata obezbeđuju se uslovi da sredina u buragu bude optimalna.



Slika 3. *Nativni preparat sadržaja buraga krava ogledne grupe*
Figure 3. *Native preparation of rumen content of experimental cows*



Slika 4. *Nativni preparat sadržaja buraga krava kontrolne grupe*
Figure 4. *Native preparation of rumen content of control cows*

Osim što prouzrokuje kvalitativne i kvantitativne promene bakterijske flore, acidoza utiče i na brojnu zastupljenost i pokretljivost infuzorija u sadržaju buraga [10]. Ispitivanje prisustva infuzorija u nativnim preparatima uzoraka sadržaja buraga ustanovljene su značajne razlike između rezultata dobijenih kod krava kontrolne i ogledne grupe. Kod krava kontrolne grupe značajno je manji broj infuzorija u vidnom polju ($n=8$), pogotovu male i srednje veličine dok velikih ima veoma malo, jedna do dve u vidnom polju. Kod krava ogledne grupe u pregledanim uzorcima je ustanovljeno tri puta više infuzorija u vidnom polju ($n=24$) i zastupljene su sve tri vrste: male, srednje i velike. Za razliku od krava kontrolne grupe, kod kojih su infuzorije u uzorcima buraga malobrojne i slabo pokretljive, kod krava ogledne grupe infuzorije su „živahne” i veoma pokretljive (slika 3 i 4).

Rezultati ispitivanja dnevne količine i sastava mleka tridesetog dana ogleda kod krava kontrolne i ogledne grupe prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Količina i sastav mleka
Table 2. Quantity and composition of milk

Pokazatelj / Indicator	Kontrolna grupa / Control group	Ogledna grupa / Experimental group	Indeks kontrola=100 / Control index=100
Namuženo mleko, kg/kravi/dan / Milked milk, kg/cow/day	24,24	25,74	106,17
Korigovano mleko (4% masti), kg/kravi/dan / Corrected milk (4% fat), kg/cow/day	21,53	23,94	111,19
Mlečna mast, % / Milk fat, %	3,39	3,53	104,12
Mlečna mast, kg/dan / Milk fat, kg/day	0,822	0,909	110,58
Proteini, % / Proteins, %	2,88	2,89	100,34
Proteini, kg/dan / Proteins, kg/day	0,698	0,744	106,59

Iz prikazanih rezultata u tabeli 2 jasno se uočava da dodatak mineralne smeše pozitivno utiče i na količinu namuženog mleka, odnosno korigovanog mleka na 4 posto masti (kg/kravi/dan). Dnevna količina korigovanog mleka na 4 posto masti je za 11,19 posto veća kod krava ogledne u poređenju sa dobijenom količinom kod krava kontrolne grupe. Potpuno je ista situacija i kada je u pitanju količina mlečne masti (kg/dan). Ostvareni rezultati o količini i sastavu mleka približni su onima koje su, koristeći slične dodatke sa puferskim dejstvom Garsia i sar [7, 8], Nikkha i sar [11] i Adamović i sar [1].

Zaključak / Conclusion

Acidoza buraga je veoma značajan patofiziološki poremećaj krava u intenzivnom uzgoju, pogotovo u ranoj fazi laktacije kada se u ishrani koriste visoko energetska koncentrovana hraniva. Korišćenje mineralne smeše na bazi bentonita, zeolita, magnezijum oksida i natrijum bikarbonata stabilizuje i održava pH sadržaja buraga u fiziološkim granicama (6,79 do 6,92) i sprečava nastajanje acidoze buraga. Kod krava kontrolne grupe pH sadržaja buraga je bio na donjoj fiziološkoj granici (6,01 do 6,25), a kod nekih životinja niže od te granice. Dodavanjem ove mineralne smeše u koncentrat (1 %) obezbeđuju se povoljni uslovi za aktivnost i brojnu zastupljenost svih vrsta infuzorija u sadržaju buraga. Dnevna količina proizvedenog mleka i dobijene mlečne masti je za 10 posto veća kod krava ogledne u odnosu na krave kontrolne grupe.

Literatura / References

1. Adamović M., Tomašević-Čanović Magdalena, Daković Aleksandra, Lemić J., Grubić G., Adamović O., Stojanović B., Radivojević M.: X simpozijum „Tehnologija hrane za životinje”, V. Banja, 2003. - 2. Aldrich J. M., Muller L. D., Varga G. A., Griel L. C.: J. Dairy Sci., 76, 1091, 1993. - 3. Dirksen G.: Rumen function and disorders related to production disease, Page 350 in Proc. VII Int. Conf. Dis. Farm Anim. Cornell Univ., Ithaca, 1989. - 4. Eng K.S., Bechtel R.R., Hutcheson D.: Pres. Eng. Inc. San Antonio Texas 15-25, 2002. - 5. Galindo J., Elias A., Cardero J.: Cuban. J. Agric. Sci. 16, 277, 1984. - 6. Galindo J., Elias A., Michelena B. J., Morffi N.: J. Agric. Sci. 24, 177, 1990. - 7. Garcia Lopez R., Elias A., Perezdelapaz J., Gonzales G.: The utilization of zeolite by dairy cows. I. The effects of milk composition Cuban. J. Agric. Sci. 22, 23, 1988. - 8. Garcia Lopez R., Elias A., Menchaca M. A.: The utilization of zeolite by dairy cows. II. Effect on milk composition. Cuban. J. Agric. Sci. 26, 131, 1992. - 9. Kung L., Hession A. O.: J. Anim. Sci., 73, 250, 1995. - 10. Nikkhah A., Goodarzi R., Mraie Ashtiani: Iranian journal of agricultural sciences 31. Teheran, 2000. - 11. Nikkhah A., Safamehr R., Moradi M.: Vol. 135. Elsevier edition. 13th International Zeolite Conference, zeolites and mesoporus materials at the dawn of 21st century Montpellier, France, 2001. - 12. Nocek E. J.: J. Dairy Sci., 80 1005, 1997. - 13. Rivera A., Rodriguez-Fuentes G., Altshuler E.: Microporus, Mesoporus Materials 40, 173-179, 2002. - 14. Robinson J. A., Smolenski W. J., Greening R. C., Ogilvie M. L., Bell R. L., Barsuhn K., Peters J. P.: J. Anim. Sci., 70 (Suppl.1), 1992. - 15. Russell J. B.: Ecology of rumen microorganisms: energy use. Page 74 in Aspects of digestive Physiology and Ruminantes, Proc. 30 Int. Congr., Cornell Univ. Press, Ithaca, 1986. - 16. Russell J.B., Sharp W. M., Baldwin R. L.: J. Anim. Sci., 48, 251, 1979. - 17. Sanders K. J., Richardsom C. R., Holthaus D. L.: J. Anim. Sci. 74 (suppl.1), 1996. - 18. Tomašević-Čanović Magdalena, Daković Aleksandra, Matijašević S., Radosavljević-Mihajlović Ana, Adamović M., Stojišić D.: Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, 9., 1, 343-352, Beograd, 2003. - 19. Tomašević-Čanović Magdalena, Dumić M., Olivera Vukićević, Aleksandar Daković, Milošević S., Avakumović Đ., Rajić I.: Organski modifikovani klinoptilolitsko hejlanditski tuf, organomineralni adsorbent mikotoksina – postupak za proizvodnju i primenu, Patent P-838/00, 2000. - 20. Vicini J. L., Cohick W. S., Clark J. H., McCutcheon S. N., Bauman D.E.: J. Dairy Sci. 71, 1232, 1988. - 21. Vujanac I., Adamović M., Šamanc H., Petrujković B., Dimitrijević B.: 7th Clinica Veterinaria, 284-288, Ohrid, 2005.

ENGLISH

RUMEN ACIDOSIS: POSSIBILITIES OF PREVENTION USING MINERAL MIX WITH BUFFERING EFFECT

H. Samanc, V. Stojic, M. Adamovic, I. Vujanac, B. Petrujkic

Rumen acidosis is a very important pathophysiological disorder in intensive productive dairy cows, it is mostly a problem in early lactation when highly concentrated feeds are used in nutrition. The use of mineral salt mix based on bentonite, zeolite, magnesium oxide and sodium bicarbonate stabilizes and maintains pH of ruminal fluid in physiological values (6,79 to 6,92) and prevents the occurrence of rumen acidosis. In cows in the control group, the pH of ruminal fluid was at a low physiological level (6.01 to 6.25) and in some animals even lower.

By adding this mixture of mineral salts to the concentrated part of feed (1%) optimal conditions are provided for activity and adequate numerous distribution of all species of infusoria in the rumen. The daily amount of milk produced and milk fat as well was 10 percent bigger in the experimental compared to the control group of cows.

Key words: cow, rumen, acidosis, prevention

РУССКИЙ

АЦИДОЗ РУБЦА: ВОЗМОЖНОСТЬ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ПОЛЬЗОВАНИЕМ МИНЕРАЛЬНЫХ СМЕСЕЙ С БУФЕРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Х. Шаманц, В. Стоич, М. Адамович, И. Вуянац, Б.Петруйкич

Ацидоз рубца очень значительное патофизиологическое нарушение коров в интенсивном выращивании, почти в ранней фазе лактации, когда в кормлении пользуются высоко энергетические концентрированные корма. Пользование минеральной смеси на базе бентонита, zeолита, окиси магния и бикарбоната натрия стабилизирует и одерживает *pH* содержания рубца в физиологических границах (6,78 до 6,92) и предупреждает возникновение ацидоза рубца. У коров контрольной группы *pH* содержания рубца было на нижней физиологической границе (6,01 до 6,25), а у некоторых животных ниже той границы. Добавление этой минеральной смеси в концентрат (1%) обеспечивает благоприятные условия для активности и численную представленность всех видов инфузорий в содержании рубца. Дневное количество произведённого молока и полученного молочного жира 10 процентно больше у коров опытной в отношении коров контрольной группы.

Ключевые слова: коровы, ацидоз рубца, предупреждения

**ISPITIVANJE MULTIREZISTENCIJE *E. COLI* I
SALMONELLA KOJE POTIČU OD DOMAĆIH ŽIVOTINJA NA
ANTIBIOTIKE I HEMIOTERAPEUTIKE***

**INVESTIGATIONS OF MULTIRESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND
CHEMOTHERAPEUTICS AND EXTENDED SPECTRUM BETA-
LACTAMASE EFFECT (ESBL TEST) IN STRAINS *E. COLI* AND
SALMONELLA ORIGINATING FROM DOMESTIC ANIMALS**

D. Mišić, Zorica Stošić, F. Kiškarolj, V. Adamov, Ružica Ašanin**

Ispitivano je prisustvo multirezistencije na antibiotike i hemioterapeutike i beta laktamaze proširenog spektra delovanja kod 45 sojeva *E. coli* i 35 sojeva *Salmonella*. Sojevi *E. coli* su poticali od više vrsta domaćih životinja: pasa, mačaka, živine i goveda, a 30 sojeva *salmonela* poticalo je od živine, četiri soja od goveda i jedan soj od svinja. Serološkom determinacijom ustanovljeno je prisustvo navedenih serovarijeteta: *Salmonella* Enteritidis 17 sojeva, *Salmonella* Gallinarum 1 soj, *Salmonella* Hartford 5 sojeva, *Salmonella* Anatum 1 soj, *Salmonella* Typhimurium 4 soja, *Salmonella* Agona 1 soj, *Salmonella* Infantis 1 soj, *Salmonella* Thompson var. Berlin 1 soj, *Salmonella* Tennessee 1 soj, *Salmonella* Senftenberg 1 soj, *Salmonella* Glostrup 1 soj i *Salmonella* Hadar 1 soj. Za ispitivanje navedenih sojeva su korišćeni antibiogram diskovi ampicilina, amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, cefaleksina, ceftriaksona, cefotaksima, ceftazidima, aztreonama, gentamicina, hloramfenikola, tetraciklina, ciprofloksacina i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima. Najniža prevalencija multirezistencije kod sojeva *E. coli* na tri ili više antibiotika ustanovljena je kod pasa 20 posto, a najviša kod 60 posto sojeva koji potiču od svinja. Kod 62,88 posto sojeva *salmonela* ustanovljena je osetljivost na sve primenjene antibiotike. Rezistencija je utvrđena kod malog broja ispitivanih sojeva i to na

* Rad primljen za štampu 16. 3. 2006. godine

** Mr Dušan Mišić, asistent, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dipl. veterinar Zorica Stošić, spec. mikrobiologije, Veterinarski specijalistički institut „Šabac“, Šabac; dipl. veterinar Ferenc Kiškarolj, spec. mikrobiologije, Veterinarski specijalistički institut „Subotica“, Subotica; dipl. veterinar Vladica Adamov, Veterinarski specijalistički institut „Zrenjanin“, Zrenjanin; dr Ružica Ašanin, redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

ampicilin (11 sojeva), na tetraciklin (5 sojeva), na amoksisicilin sa klavulanskom kiselinom (5 sojeva) na sulfametoksazol sa trimetoprimom (5 sojeva), na gentamicin (3 soja) i na hloramfenikol (1 soj). Od svih ispitanih sojeva *salmonela*, 6 sojeva koji potiču od živine ispoljilo je multirezistenciju.

Prisustvo beta-laktamaza proširenog spektra delovanja ispitano primenom ESBL testa nije ustanovljeno kod sojeva *E. coli* i *Salmonella*.

Ključne reči: *salmonela*, *E.coli*, rezistencija, ESBL test

Uvod / Introduction

Upotreba antibiotika kod životinja predmet je velike zabrinutosti i straha čovečanstva od pojavljivanja novih multirezistentnih sojeva bakterija potencijalno opasnih po zdravlje ljudi. U lancu ishrane postoji veliki rizik od prenošenja multirezistentnih patogenih uzročnika sa životinja na ljude. Geni rezistencije koji potiču od bakterija iz digestivnog sistema životinja lako mogu da se inkorporišu u genom uzročnika bolesti ljudi. Sve češći su primeri infekcija životinja izazvanih multirezistentnim uzročnicima kod kojih se javlja problem u sprovođenju terapije, a shodno tome nameće se i etičko pitanje da li bolesne životinje uopšte treba da se leči ili neškodljivo uklone.

Prvi slučajevi rezistencije bakterija kao posledice upotrebe antibiotika kod životinja otkriveni su 1959. godine u Velikoj Britaniji kod sojeva *E. coli*. Rezistencija na tetraciklin utvrđena je kod sojeva *E. coli* izolovanih od svinja i to istovremeno na nekoliko različitih i geografski udaljenih farmi. S obzirom da se tetraciklin dodavao stočnoj hani kao promoter rasta bilo je lako da se utvrdi da je razlog ovoj pojavi upravo prisustvo tetraciklina u hranivu. Odmah, tokom šezdesetih godina prošloga veka obavljena su dalja ispitivanja pojavljivanja rezistencije u Velikoj Britaniji kod bakterija i izolovani su sojevi *E. coli* rezistentni na ampicilin i sulfonamide, pored tetraciklina i to kako kod prasadi, tako i kod pilića. Osim toga, ustanovljeno je tada i pojavljivanje rezistencije sojeva *E. coli* koji potiču od svinja i pilića i na farmama na kojima se uopšte nisu dodavali antibiotici u stočnu hranu. Takođe je ustanovljena kontinualna rezistencija na tetraciklin i ampicilin kod sojeva *E.coli* u dužem vremenskom periodu nakon što su ovi antibiotici izbačeni iz upotrebe kao promoteri rasta. Kasnije je ustanovljeno da se rezistencija izrazito lako širi preko drugih vrsta životinja, posebno miševa, mačaka i pasa, ali i preko ljudi koji su prethodno dolazili u dodir sa životinjama nosiocima rezistentnih sojeva *E.coli*.

Danas je poznato da najkasnije tri godine od uvođenja novog antibiotika u lečenje obolelih životinja ili kao promotera rasta nastaje pojavljivanje rezistentnih sojeva bakterija na taj antibiotik. Pri tome se pojava novih oblika rezistencije gotovo uvek otkrije najpre kod *E.coli*. Kako se u svetu obavljaju opsežna ispiti-

vanja prisustva rezistentnih sojeva bakterija kod životinja, u literaturi mogu da se nađu veoma različiti i obimni rezultati koji se odnose na ovu problematiku. Svi oni ukazuju na to da se rezistencija kod *E. coli* i drugih bakterija javlja proporcionalno vrsti i količini antibiotika kojima se tretiraju životinje koje se ispituju.

Za razliku od *E. coli*, najveći broj izolovanih sojeva *Salmonella Enteritidis* koji potiče od ljudi i životinja osetljiv je na većinu antibiotika, odnosno najčešće nema rezistencije. Naime, uzročnik salmoneloze ljudi u najvećem broju slučajeva je *Salmonella Enteritidis* koja potiče od živine. Kako navedeni uzročnik uglavnom ne izaziva kliničke simptome kod inficiranih jedinki, terapijski tretman antibioticima se ne sprovodi, pa nema selektivnog pritiska i shodno tome i rezistencija na antibiotike retko se javlja kod sojeva *S. Enteritidis*.

Sporadično se, međutim, javljaju epidemije izazvane sojevima *Salmonella* vrsta pojačane virulencije i patogenosti kao što je to bio slučaj sa *S. Typhimurium* DT 204 i DT 193 koji su uzrokovali ozbiljne kliničke simptome kako kod ljudi, tako i kod životinja, tokom nekoliko epidemija u Evropi i SAD-u, od 1963. do 1969. godine, a potom 1977. i 1980. godine. Iz tog razloga, sve inficirane životinje su bile tretirane visokim dozama antibiotika, što je uzrokovalo veliki selektivni pritisak i nastajanje multirezistentnih sojeva *Salmonella Typhimurium*. Iz fecesa goveda je 1994. godine izolovan još jedan multirezistentan soj *S. Typhimurium* DT 104 koji se preko lanca ishrane proširio na populaciju ljudi i izazvao nekoliko ozbiljnih epidemija skoro istovremeno u Kanadi, SAD-u i zemljama Evropske unije. Soj karakteriše rezistencija na ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, tetraciklin i kanamicin, a rezervoari su bile ovce, koze, svinje, telad, živina, pa čak i konji. Zbog nemogućnosti izlječenja ljudi navedenim antibioticima, u terapiji su primenjivani ciprofloksacin i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima. Međutim, došlo je do razvoja rezistencije i na ove antibiotike i hemioterapeutike tako da kada se 1998. godine epidemija proširila i na Dansku, oboleli ljudi nisu mogli da se izleče postojećim antibioticima, zbog čega se i dogodilo nekoliko smrtnih slučajeva. Ispitivanjem je otkriveno da su rezervoar infekcije u Danskoj bile svinje, a *Salmonella Typhimurium* DT 104 se ističe kao jedan od školskih primera posledica upotrebe antibiotika kao promotera rasta kod životinja. I pored toga pojavljivanje rezistentnih sojeva salmonela je vrlo retko i ove bakterije se svrstavaju u „antibiotik predvidive“ bakterije.

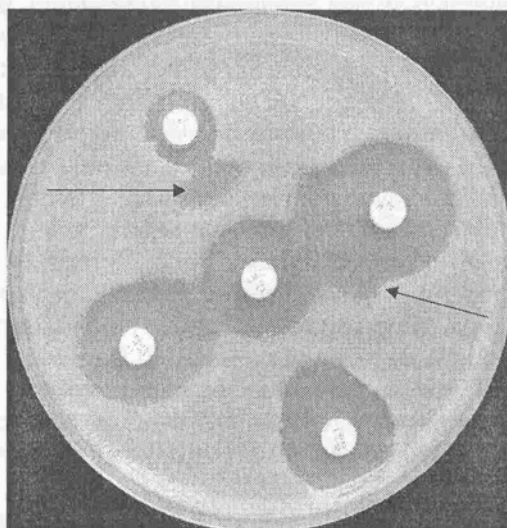
Bez obzira na navedene činjenice, u poslednjih nekoliko godina, otkriveni su sojevi bakterija sa skrivenim mehanizmom rezistencije, odnosno sojevi koji stvaraju beta-laktamaze proširenog spektra delovanja, skraćeno BLPS (ili ESBL od engleskog izraza „extended spectrum beta-lactamases“). Ove enzime proizvode bakterije iz familije *Enterobacteriaceae*, najčešće *Klebsiella pneumoniae*, mada su nađeni i kod skoro svih enterobakterija, uključujući *E. coli* i *Salmonella* vrste.

Sojevi koji stvaraju BLPS, otporni su na sve beta-laktamske antibiotike izuzev karbapenema i u nekim slučajevima cefamicina. Pošto se standardnim disk difuzionim testom po Kirby Baueru koji se koristi u rutinskom ispitivanju oset-

Ijivosti bakterija na antibiotike ovaj mehanizam ne može da otkrije, predloženo je više pomoćnih metoda za njegovo otkrivanje. Sojevi bakterija koji stvaraju BLPS delovanja ispitane disk difuzionim testom mogu da budu osetljivi na peniciline, cefalosporine i aztreonam, dok u uslovima *in vivo* navedeni sojevi pokazuju rezistenciju na ove antibiotike. Ovaj test je posebno značajan u humanoj medicini, zato što u slučaju da se ne otkrije BLPS delovanje može da se dovede u pitanje život pacijenata inficiranih ovim sojevima.

Produkcija BLPS se dokazuje dvostrukim disk difuzionim testom (ESBL testom) ili takozvanim „produženim antibiogramom” na osnovu sinergizma između amoksicilina sa klavulanskom kiselinom i nekog od cefalosporina III generacije, najčešće cefotaksima i ceftazidima. Kada je zona inhibicije oko ceftazidima ili cefotaksima proširena na strani amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, zaključuje se da soj stvara BLPS (slika 1).

Pozitivni sojevi BLPS proglašavaju se rezistentnim na sve peniciline i cefalosporine i pored njihove eventualne osetljivosti na ove antibiotike koja je utvrđena primenom disk difuzionog testa.



Slika 1. Izgled pozitivnog ESBL testa
Figure 1. Positive ESBL test

Objašnjenje / Explanation. Na slici može da se vidi da su oko diska amoksicilina sa klavulanskom kiselinom postavljeni ceftazidim, cefotaksim, ceftriakson i aztreonam. Zone inhibicije rasta bakterije oko svih postavljenih antibiotika proširene su na strani amoksicilina sa klavulanskom kiselinom. Proširenje je naročito izraženo kod diskova aztreonama i cefotaksima.

Prvi prijavljeni slučajevi izolovanja sojeva *S. Enteritidis* iz organizma obolelih ljudi koji su proizvodili β -laktamaze proširenog spektra datiraju početkom osamdesetih godina prošloga veka i sve do sredine devedesetih godina vesti o novim ESBL pozitivnim sojevima *Salmonella* stizale su isključivo iz SAD-a. Prvi ustanovljeni slučajevi izolacije ESBL sojeva salmonela iz organizma obolelih ljudi u Evropi i Africi datiraju iz 1995. godine, a izveštaji o otkrivenim ESBL sojevima salmonela kao i drugih enterobakterija kod životinja počeli su da pristižu tek krajem devedesetih godina prošloga veka i početkom ovoga veka. Značaj ispitivanja prisustva BLPS pozitivnih sojeva *E. coli* i *Salmonella* kod životinja ogleda se u mogućnosti transfera gena odgovornih za produkciju beta-laktamaza proširenog spektra delovanja sa ovih sojeva na patogene uzročnike bolesti ljudi.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ispitivanje prisustva multirezistencije na antibiotike i beta-laktamaze proširenog spektra delovanja izvedeno je na sojevima *E. coli* i *Salmonella*, koji potiču od pasa, mačaka, goveda, svinja i živine. Ispitivani sojevi bakterija poreklom od pasa i mačaka izolovani su kako od zdravih, tako i bolesnih jedinki različitih rasa i starosnih kategorija i to iz uzoraka fecesa, vaginalnih briseva, urina, briseva očiju, ušiju i kože. Izolacija je obavljena iz kliničkog materijala dostavljenog u laboratoriju u periodu od 2004. do 2005. godine. Ispitivani sojevi bakterija koji potiču od goveda, svinja i živine izolovani su iz uzoraka fecesa zdravih jedinki različitih starosnih kategorija, zatim od jedinki mlađih kategorija koje su imale dija-reju, kao i iz uzoraka unutrašnjih organa uginulih jedinki. Određeni broj sojeva iz rodova *Salmonella* spp. i *Escherichia* spp. uključenih u ispitivanje predstavljali su izolate iz kliničkih materijala dostavljenih zahvaljujući kolegama iz specijalističkih veterinarskih instituta Srbije.

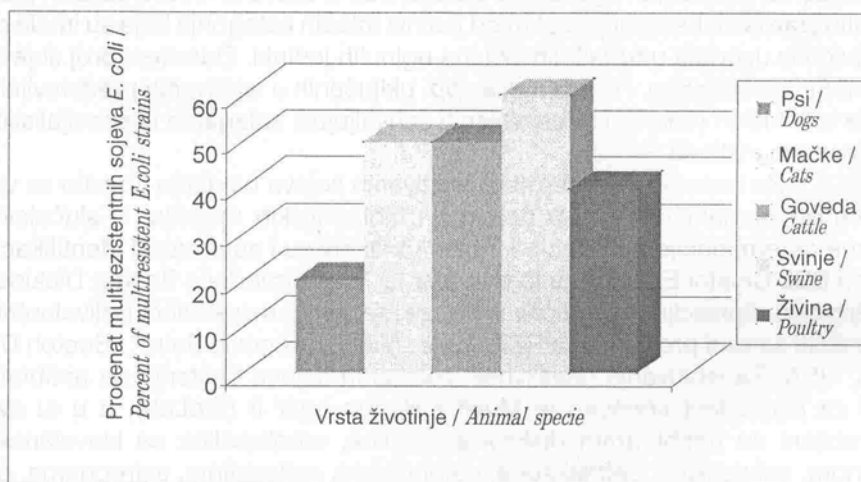
Za izolaciju i identifikaciju ispitivanih sojeva bakterija koristio se veliki broj konvencionalnih hranljivih podloga i biohemijskih reakcija. U slučajevima otežane determinacije određenih sojeva, korišćeni su i automatski identifikacioni sistemi BBL Crystal Enteric/nonfermenter ID Kit proizvođača Becton Dickinson. Za serološku tipizaciju *Salmonella* vrsta upotrebljeni su specifični polivalentni dijagnostički serum i proizvođača RZZ Srbije „Milan Jovanović Batut” i Becton Dickinson, USA. Za ispitivanje osetljivosti izolovanih sojeva bakterija na antibiotike, kao i za ESBL test korišćen je Mueller Hinton agar II (BioLab), a u tu svrhu upotrebljeni su antibiogram diskovi ampicilina, amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, cefaleksina, ceftriaksona, cefotaksima, ceftazidima, aztreonama, gentamicina, hloramfenikola, tetraciklina, ciprofloksacina i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima (Becton Dickinson, USA). Izolacija i identifikacija sojeva *E.coli* i *Salmonella* obavljene su primenom klasičnih mikrobioloških metoda. Osetljivost na antibiotike ispitana je disk difuzionom metodom po Kirby Baueru.

S obzirom da ne postoji optimalna metoda za ispitivanje BLPS pozitivnih sojeva enterobakterija, primenjen je pomoćni ESBL test prema preporukama NCCLS (američki Nacionalni komitet za kliničke laboratorijske standarde) iz 2004. godine. Ovaj test se izvodi tako što se disk amoksicilina sa klavulanskom kiselinom postavi u sredinu MH agara, a na 3 cm udaljenosti od ovog diska postavljaju se diskovi ceftazidima i cefotaksima. Posle inkubacije od 18 časova na temperaturi od 35°C do 37°C izvodi se očitavanje i procenjivanje dobijenih rezultata.

Rezultati / Results

Ukupno je ispitano 45 sojeva *E. coli* i to 10 koji potiču od svinja, 9 od pasa, 6 od mačaka, 10 od živine i 10 od goveda. Izbor antibiotika bazirao se najčešće na preparatima koji se najčešće koriste, koji su registrovani za upotrebu u veterini u našoj zemlji, ali se takođe vodilo računa i o tome da se upotrebljeni antibiotici nalaze na listi za lečenje infekcija izazvanih enterobakterijama na osnovu preporuka NCCLS iz 2004. godine. Svi sojevi koji su bili rezistentni na tri ili više antibiotika, kategorizovani su kao „multirezistentni“.

Najniža prevalencija multirezistencije na tri ili više antibiotika kod sojeva *E. coli* koji potiču od pasa ustanovljena je kod 20 posto sojeva, dok je multirezistencija ustanovljena kod 60 posto sojeva *E. coli* koji potiču od svinja (tabela 1 i grafikon 1).



Grafikon 1. Prevalencija multirezistentnih sojeva *E. coli* koji potiču od domaćih životinja / Graph 1. Prevalence of multiresistant strains of *E. coli* originating from domestic animals

Tabela 1. Procenat multirezistentnih sojeva *E. coli* u odnosu na ukupan broj ispitanih sojeva
Table 1. Percent of multiresistant strains of *E. coli* against total number of examined strains

Vrsta životinje Animal specie	Procenat multirezistentnih sojeva <i>E. coli</i> / Percent of multiresistant strains of <i>E. coli</i>	Rezistencija na 3 antibiotika / Resistance to 3 antibiotics, %	Rezistencija na 4 antibiotika / Resistance to 4 antibiotics, %	Rezistencija na 5 antibiotika / Resistance to 5 antibiotics, %	Rezistencija na 6 antibiotika / Resistance to 6 antibiotics, %	Rezistencija na 7 antibiotika / Resistance to 7 antibiotics, %	Rezistencija na 8 antibiotika / Resistance to 8 antibiotics, %
Psi / Dogs	20	0	10	0	0	0	10
Mačke / Cats	50	0	0	16	34	0	0
Goveda / Cattle	50	10	20	20	0	0	0
Svinje / Swine	60	40	20	0	0	0	0
Živina / Poultry	40	20	10	10	0	0	0

Ispitivanje salmonela obuhvatilo je ukupno 35 sojeva i to 30 koji potiču od živine, četiri od goveda i jedan od svinja. Serološkom determinacijom ustanovljeno je prisustvo navedenih serovarijeteta: *Salmonella Enteritidis* 17 sojeva, *Salmonella Gallinarum* 1 soj, *Salmonella Hartford* 5 sojeva, *Salmonella Anatum* 1 soj, *Salmonella Typhimurium* 4 soja, *Salmonella Agona* 1 soj, *Salmonella Infantis* 1 soj, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 soj, *Salmonella Tennessee* 1 soj, *Salmonella Senftenberg* 1 soj, *Salmonella Glostrup* 1 soj, *Salmonella Hadar* 1 soj.

Od svih ispitanih sojeva salmonela kod 62, 88 posto ustanovljena je osetljivost na sve primenjene antibiotike. Rezistencija je utvrđena kod malog broja ispitivanih sojeva na ampicilin (11 sojeva), na tetraciklin (5 sojeva), na amoksicilin sa klavulanskom kiselinom (5 sojeva), na sulfametoksazol sa trimetoprimom (5 sojeva), na gentamicin (3 soja) i na hloramfenikol (1 soj). Od svih ispitanih sojeva salmonela, samo kod 6 sojeva (17,15%) utvrđena je multirezistencija i svi su poticali od živine.

Primenom ESBL testa nije ustanovljeno prisustvo beta-laktamaza proširenog spektra delovanja ni kod jednog od ispitivanih sojeva *E.coli* i *Salmonella*.

Diskusija / Discussion

Što se tiče prevalencije rezistentnih sojeva salmonela, rezultati ovog istraživanja delimično se uklapaju u rezultate mnogih istraživanja vezanih za rezistenciju salmonela sprovedenih u različitim regionima u svetu. Tako, prema rezultatima desetogodišnjeg istraživanja sprovedenog u Hong Kongu od 1986. godine do 1996. godine, čak 99 posto ispitanih sojeva *Salmonella Enteritidis* koji potiču od ljudi i živine bilo je osetljivo na skoro sve ispitivane antibiotike (17 do 19). Međutim, u Grčkoj su 1997. godine izolovani multirezistentni sojevi *S. Enteritidis* koji potiču od obolelih ljudi, rezistentni na 10 antibiotika u jednom slučaju i na 13 antibiotika u drugom, uključujući i ciprofloksacin u oba slučaja.

U našem istraživanju, multirezistencija na tri antibiotika bila je otkrivena samo kod četiri soja *S. Enteritidis* koja potiču od živine i 1 soja *S. Hartford* koji takođe potiče od živine, a multipna rezistencija na četiri antibiotika ustanovljena je samo kod jednog soja *S. Glostrup*. Ispitivanjem su bila obuhvaćena i četiri soja *S. Typhimurium* koja potiču od živine sa različitim epizootioloških područja, ali kod ovih sojeva nije ustanovljena rezistencija na antibiotike.

U poslednjih nekoliko godina naročito se povećalo interesovanje za otkrivanjem i proučavanjem sojeva *Salmonella* vrsta koji su rezistentni na fluorohinolone. Smatra se da je rezistencija bakterija iz ovog roda na ciprofloksacin i druge fluorohinolone izrazito opasna pojava, zato što su takvi sojevi uglavnom rezistentni i na skoro sve ostale antibiotike, pa je mogućnost terapije infekcija izazvanih ovim sojevima minimalna ili čak i ne postoji.

Kako je već prethodno naglašeno, u ovom istraživanju nisu otkriveni sojevi *E. coli* i *Salmonella* vrsta koji su proizvodili beta-laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL), što nije neobično s obzirom da je nalaz ovakvih sojeva bakterija kod životinja još uvek retkost.

Zaključak / Conclusion

Upoređivanjem rezultata dobijenih u našim ranijim istraživanjima, kao i rezultata drugih autora sa rezultatima ovog istraživanja, može da se zaključi da je povećano prisustvo multirezistentnih sojeva iz roda *Escherichia*. Prevalencija rezistentnih i multirezistentnih sojeva *Salmonella* koji potiču od životinja, još uvek je relativno niska i bakterije iz ovog roda se u najvećem broju slučajeva mogu i dalje da smatraju „antibiotik predvidim” bakterijama.

Literatura / References

1. Ašanin R., Krnjaić D., Mišić D.: Ispitivanje rezistencije izolovanih sojeva *E.coli* od teladi i svinja na antimikrobna sredstva. Veterinarski glasnik, 58, 5-6, 607-617, 2004. - 2. Ašanin R., Mišić D., Krnjaić D.: Značaj monitoringa rezistencije bakterija na antimikrobna sredstva, Tehnologija mesa, 46, 1-2, 75-80, 2005. - 3. Babak V., Schlegelova J., Vlkova H.: Interpretation of the results of antimicrobial susceptibility analysis of *Escherichia coli* isolates from bovine milk, meat and associated foodstuffs. Food Microbiology, 22, 353-358, 2005. - 4. Barton D. Mary: Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. Nutrition Research Reviews, 13, 279-299, 2000. - 5. Bywater J. R.: Veterinary use of antimicrobials and emergence of resistance in zoonotic and sentinel bacteria in the EU. Journal of Veterinary Medicine, 51, 361-363, 2004. - 6. Caprioli A., et. al.: Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. International Journal of Antimicrobial Agents, 14, 295-301, 2000. - 7. Catry B. et al.: Antimicrobial resistance in livestock. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy, 26, 81-93, 2003. - 8. Hariharan H., Coles M., Poole D., Page R.: Antibiotic resistance among enterotoxigenic *Escherichia coli* from piglets and calves with diarrhea. Canadian Veterinary Journal, 45, 605-606, 2004. - 9. Jezdimirović B. Milanka: Veterinarska Farmakologija, treće dopunjeno i prerađeno izdanje. Elit-Medica, Beograd, 2005. - 10. Krnjaić D.: Ispitivanje rezistencije bakterija izolovanih od domaćih životinja prema hemoterapijskim sredstvima. Doktorska disertacija, 2000. - 11. Krnjaić D., Ašanin R.: Odgovorna primena antimikrobnih sredstava kod domaćih životinja. Zbornik Radova Clinica Veterinaria 2001, 96-100, 2001. - 12. Krnjaić D., Mišić D., Ašanin R.: Investigation of sensitivity and resistance to antibiotics and chemotherapeutics in *E. coli* strains isolated from animals bred in intensive farming conditions. Acta Veterinaria, 55, 5-6, 501-509, 2005. - 13. Ling J. M., et al.: Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis strains isolated in Hong Kong from 1986. to 1996. Journal of Clinical Microbiology, 36, 6, 1693-1699, 1998. - 14. Mirović V.: Antibiotici i osnovni principi njihove kliničke primene. Čigoja štampa, Beograd, 2003. - 15. Nastasi A., Mamminia C.: Surveillance of multidrug - resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in southern Italy in the years 1992-1997. European Journal of Epidemiology, 16, 135-139, 2000. - 16. Rodrigue C. D. et al.: Comparison of plasmid profiles, phage types and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella enteritidis* isolates in the United States. Journal of Clinical Microbiology, 30, 4, 854-

- 857, 1992. - 17. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth informational supplement, 2004. - 18. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests; Approved standard. Eighth edition, 2004. - 19. Walsh C.: Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology Press, 2003.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF MULTIRESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPEUTICS AND EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE EFFECT (ESBL TEST) IN STRAINS *E. COLI* AND *SALMONELLA* ORIGINATING FROM DOMESTIC ANIMALS

D. Misic, Zorica Stosic, F. Kiskarolj, V. Adamov, Ruzica Asanin

The presence of multiresistance to the effects of antibiotics and chemotherapeutics and extended spectrum beta-lactamase were examined in 45 strains of *E. coli* and 35 strains of *Salmonella*. The strains of *E. coli* originated from several species of domestic animals: dogs, cats, poultry, and cattle, and 30 strains of *Salmonella* originated from poultry, 4 strains from cattle, and 1 strain from swine. The presence of the following serovarieties was established using serological examinations: *Salmonella Enteritidis* 17 strains, *Salmonella Gallinarum* 1 strain, *Salmonella Hartford* 5 strains, *Salmonella Anatum* 1 strain, *Salmonella Typhimurium* 4 strains, *Salmonella Agona* 1 strain, *Salmonella Infantis* 1 strain, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 strain, *Salmonella Tennessee* 1 strain, *Salmonella Senftenberg* 1 strain, *Salmonella Glostrup* 1 strain, and *Salmonella Hadar* 1 strain. In the examinations of the listed strains we used antibiogram discs of ampicillin, amoxicillin with clavulanic acid, cephalexin, cephtriaxon, cephotaxim, cephtazidime, aztreonam, gentamycin, chloramphenicol, tetracycline, cyprofloxacin, and a combination of sulphamethoxazole and trimethoprim. The lowest prevalence of multiresistance in *E. Coli* strains to 3 or more antibiotics was established in dogs 20%, and the highest in 60% strains originating from swine. In 62.88% strains of *Salmonella* we established sensitivity to all applied antibiotics. Resistance was also established in a small number of the examined strains to ampicillin (11 strains), to tetracycline (5 strains), to amoxicillin with clavulanic acid (5 strains), to sulphamethoxazole with trimethoprim (5 strains), to gentamycin (3 strains), and to chloramphenicol (1 strain). Of all the examined strains of *Salmonella*, 6 strains originating from poultry exhibited multiresistance.

The presence of extended spectrum beta-lactamase effects examined using the ESBL test, was not established in strains of *E. coli* and *Salmonella* strains.

Key words: *Salmonella*, *E. coli*, resistance, ESBL test.

ИСПЫТАНИЕ МУЛЬТИСОПРОТИВЛЕНИЯ НА АНТИБИОТИКА И ХИМИОТЕРАПЕВТИКИ И БЕТА ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА ВЛИЯНИЯ (ESBL ТЕСТ) У ШТАММОВ *E. COLI* И САЛЬМОНЕЛЛ ПРОИСХОЖДЕНИЕМ ОТ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Д. Мишич, Зорица Стошич, Ф. Кишкароль, В. Адамов, Ружица Ашанин

Нами испытано присутствие мультисопротивления на антибиотики и химиотерапевтики и бета лактамазы расширенного спектра влияния у 45 штаммов *E. coli* и 35 штаммов Сальмонелл. Шаммы *E. coli* происходили из бóльшие видов домашних животных: собак, кошек, домашних птиц и крупного рогатого скота, а 30 штаммов сальмонелл происходили из домашних птиц, 4 штамма из крупного рогатого скота и 1 штамм из свиней. Серологической детерминацией установлено нами присутствие следующих серовариететов: *Salmonella Enteritidis* 17 штаммов, *Salmonella Gallinarum* 1 штамм, *Salmonella Hartford* 5 штаммов, *Salmonella Anatum* 1 штамм, *Salmonella Typhimurium* 4 штамма, *Salmonella Agona* 1 штамм, *Salmonella Infantis* 1 штамм, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 штамм, *Salmonella Tennessee* 1 штамм, *Salmonella Senftenberg* 1 штамм, *Salmonella Glostrup* 1 штамм, and *Salmonella Hadar* 1 штамм. Для испытания приведённых штаммов пользованы антибиотикограмма диски ампициллина, амоксициллина с клавулановой кислотой, цефалексина, цефтриаксона, цефотаксина, цефтазидима, азтроенама, гентамицина, хлорамфеникола, тетрациклина, ципрофлоксацина и комбинация сульфаметоксазоля и триметроприма. Наиболее низкое пробладание мультисопротивления у штаммов *E. coli* на 3 или бóльше антибиотиков установлено нами у собак 20%, наибóльшая у 60% штаммов происхождением от свиней. У 62,88% штаммов сальмонелл установлена нами чувствительность на все применённые антибиотики. Сопротивление утверждено нами у маленького числа испытанных штаммов а именно на ампициллин (11 штаммов) на тетрациклин (5 штаммов), на амоксициллин с клавулановой кислотой (5 штаммов) на сульфаметоксазол с триметропримом (5 штаммов), на гентамицин (3 штаммаа) и хлорамфеникол (1 штамм). Из всех испытанных штаммов сальмонелл, 6 штаммов происхождением из домашних птиц проявили мультисопротивление.

Писутствие бета-лактомазы расширенного спектра влияния, испытанного применением ESBL теста на установлено нами у штаммов *E. coli* и Сальмонелл.

Ключевые слова: Сальмонелла, *E. coli*, сопротивление, ESBL тест

EFIKASNOST EUGENOLA U LEČENJU ŠUGE SVINJA*
INVESTIGATIONS OF EUGENOL EFFICACY IN TREATMENT
OF MANGE IN SWINE

Milanka Jezdimirović, Z. Kulišić, Nevenka Aleksić, N. Bjelić, S. Ivanović**

Ispitivana je akaricidna efikasnost, podnošljivost i bezbednost aktivnog sastojka eteričnog ulja karanfilića, eugenola, u lečenju šuge svinja i dobijeni rezultati su upoređeni sa rezultatima akaricidne efikasnosti, već duže vreme korišćenog sintetskog akaricida permetrina.

*Jednokratno primenjen permetrin u obliku rastvora koncentracije od 1% pokazao je maksimalnu efikasnost od 62,5%, a posle trokratne aplikacije od 75,0% u lečenju sarkoptes šuge svinja. Jednokratno primenjen eugenol u obliku rastvora koncentracije od 10% imao je maksimalnu efikasnost od 75,0%, a trokratno primenjen od 100,0% u suzbijanju *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Jednokratno primenjen rastvor eugenola u koncentraciji od 20% pokazao je najveću efikasnost od 87,5%, a trokratno primenjen od 100,0% u suzbijanju sa *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Najbolja efikasnost u lečenju sarkoptes šuge svinja je postignuta trokratnom primenom eugenola u koncentraciji od 20%. Ovaj maksimalni efekat (100,0%) dobijen je već posle drugog tretmana. Eugenol u koncentraciji od 10% bio je bezbedan za lokalnu primenu na koži, jer ne prouzrokuje bilo kakve neželjene reakcije, dok u koncentraciji od 20% kod manjeg broja tretiranih životinja izazivao je iritaciju praćenu prolaznim crvenilom i uznemirenošću. Rezultati uporednih ispitivanja akaricidne efikasnosti permetrina i eugenola ukazuju da postoji rezistencija *Sarcoptes scabiei* var. *suis* na permetrin. Biocid eugenol sa sigurnošću može da se preporuči u lečenju sarkoptes šuge svinja.*

Ključne reči: svinje, šuga, eugenol

* Rad primljen za štampu 28. 4. 2006. godine

** Dr Milanka Jezdimirović, redovni profesor, dr Zoran Kulišić, redovni profesor, dr Nevenka Aleksić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Beograd; Nebojša Bjelić, vet. specijalista, Privatna veterinarska ambulanta, Prokuplje; dipl. vet. Saša Ivanović, asistent-pripravnik, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Beograd

Uvod / Introduction

Šuga predstavlja jednu od najznačajnijih i najrasprostranjenijih ekto-parazitoza svinja koja izaziva velike ekonomske štete [1, 2, 16, 25, 33, 34]. Uzrokovana je akarinom *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Od šuge obolevaju svinje svih rasa i starosnih kategorija. Bolest se češće pojavljuje kod mlađih kategorija životinja i u lošim uslovima držanja.

U terapiji ove ekto-parazitoze koriste se mnogobrojni sintetski akaricidi različite hemijske strukture – organofosfati, karbamati, avermektini, fenilpirazoloni i drugi [3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 21, 22, 24, 27, 30, 34].

U lečenju šuge jednokratnim primenjivanjem akaricidnih sredstava, čak ni onih najefikasnijih, ne postižu se zadovoljavajući rezultati, jer se posle njihove primene ne postiže uništavanje jaja uzročnika oboljenja. Pri tome su neka od njih u priličnoj meri toksična.

Iz navedenih razloga, u poslednje vreme se intenzivno proučavaju farmakološka dejstva eteričnih ulja i njihovih aktivnih sastojaka koji potiču od raznih lekovitih i začinskih biljaka, sa naših terena ili iz udaljenih predela.

Glavninu etarskog ulja dobijenog iz pupoljka karanfilića (*Eugenia caryophyllata*) čine fenilpropionska jedinjenja eugenol i acetoeugenol. Kvalitet eteričnog ulja karanfilića (*Caryophylli aetheroleum*) zavisi od odnosa ova dva aktivna sastojka i treba da bude 7:1 u korist eugenola.

Eugenol čini od 80 do 90 posto eteričnog ulja karanfilića, iz koga se i dobija. Postoje mnogobrojni podaci o njegovom antiseptičnom i antibakterijskom dejstvu [3, 26, 31], antiinflamatornom [32], spazmolitičnom dejstvu [5, 20, 28], antioksidativnom dejstvu [18], lokalnom anestetičkom i drugim pozitivnim efektima. Pored ovih farmakoloških dejstava eugenol ima i insekticidno, akaricidno i repelentno dejstvo. Tako, na primer, eugenol ubija američku bubašvabu (*Periplaneta americana*), smeđu bubašvabu (*Blattella germanica*), mrave (*Camponotus pennsylvanicus*), vaši (*Pediculus humanis capitis*), kokošije grinje (*Dermanyssus gallinae*), grinje hrane (*Tyrophagus putrescentiae*, *T. longior*), grinje kućne prašine, artropode žitarica i kućne muve (*Musca domestica*) [6, 14, 15, 23, 29, 35, 36].

Eterična ulja kao bioaktivni sastojci sa insekticidnim, akaricidnim i repelentnim dejstvom imaju sve veći značaj u preveniranju i suzbijanju mnogih štetnih artropoda [17, 19]. Sa druge strane, široka i masovna, a često i nekontrolisana primena insekticida različitih hemijskih grupa (organofosfati, karbamati, avermektini i drugi) povećava rizik za razvoj rezistencije kod insekata, pojavljivanje rezidua u namirnicama biljnog i životinjskog porekla i kontaminaciju životne sredine. Bioinsekticidi koji potiču od biljaka i imaju visoku efikasnost, selektivnu toksičnost i zadovoljavajuću bezbednost mogli bi u skorijoj budućnosti adekvatno da zamene sintetske hemijske pesticide.

Iz tog razloga smo se opredelili da ispitamo akaricidnu efikasnost, podnošljivost i bezbednost aktivnog sastojka eteričnog ulja karanfilića, eugenola, u lečenju šuge svinja i dobijene rezultate uporedimo sa rezultatima akaricidne efi-

kasnosti sintetskog akaricida permetrina, koji se koristi u dužem vremenskom periodu.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Strugotina kože se uzimala skalpelom, od svinja suspektih na sarkoptes šugu sa svih promenjenih mesta na telu (tri do osam mesta). U laboratoriji je materijal prosvetljen 10 % kalijum-hidroksidom i pregledan pod malim uvećanjem mikroskopa (100 x) na prisustvo *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Determinacija vrste sprovedena je na osnovu morfoloških i morfometrijskih karakteristika akarina.

Svinje kod kojih je ustanovljen *Sarcoptes scabiei* var. *suis* podeljene su u osam grupa – šest eksperimentalnih i dve kontrolne. Svaka od grupa sastojala se od po osam životinja.

Svinje prve grupe su jednokratno tretirane rastvorom eugenola u etanolu i propilen-glikolu u koncentraciji od 10 posto, direktnim nanošenjem na kožu utrljavanjem.

Svinje druge eksperimentalne grupe tretirane su istim rastvorom eugenola, ali trokratno, u vremenskim intervalima od po sedam dana.

Svinje treće grupe jednokratno su tretirane rastvorom eugenola u etanolu i propilen- glikolu u koncentraciji od 20 posto metodom utrljavanja.

Svinje četvrte eksperimentalne grupe tretirali smo istim rastvorom eugenola, ali trokratno, u vremenskom razmaku od sedam dana.

Svinje pete eksperimentalne grupe tretirane su permetrinom u obliku rastvora u koncentraciji koju je predvideo proizvođač (1 %) jednokratno, utrljavanjem, dok su svinje šeste grupe tretirane istim rastvorom permetrina, ali trokratno.

Životinje prve kontrolne grupe nisu tretirane. Svinje druge kontrolne grupe tretirali smo rastvaračima eugenola (etanol + propilen glikol).

Sedmog, četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana oglada sa promenjenih mesta uzimana je strugotina kože i pregledana na prisustvo *Sarcoptes scabiei* var. *suis*.

Rezultati ispitivanja / *Results*

U grupi svinja jednokratno tretiranih rastvorom eugenola u koncentraciji od 10 posto, sedmog dana od tretiranja 37,5 posto svinja je infestirano akarinom *Sarcoptes scabiei* var. *suis*, a četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od početka oglada 25,0 posto životinja je bilo pozitivno (tabela 1).

U grupi svinja trokratno tretiranih 10 % eugenolom u vremenskom razmaku od sedam dana, sedmog dana od početka oglada 37,5 posto svinja je bilo infestirano šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana nije ustanovljeno prisustvo šugaraca (tabela 2).

Tabela 1. *Parazitološki nalaz kod svinja jednokratno tretiranih eugenolom u obliku rastvora koncentracije 10 %*

Table 1. Parasitological finding in swine treated once with eugenol in the form of a 10% solution

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	-	+	-	-	+	-	+	-
14. dan / 14. day	-	-	-	-	+	-	+	-
21. dan / 21. day	-	-	-	-	+	-	+	-
28. dan / 28. day	-	-	-	-	+	-	+	-

Tabela 2. *Parazitološki nalaz kod svinja trokratno tretiranih eugenolom u obliku rastvora koncentracije 10 %*

Table 2. Parasitological finding in swine treated three times with eugenol in the form of a 10% solution

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	+	-	-	-	+	-	-	+
14. dan / 14. day	-	-	-	-	-	-	-	-
21. dan / 21. day	-	-	-	-	-	-	-	-
28. dan / 28. day	-	-	-	-	-	-	-	-

U grupi svinja jednokratno tretiranih rastvorom eugenola u koncentraciji od 20%, sedmog, četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od početka ogleda ustanovljena je infestacija šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* kod 12,5 posto svinja (tabela 3).

U grupi svinja koja je trokratno tretirana eugenolom u koncentraciji od 20 %, sedmog dana je dijagnostikovana sarkoptes šuga kod 12,5 posto grla (tabela 4). Četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana kod ove tretirane grupe parazitološki nalaz na prisustvo *Sarcoptes scabiei* var. *suis* je bio negativan.

Kod svinja kontrolnih grupa (netretirana grupa i grupa svinja tretirana rastvaračima eugenola, etanolom i propilen-glikolom), tokom celog ogleda (28 dana) parazitološki nalaz je bio pozitivan, jer je kod svih svinja ustanovljeno prisustvo *Sarcoptes scabiei* var. *suis*.

Tabela 3. Parazitološki nalaz kod svinja jednokratno tretiranih eugenolom u obliku rastvora koncentracije 20 %

Table 3. Parasitological finding in swine treated with one dose of a 20% solution of eugenol

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	-	-	+	-	-	-	-	-
14. dan / 14. day	-	-	+	-	-	-	-	-
21. dan / 21. day	-	-	+	-	-	-	-	-
28. dan / 28. day	-	-	+	-	-	-	-	-

Tabela 4. Parazitološki nalaz kod svinja trokratno tretiranih eugenolom u obliku rastvora koncentracije 20 %

Table 4. Parasitological finding in swine treated three times with eugenol in the form of a 20% solution

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	-	-	-	-	-	-	-	+
14. dan / 14. day	-	-	-	-	-	-	-	-
21. dan / 21. day	-	-	-	-	-	-	-	-
28. dan / 28. day	-	-	-	-	-	-	-	-

Kod svinja tretiranih permetrinom u obliku rastvora koncentracije od 1 %, u grupi svinja jednokratno tretiranih rastvorom permetrina u koncentraciji od

1 %, sedmog dana od tretmana 50,0 posto svinja je bilo infestirano šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* (tabela 5). Četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od početka oglada infestiranost smanjuje se na 37,5 posto.

Tabela 5. *Parazitološki nalaz kod svinja jednokratno tretiranih permetrinom u obliku rastvora koncentracije 1 %*

Table 5. *Parasitological finding in swine treated with one dose of permethrin in the form of a 1% solution*

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	-	+	+	-	+	-	+	-
14. dan / 14. day	-	+	+	-	-	-	+	-
21. dan / 21. day	-	+	+	-	-	-	+	-
28. dan / 28. day	-	+	+	-	-	-	+	-

Grupa svinja trokratno tretiranih permetrinom u koncentraciji od 1 %, sedmog dana od početka oglada je infestirana u 50,0 posto slučajeva, četrnaestog u 37,5 posto, a dvadesetprvog i dvadesetosmog dana ova infestacija šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* se smanjuje na 25,0 posto (tabela 6).

Tabela 6. *Parazitološki nalaz kod svinja trokratno tretiranih permetrinom u obliku rastvora koncentracije 1 %*

Table 6. *Parasitological finding in swine treated with three dose of permethrin in the form of a 1% solution*

Kontrolni pregled (dani) / Control examination (days)	Broj pregledanih životinja / Number of examined animals							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0. dan / 0. day	+	+	+	+	+	+	+	+
7. dan / 7. day	-	-	+	+	+	-	+	-
14. dan / 14. day	-	-	+	+	-	-	+	-
21. dan / 21. day	-	-	+	-	-	-	+	-
28. dan / 28. day	-	-	+	-	-	-	+	-

Poređenjem stepena infestiranosti svinja šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* pre i posle jednokratnog i trokrotnog tretmana eugenolom u koncentraciji od 10% uočava se da je sedmog dana od tretmana, kako posle jednokratne, tako i posle trokратne primene bio podjednak stepen infestacije životinja (37,5%), što znači da je akaricidna efikasnost ispitivanog 10 % eugenola 62,5 posto. Četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana u grupi svinja jednokratno tretiranih eugenolom u koncentraciji od 10 %, 25,0 posto svinja je bilo pozitivno, odnosno akaricidna klinička efikasnost eugenola u periodu istraživanja bila je 75,0 posto. Kod svinja grupe koja je trokратno tretirana istom koncentracijom eugenola, kontrolnim pregledima četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od početka oglada ustanovljena je akaricidna efikasnost od sto posto, što znači da nijedna životinja nije bila infestirana.

Ukoliko se uporedi stepen infestiranosti svinja šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* pre i posle jednokratne primene eugenola u koncentraciji od 20 %, može da se zapazi da je rasprostranjenost infestacije životinja bila jednaka (12,5 %) u svim ispitivanim terminima, odnosno da je akaricidna efikasnost bila 87,5 %. U grupi svinja trokратno tretiranih istim rastvorom eugenola, kontrolnim pregledom sedmog dana ustanovljen je *Sarcoptes scabiei* var. *suis* kod 12,5 posto svinja, odnosno dokazana je akaricidna efikasnost 20 posto eugenola od 87,5 posto. Daljim kontrolnim pregledima četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od aplikacije eugenola nisu ustanovljeni šugarci, što ukazuje da je akaricidna efikasnost 20 % eugenola bila sto posto.

Tokom oglada permetrin je pokazao slabiju efikasnost u lečenju sarkoptes šuge svinja u odnosu na 10 % i 20 % eugenol. Naime, sedmog dana od jednokratne i trokратne primene permetrina u koncentraciji od 1%, 50,0 posto životinja je bilo pozitivno na prisustvo sarkoptes šugaraca, odnosno akaricidna efikasnost permetrina je bila 50,0 posto. Četrnaestog dana oglada kako posle jednokratnog, tako i trokратnog tretmana infestiranost šugarcima se smanjuje na 37,5 posto u obe grupe, odnosno akaricidna efikasnost 1 % permetrina je svega 62,5 posto. Dvadesetprvog i dvadesetosmog dana posle jednokratnog tretiranja, 37,5 posto svinja je bilo sa pozitivnim parazitološkim nalazom (akaricidna efikasnost 62,5 %). Posle trokратnog tretmana 1 % permetrinom i kontrolnim pregledima sedmog, četrnaestog i dvadeset osmog dana, ustanovljeno je da je 25,0 posto svinja bilo infestirano ovim šugarcem, pa je akaricidna efikasnost 1 % permetrina svega 75,0 posto.

Kada se uporedi efikasnost eugenola u koncentraciji od 10 % i 20 % sa efikasnošću permetrina u koncentraciji od 1 % posle njihove jednokratne primene u suzbijanju *Sarcoptes scabiei* var. *suis*, evidentno je da se eugenolom u koncentraciji od 20 % postizala najveća efikasnost, zatim eugenolom u koncentraciji od 10 %, a najmanje je bio efikasan permetrin u koncentraciji od 1 %. Poređenjem broja infestiranih životinja šugarcem *Sarcoptes scabiei* var. *suis* pre i posle trokратnog tretmana eugenolom u koncentraciji od 10% i 20% i permetrinom u koncentraciji od 1%, zapaža se da je najveća efikasnost (100,0 %) ostvarena posle pri-

mene eugenola u koncentracijama od 10 % i 20 % četrnaestog, dvadesetprvog i dvadesetosmog dana od tretmana. Sedmog dana od tretmana najefikasniji je bio eugenol u koncentraciji od 20 % (87,5 %), zatim sledi eugenol u koncentraciji od 10 % (62,5 %) i na kraju, permetrin u koncentraciji od 1 % (50,0 %).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata obavljenih istraživanja može da se zaključi: 1. Jednokratno primenjen permetrin u obliku rastvora koncentracije od 1% pokazuje najveću efikasnost od 62,5 posto, a posle trokratne aplikacije od 75,0 posto u lečenju sarkoptes šuge svinja; 2. Jednokratno primenjenim eugenolom u obliku rastvora koncentracije od 10% postignuta je najveća efikasnost od 75,0 posto, a trokratno primenjen od sto posto u suzbijanju šugarca *Sarcoptes scabiei* var. *suís*; 3. Jednokratno primenjenim rastvorom eugenola u koncentraciji od 20% postignuta je najveća efikasnost od 87,5 posto, a trokratno primenjenim od sto posto u suzbijanju sa *Sarcoptes scabiei* var. *suís*; 4. Najbolja efikasnost u lečenju sarkoptes šuge svinja je postignuta trokratnom primenom eugenola u koncentraciji od 20 posto. Ovaj najveći efekat (100,0%) dobijen je već posle drugog tretmana; 5. Eugenol u koncentraciji od 10% je bezbedan za lokalnu primenu na koži, zato što ne prouzrokuje bilo kakve neželjene reakcije, dok u koncentraciji od 20 procenata kod manjeg broja tretiranih životinja izaziva iritaciju koju prati prolazno crvenilo i uznemirenost; 6. Rezultati uporednih ispitivanja akaricidne efikasnosti permetrina i eugenola ukazuju da postoji rezistencija *Sarcoptes scabiei* var. *suís* na permetrin. Biocid eugenol sa sigurnošću može da se preporuči u lečenju sarkoptes šuge svinja.

NAPOMENA:

Zahvaljujemo se Ministarstvu nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije na pomoći u realizaciji projektnih zadataka (Projekti 145026, 143022)

Literatura / References

1. Alonso de Vega F., Mendez de Vigo J., Ortiz Sanchez J., Martinez-Carrasco Pleite C., Albaladejo Serrano A., Ruiz de Ybanez Carnero M. R.: Vet Parasitol., 15, 76, 3, 203-209, 1998. - 2. Arends J. J., Stanislaw C. M., Gerdon D. J.: Anim Sci., 68, 6, 1495-1499, 1990. - 3. Cai L., Wu C. D. J.: Nat. Prod., 59, 987-990, 1996. - 4. Cargill C., Davies P., Carmichael I., Hooke F., Moore M.: Vet Rec., 11, 138, 19, 468-471, 1996. - 5. EMEA: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/843, 2002. - 6. Essam Enan: Comparative Biochemistry and Physiology Part C 130, 325-337, 2001. - 7. Geurden T., Verelst A., Somers R., Dierickx N., Vercruysse J. Vet Rec., 30, 153, 9, 272-273, 2003. - 8. Heinonen M., Bornstein S., Kolhinen R., Saloniemi H., Tuovinen V. Acta Vet Scand., 41, 1, 41-50, 2000. - 9. Hollanders W., Harbers A. H., Huige J. C., Monster P., Rambags P. G., Hendrix W., M.: Vet Parasitol., 58, 1-2, 117-127, 1995. - 10. Jacobson M., Bornstein S., Palmer E., Wallgren P.: Acta Vet Scand., 41, 3, 227-235, 2000. - 11. Jezdimirović M.: Osnovi farmakoterapije i gotovi lekovi u veterinarskoj praksi, Beograd, 2002. - 12. Jezdimirović M.: Pesticidi: Ektoantiparazitici, U: M. Jezdimirović, Veterinarska farmakologija, treće dopu-

njeno i prerađeno izdanje, Beograd, 469-486, 2005. - 13. Kambarage D. M.: Trop Anim Health Prod., 23, 1, 59-62, 1991. - 14. Kim E. H., Kim H. K., Ahn Y. J.: J. Agric. Food Chem., 51, 885-889, 2003. - 15. Kim S. I., Yi J. H., Tak J., Ahn Y. J.: Veterinary Parasitology, 120, 297-304, 2004. - 16. Kulišić Z., Pavlović I., Mišić Z., Aleksić-Bakrač N.: Zbornik celih radova Pete beogradske konferencije o suzbijanju štetnih organizama u urbanoj sredini, Beograd, 113-116, 2002. - 17. Landolt P. J., Hofstetter R. W., Biddick L. L.: Environ. Entomol., 28, 954-960, 1999. - 18. Lee K. G., Shibamoto T.: Food Chemistry, 74, 443-448, 2001. - 19. Lee S., Peterson C. J., Coats J. R.: J. stored Prod. Res., 39, 77-85, 2003. - 20. Martindale: The Extra Pharmacopaea. Thirty-first ed. J.E.F. Reynolds. Royal Pharmaceutical Society, London, 1996. - 21. Mercier P., Cargill C.F., White C.R. Vet Parasitol., 11, 110 (1-2) 25-33, 2002. - 22. Mercier P., White C. R., Eddi C., Caracostantogolo J. Vet Rec., 8, 147, 2, 52, 2000. - 23. Miyazaki Y., Yatagia M., Takaoka M.: Jpn. J. Biometeorol., 26, 105-108, 1989. - 24. Ohba S., Toriumi H., Takeishi M., Noda R. Nippon Juigaku Zasshi., 51, 5, 981-985, 1989. - 25. Pavlović I., Hudina V., Kulišić Z., Minić S., Rikson M.: Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, 9, 1, 401-405, 2003. - 26. Pejčić Z., Jezdimirović M., Borozan S., Katić-Radivojević S.: Zbornik referata i kratkih sadržaja, Zlatibor, 2004. - 27. Primm N. D., Hall W. F., DiPietro J. A., Bane D. P.: Am J Vet Res., 53, 4, 508-512, 1992. - 28. Reiter M., Brandt W.: Arzneimittelforschung, 35, 1A, 408-414, 1985. - 29. Rice P. J., Coats J. R. J. Econ. Entomol., 87, 1172-1179, 1994. - 30. Saeki H., Fujii T., Fukumoto S., Kagota K., Taneichi A., Takeda S., Tsukaguchi M. J Vet Med Sci., 59, 2, 129-132, 1997. - 31. Shapiro S., Meier A., Guggenheim A.: Oral Microbiol. Immunol., 9, 202-208, 1994. - 32. Sharma J. N., Srivastava K. C., Gan E. K.: Pharmacology, 49, 5, 314-318, 1994. - 33. Smets K., Neirynck W., Vercruysse J.: Vet Rec., 18-25, 145, 25, 721-724, 1999. - 34. Smets K., Vercruysse J. Vet Rec., 23, 150, 12, 379-380, 2002. - 35. Tsao R., Lee S., Rice P. J., Jensen C., Coats J. R.: ACS Symposium Series 584. American Chemical Society. Washington, DC, 312-324, 1995. - 36. Yang Y. C., Lee S. H., Lee W. J., Choi D. H., Ahn Y. J.: J. Agric. Food Chem., 51, 4884-4888, 2003.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF EUGENOL EFFICACY IN TREATMENT OF MANGE IN SWINE

Milanka Jezdimirovic, Z. Kulisic, Nevenka Aleksic, N. Bijelic, S. Ivanovic

The acaricide efficacy, tolerability and safety of the active ingredient of the ethereal oil of cloves eugenol was investigated in the treatment of mange in swine, and the obtained results were compared with the results of acaricide efficacy of the synthetic acaricide permethrin, which has been in use for quite a some time.

A single application of permethrin in the form of a 1% solution showed maximum efficacy of 62.5%, and after three applications of 75.0% in the treatment of sarcoptes in swine mange. A single application of eugenol in the form of a 10% solution had maximum efficacy of 75.0%, and applied three times an efficacy of 100% in curbing *Sarcoptes scabiei* var. suis. A single administration of 20% eugenol solution showed maximum efficacy of 87.5%, and applied three times it was 100% efficient in curbing *Sarcoptes scabiei* var. suis. The best efficacy in the treatment of sarcoptes mange in swine was achieved with three applications of eugenol in a concentration of 20%. This maximum effect (100%) was obtained already after the second treatment. Eugenol in a concentration of 10% was safe for local application on skin because it does not cause any undesired reactions, while a 20% concentration caused irritation followed by a passing redness and disquiet in a smaller number of treated animals. The results of comparative investigations of acaricide efficacy of per-

methrin and eugenol demonstrate that there is resistance in *Sarcoptes scabiei* var. suis to permethrin. The biocide eugenol can safely be recommended for the treatment of sarcoptes mange in swine.

Key words: swine, mange, eugenol

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭУГЕНОЛА В ЛЕЧЕНИИ ПАРШИ СВИНЕЙ

Миланка Ездимирович, З. Кулишич, Невенка Алексич, Н. Бьелич, С. Иванович

Нами испытана акарицидная эффективность, сносность и безопасность активной составной части эфирного масла гвоздички, эугенола, в лечении парши свиней и полученные результаты сравненные с результатами акарицидной эффективности, уже более долгое время, пользованного синтетического акарицида перметрина.

Однократно применён перметрин в виде раствора концентрации от 1% показал эффективность от 62,5%, а после троекратной аппликации от 75,0% в лечении саркопте парши свиней. Однократно применен эугенол в виде раствора концентрации от 10% имел максимальную эффективность от 75,0%, а троекратно применён от 100,0% в подавлении с *Sarcoptes scabiei* var. suis. Наилучшая эффективность в лечении саркопте парши свиней достигнута троекратным применением эугенола в концентрации от 20%. Этот максимальный эффект (100,0%) получен уже после второго лечения. Эугенол в концентрации от 10% был безопасный для локального применения на коже ибо не вызывает хоть какие нибудь нежелательные реакции, пока в концентрации от 20% у меньшего числа, леченных животных вызвал раздражение, слеженную проходимой краснотой и беспокойством. Результаты сравнительных испытаний акарицидной эффективности перметрина и эугенола показывают, что существует сопротивление *Sarcoptes scabiei* var. suis на перметрин. Бицид эугенол с надёжностью можно рекомендовать в лечении саркопте парши свиней.

Ключевые слова: свиней, парши, эугенол

**ISPITIVANJE PREVALENCIJE ANTITELA NA *B. canis* KOD
PASA LUTALICA NA TERITORIJI GRADA BEOGRADA***
*INVESTIGATIONS OF PREVALENCE OF ANTIBODIES TO *B.canis* IN
STRAY DOGS IN TERRITORY OF BELGRADE*

Sonja Radojičić, Milica Čilerdžić, B. Dimić, Jasmina Kirčanski**

Ovim radom obuhvaćeno je ispitivanje pasa lutalica na teritoriji grada Beograda. Na prisustvo antitela specifičnih na *Brucella canis* ukupno je ispitano 184 uzorka krvnih seruma. U dijagnostikovanju se koristila metoda spore aglutinacije u epruveti sa 2-merkaptetanolom. Od 184 ispitana seruma, 49 (26,63%) seruma je imalo titar 1/50, 25 seruma je imalo titar 1/100 (13,58%), dok je 20 seruma imalo titar jednak ili veći od 1/200 (10,87%). Za izolaciju *B. canis* je dostavljeno i 15 uzoraka pune krvi od serološki negativnih životinja. Bakteriološki nalaz ovih uzoraka je bio negativan. Dobijeni rezultati ukazuju da je broj seropozitivnih pasa lutalica na teritoriji Beograda izuzetno visok i da je 10,87 posto testiranih pasa sigurno inficirano bakterijom *Brucella canis*.

Ključne reči: Brucella canis, seroprevalencija, psi lutalice, aglutinacija

Uvod / Introduction

Bruceloza pasa izazvana bakterijom *Brucella canis*, kontagiozna je bolest lančastog načina širenja koja je prisutna u skoro svim zemljama sveta. Uzročnik bolesti je mali G-koobacilus koji je otkriven sredinom šezdesetih godina prošloga veka u SAD [1]. *Brucella canis* je za sada poslednja zvanično priznata vrsta roda *Brucella* koja pokazuje neke jedinstvene karakteristike (izrazita mukoidnost i antigeno izmenjen lipopolisaharidni omotač-RLPS) u odnosu na ostale članove.

* Rad primljen za štampu 3. 4. 2006. godine

** Dr Sonja Radojičić, docent, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; Milica Čilerdžić, dipl. vet., Bane Dimić, dipl. vet. Veterinarska stanica, Beograd; Jasmina Kirčanski, dipl. vet. Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Patogena je za pse i neke divlje karnivore, a na čoveka se prenosi izuzetno retko. Broj prijavljenih slučajeva obolelih ljudi je veoma mali, delom i zbog toga što je *B. canis* zbog svoje različite antigene građe manje patogena od ostalih vrsta brucela. U našoj zemlji su prvi seropozitivni psi otkriveni 1999. godine, a prva uspešna izolacija *B. canis* je izvedena iste godine [2]. Daljim ispitivanjem kućnih pasa ustanovljen je visok stepen seropozitivnih pasa (4,27 posto na uzorku od 164 testirane životinje) [3]. Zatim su istraživanja ukazala da je bolest prisutna i u drugim gradovima, a prevalencija kod pasa lualica sa teritorije Podgorice je bila izuzetno visoka, 9,37 posto na uzorku od 96 ispitanih seruma [4]. Bruceloza pasa je bolest koja se teško klinički uočava. Činjenica da kod muških pasa izaziva orhitis koji može da bude jednostran ili obostran i da se takav klinički znak lakše uoči, verovatno objašnjava češće otkrivanje bolesti kod mužjaka. Kod ženki dolazi do abortusa u 45. do 55. dana graviditeta, što se često i previdi, jer ženke pojedu pobačene plodove. Smetnje u koncepciji se kod ženskih, a i muških životinja najčešće ne dovode u vezu sa brucelozom pasa, a interesantan je i podatak da se većina obolelih pasa sa teritorije Beograda nikada nije parila. Koitus svakako nije naznačajniji način širenja infekcije, pogotovo u zemljama sa velikim brojem pasa lualica. Uz to, epizootičke karakteristike bruceloze na našim prostorima pokazuju specifičnosti koje dosta zavise od toga da li su u pitanju veliki ili manji gradovi i seoske sredine. U velikim gradovima je uobičajen kontakt domaćih pasa i pasa lualica na zajedničkim zelenim površinama, pa je oronazalni put inficiranja veoma važan. Uz to, urin muških životinja može da bude značajan izvor infekcije, čemu pogoduje i socijalni život i ponašanje pasa. Ženke posle abortusa izlučuju skoro čistu kulturu brucela vaginalnim iscedkom koji traje i nekoliko nedelja posle pobačaja [5]. Sledeći graviditet može da bude naizgled normalan, a rađanje slabo vitalnih mladunaca jedini znak hronične infekcije. Jedan broj preživelih mladunaca sa dostizanjem polne zrelosti može da ispolji kliničku sliku akutne bruceloze, što je posebno opasno sa epizootičkog aspekta.

Zbog antigene strukture koja je drugačija u odnosu na takozvane S ~klasične brucele~ (uz *B. canis* samo je *B. ovis* primarno patogena u R formi) serološka dijagnostika je vezana za upotrebu homotipskog antigena. Klasičnim testovima za detekciju antitela specifičnih za ostale vrste brucela, nije moguće da se ustanovi serološki odgovor na *B. canis*. Mada se dijagnostikovanje bruceloze pasa u našoj zemlji radi već pet godina na Katedri za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela Fakulteta veterinarske medicine, ovo je prvo ispitivanje uzoraka krvnih seruma na prisustvo specifičnih antitela protiv *B. canis* kod pasa lualica na teritoriji Beograda.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Krv od pasa lualica uzimana je punkcijom vene jugularis. Uzorci su dostavljani na Katedru za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela Fakulteta veterinarske medicine, na kojoj je nakon centrifugovanja serum odvajanje, razlivan u

ependorff epruvete i zamrzavan do dalje obrade. Serumi su ispitivani sporom serumskom aglutinacijom i testirani su u razređenju od 1/50, 1/100 i 1/200 kao što je preporučeno [6]. Antigen za sporu aglutinaciju pravljen je od referentnog soja RM 6/66 po opisanoj proceduri. Ukratko, posle uzgajanja *B. canis* na triptoznom agaru u Rouxovim bocama, kolonije su spirane formalin fiziološkim rastvorom. Suspenzija je filtrirana kroz nekoliko slojeva sterilne gaze da bi se otklonili delovi agara, a zatim je bakterijska suspenzija inaktivisana zagrevanjem na temperaturi od 70°C tokom jednog časa. Posle hlađenja, suspenzija je centrifugovana na 1000xg 30 minuta, supernatant je odbacivan, a istaložene bakterije resuspendovane u formalin fosfatnom slanom puferu. Antigen je standardizovan na 4,5% pakovane ćelijske zapremine, podešavanjem gustine bakterija. Nakon toga, stok antigena je čuvan na temperaturi od +4°C, do upotrebe.

Spora serumska aglutinacija je rađena u epruvetama na temperaturi od +37°C. Razređenja seruma su pravljena u 3,5% rastvoru NaCl uz dodatak formalin fiziološkog rastvora i 2-merkaptetanola, koji je kao disulfid redukujući agens imao ulogu u razaranju antitela klase IgM. Svaki uzorak krvnog seruma je testiran u tri razređenja. Reakcija je izvođena na temperaturi od 37 °C i očitavana dvokratno, u intervalima od 24 i 48 časova. Kao pozitivno, označavano je svako razređenje seruma u kome je nastalo potpuno razbistravanje tečnosti. Sledeći preporuke u literaturi za ovaj tip testova [6], titri 1/50 i 1/100 su označavani kao sumnjivi, dok je razređenje 1/200 označavano kao znak aktivne infekcije [7]. Kao pozitivne kontrole korišćeni su uzorci krvnih seruma titra od 1/200 i 1/3200, negativnu kontrolu predstavljao je uzorak krvnog seruma koji potiče od klinički i serološki negativne životinje, a rađena je i kontrola antigena bez dodavanja seruma.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

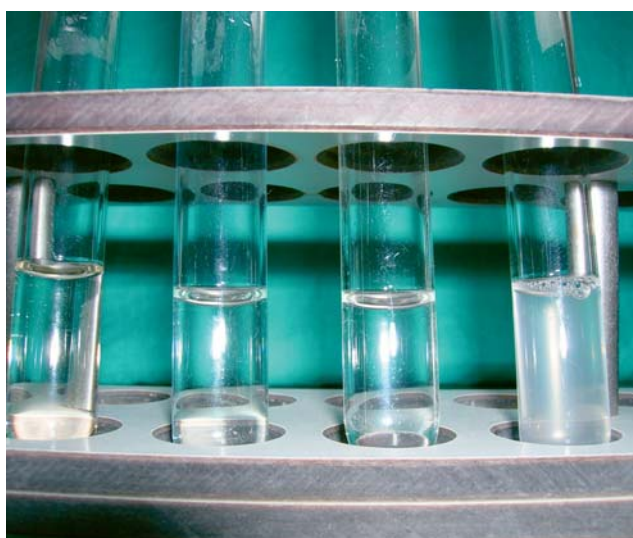
U tabeli 1 prikazani su rezultati ispitivanja krvnih seruma pasa litalica sporim aglutinacionim testom. Kao što se vidi iz tabele, titar antitela od 1/50 ustanovljen je kod 49 uzoraka krvnih seruma ili 26,63 posto, a titar od 1/100 kod 25 krvnih seruma ili 13,58 posto, dok je sigurno pozitivnih (razređenje 1/200) bilo 20 uzoraka krvnih seruma ili 10,87 posto od ukupnog broja testiranih seruma.

Tabela 1. Broj pozitivnih i negativnih rezultata dobijenih testiranjem sporim aglutinacionim testom sa 2-merkaptetanolom

Table 1. Number of positive and negative results obtained by the slow agglutination test with 2-mercaptoethanol

Test (spora aglutinacija u epruveti sa 2-merkaptetanolom) / Test (slow tube agglutination test with 2-mercaptoethanol)	Broj pozitivnih uzoraka seruma u datom titru, % / Number of positive sera in given titer, %	Broj negativnih uzoraka seruma u datom titru, % / Number of negative sera in given titer, %
Titar 1/50 / Titer 1/50	49 26,63%	135 73,37%
Titar 1/100 / Titer 1/100	25 13,58%	159 86,42%
Titar 1/200 / Titer 1/200	20 10,87%	164 89,13%
Ukupno testirano / Total tested	184 100%	

Na slici 1 prikazan je izgled pozitivne i negativne reakcije.



Slika 1. Izgled spore serumske aglutinacije u epruveti sa 2-merkaptetanolom
Figure 1. View of slow serum agglutination in test tube with 2-mercaptoethanol

Legenda: S leva na desno, izgled pozitivne reakcije u razređenjima 1/50, 1/100 i 1/200. Poslednja epruveta predstavlja negativnu kontrolu.

Legend: Left to right, positive reaction in dilutions 1/50, 1/100 and 1/200. Last test tube shows negative control.

Upotreba 2-merkaptetanola se uvek preporučuje kako bi se povećala specifičnost reakcije. Međutim, povećanje specifičnosti, uzrokuje smanjenje osetljivosti testa. S obzirom da je dijagnostikovanje bruceloze pasa veoma teško, odlučili smo se za povećanje specifičnosti i korišćenje merkaptetanola koji razara disulfidne veze u IgM pentamerima, koji su najčešći uzrok lažno pozitivnih reakcija. Ovakav izbor određen broj stvarano pozitivnih uzoraka krvnih seruma može da ostavi u zoni lažno negativnih, pa se testiranje uzoraka parnih krvnih seruma u svim sumnjivim slučajevima nameće kao obavezno. Dijagnostika bruceloze pasa nije standardizovana na međunarodnom nivou, pa zbog toga ne mogu precizno da se odrede parametri upotrebljenog testa. Zato se za poređenje testova koristi *kappa* statistička analiza koja nam pruža podatke o saglasnosti testova [3]. Izolacija uzročnika, kao najbolji i nasigurniji dijagnostički put, u većini slučajeva ne može da se sprovede zbog široke upotrebe antibiotika i antiinflamatornih lekova. Kod pasa litalica najčešće nije moguće da se dođe do uzoraka krvi ili organa. Pored toga, izolacija brucela konvencionalnim bakteriološkim tehnikama je dugotrajna, rizična za laboratorijske radnike i niskog stepena uspešnosti zbog česte kontaminacije materijala. Izolacija brucela iz visoko kontaminisanog materijala često nije uspešna i pored primene selektivnih podloga [12]. Petnaest uzoraka pune krvi koji su dostavljeni radi eventualne izolacije *B. canis*, bilo je bakteriološki negativno. Uzorci su poticali od serološki negativnih životinja.

Dobijeni rezultati ukazuju da je prevalencija sigurno pozitivnih životinja izuzetno visoka i da je veća za 2.5 puta od one koja je utvrđena kod kućnih pasa na teritoriji grada Beograda [4]. Ovako veliki broj inficiranih pasa ustanovljen je u nekim zemljama Latinske Amerike (Meksiko) i nekim područjima Severne Amerike u kojima je seroprevalencija od 1 do blizu 19 posto sa najvišom ustanovljenom u ruralnim delovima južnih država [8, 9, 10]. U Japanu je seroprevalencija bila od 1,6 do 2,9 posto [11]. Prevalencija antitela na *B. canis* kod pasa litalica na teritoriji Podgorice i Beograda gotovo je ista. Međutim, značajno odstupanje u dobijenim vrednostima se uočava za titar 1/50. Za razliku od rezultata dobijenih na teritoriji Podgorice (12,5% testiranih titar 1/50), broj seruma koji su pozitivni u titru 1/50 bio je za 2.44 puta veći od stvarno pozitivnih (titar 1/200). Upravo ovako veliko variranje u dobijenim vrednostima sumnjivih i stvarno pozitivnih ukazuje na potrebu stalne kontrole i tačnog dijagnostikovanja bolesti.

Pored pasa litalica, veliki značaj u širenju i održavanju bolesti imaju i psi poznatih vlasnika, kod kojih se bolest ne dijagnostikuje i ne leči na pravi način. Nakon kratkotrajne upotrebe antibiotika bez adekvatno postavljene dijagnoze, bolest najčešće recidivira, što se ispoljava bilo ponovnim pojavljivanjem orhitisa kod mužjaka ili poremećajima u koncepciji kod ženki. Spektar kliničkih manifestacija kod hronične bruceloze pasa varira od generalizovane limfadenopatije, promena na koštano-zglobnom sistemu, diskospondilitisa i uveitisa. Kako je *B. canis* fakultativno intracelularna bakterija, to se pored tačno odabranih antibiotika (najčešće streptomycin i tetraciklini) koji se daju u periodu od mesec dana, zahteva i kastracija, odnosno ovarijehisterekтомija svih inficiranih životinja. Epi-

zootiološka situacija bruceloze pasa je nepovoljna, ali i očekivana uzimajući u obzir primenu mera, broj pasa lualica i nedostatak pravovremenog i tačnog dijagnostikovanja. Pored napretka koji je postignut uvođenjem obaveznog testiranja pasa koji imaju reproduktivne probleme na *B. canis*, potrebno je da se sprovede dijagnostička ispitivanja i usklade kriterijumi kod procene rezultata i utvrđivanja imunološkog statusa inficiranih jedinki.

Literatura / References

1. Carmichael L. E. Kenny R. M.: Canine abortion caused by *Brucella canis*. J.A.V.M.A. 152, 6, 605-616, 1968. - 2. Radojičić Sonja, Lako B., Valčić M.: Bruceloza pasa stanje i mogućnost praćenja trenutne epizootičke slike, I jugoslovenski epizootički dani, Žabljak, 10:13 oktobra, 120-122, Zbornik radova, 1999. - 3. Radojičić Sonja: Serološka dijagnostika infekcija izazvanih sa *Brucella canis* i procena epizootičke situacije. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2000. - 4. Radojičić Sonja, Laušević D., Žiković B., Đuričić Bosiljka: Serološka dijagnostika infekcija izazvanih sa *Brucella canis* kod pasa lualica na teritoriji opštine Podgorice, Vet. Žurnal Republike Srpske, 2, 3-4, 78-81, 2002. - 5. Carmichael L. E. Kenny R. M.: Canine brucellosis. Clinical disease, pathogenesis and immune response J.A.V.M.A. 156, 12, 1726-1733, 1970. - 6. Alton GG, Jones, LM, Angus, RD, Verger, JM. 1988.: Techniques for the brucellosis laboratory, INRA, 169-174, 1988. - 7. Badakhsh F. F., Carmichael L. E., Douglas J. A.: Improved rapid slide agglutination test for presumptive diagnosis of canine brucellosis J. Clin. Microbiol. 15. 286-289, 1982. - 8. Brown J., Blue J. L., Wooley R. E. et al.: A serologic survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and evaluation of the slide agglutination test J.A.V.M.A. 169, 11, 1214-16, 1976. - 9. Galphin S. P. Jr.: A serological survey for *Brucella canis* in dogs on military base. JAVMA, 171, 8, 728-729, 1977. - 10. Flores Castro R., Suarez F., Ramirez Pfeiffer, Carmichael L. E.: Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico City, J. Clin. Microbiol. 6, 6, 591-597, 1977. - 11. Serikawa T., Takada H., Kondo Y., et al.: Multiplication of *Brucella canis* in male reproductive organs and detection of autoantibody to spermatozoa in canine brucellosis. Develop. Biol. Standard. 56, 295-305, 1984. - 12. Nilsen K., Duncan J. R.: In Animal brucellosis, Chapter *Brucella canis*, Eds Boca Raton, CRC Press. 1990.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF PREVALENCE OF ANTIBODIES TO *B.canis* IN STRAY DOGS IN TERRITORY OF BELGRADE

Sonja Radojicic, Milica Cilerdzic, B.Dimic, Jasmina Kircanski

The paper covers investigations of stray dogs in the territory of the city of Belgrade. A total of 184 blood serum samples were examined for the presence of antibodies specific to *Brucella canis*. The method of slow agglutination in a test tube with 2-mercaptoethanol was used in the diagnostic procedure. Of the 184 examined serums, 49 (26.63%) had a titer of 1/50, 25 serums had a titer of 1/100 (13.58%), while 20 serums had a titer equal to or bigger than 1/200 (10.87%). Furthermore, 15 samples of full blood from serologically negative animals were also presented for isolation. The bacteriological finding for

these samples was negative. The obtained results indicate that the number of seropositive stray dogs in the territory of Belgrade is extremely high and that 10.87% of the tested animals are definitely infected with *Brucella canis*.

Key words: *Brucella canis*, seroprevalence stray dogs, agglutination

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ПРЕОБЛАДАНИЯ АНТИТЕЛ НА *B. CANIS* У БРОДЯЧИХ СОБАК НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА БЕЛГРАДА

Соня Радочич, Милица Чилерджич, Б. Димич, Ясмина Кирчански

Этой работой охвачено нами испытание бродячих собак на территории города Белграда. на присутствие антител специфических на *Brucella canis* испытано нами совокупно 184 кровяных сывороток. В диагностике использован метод медленной агглютинации в пробирке с 2-меркантоэтанолом. Из 184 испытанных сывороток, их 49 (26,63 %) имели титр 1/50, 25 сывороток имели титр 1/100 (13,58%) пока 20 сывороток имели титр одинаковый или больший от 1/200 (10,87%). Для изоляции доставлено нами и 15 образчиков полной крови от серологически отрицательных животных. Бактериологические результаты этих образчиков были отрицательные. Полученные результаты указывают, что число сероположительных бродячих собак на территории Белграда исключительно высокое и что 10,87% тестируемых наверно инфицировано с *Brucella canis*.

Ключевые слова: *Brucella canis*, серопреобладание, бродячие собаки, агглютинация

**PATOHISTOLOŠKA STUDIJA TUMORA TESTISA I JAJNIKA
PASA U PERIODU OD 1999. DO 2003. GODINE***

***PATHOHISTOLOGICAL STUDY OF TUMORS IN CANINE TESTES
AND OVARIAN IN THE PERIOD 1999-2003***

D. Marinković, N. Pavlović, V. Magaš, Sanja Aleksić-Kovačević**

Tumori testisa i jajnika su tumori koji se javljaju u malom procentu kod pasa. Retko dovode do letalnog ishoda kod životinja, ali zbog različitih kliničkih manifestacija koje mogu da prate ove tumore značajna je njihova pravovremena dijagnoza, jer od toga često zavisi tretman životinje kod koje su dijagnostikovani ovi tumori. U periodu od 1999. do 2003. godine na Katedri za patološku morfologiju Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu makroskopski i patohistološki je pregledano pet jajnika sa neoplastičnim promenama od pet kuja i 25 neoplastično promenjenih testisa od 18 mužjaka pasa. Na testisima su dijagnostikovani seminom, kolizioni tumor (tumor Sertolijevih ćelija – seminom), tumor Sertolijevih ćelija, tumor Lajdigovih ćelija i limfosarkom. Na jajnicima su dijagnostikovani tumor granulosa ćelija i disgerminom.

Ključne reči: pas, tumori testisa, tumori jajnika

Uvod / Introduction

Tumori testisa i jajnika su tumori koji se javljaju u malom procentu kod pasa. Retko dovode do letalnog ishoda kod životinja, ali zbog različitih kliničkih manifestacija koje mogu da prate ove tumore značajna je njihova pravovremena dijagnoza, jer od toga često zavisi tretman životinje kod koje su dijagnostikovani ovi tumori.

Tumori testisa i jajnika kod pasa u nekim slučajevima mogu da dovedu do letalnog ishoda usled metastaza na vitalnim organima [1, 2, 3, 4], ali su značajni i zbog svojih kliničkih manifestacija izraženih kroz dermatološke probleme, probleme u ponašanju i slično [1, 5, 6, 7]. Ovi tumori se javljaju kod

* Rad primljen za štampu 29. 12. 2005. godine

** Mr Darko Marinković, asistent pripravnik, mr Nebojša Pavlović, asistent, mr Vladimir Magaš, asistent, Katedra za porodiljstvo, sterilitet i veštačko osemenjavanje, dr Sanja Aleksić-Kovačević, redovni profesor, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

starijih životinja, dok rasna dispozicija ne postoji, izuzev boksera kod kojih se po-
minje nešto češće pojavljivanje seminoma. Takođe je utvrđeno da su kriptorhidi
predisponirani za pojavljivanje seminoma na testisu koji se nalazi u abdomenu u
odnosu na pse sa spuštenim, skrotalnim testisom [8].

Tumori testisa prema WHO klasifikaciji [2] dele se na:

1. Gonadostromalne tumore u koje se ubrajaju:
 - tumor Sertoli (sustentakularnih) ćelija,
 - tumor Lajdigovih (intersticijalnih) ćelija.
2. Tumore germinativnog epitela u koje se svrstavaju:
 - seminom,
 - embrionalni karcinom,
 - gonadoblastom,
 - teratom gonada.

Tumori jajnika prema WHO klasifikaciji [2] se dele na:

1. Gonadostromalne tumore u koje se ubrajaju:
 - tumor granuloza ćelija,
 - tekom,
 - tumor intersticijalnih ćelija (luteom, tumor lipidnih ćelija i tumor steroidnih ćelija).
2. Tumori germinativnog epitela u koje se svrstavaju:
 - disgerminom,
 - teratom,
 - embrionalni karcinom,
 - teratom gonada.
3. Tumori površinskog epitela u koje se svrstavaju:
 - papilarni adenom, papilarni cistadenom,
 - papilarni adenokarcinom,
 - adenoma reti.
4. Tumori mezenhima u koje se ubrajaju:
 - hemangiom,
 - leiomiom.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Na Katedri za patološku morfologiju Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu makroskopski i patohistološki je pregledano pet jajnika sa neoplas-
tičnim promenama od pet kuja i 25 neoplastično promenjenih testisa od 18
mužjaka pasa. Dva testisa su uzorkovana na obdukciji, dok je ostalih 23 testisa i
svih 5 jajnika dobijeno posle orhidektomije mužjaka pasa ili ovariohisterektomije
kuja. Makroskopski su pregledani oblik, veličina, boja, konzistencija i građa na
preseku jajnika i testisa i uzeti su isečci tkiva za patohistološki pregled. Uzorci
tkiva testisa i jajnika fiksirani su 24 do 48 časova u 10% puferizovanom formalinu i
ukalupljeni u parafinske blokove. Parafinski isečci tkiva, prosečne debljine oko

5 µm bojeni su hematoksilinom i eozinom, trihromnim bojenjem po Masonu i Weigert van Gieson metodom. Mikroskopiranje i fotografisanje urađeno je na mikroskopu Olympus BX41.

Rezultati / Results

Rezultati histopatološke analize tumora testisa pasa prikazane su u tabeli 1.

Kako se uočava iz tabele 1 najčešći tumor testisa dijagnostikovao iz materijala koji je obrađen u periodu od 1999. do 2003. godine bio je seminom. Kod deset pasa, različitih rasa uzrasta između 9 i 15 godina seminom je dijagnostikovao kao jedini tumor testisa, dok je kod dva psa dijagnostikovao u kombinaciji sa drugim tumorima testisa. Kod jednog psa, srednje-azijskog ovčara u uzrastu od deset godina, dijagnostikovao je kao kolizioni tumor, tj. kombinacija tumora Sertoli ćelija, koji čini 90 posto, dok seminom u ovom slučaju čini 10 posto ćelijske populacije tumora. Drugi pas, nemački ovčar, u uzrastu od 14 godina, imao je kombinaciju seminoma i tumora Lajdigovih ćelija. Pored toga, ovaj pas je imao i prosti solidni karcinom i kompleksni karcinom mlečne žlezde.

Makroskopski seminomi su okruglog ili ovalnog oblika, veličine od 0,5 do 3 cm, ponekada režnjevite građe, čvrsto-elastične konzistencije, bele ili sivkaste boje. Seminomi se histološki javljaju u dva oblika. Intratubularni tip uočen je kod jedanaest pasa. Kod ove forme seminoma atrofičan epitel semenih kanalića se zamenjuje krupnim, okruglim ćelijama seminoma koje najčešće ispunjavaju lumen semenih kanalića.

Uočene promene su multifokalne i često mogu da se nađu i kod testisa koji su makroskopski nepromenjeni. Difuzni tip seminoma nastaje kao posledica invazije i ekstenzije tumorskih ćelija kroz bazalnu membranu u intersticijum u kome se histološki uočava u vidu slojeva, vrpce, lobula ili ostrvaca tumorskih ćelija. Tumorske ćelije su okruglog i ovalnog oblika ili poligonalne sa oskudnom citoplazmom. Jedra su krupna i mogu da budu okruglog, ovoidnog ili vrećastog oblika, često hiperhromatična, sa krupnim izraženim jedarcem. Često se uočavaju mitotske figure.

Kod tri psa, velikog šnaučera u uzrastu od 9 godina, američkog staffordskog terijera u uzrastu od 9,5 godina i bobtejlja u uzrastu od 9 godina dijagnostikovao je tumor Lajdigovih ćelija. Tumori Lajdigovih ćelija makroskopski su uglavnom okruglog oblika, inkapsulirani, najčešće manji od 1 cm (retko do 2 do 3 cm), žute ili narandžaste boje i meko-elastične konzistencije. Histološki, tumor Lajdigovih ćelija se nalazi u tri oblika: 1. solidno-difuzni, kod koga su ćelije poredane u slojevima ili u vidu vrpce razdvojenih tankim slojevima vezivnog tkiva. Tumorske ćelije ponekada su složene palisadno oko krvnih sudova, pri čemu su jedra udaljena od krvnih sudova tako da ove ćelije formiraju strukture nalik rozetama; 2. cistično-vaskularni (angiomatoidni) tip odlikuje se karakterističnim rasporedom ćelija koje u vidu širokih traka, sastavljenih od dve do četiri ćelije

Tabela 1. Tumori testisa pasa
Table 1. Testes tumors in dogs

Redni broj / Number	Rasa / Breed	Pol / Sex	Uzrast / Age	Testis / Testis	Diagnoza / Diagnosis
1.	Srednja francuska pudla / <i>Medium French poodle</i>	muški / Male	15 godina / 15 years	testis / Testis	tumor Sertolijevih ćelija / <i>Sertoli cell tumor</i>
2.	Srednja francuska pudla / <i>Medium French poodle</i>	muški / Male	6,5 godina / 6.5 years	oba testisa / <i>Both testes</i>	tumor Sertolijevih ćelija / <i>Sertoli cell tumor</i>
3.	Srednjeazijski ovčar / <i>Medium Asian sheepdog</i>	muški / Male	10 godina / 10 years	oba testisa / <i>Both testes</i>	kolizioni tumor: dominira tumor Sertolijevih ćelija (90% ćelija) / <i>Collision tumor: dominant Sertoli cell tumor (90% cells)</i> / <i>Seminom (10% cells)</i>
4.	Velški terijer / <i>Welsh terrier</i>	muški / Male	9 godina / 9 years	testis / Testis	seminom / <i>Seminom</i>
5.	Mešanac / <i>Cross-breed</i>	muški / Male	15 godina / 15 years	testis / Testis	seminom / <i>Seminom</i>
6.	Sarplaninac / <i>Sarplaninac (Yugoslav shepherd dog)</i>	muški / Male	10 godina / 10 years	testis i epididimis / <i>Testis and epididymis</i>	seminom / <i>Seminom</i>
7.	Engleski kokor španijel / <i>English cocker spaniel</i>	muški / Male	9 godina / 9 years	testis levi / <i>Left testis</i>	seminom / <i>Seminom</i>
8.	Nemački ovčar / <i>German sheepdog</i>	muški / Male	10 godina / 10 years	testisi oba / <i>Both testes</i>	seminom / <i>Seminom</i>
9.	Bobtejl / <i>Bobtail</i>	muški / Male	9 godina / 9 years	testisi oba / <i>Both testes</i>	seminom (difuzni tip) / <i>Seminom (diffuse type)</i>
10.	Irski seter / <i>Irish setter</i>	muški / Male	11 godina / 11 years	testisi oba / <i>Both testes</i>	seminom / <i>Seminom</i>
11.	Labrador retriver / <i>Labrador retriever</i>	muški / Male	11 godina / 11 years	testis desni / <i>Right testis</i>	seminom / <i>Seminom</i>
12.	Gordon seter / <i>Gordon setter</i>	muški / Male	9 godina / 9 years	testis / Testis	seminom / <i>Seminom</i>
13.	Foksterijer / <i>Foxterrier</i>	muški / Male	12,5 godina / <i>12.5 years</i>	testis / Testis	seminom / <i>Seminom</i>

nastavak tabele 1.

Redni broj / Number	Rasa / Breed	Pol / Sex	Uzrast / Age	Testis / Testis	Diagnoza / Diagnosis
14.	Nemački ovčar / German sheppdog	muški / Male	14 godina / 14 years	testis / Testis	seminom tumor Lajdigovih ćelija / Seminom Leydig cell tumor
15.	Veliki šnauzer / Giant schnauzer	muški / Male	9 godina / 9 years	testis / Testis	tumor Lajdigovih ćelija / Leydig cell tumor
16.	Američki stafordski terijer / American Stafford terrier	muški / Male	9,5 godina / 9.5 years	testisi oba / Both testes	tumor Lajdigovih ćelija / Leydig cell tumor
17.	Bobtejl / Bobtail	muški / Male	9 godina / 9 years	testis / Testis	tumor Lajdigovih ćelija / Leydig cell tumor
18.	Doberman / Dobermann	muški / Male	12 godina / 12 years	testisi oba / Both testes	limfosarkom / Lymphosarcoma

Tabela 2. Tumori jajnika pasa
Table 2. Ovarian tumors in dogs

Redni broj / Number	Rasa / Breed	Pol / Sex	Uzrast / Age	Jajnik / Ovary	Diagnoza / Diagnosis
1.	Nemački bokser / German boxer	ženski / Female	10 godina / 10 years	jajnik desni / Right ovary	tumor granulosa ćelija / Granulosa cell tumor
2.	Nemačka doga / German mastiff	ženski / Female	9 godina / 9 years	jajnik / Ovary	tumor granulosa ćelija / Granulosa cell tumor
3.	Rotvajler / Rottweiler	ženski / Female	6 godina / 6 years	jajnik / Ovary	tumor granulosa ćelija / Granulosa cell tumor
4.	Šarplaninac / Sarplaninac (Yugoslav shepherd dog)	ženski / Female	10 godina / 10 years	jajnik / Ovary	tumor granulosa ćelija / Granulosa cell tumor
5.	Zlatni retriver / Golden retriever	ženski / Female	11 godina / 11 years	jajnik / Ovary	disgerminom / Dysgerminoma

okružuju „jezerca” ispunjena ružičastom tečnošću i eritrocitima; i 3. pseudoadenomatozan tip koji odlikuju nakupine 20 do 30 tumorskih ćelija u vidu režnjića koji je okružen prostorima ispunjenim tečnošću. Tumorske ćelije su poligonalne, kockaste ili izdužene. Citoplazma je zamučena acidofilna i vakuolizovana, pri čemu se u vakuolama nalaze lipidi. Jedra su najčešće mala, okruglog oblika, hiperhromatična i sadrže po jedno jedarce. Jedra ponekada mogu da variraju u veličini.

Kod dva psa, rase srednja francuska pudla, u uzrastu od 6,5 i 15 godina dijagnostikovao je tumor Sertolijevih ćelija. Makroskopski se tumor Sertolijevih ćelija javlja u vidu čvorića veličine do 5 cm, bele boje i čvrsto-elastične konzistencije. Histološki su uočena dva tipa ovog tumora. Intratubularan tip koji karakterišu dobro formirani kanalići koji su međusobno razdvojeni septama vezivnog tkiva. Fuziformne ćelije su u kanalićima poređane u više slojeva, pri čemu one koje se nalaze u centru mogu da budu slobodne u lumenu kanalića. Difuzni tip je karakterističan za maligne forme ovog tumora. Karakteriše se grupama ćelija koje izlaze izvan okvira bazalne membrane i infiltruju se u intersticijum. Ćelije imaju neregularan oblik i veličinu i često su okruglog, poligonalnog ili ovalnog oblika. Jedro malignih formi ćelija je veliko i hiperhromatično, a mitotske figure su retke.

Kod jednog psa, rase doberman, uzrasta od 12 godina, dijagnostikovao je limfosarkom. Ovaj pas je imao multicentričnu formu leukoze, tako da su pored testisa istovetne promene uočene i na jetri, bubregu, slezini, limfnim čvorovima, pankreasu i u omentumu.

Oba testisa su bila difuzno uvećana, belosive boje i meko-elastične konzistencije na preseku. Histološki u intersticijumu testisa i epididimisa, između semenih kanalića, kao i oko krvnih sudova uočavaju se nakupine proliferisanih limfoblasta i limfocita, dok su u samim semenim kanalićima izražene degenerativne promene kako ćelija germinativnog epitela, tako i Sertolijevih ćelija.

Rezultati histopatološke analize tumora jajnika pasa prikazane su u tabeli 2.

Kod četiri kuje različitih rasa, uzrasta između 6 i 11 godina, dijagnostikovao je tumor granulosa ćelija. Jajnici sve četiri kuje dobijeni su prilikom ovariohisterektomije. Histološki su uočena tri tipa ovog tumora: 1. dobro diferentovan tip sa uniformnom populacijom malih ćelija nalik ćelijama u Grafovom folikulu. Često grupe ćelija okružuju ružičastu tečnost koja se naziva Kol-Eksnerova telašca; 2. drugi tip tumora sačinjavaju trake ili ostrvca ćelija uokvirenih septama vezivnog tkiva. Ćelije ovoga tipa imaju malo hipohromatično jedro, nejasne granice citoplazme, ispunjene su lipidima i leže na bazalnoj membrani; 3. treći tip tumora čine ovoidne granulosa ćelije koje imaju sarkomatozni izgled. Tumorske ćelije su okruglog ili ovoidnog oblika, vrlo slične normalnim folikularnim ćelijama, ali njihova veličina varira i jedro im je hiperhromatično. Citoplazma je oskudna i eozinofilna. Neki tumori granulosa ćelija imaju tubularnu građu sličnu tumorima Sertolijevih ćelija sa oskudnom stromom. U tumoru granulosa ćelija mogu da budu prisutne i teka ćelije i oba tipa ćelija mogu da luteiniziraju.

Kod kuje rase zlatni retriever, uzrasta od 11 godina, dijagnostikovao je disgerminom. Histološki, uočavaju se krupne, okrugle ili poligonalne ćelije grupisane u vidu širokih traka koje su međusobno razdvojene trakama vezivnog tkiva. U ćelijama se uočava centralno postavljeno jedro i izraženo jedarce. Mitotičke figure su česte.

Diskusija / Discussion

Tumori testisa i jajnika predstavljaju relativno retke tumore koji ne dovode često do letalnog ishoda kod životinja. Zbog različitih kliničkih manifestacija koje mogu da prate ove tumore značajna je njihova pravovremena dijagnoza, jer od toga često zavisi tretman takve životinje.

Od tumora testisa značajno mesto ima tumor germinativnog epitela testisa – seminom [2, 9, 10, 11, 12]. Ovaj tumor se nalazi kao izdvojen ili u kombinaciji sa tumorom Sertolijevih ćelija ili sa tumorom Lajdigovih ćelija. Prema podacima iz literature seminom se javlja kod pasa u uzrastu od 7 godina, a najčešće kod pasa u desetoj godini života [1]. U ispitivanom materijalu tumor se najranije javio u devetoj godini, a najkasnije u petnaestoj godini, sa prosečnim uzrastom pasa od 10,8 godina. Seminomi pasa imaju relativno retke metastaze, naročito ako se porede sa seminomima kod ljudi, uprkos njihovom histološki malignom izgledu. Metastaziraju samo u 6 do 11 posto u ingvinalnim, ilijačnim i sublumbarnim limfnim čvorovima, plućima i visceralnim organima [1].

Tumor Sertolijevih ćelija se nalazi relativno često kod pasa, a naročito su pojavljivanju ovog tumora podložni psi koji su unilateralni ili bilateralni kriptorhidi [2, 8, 10, 11, 12]. Tumor se gotovo redovno sinhrono ili asinhrono javlja na oba testisa. Nije dovoljno jasno da li se ovaj tumor javlja u nespuštenom atrofičnom testisu ili je ovaj tumor i sam uzrok atrofije testisa. Ovaj tumor produkuje estrogen tako da posledično uzrokuje kliničko manifestovanje koje prate hiperestrogenizam, feminizacija, ginekomastija, bilateralno simetrična alopecija i druga. Tumor Sertolijevih ćelija najčešće se nalazi kod pasa u uzrastu između 8 i 11 godina. U našem materijalu ovaj tumor se pojavio najranije kod psa u uzrastu od 6,5 godina, a najkasnije kod psa u petnaestoj godini. Metastaze su moguće na abdominalnim limfnim čvorovima, jetri, bubrezima, nadbubrežnim žlezdama, slezini i pankreasu i javljaju se u 10 do 14 posto slučajeva. Kliničke manifestacije feminizacije najčešće su prvi dijagnostički parametri koji mogu da navedu na pomisao da životinja ima ovu vrstu tumora. Takođe, nakon orhidektomije kliničke manifestacije bi trebalo da nestanu ili da se ublaže. Ukoliko posle operacije klinički simptomi ne nestanu ili se posle izvesnog vremena ponovo pojave ovo može da ukaže na eventualno postojanje metastaza, koje takođe produkuju estrogen. Pas iz naše studije, srednje-azijski ovčar, uzrasta od deset godina, sa kolizionim tumorom koji se sastojao iz 90 posto ćelijske populacije Sertoli ćelija i 10 posto ćelija seminoma bio je obostrani kriptorhid sa manifestnom feminizaci-

jom, ginekomastijom i bilateralno simetričnom alopecijom, što je u skladu sa podacima iz literature [1].

Tumor Lajdigovih ćelija prolazi kroz sve faze od ćelijske aktivnosti, preko fiziološke hiperplazije do neoplazije, što u izvesnim slučajevima otežava adekvatnu diferencijaciju nodularne hiperplazije od adenoma Lajdigovih ćelija. Najčešće se javljaju kod pasa u uzrastu od jedanaest godina, a uglavnom se retko javljaju kod pasa mlađih od osam godina [1, 2, 7, 13]. Naši podaci ukazuju da je najmlađi pas kod koga je dijagnostikovao ovaj tumor imao devet, a najstariji četrnaest godina. Kod tri psa iz naše studije dijagnostikovao je ovaj tumor. Jedan od ova tri psa, američki stafordski terijer, uzrasta 9,5 godina, kod koga je na promjenenom, hirurški odstranjenom testisu dijagnostikovao tumor Lajdigovih ćelija uginuo je od posledica krvarenja ulkusa na duodenumu. Na drugom testisu prilikom obdukcije uočeni su sitni čvorići i patohistološki je, takođe, dijagnostikovao tumor Lajdigovih ćelija. Kod drugog psa iz naše studije koji je imao ovaj tumor bobtejl, u uzrastu od devet godina, iz anamneze se saznaje da je sedam meseci pre nego što se pojave promene na testisu koje su patohistološki dijagnostikovane kao tumor Lajdigovih ćelija, pas pretrpeo mehaničku povredu testisa.

Limfosarkom se ne ubraja u primarne tumore testisa, ali je njegovo pojavljivanje značajno kao manifestacija multicentrične forme leukoze [14].

Tumor granulosa ćelija se svrstava u najčešće tumore jajnika pasa i često se javlja povezan sa znacima hiperestrogenizma kao što su piometra, cistična hiperplazija endometrijuma, produženi estrusi, uvećane bradavice i vulva [1, 2, 4, 6, 15, 16, 17]. Najmlađa jedinka iz naše studije imala je šest godina, a najstarija deset godina. Metastaze se javljaju u peritoneumu, širokom materičnom ligamentu, slezini, jetri, plućima i renalnim, hepatičnim, lumbosakralnim i retroperitonealnim limfnim čvorovima. Ovo je potvrdio i naš slučaj kuje rase nemački bokser, uzrasta od deset godina, kod koje je zbog piometre urađena ovariohisterektomija, pri čemu je na desnom jajniku uočen tumor okruglog oblika, prečnika oko 20 cm, sivobeke boje, čvrsto-elastične konzistencije. Na materici je uočeno gnojno zapaljenje – piometra i urađena je ovariohisterektomija. Tumor sa jajnika patohistološki je pregledan i dijagnostikovao je tumor granulosa ćelija. Nakon devetnaest meseci kuja je uginula, a na obdukciji su uočene tumorske promene po plućima, hepatičnom i retroperitonealnom limfnom čvoru. Patohistološkom analizom utvrđeno je da su ove neoplazme metastaze tumora sa jajnika. Takođe je uočena i piometra patrljka materice.

Disgerminom je tumor jajnika koji se javlja retko, čija histogeneza nije dovoljno jasna. Nije jasno da li je ovaj tumor seminom koji nastaje iz muških germinativnih ćelija u biseksualnom jajniku ili se sastoji od germinativnih ćelija jajnika koje imaju tip rasta u vidu seminoma [1, 2, 3, 18]. Nalazi se kod pasa u uzrastu od trinaest godina. Klinički znaci koji prate ovaj tumor su febra, piometra, vaginalni iscedak, povraćanje i dijareja. Retko metastazira, u 10 do 20 posto slučajeva na regionalne limfne čvorove, jetru i bubrege [1]. U našem materijalu ovaj tumor je dijagnostikovao kod jedne kuje, rase zlatni retriver, uzrasta od jedanaest godina

koja je ovariohisterektomisana zbog hroničnog gnojnog zapaljenja materice – piometre. Tokom operacije uočeno je da kuja na jajniku ima neoplazmu. Tumor je bio okruglog oblika, u prečniku 4 cm, belosivkaste boje, meko-elastične konzistencije. Patohistološkim pregledom dijagnostikovao je disgerminom.

Iako retki, ovi tumori su od velikog interesa naročito za kliničare, kao i za povlačenje eventualnih paralela između ovih tumora kod pasa i ljudi.

Literatura / References

1. Moulton J. E.: Tumors in Domestic Animals, Third Edition, Revised and expanded, University of California Press, Berkeley-Los Angeles-London, 1990. - 2. Kennedy P. C., Cullen J. M., Edwards J. F., Goldschmidt M. H., Larsen S., Munson L., Nielsen S.: Histological Classification of Tumors of the Genital System of Domestic Animals, Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with The World Health Organisation Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology, Washington D.C., Second Series, volume IV, 1998. - 3. Fernandez T., Diez-Bru N., Rios A., Gomez L., Pumarola M.: Intracranial metastases from an ovarian dysgerminoma in a 2-year-old dog, J Am Anim Hosp Assoc., 37, 6, 553-556, 2001. - 4. Sabocanec R., Culjak K., Vrbanac L., Potocnjak D., Stanin D., Vranesic D., Karacic T.: A case of metastasizing ovarian granulosa cell tumour in the myocardium of a bitch, Acta Vet Hung., 44, 2, 189-194, 1996. - 5. Peters M. A., de Rooij D. G., Teerds K. J., van de Gaag I., van Sluijs F. J.: Spermatogenesis and testicular tumors in ageing dogs, J Reprod Fertil Suppl., 57, 419-421, 2001. - 6. Cheng N. A.: Aberrant behaviour in a bitch with a granulosa-theca cell tumour, Aust Vet J., 70, 2, 71-72, 1993. - 7. Suess R. P. Jr, Barr S. C., Sacre B. J., French T. W.: Bone marrow hypoplasia in a feminised dog with an interstitial cell tumor, J Am Vet Med Assoc., 200, 9, 1346-1348, 1992. - 8. Nieto J. M., Pizarro M., Balaguer L. M., Romano J.: Canine testicular tumors in descended and cryptorchid testes, Dtsch Tierarztl Wochensh., 96, 4, 186-189, 1989. - 9. Looijenga L. H., Olie R. A., van der Gaag I., van Sluijs F. J., Matoska J., Ploem-Zaaijer J., Kneplfe C., Oosterhuis J. W.: Seminomas of the canine testis. Counterpart of spermatocytic seminoma of men?, Lab Invest., 71, 4, 490-496, 1994. - 10. Peters M. A., Teerds K. J., van der Gaag I., de Rooij D. G., van Sluijs F. J.: Use of antibodies against LH receptor, 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase and vimentin to characterize different types of testicular tumour in dogs, Reproduction, 121, 2, 287-296, 2001. - 11. Inoue M., Wada N.: Immunohistochemical detection of p53 and p21 proteins in canine testicular tumours, Vet Rec., 146, 13, 370-372, 2000. - 12. Peters M. A., van Sluijs F. J.: Testicular tumors in dogs: a literature review, Tijdschr Diergeneeskde, 121, 2, 36-38, 1996. - 13. Archbald L. I., Waldow D., Gelatt K.: Interstitial cell tumor, J Am Vet Med Assoc., 210, 10, 1423-1424, 1997. - 14. Aleksić-Kovačević Sanja: Limfomi pasa i mačaka, Mladost biro, Beograd, 2005. - 15. Sforna M., Brachelente C., Lepri E., Mechelli L.: Canine ovarian tumors: a retrospective study of 49 cases, Vet Res Commun., 27 suppl 1, 359-361, 2003. - 16. Sivacolundhu R. K., O'Hara A. J., Read R. A.: Granulosa cell tumour in two spayed bitches, Aust Vet J., 79, 3, 173-176, 2001. - 17. Pluhar G. E., Memon M. A., Wheaton L. G.: Granulosa cell tumor in an ovariohysterectomized dog, J Am Vet Med Assoc., 207, 8, 1063-1065, 1995. - 18. Greenlee P. G., Patnaik A. K.: Canine ovarian tumors of germ cell origin, Vet Pathol., 22, 2, 117-122, 1985.

ENGLISH

PATHOHISTOLOGICAL STUDY OF TUMORS IN CANINE TESTES AND OVARIAN IN THE PERIOD 1999-2003

D. Marinkovic, N. Pavlovic, V. Magas, Sanja Aleksic-Kovacevic

Testes and ovarian tumors are tumors which appear in small percentages in dogs. They rarely lead to a lethal outcome in animals, but, due to the different clinical manifestations that can accompany these tumors, their timely diagnosis is significant because it often determines the treatment of the animal in which such tumors were diagnosed. During the period from 1999 until 2003, the Department for Pathological Morphology of the Belgrade Faculty of Veterinary Medicine examined macroscopically and pathohistologically 5 ovaries with macroscopic signs of neoplastic changes from 5 female and 25 neoplastically altered testes from 18 male dogs. In the testes, seminoma, collision tumor (Sertoli cell tumor), Sertoli cell tumor, Leydig cell tumor, and lymphosarcoma were diagnosed. In the ovaries, granulosa cell tumor and dysgerminoma were diagnosed.

Key words: dog, testes tumors, ovarian tumors

РУССКИЙ

ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ СЕМЕННИКОВ И ЯИЧНИКОВ СОБАК В ПЕРИОДЕ ОТ 1999-2003 ГОДА

Д. Маринкович, Н. Павлович, В. Магаш, Саня Алексич-Ковачевич

Опухоли семенников и яичников опухоли, являемые в маленьком проценте у собак. Редко приводят до летального исхода у животных, но из-за различных клинических проявлений, которые могут следовать эти опухоли значительна их своевременный диагноз ибо от этого часто зависит лечение животного у которого эти опухоли диагностированы. В периоде от 1999 до 2003 года на Кафедре патологической морфологии Факультета ветеринарной медицины в Белграде макроскопически и патогистологически обследовано нами 5 яичников с макроскопическими признаками неопластических изменений от 5 сук и 25 неопластично изменённых семенников от 18 самцов собак. На семенниках диагностированы семинома, коллизионная опухоль (опухоль клеток Сертоли – семинома), опухоль клеток сертоли, опухоль клеток Лейдига и лимфосаркома, пока на яичниках диагностированы опухоль гранулёз клеток и дисгермином.

Ключевые слова: собака, опухоли семенника, опухоли яичника

**ISPITIVANJE EFIKASNOSTI PERALA-S U USLOVIMA
IN VITRO***
**EXAMINATIONS OF EFFICACY OF PERAL-S UNDER IN VITRO
CONDITIONS**

Ružica Ašanin, D. Mišić**

U ispitivanjima su korišćeni mnogobrojni klinički i referentni sojevi kako bakterija, tako i virusa i gljivica. U ovom radu prikazan je samo jedan deo ispitivanja u kome su korišćeni referentni sojevi *E. coli* NTCC 8116, *Proteus mirabilis* ATCC 19086, *Staphylococcus aureus* ATCC 511, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10653, *Enterococcus faecalis* ATCC 6055 i *Bacillus cereus* ATCC 11778. Delovanje na navedene sojeve bakterija Peral-S u koncentracijama od 0,25%, 0,5% i 1% ispitano je primenom suspenzione metode pri vremenu ekspozicije od 5, 10, 15 i 20 minuta. Takođe, obavljena su ispitivanja antivirusnog delovanja Peral-S u koncentracijama od 0,1% do 1% i u vremenima ekspozicije od 30 sekundi do 5 minuta na viruse: Aujeszky 257/II, PI3, Newcastle virus, Coxackie B₆, Herpes simplex tip I. Efikasnost antivirusnog delovanja Peral-S proveravana je na kulturama tkiva MDBK, AU-BEK i HEP-2 metodom „ploveće” tehnike. Ispitano je i fungicidno delovanje Peral-S u koncentracijama od 0,1% do 1% kao i 3%, 4% i 5% u vremenima ekspozicije od 5, 15 i 60 minuta i starosti kultura od jednog do četrnaestog dana. Ispitivanjima su obuhvaćene plesni iz rodova: *Penicillium* spp, *Aspergillus* spp. i *Mucor* spp. Peral-S je ispoljio baktericidno delovanje na svim ispitivanim sojevima bakterija, u svim primenjenim koncentracijama i u svim vremenima ekspozicije. Peral-S u koncentraciji od 0,1% i u vremenu ekspozicije od 30 sekundi delovao je virucidno na sve ispitivane viruse. Međutim, Peral-S u koncentracijama od 0,1% do 1% u svim vremenima ekspozicije na kulturama plesni koje su bile stare od jednog do četrnaest dana, nije ispoljio fungicidno delovanje. Fungicidno delovanje preparat je ispoljio u koncentraciji od 3 posto na svim ispitivanim kulturama plesni nakon 60 minuta ekspozicije, dok je u koncentraciji od 4 posto ispoljio fungicidni efekat nakon

* Rad primljen za štampu 23. 3. 2006. godine

** Dr Ružica Ašanin, redovni profesor, mr Dušan Mišić, asistent, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

5 minuta ekspozicije na svim ispitivanim kulturama plesni, bez obzira na njihovu starost.

Ključne reči: Peral-S, dezinficijens, antimikrobno delovanje

Uvod / Introduction

Peral-S predstavlja stabilizovani rastvor persirćetne kiseline, površinski aktivne materije, organske kiseline i anorganskog puferkog sistema. Germicidno delovanje persirćetne kiseline je zasnovano na procesu oksidacije enzimskog sistema ćelija, pri kome se inhibiraju enzimi katalaza i peroksidaza. Zahvaljujući ovim mehanizmima do sada nije utvrđena rezistencija bakterija na persirćetnu kiselinu i ona može da se koristi kontinualno u dezinfekciji. Zbog izvanrednog antimikrobnog delovanja u niskim koncentracijama, preparati na bazi persirćetne kiseline našli su široku primenu u različitim industrijskim granama (mesna industrija, mlecarska industrija, industrija voća i povrća, pekarska industrija, industrija piva i sokova, pčelarstvo i stočarstvo). Posebno je značajno njihovo primenjivanje u veterinarskoj i humanoj medicini za dezinfekciju svih vrsta instrumenata, laboratorijskog posuđa i aparata, specijalizovanih uređaja u bolnicama, odnosno na odeljenjima za hemodijalizu, u laboratorijama za dezinfekciju zidova, stolova i podova, u ambulantama i na farmama. Persirćetna kiselina se pored navedenog koristi i za dezinfekciju otpadnih voda. Zbog niske pH vrednosti i dobre rastvorljivosti ovaj dezinficijens sprečava stvaranje naslaga krečnjaka i pospešuje njegovo rastvaranje. Veoma važna osobina persirćetne kiseline je da se u prirodi raspada na sirćetnu kiselinu, vodu i kiseonik, što je čini ekološkim dezinficijensom. Prema najnovijim ispitivanjima, persirćetna kiselina u niskim koncentracijama od 0,35% u vremenu ekspozicije od 5 minuta deluje baktericidno i na multirezistentne kliničke izolate *Mycobacterium tuberculosis* i *Mycobacterium avium*. Zbog navedenih osobina preparat je našao primenu i u dezinfekciji ruku ljudi, posebno osoblja u bolnicama u kojima se leče ljudi oboleli od tuberkuloze, kao i oboleli od SIDE [7]. Pored toga što ovaj dezinficijens deluje na pojedinačne bakterije, ustanovljeno je da može da deluje i na bakterije koje imaju sposobnost da formiraju biofilm, kako na predmetima od metala, tako i na predmetima od gume i polistirena [6, 9]. Osim toga, persirćetna kiselina u koncentraciji od 0,5% efikasno deluje i na plesni, viruse i neke protozoe, na primer, *Cryptosporidium* [1, 2, 7, 10, 12]. Pri dezinfekciji otpadnih voda, ustanovljeno je da persirćetna kiselina pored dezinfekcionog delovanja, u vrlo niskim koncentracijama ispoljava i dekoloracionu, deodoracionu i deopalsecentnu aktivnost [3, 4, 5]. Višegodišnjim opsežnim ispitivanjima persirćetne kiseline i njene efikasnosti u prisustvu organskih materija kao što su krv, mleko, feces, žumance i razni sokovi, ustanovljeno je da ovaj dezinficijens podjednako dobro deluje i u prisustvu navedenih materija, odnosno za kratko vreme ekspozicije značajano smanjuje broj bakterija u ispitivanim materi-

jalima, a nakon duže ekspozicije ispoljava izuzetno baktericidno delovanje [3, 4, 5, 7].

Preparat na bazi persirćetne kiseline pod nazivom Peral-S je prvi naš ekološki dezinficijens. Na našem tržištu prisutan je više od petnaest godina, a primenu je našao u mnogobrojnim industrijskim granama. Ispitivanjem njegove antimikrobne aktivnosti, pored naše, bavile su se i druge laboratorije u našoj zemlji koje su procenjivale efikasnost Perala-S u odnosu na druge dezinficijense. Rezultati o navedenim ispitivanjima referisani su samo na naučnim i stručnim skupovima, a u našoj literaturi nema objedinjenih podataka o baktericidnom, virucidnom i fungicidnom delovanju Perala-S. Zbog svega navedenog, smatrali smo da je značajno da se kolege podsete ili upoznaju samo sa jednim delom rezultata do kojih se došlo na osnovu dugogodišnjih ispitivanja *in vitro*.

Materijal i metode rada / Materials and methods

U ispitivanjima je korišćen veliki broj kliničkih i referentnih sojeva kako bakterija, tako i virusa i gljivica. U jednom od ispitivanja korišćeni su sojevi *E. coli* NTCC 8116, *Proteus mirabilis* ATCC 19086, *Staphylococcus aureus* ATCC 511, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10653, *Enterococcus faecalis* ATCC 6055 i *Bacillus cereus* ATCC 11778. Ispitano je delovanje Perala-S na navedene sojeve bakterija u koncentracijama od 0,25%, 0,5% i 1% primenom suspenzione metode i to u vremenima ekspozicije od 5, 10, 15 i 20 minuta. Ispitivani sojevi bakterija osvežavani su u Brain Heart Infusion bujonu (Merck) i nakon toga supkultivisani na Brain Heart Infusion agaru (Merck) 24 časa na temperaturi od 37°C. Suspenzija ispitivanih sojeva bakterija pripremana je tako što je ispitujući soj sa BHI agara inokulisan u 100 ml sterilnog BHI bujona do približne gustine suspenzije od 10⁸ bakterija/ml, što se proveravalo upoređivanjem sa McF 0,5 standardom. Za pojedine vrste bakterija bilo je neophodno da se pripremi suspenzija od 10⁷ bakterija/ml i prenese 10 ml supenzije gustine 10⁸/ml u 90 ml sterilnog BHI bujona. U pripremljenu suspenziju dodavao se Peral-S do završnog razređenja od 0,25%, 0,5% i 1%. Ispitivanje je moglo da se obavi i u fiziološkom rastvoru, međutim, namerno je odabran BHI bujon zbog prisustva nativnih proteina. Prema evropskim standardima za ispitivanja ove vrste, preporučuje se da podloga u svom sastavu sadrži bovini albumin, međutim, to značajno poskupljuje ispitivanja. Delovanje Perala-S u različitim koncentracijama ispitivano je na sobnoj temperaturi i pri različitom vremenu ekspozicije. Posle završenog vremena ekspozicije (od 5, 10 i 15 minuta) ispitivani sojevi bakterija su ponovo bili supkultivisani na BHI agaru 24 časa na temperaturi od 37°C. Izostanak rasta kolonija na hranljivim podlogama značilo je da je dezinficijens pokazao svoje baktericidno delovanje u ispitivanoj koncentraciji (od 0,25% do 1%) i u datom vremenu ekspozicije.

Takođe su obavljena ispitivanja antivirusnog delovanja Perala-S u koncentracijama od 0,1% do 1% i u vremenima ekspozicije od 30 sekundi do 5 minuta na određene viruse: *Aujeszky* 257/II, PI3, *Newcastle virus*, *Coxsackie B₆*, *Her-*

pes simplex tip I, a ispitivanja su izvedena na kulturama tkiva MDBK, AUBEK i HEP-2 metodom „ploveće” tehnike.

Ispitivano je i fungicidno delovanje Perala-S u koncentracijama od 0,1% do 1%, kao i 3%, 4% i 5% u vremenima ekspozicije od 5, 15 i 60 minuta i starosti kultura od jednog do četrnaestog dana na plesnima: *Penicillium spp*, *Aspergillus spp*. i *Mucor spp*.

Rezultati / Results

Rezultati su prikazani tabelarno (tabele 1, 2 i 3). Peral-S je ispoljio baktericidno delovanje na svim ispitanim sojevima bakterija, u svim primenjenim razblaženjima i svim vremenima ekspozicije.

Tabela 1. Efikasnost delovanja Perala-S u različitim koncentracijama na neke sojeve bakterija

Table 1. Efficacy of effect of different concentrations of Peral-S on certain strains of bacteria

Koncentracija dezinficijensa / Disinfectant concentration	TEST mikroorganizmi / TEST microorganisms	Inicijalni broj bakterija / Initial number of bacteria	Porast bakterija na BHI agaru nakon delovanja dezinficijensa u vremenu (u minutima) / Increase of bacteria on BHI agar after action of disinfectant at times (in minutes)			
			5	10	15	20
0,25%	<i>E. coli</i> NTCC 8116	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 19086	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 511	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Salmonella Choleraesuis</i> ATCC 10653	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 6055	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	10 ⁷	0	0	0	0
0,5%	<i>E. coli</i> NTCC 8116	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 19086	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 511	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Salmonella Choleraesuis</i> ATCC 10653	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 6055	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	10 ⁷	0	0	0	0
1%	<i>E. coli</i> NTCC 8116	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 19086	10 ⁸	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 511	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Salmonella Choleraesuis</i> ATCC 10653	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 6055	10 ⁷	0	0	0	0
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	10 ⁷	0	0	0	0

Peral-S u koncentraciji od 0,1% i u vremenu ekspozicije od 30 sekundi delovao je virucidno na sve viruse koji su ispitani.

Peral-S u koncentracijama od 0,1% do 1% u svim vremenima ekspozicije na kulturama plesni starim od jednog do četrnaestog dana nije ispoljio fungicidno delovanje. Fungicidno delovanje preparat je ispoljio u koncentraciji od 3% na sve ispitivane plesni nakon 60 minuta ekspozicije, a u koncentraciji od 4% ispoljio je efikasno delovanje na sve ispitivane plesni bez obzira na starost kulture nakon 5 minuta ekspozicije, što se poklapa sa rezultatima iz literature [1, 2]. Svi dobijeni rezultati prikazani su tabelarno.

Table 2. Efikasnost delovanja Perala-S u različitim koncentracijama na neke sojeve virusa
Table 2. Efficacy of effect of different concentrations of Peral-S on certain strains of viruses

Virusi / Viruses	Koncentracija Peral-S, % / Peral-S concentration, %	Vreme ekspozicije (prisustvo CPE) / Time of exposure (presence of CPE)				Kontrola CPE / CPE control	
		30''	1'	3'	5'	V+MEM	V+Fv
Aujeszky virus 257/II	0,1	-	-	-	-	+	+
	0,3	-	-	-	-	+	+
	0,5	-	-	-	-	+	+
	1,0	-	-	-	-	+	+
PI3	0,1	-	-	-	-	+	+
	0,3	-	-	-	-	+	+
	0,5	-	-	-	-	+	+
	1,0	-	-	-	-	+	+
Newcastle virus	0,1	-	-	-	-	+	+
	0,3	-	-	-	-	+	+
	0,5	-	-	-	-	+	+
	1,0	-	-	-	-	+	+
Coxsackie B ₆	0,1	-	-	-	-	+	+
	0,3	-	-	-	-	+	+
	0,5	-	-	-	-	+	+
	1,0	-	-	-	-	+	+
Herpes simplex 1	0,1	-	-	-	-	+	+
	0,3	-	-	-	-	+	+
	0,5	-	-	-	-	+	+
	1,0	-	-	-	-	+	+

Legenda: – izostanak citopatogenog efekta usled inaktivacije virusa dezinficijensom
+ pojavljivanje citopatogenog efekta znak prisustva virusa

Tabela 3. *Efikasnost delovanja Perala-S u različitim koncentracijama na neke plesni*
 Table 3. *Efficacy of effect of different concentrations of Peral-S on certain fungi*

Vrsta plesni / Type of fungi	Dani / Day	3%			4%			5%		
		5'	15'	60'	5'	15'	60'	5'	15'	60'
<i>Aspergillus</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	4	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	5	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	6	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	7	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	14	++	++	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	4	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	5	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	6	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	7	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	14	++	++	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mucor</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	4	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	5	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	6	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	7	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	14	++	++	0	0	0	0	0	0	0

Diskusija / Discussion

Prema najnovijim evropskim standardima, delovanje dezinficijensa se ispituje u tri faze [7]. U prvoj fazi primenjuje se suspenzioni test, a za ispitivanje se koriste kako referentni sojevi mikroorganizama, tako i klinički izolati. U drugoj fazi ispituje se delovanje dezinfekcionih sredstava, takođe, primenom suspenzionog testa, ali u uslovima koji su slični realnim, praktičnim uslovima u kojima bi

dezinficijens delovao, odnosno u prisustvu organskih materija (mleko, krv, sokovi i drugo). U poslednjoj, trećoj fazi potrebno je da se ispituje delovanje dezinficijensa u stvarnim uslovima (fabrika, klanica, mlekara i drugo). Interesantno je da se u evropskim standardima insistira na tome da u drugoj fazi ispitivanje može da se sprovodi samo na nepatogenim sojevima bakterija, odnosno na referentnim sojevima. Time se izbegavaju greške u proceni efikasnosti dezinficijensa ukoliko se ispitivanje obavi na sojevima bakterija koji su rezistentni na antibiotike. Zbog svega navedenog, najveći broj podataka o delovanju dezinfekcionih sredstava, uključujući persirćetnu kiselinu, dobijen je na osnovu ispitivanja u laboratorijskim uslovima, primenom suspenzionog testa i to bez prisustva organskih materija.

Preparat Peral-S se ispitivao skoro dve decenije, pri čemu je njegova efikasnost kontrolisana primenom samog dezinficijensa u najrazličitijim uslovima sredine, sa i bez prisustva organskih materija, kako na patogenim kliničkim izolatima bakterija, plesni i virusa, tako i na referentnim laboratorijskim sojevima, a svi dobijeni rezultati zbog obimnosti ne mogu da se prikažu na jednom mestu.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata naših dugogodišnjih ispitivanja može da se zaključi da Peral-S predstavlja veoma efikasan antimikrobni preparat (baktericid, virucid i fungicid) namenjen za dezinfekciju svuda gde je neophodno njeno sprovođenje bilo povremeno ili kontinualno.

Literatura / References

1. Baldry M. G.: The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *Journal of Applied Microbiology*. 54, 417-423, 1983. - 2. BC Centre for disease control. Laboratory services. A guide to selection and use of disinfectants. An Agency of the provincial health services authority, 2003. - 3. Dell'Erba A., Falsanisi D., Liberti L., Notamicola M., Santoro D.: Disinfecting behaviour of peracetic acid for municipal wastewater reuse. *Desalination* 168, 435-442, 2004. - 4. Kitis M.: Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International* 30, 47-55, 2003. - 5. Koivunen J., Heinonen-Tanski H.: Peracetic acid (PAA) disinfection of primary, secondary and tertiary treated municipal wastewaters. *Water Research* 39, 4445-4453, 2005. - 6. Loukila H. N., Beckerb H., Harnob J., Bientzb M., Meunierb O.: Effect of peracetic acid and aldehyde disinfectant on biofilm. *Journal of Hospital Infection*. 58, 151-154, 2004. - 7. Middleton A. M., Chadwick M. V., Gaya H.: Disinfection of bronchoscopes, contaminated in vitro with *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium-intracellulare* and *Mycobacterium chelonae* in sputum, using stabilized, buffered peracetic acid solution (ŽNu-Cidex®). *Journal of Hospital Infection* 37, 137-143, 1997. - 8. Pruss Axel *et al.*: Validation of the Sterilization Procedure of Allogeneic Avital Bone Transplants Using Peracetic Acid-Ethanol. *Biologicals* 29, 59-66, 2001. - 9. Smail D. A., Grant R., Simpson D., Bain N., Hastings T. S.: Disinfectants against cultured Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus: the virucidal effect of three iodophors, chloramine T, chlorine dioxide and peracetic acid/hydrogen peroxide/acetic acid mixture. *Aquaculture* 240, 29-38, 2004. - 10. Vinner B., Holmqvist A., Bagge E., Albiñ H., Jonsson H.: The potential for disinfection of separated faecal matter by urea and by peracetic acid for hygienic nutrient recycling. *Bioresource Technology* 89, 155-161,

2003. - 11. Brinez W. J., Roig-Sagues A. X., Hernandez Herrero Ma Manuela, Lopez-Pedemonte T., Guamis B.: Bactericidal efficacy of peracetic acid in combination with hydrogen peroxide against pathogenic and non pathogenic strains of *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli*. Food Control 17, 516-521, 2006. - 12. Wutzler P., Sauerbrei A.: Virucidal efficacy of a combination of 0.2% peracetic acid and 80% (v/v) ethanol (PAA-ethanol) as a potential hand disinfectant Journal of Hospital Infection 46, 304-308, 2000.

ENGLISH

EXAMINATIONS OF EFFICACY OF PERAL-S UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

Ruzica Asanin, D. Misic

The examinations covered numerous clinical and referent strain of both bacteria, as well as viruses and fungi. The paper presents only one part of the examinations in which referent strains of *E.coli* NTCC 8116, *Proteus mirabilis* ATCC 19086, *Staphylococcus aureus* ATCC 511, *Salmonella Choleraeuis* ATCC 10653, *Enterococcus faecalis* ATCC 6055 and *Bacillus cereus* ATCC 11778 were used. The effect of Peral-S in concentrations of 0.25%, 0.5% and 1% on the listed strain of bacteria was examined using the suspension method at exposition times of 5, 10, 15 and 20 minutes. Examinations were also performed of the antiviral effects of Peral-S in concentrations of 0.1% to 1% and at exposure times from 30 seconds to 5 minutes on the viruses *Aujeszky 257/II*, *P13*, *Newcastle virus*, *Coxsackie B₆*, *Herpes simplex type I*. The efficacy of the antiviral effects of Peral-S was checked on tissue cultures *MDBK*, *AUBEK* and *HEP-2* using the floating technique method. Examinations also covered the fungicidal effect of Peral-S in concentrations of from 0.1% to 1%, and of 3%, 4%, and 5% at exposure times of 5, 15 and 60 minutes and cultures aged 1 to 14 days. The investigations covered fungi from the following genera: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Mucor* spp. Peral-S showed a bactericidal effect on all the examined bacteria strains, in all the applied concentrations and at all exposure times. Peral-S in a concentration of 0.1% and at an exposure time of 30 seconds had a virucidal effect on all examined viruses. However, there was no fungicidal effect of Peral-S in concentrations of 0.1% to 1% at all exposure times on fungi cultures aged from one to 14 days. The preparation did exhibit a fungicidal effect in a concentration of 3% in all examined fungi cultures after 60 minutes of exposure, while it exhibited a fungicidal effect in a concentration of 4% after 5 minutes of exposure on all examined fungi cultures, regardless of their age.

Key words: Peral-S, disinfectant, antimicrobial effects

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ PERAL-S В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Ружица Ашанин, Д. Мишич

В испытаниях использованы численные клинические штаммы, как бактерий, так и вирусов и грибов. В этой работе показана только одна часть испытания в котором использованы референтные штаммы *E. coli* NTCC 8116, *Proteus mirabilis*

ATCC 19086, *Staphylococcus aureus* ATCC 511, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10653, *Enterococcus faecalis* ATCC 6055 и *Bacillus cereus* ATCC 11778. Влияние на приведённые штаммы бактерий Peral-S в концентрациях от 0,25%, 0,5% и 1% испытано нами применением суспензионного метода при времени эксплозии 5, 10, 15 и 20 минут. Также совершены испытания антивирусного влияния Peral-S в концентрациях 0,1% до 1% и в временах эксплозии от 30 секунд до 5 минут на вирусы: *Aujeszky* 257/11, P13, *Newcastle virus*, *Cohaskie B₆*, *Herpes simplex* тип I. Эффективность антивирусного влияния Peral-S проверяется на культурах тканей *MDBK AU-BEK* и *HEP-2* методом плавающей техники. Испытано и фунгицидное влияние Peral-S в концентрациях от 0,1% до 1% и 3%, 4% и 5% в временах эксплозии от 5, 15 и 60 минут и старости культур от 1 до 14 дней. Испытаниями были охвачены плесни из следующих родов: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. и *Mucor* spp. Peral-S проявил бактерицидное влияние на всех испытанных штаммах бактерий, во всех применённых концентрациях и во всех временах эксплозии. Peral-S в концентрации от 0,1% и во времени эксплозии от 30 секунд влиял вируцидно на все испытанные вирусы. Между тем, Peral-S в концентрациях от 0,1% до 1% во всех временах эксплозии на культурах плесней, которым было от одного до четырнадцати дней, не проявил фунгицидное влияние. Фунгицидное влияние препарат проявил в концентрации от 3 процентно на всех испытанных культурах плесней после 60 минут эксплозии на всех испытанных культурах плесней, несмотря на их старость.

Ключевые слова: Peral-S, дезинфектант, антимикробное влияние

**PROFILAKSA, IMUNOPROFILAKSA I TERAPIJA
STAFILOKOKNIH MASTITISA***
*PROFILAXIS, IMMUNOPROPHYLAXIS AND THERAPY OF
STAPHYLOCOCCAL MASTITIS*

Slobodanka Vakanjac, V. Pavlović, N. Pavlović**

Zapaljenje mlečne žlezde, mastitisi krava predstavljaju jedan od najaktuelnijih problema u intenzivnoj proizvodnji mleka, nanoseći velike ekonomske gubitke, koji se čak i u razvijenim zemljama u poslednjoj deceniji, javljaju od 20 do 80 posto. Na osnovu programa nadležnog Ministarstva, veterinarska služba Republike Srbije je obavezna da prati, otkriva suzbija i kontroliše infektivno zapaljenje mlečne žlezde izazvano stafilokokom ili streptokokom. Dugogodišnjim različitim pristupom lečenja mastitisa nisu postignuta odgovarajuća rešenja, pa je problem mastitisa i dalje prisutan i aktuelan. Sprečavanje prodora patogenog uzročnika u mlečnu žlezdu, njegovo naseljavanje i razmnožavanje, nameću stalnu potrebu za redovnim kontrolama mleka i preduzimanje preventivnih i terapijskih mera da bi se smanjilo nastajanje mastitisa. Imunizacija i imunoterapija mastitisa su nove i veoma zanimljive oblasti za naučno istraživanje i rad. Poslednjih decenija razvijaju se veoma uspešno vakcine protiv stafilokoknih mastitisa, čiji uspeh se ogleda u smanjenju pojavljivanja kliničkih i supkliničkih mastitisa.

Ključne reči: mastitis, stafilokoke, streptokoke, imunoprofilaksa, terapija

Uvod / Introduction

Zapaljenje mlečne žlezde, mastitisi krava predstavljaju jedan od najaktuelnijih problema u intenzivnoj proizvodnji mleka, nanoseći velike ekonomske gubitke, koji se čak i u razvijenim zemljama u poslednjoj deceniji, javljaju od 20 do 80 posto. Dugogodišnji različiti pristupi lečenju mastitisa nisu dali odgovarajuće rešenje, pa je problem mastitisa i dalje prisutan i aktuelan. Danas se mastitis de-

* Rad primljen za štampu 16. 3. 2006. godine

** Dr Slobodanka Vakanjac, asistent, dr Vojislav Pavlović, profesor, dr Nebojša Pavlović, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

finiše kao odgovor mlečne žlezde na prisustvo mikroorganizama. Odgovor može da bude izražen u kliničkoj formi (klinički mastitis) sa rasprostranjenošću od 1 do 3 posto i u supkliničkoj formi (supklinički mastitis) sa rasprostranjenošću više od 30 posto [Stojanović 2001].

Na osnovu programa nadležnog Ministarstva, veterinarska služba Republike Srbije je obavezna da prati, otkriva, suzbija i kontroliše infektivno zapaljenje mlečne žlezde izazvano stafilokokom ili streptokokom.

Stafilokoke u akutnoj formi mogu da izazovu teške, maligne mastitise u vidu granulomatoznih promena. Koža je cijanotična, zažarena, a u parenhimu se javljaju nekrotična žarišta. Krvni sudovi u akutnoj formi stafilokoknog mastitisa često tromboziraju. Javlja se visoka temperatura od 41 do 42°C, ubrzan puls, gubitak apetita, prestanak preživljanja, a zahvaćena četvrt je tvrda, bolna i zacrvenjena. Tokom 24 časa može da nastane gangrenozno zapaljenje vimena, koje postaje modro i tamno. Ovaj stadijum bolesti često prati toksemija. Mleko je promenjene boje i veoma često sadrži krvne ugruške. Hronične forme stafilokoknog mastitisa uglavnom često prolaze i kao supklinički oblici oboljenja mlečne žlezde. Zahvaćene četvrti najčešće prati vezivno-tkivna induracija žlezdanih acinusa, kao i atrofija četvrti sa polipoznim zadebljanjima sluzokože cisterne. Mleko, uglavnom, nije promenjeno, a produkcija je smanjena.

Profilaksa mastitisa / *Prophylaxis of mastitis*

Profilaksa mastitisa kod krava podrazumeva niz aktivnosti koje treba da se preduzmu da ne bi pojavio mastitis. Obavezna je svakodnevna kontrola vimena, kao i ispunjenje osnovnih zoohigijenskih i zootehničkih uslova. Pranje vimena pre svake muže, pravilna ručna i mašinska muža, kao i potapanje sisa u dezinficijens, predstavljaju nezaobilazne činioce u suzbijanju mastitisa. Ručna muža sa povijenim palcem kod meko muznih krava uzrokuje oštećenje sfinktera sisnog kanala, pa omogućava nesmetan prodor mikroorganizma u vime [12]. Mašinska muža aparatima sa poremećenim pulzatorom i lošim vakuumom, kao i istrošenost sisnih čaura, otvara mogućnost isteka infekcije mlečne žlezde i mastitisa. Nepravilno korišćenje aparata za mužu je glavni faktor pojavljivanja supkliničkih mastitisa [6]. Za sprečavanje širenja infekcije vimena u zapatima muznih krava i za sprečavanje kolonizacije sisnog kanala, obavlja se dezinfekcija vimena pre muže, dezinfekcija sisnih čaša između dve muže i dezinfekcija papila posle muže. Dezinfekcijom papila krava posle muže smanjuje se broj infekcija vimena u stadu [6]. Za dezinfekciju papila posle muže koriste se dezinficijensi koji u sebi sadrže i repelente protiv ujeda insekata, a da pri tome ne oštećuju kožu papila, potpomažu saniranje lezija, uništavaju mikroorganizme i odbijaju insekte, a ne utiču na zdravstvenu ispravnost mleka. Danas su u upotrebi preparati koji ispunjavaju ove zahteve i pripadaju grupi jodoformnih preparata, hipohloridnih i hlorheksidnih preparata. Dezinfekcija aparata za mužu i sisnih čaura ili čaša obavlja

se tako što se sisne čaure potope u dezinficijens. Moguće je da se sisne čaure potope i u toplu vodu u trajanju od deset minuta, ali taj način dezinfekcije usporava mužu, a sisne čaure brže propadaju, što omogućava veću mogućnost infekcije. Povratno ispiranje vodom pri temperaturi od 85°C u trajanju od pet sekundi smanjuje kontaminaciju sisnih čaura bakterijama i pogodna je za izmuzišta tipa riblje kosti.

Terapija mlečne žlezde / *Therapy of mammary gland*

Terapija mlečne žlezde u zasušenju podrazumeva lokalnu aplikaciju antibiotika posle poslednje muže. Ovaj postupak može da se smatra i preventivnim, s obzirom da u narednoj laktaciji treba da se obezbedi što duži period neinficiranosti vimena. Terapija u zasušenju treba da se sprovodi antibioticima širokog spektra ili ciljanim preparatima prema urađenom antibiogramu [12]. S obzirom da se u supkliničkom toku bolesti obavezno u laktaciji leče infekcije vimena izazvane bakterijama *Streptococcus agalactiae* i *Staphylococcus aureus*, dok se ostali uzročnici samo identifikuju, kada treba da se uradi antibiogram i za ostale uzročnike, kako bi se u zasušenom periodu lečili odgovarajućim antibiotikom [4]. Pravilno izvedena terapija u zasušenju sprečava da nastanu nove infekcije u zasušenom periodu i smanjuje broj starih infekcija vimena [11]. Treba da se napomene da se u ovom periodu izleči oko 80 posto krava obolelih od mastitisa izazvanog bakterijom *Staphylococcus aureus* u odnosu na oko 40 posto izlečenja u laktaciji.

Terapija akutnog i hroničnog stafilokoknog mastitisa sprovodi se lokalno (intracisternalno) i parenteralno. Lokalna terapija se sastoji u tome da obolele krave treba da se odvoje i izmuzu posle zdravih životinja. Ako dijagnoza stafilokoknog mastitisa nije sigurna ili potvrđena, treba da se koristi lokalna intracisternalna aplikacija antibiotika širokog spektra (500 mg ampicilina, 200 do 300 mg cefalosporina ili 500 mg tetraciklina, pri čemu treba biti oprezan, jer nadražuju vime) [4]. Pre tretmana životinji treba da se dâ 20 i.j. oksitocina intravenozno, dobro da se izmuze, a obolela četvrt treba dobro da se ispere fiziološkim rastvorom [14]. Terapija treba da se ponavlja na svakih 12-24 časa. Kod parenteralne terapije mora da se ima u vidu da je zbog infekcije vimena narušena barijera krv-mleko i stoga nije omogućen prolazak antibiotika kroz lipidnu membranu u obimu kao što je to kod očuvanog vimena. U tim slučajevima indikovano je davanje pentamat-hidrohlorpenicilina (5-10 miliona/i.j. i makrolidnih antibiotika 3-5 g eritromicina, tilozin) [4]. U praksi su se dobro pokazali antibiotici koji nisu osetljivi na enzim penicilinazu (Oksicilin 400-1000 mg/po četvrti), koju sintetišu ove stafilokokne bakterije.

Imunoprofilaksa mastitisa izazvanog bakterijom *Staphylococcus aureus* / Immunoprophylaxis of mastitis caused by *Staphylococcus aureus*

Vakcina može da se aplikuje intramamarno, parenteralno-supkutano u regiju vrata i direktno u supramamarni limfni čvor ili u njegovu okolinu. Aplikovanje vakcine direktno u mlečnu žlezdu uglavnom se ne primenjuje, zbog velikog otoka i reakcije same mlečne žlezde na nosače u vakcini. Još uvek su podeljena mišljenja o efikasnosti davanja vakcine u supramamarni limfni čvor ili supkutano u regiju vrata. Aplikacijom vakcine u limfni čvor se postiže nešto viši titar antitela u mleku, nego aplikacijom vakcine parenteralno u regiju vrata. Ali, takav način aplikacije vakcine uzrokuje jako lokalno zapaljenje limfnog čvora, koji otiče i veoma je bolan [9]. Zbog toga se sve više istraživača opredeljuje za davanje vakcine parenteralno-supkutano u regiju vrata ili supkutano u regiju limfnog čvora, jer je takav način jednostavan za aplikovanje, a izbegnute su i lokalne reakcije tkiva na vakcinu [Giraudou 1997, Watson 1996].

Veoma detaljan opis eksperimenta i načina vakcinisanja dao je Watson [15]. Vakcina je pripremljena kao monovalentna, ali od nekoliko sojeva bakterije *S. aureus*. Upotrebljeni su sojevi *S. aureus* JG80, CH-1, 195Q i *S. aureus* 32V koji su izolovani iz mleka krava obolelih od kliničkog mastitisa. Komponenta C vakcine sadržavala je mrtve bakterijske ćelije soja JG80 u količini od 10^{10} bakterija u mililitru. Komponenta T napravljena je od soja JG80 i sadržavala je toksoid od istog broja mikroorganizama kao komponenta C. Komponenta G je pripremljena od soja 195Q i inaktivisanog toksina. Eksperiment se sastojao od dve grupe krava (pet oglednih krava i sedam kontrolnih). Vakcina se sastojala od 1 ml komponente C i po 0,5 ml komponente T i G. Dekstran sulfat (400 mg) i 3 ml Freundovog nekompletnog adjuvansa dodati su vakcini. Ogledna grupa krava je vakcinisana dva meseca pre teljenja duboko intramuskularno u glutealnu muskulaturu i revakcinisana posle tri meseca na isti način. Veštačka infekcija je izazvana intramamarnom aplikacijom bakterije *S. aureus* 195Q (50 cfu-colony forming units), u količini od 1 ml u svaku četvrt u vreme revakcinacije. Nakon infekcije četiri kontrolne krave pokazale su znake kliničkog mastitisa, sa poremećajem opšteg zdravstvenog stanja i promenama u mleku, dok vakcinisane krave nisu ispoljavale znake mastitisa. Nivo specifičnih pseudokapsularnih antitela vakcinisanih grupa krava pokazao je znatno povećanje u odnosu na kontrolne jedinice. Nivo specifičnih pseudokapsularnih antitela bio je visok kod vakcinisanih grla.

Veoma zanimljive rezultate dobio je Nickerson [8], kada je vakcinu protiv infekcije vimena izazvane bakterijom *S. aureus* aplikovao na dva različita načina u periodu zasušenja krava. Jedna grupa krava primila je vakcinu intramuskularno, druga supkutano u regiju supramamarnog limfnog čvora, a treća grupa krava nije vakcinisana. Četiri nedelje kasnije pokušalo se sa veštačkom infekcijom intramamarnom aplikacijom bakterije *S. aureus*. Rezultati intramamarnih infekcija su pokazali da se u kontrolnoj grupi kod 92 posto krava javio mastitis. U eksperimentalnim grupama krava bolji rezultati su dobijeni u grupi krava kojima je

vakcina aplikovana intramuskularno, gde je 36 posto krava pokazalo znake mastitisa u odnosu na grupu krava kojima je vakcina data u regiju limfnog čvora, gde je 60 posto krava obolelo od mastitisa.

Slično prethodnim vakcinama, Guidry [1994] je vakcinu pripremio tako što je *S. aureus* inaktivisao 1% formalinom, ispirao je fosfatnim puferom i dodao dekstran sulfat. Vakcina je sadržavala 5×10^9 CFU/ml (colony forming units/ml), 500 mg dekstran sulfata i aplikovana je u supramamarni limfni čvor. Nivo specifičnih stafilokoknih antitela IgG₁ u serumu pokazao je značajni porast (oko 1 apsorbancija-OD) u odnosu na kontrolnu grupu ($P < 0,01$) i održavao se na visokom nivou i više od 120 dana.

Nordhaugova [9] monovakcina sastojala se od formalinom inaktivisanih ćelija bakterije *S. aureus* i inaktivisanog alfa i beta toksina. Kao adjuvans se koristilo mineralno ulje i deterdžent (Montanide 103, Francuska) kao gotov i zaštićen dodatak. Jedna doza od 2,5 ml ove vakcine sadržavala je 25×10^9 CFU i 4 mg α i β toksoida, a aplikovana je grupi od 58 krava, u regiju supramamarnog limfnog čvora. Kontrolnu grupu činilo je 50 muznih krava. Efekti vakcine su praćeni kroz pojavljivanje manifestacije simptoma kliničkih i supkliničkih mastitisa i promene broja SCC u mleku. Rezultati su pokazali da su u kontrolnoj grupi tri krave imale znake kliničkog mastitisa izazvanog bakterijom *S. aureus*, za razliku od vakcinisane grupe krava kod kojih nije bilo kliničkih mastitisa. Supklinički mastitisi su se javili kod 14 posto životinja u kontrolnoj i 8,6 posto u vakcinisanoj grupi krava. Broj SCC u mleku tokom celog perioda laktacije, statistički nije značajno povećan između kontrolne i vakcinisane grupe.

Polivalentna vakcina Girauda i sar [3] sastojala se od *S. aureus*-a RC-1v, *S. aureus*-a RC-2, *Streptococcus uberis* RC-3 i *Streptococcus agalactiae* RC-4. Sve bakterijske ćelije su inaktivisane formalinom (0,4% vol/vol). Svaka doza od 5 ml vakcine sadržavala je 1×10^{10} CFU/ml (colony forming units/ml), *S. aureus*, 4×10^9 CFU/ml (colony forming units/ml), *Streptococcus* spp. i čvrstog dela kapsule *S. aureus*-a RC-1v u količini od 1×10^{10} ćelija u mililitru, što je bilo oko 5 mg kapsule po dozi vakcine. Aluminijum hidroksid se dodao kao adjuvans u količini od 3,5 posto wt/vol (težina/volumen). Efekat vakcine praćen je kroz pojavljivanje kliničkih i supkliničkih mastitisa i broja SCC u mleku. Rezultati vakcinisanja kod eksperimentalne grupe krava ukazuju da je ukupan broj kliničkih i supkliničkih mastitisa (4,1% i 2,5%) značajno niži nego kod krava kontrolne grupe (10,2%). Ovi rezultati ukazuju na veliko smanjenje kliničkih i supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *S. aureus*. Nije ustanovljeno da se broj somatskih ćelija (SCC – somatic cell count) značajno povećao kod vakcinisanih u odnosu na kontrolnu grupu krava, što autor tumači kao dobru osobinu vakcine, jer je broj somatskih ćelija (SCC) u mleku manji od 500 000, što ukazuje da je mleko higijenski ispravno za upotrebu.

Ispitivanjem efikasnosti vakcine protiv bakterije *S. aureus*, u kojoj se kao adjuvans koristio rekombinovan bovini interleukin-2 (rBoIL-2), pratili su u svom radu Derosa i sar [2]. Efekti vakcine ispitivani su merenjem titra antitela po-

sle pokušaja intramamarne infekcije unošenjem 100 kolonija *S. aureus*-a. Bovini rekombinovani interleukin kao adjuvans pokazao je znatno viši titar antitela u mleku u odnosu na ostale ispitane grupe.

Jedan sasvim nov pristup imunizovanju mlečne žlezde dao je O'Brien [10] koji je od bakterije *S. aureus* izdvojio polisaharide serotipa 5, 8, i 336 i njih konjugovao u biodegradabilne partikule koje su po sastavu poly-DL-lactid-co-glikolid. Partikule imaju funkciju stimulacije stvaranja antitela. Konjugovani polisaharid je emulgovao sa Freundovim adjuvansom. Posle jednokratne aplikacije obe vakcine, kod svih oglednih životinja je ustanovljen značajno visok nivo antitela IgG₁ i IgG₂ bez povećanja nivoa IgM klase imunoglobulina. Antigeni ugrađeni u partikule su od 20 do 52 nedelje posle imunizovanja štitili mlečnu žlezdu od adherencije bakterije *S. aureus*, sprečavajući aktivaciju imunskog odgovora, odstranjujući neutrofile. Ovaj pristup rešavanju problema mastitisa, jednokratnim aplikovanjem antigena koji osigurava dug period imunosti mlečne žlezde, otvara novi put rešavanju problematike mastitisa.

Mastivac-I je zaštićeni patent Leitnera i sar [7] pod brojem PTC/IL98/00627, a predstavlja visoko specifičnu vakcinu protiv mastitisa izazvanog bakterijom *S. aureus*. Vakcina je ispitana na 228 oglednih krava i 224 kontrolna grla. Mastitis se javio kod 3 od 228 oglednih (1,3%) krava i 6 od 224 (2,7%) krava kontrolne grupe. Zbog malog broja mastitisa u obe grupe vrednosti nisu mogle statistički da se obrade. Isti je slučaj i sa brojem SCC u mleku.

Jedan novi prilaz načinu pripreme i davanja vakcine koji bi mogao da omogućiti široku primenu, prikazuje Carter [1] u svom najnovijem radu. Osnovu vakcine čini plazmid humanog citomegalovirusa sa ubačenim delom genoma koji kodira sintezu proteina A i GFP (Green Fluorescent protein). Ova vakcina je aplikovana pomoću injektora koji omogućavaju ubacivanje materija pod određenim pritiskom (Ped-o-Jet). Vakcina je aplikovana šeste, četvrte i druge nedelje pred očekivani partus u intravulvarnu mukozu. Eksperiment je podeljen u tri grupe koje su se razlikovale po nosaču vakcine. Prva grupa je dobila vakcinu koja sadrži slani rastvor (deset krava), drugoj grupi krava se dodao aluminijum fosfat (10 krava) i treća je kontrolna (10 krava).

Povećan nivo specifičnih antitela na protein A izmeren je kod šest od deset krava, a na GFP (Green Fluorescent protein) izmereno je kod dve od deset oglednih krava. Celularni imuni odgovor na protein A detektovan je kod četiri od deset krava, a na GFP nije izmeren celularni odgovor. Fosfatni nosač je povećao titar antitela na protein A koji ostaje dugo povećan u cirkulaciji. Na ovaj način pripremljena vakcina može da bude kao efikasni stimulator imunog odgovora u borbi sa upornim intramamarnim infekcijama izazvanim bakterijom *S. aureus*.

Naša iskustva govore u prilog upotrebi vakcina u profilaksi mastitisa izazvanih bakterijom *Staphylococcus aureus*. Vakcinu smo pripremili od dva soja *Staphylococcus aureus*, stajskog soja JR3 koga smo izolovali sa ogledne farme i referentnog soja *S. aureus* 2286. Inaktivacija patogenih sojeva izvedena je upotrebom 0,4% vol/vol formalina. Doza vakcine je bila 5 ml po kravi i sastojala se od

inaktivisanih bakterijskih ćelija *S. aureus* JR 3 u količini od 1×10^{10} CFU/ml i 5 mg SM kapsule soja *S. aureus* 2286. U ogled smo uključili 50 gravidnih, muznih krava holštajn-frizijske rase, približnog uzrasta (4-5 godina). Dvadeset pet krava je vakcinisano dva meseca pred teljenje i revakcinisano mesec dana pred očekivani termin teljenja. Vakcina je aplikovana supkutano u regiju vrata, u dozi od 5 mililitara. Preostalih 25 krava predstavljalo je kontrolnu grupu, kojoj je data placebo vakcina (5 ml sterilnog fiziološkog rastvora).

Iz mleka eksperimentalnih jediniki *S. aureus* je izolovan na početku ogleda, odnosno pred zasušenje, iz mleka sedam krava (33,3%). U istom periodu, u kontrolnoj grupi, *S. aureus* je izolovan iz mleka četiri krave (19%). Na kraju eksperimenta supklinički mastitisi izazvani bakterijom *S. aureus* izolovani su iz mleka tri krave eksperimentalne (vakcinisane) grupe (14,2%) i iz mleka osam krava (38%) kontrolne grupe. Klinički mastitisi izazvani bakterijom *S. aureus* nisu ustanovljeni kod vakcinisanih krava, a u kontrolnoj grupi krava potvrđeni su mikrobiološkim metodama kod tri (14,2%) grla. Broj SCC u 1 ml mleka u kontrolnoj grupi, sa početnom vrednosti, 100 posto pada na 47 posto, a kod eksperimentalne grupe broj SCC sa 100 pada na 80 posto od početne vrednosti, ali se zadržava u dozvoljenim fiziološkim granicama. Nivo antitela kontrolne grupe veći za 20 posto od eksperimentalne do drugog meseca posle teljenja. Početkom trećeg meseca nivo antitela eksperimentalne grupe krava veći je za oko 8 posto u odnosu na iste vrednosti u kontrolnoj grupi, a četvrtog i petog meseca vrednosti su veće za oko 3 posto, a krajem petog meseca rastu do 18 posto od početne vrednosti. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost smanjenja pojavljivanja kliničkih supkliničkih mastitisa izazvanih bakterijom *S. aureus* upotrebom imunoprofilakse kao novog pristupa borbi protiv mastitisa izazvanog bakterijom *S. aureus*.

Literatura / References

1. Carter E. W., Kerr D. E.: Optimization of DNA-based vaccination on Cows Using Green Fluorescent protein and Protein A as a Prelude to Immunization Against Staphylococcal mastitis. J. Dairy Sci. 86, 1177-1186, 2003. - 2. Derosa D. C., Sordillo Lm.: Efficacy of a bovine Staphylococcus aureus vaccine using interleukin-2 as an adjuvant. ZentralblVeterinarmed. 44, 10, 599-607, 1997. - 3. Giraudo J. A., Calzolari A., Rampone H., Rampone A., Giraudo A., Bogni C., Larriestra A., Nagel R.: Field Trial of a Vaccine Against Bovine Mastitis. 1. Evaluation in heifers. J. Dairy Sci. 80, 845-853, 1997. - 4. Gruneth E.: Buiatrik. Verlag Schape, Hanover, 1996. - 5. Guidry A. J., O'Brien C. N., Oliver S. P., Dowlen H. H., Douglass L. W.: Effect of whole Staphylococcus aureus and mode of immunization on bovine opsonizing antibodies. J. Dairy Sci. 77, 10, 2965, 1994. - 6. Katić Vera i sar.: Veterinarski glasnik, 3-4, 299-308, 1990. - 7. Leitner G. et al.: Development of a Staphylococcus aureus vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. Vet. Immunol. Immunopathol., 20, 93, 3-4, 153-158, 2003. - 8. Nickerson S. C. et al.: Effect of a Staphylococcus aureus bacterin on serum antibody, new infection and mammary histology in nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 76, 5, 1290-1297, 1993. - 9. Nordhaug M. L., Nesse L. L., Norcross N. L., Gidding R.: A Field Trial with an Experimental Vaccine Against Staphylococcus aureus Mastitis in Cattle. 2. Antibody Response. J. Dairy Sci. 77, 176-1284, 1994. - 10. O'Brien C. N., Guidry A. J., Fattom A., Shepherd S., Douglass L. W., Westhoff D. C.: Production of antibodies to

Staphylococcus aureus serotypes 5, 8, and 336 using poly (DL-lacide-co-glycolide) microspheres. J. Dairy Sci. 83, 8, 1758-1766, 2000. - 11. Pavlović V., Vakanjac Slobodanka, Pavlović M.: Terapija krava u zasušenju. Veterinarski glasnik 50, 5-6, 351-355, 1996. - 12. Pavlović V. i sar.: Preventiva i terapija mastitisa krava. Simpozijum „Mastitisi i kvalitet mleka”, Vrnjačka Banja, 2001. - 13. Stanojević S., Krnjaić D.: Gljivični mastitisi goveda. Simpozijum „Mastitis i kvalitet mleka”, Vrnjačka Banja, 2001. - 14. Tyler J. W. *et al.*: Treatment of subclinical mastitis. Vet. Clin. North. Am. Food. Animal. Practis. 8, 1, 17-28, 1992. - 15. Watson D. L.: Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in dairy heifers. Resarch in Veterinary Sciense. 53, 346-353, 1992.

ENGLISH

PROPHYLAXIS, IMMUNOPROPHYLAXIS AND THERAPY OF STAPHYLOCOCCAL MASTITIS

Slobodanka Vakanjac, V. Pavlovic, N. Pavlovic

Inflammation of the mammary gland, mastitis, in cows presents one of the most acute problems in intensive milk production, incurring huge economic losses which reach from 20-80% even in developed countries in the past decade. On the grounds of the programme of the respective Ministry, the Veterinary Service of the Republic of Serbia is obliged to monitor, detect, curb and control infective inflammation of the mammary gland caused by staphylococcus and streptococcus. Long-term different approaches to mastitis treatment did not result in the required solution, so that the problem of mastitis is still present and acute. In order to prevent the infiltration of the pathogenic cause into the mammary gland, its populating and multiplication, it is necessary to maintain constant and regular controls of milk, as well as undertake of preventive and therapeutic measures aimed at reducing the incidence of mastitis. Immunization and immunotherapy of mastitis are new and very interesting areas for scientific investigations and work. In the recent decades vaccines against staphylococcal mastitis are being successfully developed, whose success is reflected in the reduced incidence of clinical and subclinical mastitis.

Key words: mastitis, staphylococcus, streptococcus, immunoprohylaxis, therapy

РУССКИЙ

ПРОФИЛАКТИКА, ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ СТАФИЛОКОККОВЫХ МАСТИТОВ

Слободанка Ваканяц, В. Павлович, Н. Павлович

Воспаление молочной железы, маститы коров представляют собой один из наиболее актуальных проблем в интенсивном производстве молока, нанося большие экономические ущербы, которые даже и в развитых странах в последнем десятилетии, являются от 20 до 80%. На основе программы Министерства, ветеринарная служба Республики Сербии обязана следить, открывать, подавлять и контролировать инфекционное воспаление молочной железы вызвано стафилококком

или стрептококком. Многолетние различные доступы лечению мастита не дали соответствующее решение, да проблема мастита и дальше присутствующая и актуальная. Предупреждение прорыва патогенного возбудителя в молочную железу, его поселение и размножение, набрасывают постоянную нужду за регулярными контролями молока словно предпринимание превентивных и терапевтических мероприятий с целью уменьшения возникновения мастита. Иммунизация и иммунотерапия мастита новые и очень интересные области для научного исследования и труда. Последних десятилетий развиваются очень успешно вакцины против стафилококковых маститов, чей успех осматривается в уменьшении явлений клинических и подклинических маститов.

Ключевые слова: маститов, стафилококи, стрептококк, иммунопрофилактика, терапия

MMA SINDROM KOD SVINJA*

MMA SYNDROME IN SWINE

V. Pavlović, Slobodanka Vakanjac, M. Pavlović, N. Pavlović**

Bolest „svinjske civilizacije”, kako se još naziva MMA sindrom, podrazumeva dobre uslove smeštaja i prvenstveno dobru ishranu. Javlja se kod visoko produktivnih rasa svinja, ne javlja se kod primitivnih rasa i kod svinja u slobodnom držanju. Koprostaza koja je prisutna zbog obilne ishrane javlja se neposredno pred porođaj. Normalna saprofit-ska mikroflora zbog promenjenih uslova do kojih je dovelo pojavljivanje koprostaze, postaje patogena izazivajući toksemiju i bakterijemiju koje uzrokuju puerperalna oboljenja poznata kao metritis-mastitis-agalaktija (MMA) sindrom. Ovu bolest karakteriše zapaljenje mlečne žlezde (mastitis), uterusa (metritis) i smanjenje i prekid sekrecije mleka (agalactia).

Novija literatura ukazuje na kompleksnu etiologiju ovog oboljenja u koju je uključena infekcija izazvana koliformnim bakterijama, stres i hormonski disbalans.

Ključne reči: svinje, MMA sindrom

Uvod / Introduction

Proteklih decenija obavljena su mnogobrojna naučna i stručna ispitivanja u pravcu razvoja svinjarstva. Koristeći dosadašnja saznanja i iskustva nauka je doprinela da se u ovoj grani stočarstva sa ekstenzivne proizvodnje pređe na intenzivnu proizvodnju i uzgoj svinja. Uz to postignut je uspeh na polju selekcije svinja, intenziviranja proizvodnje i pronalaženja najadekvatnijeg rešenja smeštaja i ishrane. U reprodukciji svinja neophodno je da se plotkinjama obezbede optimalni uslovi za normalno odvijanje graviditeta, porođaja i puerperijuma. Težnja savremene proizvodnje svinja jeste u skraćivanju određenih faza proizvodnje prasadi. Period dojenja prasadi skraćen je sa 60 dana na 21 do 28 dana, čak sa težnjom da se svede na najmanje dve nedelje. Dužina graviditeta ne može, niti se

* Rad primljen za štampu 29. 5. 2005. godine

** Dr Vojislav Pavlović, redovni profesor, dr Slobodanka Vakanjac, asistent, dr Miloš Pavlović, docent, dr Nebojša Pavlović, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

preporučuje da se skraćuje, ali nam je primena prostaglandina omogućila sinhronizaciju prašenja kao skraćenje trajanja porođaja na granice koje odgovaraju tehnologiji proizvodnje. Činjenica je da se i trajanju puerperijuma, odnosno njegovo uklapanje u fiziološke granice, treba da posveti najveća pažnja. Razlog ovome je što normalan puerperijum omogućava pravovremenu involuciju i regeneraciju materice, a time i sposobnost za novo oplođenje, graviditet i porođaj. U današnjim uslovima savremenog i industrijskog načina držanja i iskorišćavanja svinja na farmama često nailazimo na problem involucije i regeneracije materice. Jedan od najčešćih problema intenzivnog uzgoja svinja je pojavljivanje puerperalnih oboljenja poznatih kao metritis-mastitis-agalaktija (MMA) sindrom. Ovu bolest karakteriše zapaljenje mlečne žlezde (*mastitis*), uterusa (*metritis*) i smanjenje i prekid sekrecije mleka (*agalactia*).

U novijoj literaturi može da se nađe ovaj sindrom pod nazivom peripartalna hipogalaktija svinja (PHS) [3]. MMA sindrom je prisutan u nekim zapatima i do 6,9 posto ukupnog broja krmača [2]. Mortalitet prasadi od krmača sa MMA sindromom je 4 posto, a samo u prvoj nedelji života mortalitet prasadi je 12,9 posto [2]. Isti autor navodi podatak da je srednji broj preživele prasadi krmača sa MMA sindromom u prvoj nedelji veći kod starijih grla (5,6), nego kod nazimica (9,3) ili kontrolne grupe (8,3).

Etiologija / Etiology

Bolest „svinjske civilizacije” kako se još naziva MMA sindrom, podrazumeva dobre uslove smeštaja i prvenstveno dobru ishranu. Javlja se kod visoko produktivnih rasa svinja, ne javlja se kod primitivnih rasa i kod slobodnog držanja svinja. Učestalost pojavljivanja MMA sindroma, znatno se povećala u industrijskom tipu držanja i ishrane životinja (kavezni sistem držanja, ograničeno kretanje visoko-suprasnih krmača, ležište bez prostirke, prekomerno hranjenje životinja energetski i proteinski bogatom hranom). Ovakvim načinom držanja plotkinja, promenjena je i adaptaciona sposobnost životinja, pa se narušavaju i neki fiziološki procesi (reprodukcija i graviditet). Posledica takvog stanja je povećano perinatalno uginuće prasadi, nastajanje MMA sindroma ili nekog drugog patološkog stanja. Visokoproduktivne rase svinja nose veći broj prasadi koji u zadnjim nedeljama graviditeta fiziološki dobijaju najviše u telesnoj masi i zapremini. Usled obilne ishrane digestivni trakt je pun. Gravidni uterus vrši pritisak na digestivne organe, što izaziva koprostazu. Koprostaza podrazumeva procese truljenja i fermentacije u crevima. Ovi procesi menjaju uslove sredine, tako da u ovako izmenjenim uslovima normalna saprofitska mikroflora postaje patogena i izazivajući toksemiju i bakterijemiju koje uzrokuju mastitis i metritis, mada mnogo češće samo mastitis i agalaktiju.

Bakterijska flora ovog oboljenja je kompleksna i u literaturi može da se nađe da je čine mnoge vrste bakterija: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Streptococcus pyogenes, *Corynebacterium pyogenes*, kao i *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* i *Streptococcus dysgalactiae* [6], kao i njihovi toksini [9, 1].

Najčešći uzročnici su bakterije iz roda stafilokoka, streptokoka, mikrokoka i posebno *E. coli* [8, 7]. Novija literatura ukazuje na kompleksnu etiologiju ovog oboljenja u koju su uključeni infekcija izazvana koliformnim bakterijama, stres i hormonski disbalans [10]. MMA sindrom je kompleksno oboljenje poremećaja metabolizma, bakterijske infekcije, hormonskog disblansa i stresa koji zauzima važnu ulogu u nastanku ovog oboljenja.

Bakterije (prvenstveno patogeni sojevi, *E. coli*, stafilokoke, streptokoke i *A. pyogenes*) ne uzrokuju samo abortus, nego su i uzročnici hroničnih endometritisa krmača, dok bakterijski toksini (*E. coli* toksini) znatno smanjuju nivo prolaktina u krvi, kao najvažnijeg hormona u očuvanju laktacije [12]. Novija literatura navodi podatke da je u krvi agalaktičnih krmača, prisutna niska koncentracija prolaktina u odnosu na zdrave jedinke [13]. Nije u potpunosti rasvetljen mehanizam koji je odgovoran za ovako nisku koncentraciju prolaktina u krvi krmača sa izostalom laktacijom, mada danas preovladava mišljenje da endotoksini bakterija *E. coli* ispoljavaju negativno dejstvo na lučenje prolaktina. Utvrđeno je da je kod krmača sa normalnom laktacijom glikemija veća pred prašenje i neznatno se smanjuje posle prašenja, dok je kod agalaktičnih životinja značajno niža i pre i posle prašenja [13]. Niska glikemija može da se tumači izostajanjem stimulatornih uticaja kortizola na glikoneogenezu kod agalaktičnih krmača.

Predisponirajući faktori su neadekvatna ishrana i držanje, hormonalne disfunkcije i konstituciona sklonost ka teškom porođaju. Pomenuti faktori uslovljavaju hipotoniju glatke i poprečno-prugaste muskulature, a to je jedan od osnovnih razloga koji uzrokuje nastajanje puerperalnog endometritisa i septikemije. Usled atonije materice zadržava se lohijalni sadržaj koji je veoma dobra podloga za nastajanje puerperalnih infekcija. Endometritis najčešće nastaje kao posledica infekcije materice u toku ili posle prašenja ili pobačaja. Za puerperalne endometritise, posebno su predisponirane krmače sa teškim porođajem, primarnom atonijom uterusa ili produženim trajanjem porođaja (više od 8 časova). Nastanku oboljenja pogoduju i prljava porodilišta, nepoštovanje osnovnih akušerskih pravila pri pružanju pomoći porodilji, kao i izmenjen imunološki status krmače [11]. U literaturi se nailazi na radove nekih autora koji navode da se laktacioni poremećaji javljaju češće leti, pri višim temperaturama spoljašnje temperature. Velika kolebanja spoljašnje temperature utiču na stepen odbrambenih sposobnosti organizma. Sigurno je da u nastajanju ove bolesti određenu ulogu imaju i genetski činioci.

Patološko-morfološke promene / Pathological-morphological changes

Uterus je atoničan, povećan, ispunjem sadržajem koji je od gnojno-krvavog do ihoroznog. Mogu da se nađu delovi posteljice ili delovi ploda ukoliko

je došlo do uginuća i putrefakcije, a na miometrijumu se nalaze tačkasta krvarenja. U trbušnoj šupljini može da se nađe smeđi transudat, a veoma čest nalaz je i lokalni peritonitis koji je prisutan oko uterusa koji se nalazi u zapaljenjskom procesu. Na materici mogu da se nađu polipozna zadebljanja endometrijuma. Zidovi materice su mekani, rogovi su povećani, a lumen im je ispunjen gnojno-ihoroznim sadržajem, fetalnim ovojnicama i zaostalim emfizematoznim plodovima. Na sluzokoži materice inficirane stafilokokama mogu da se nađu nekrotična žarišta, a kod infekcije izazvane nekim drugim živim agensima (*C. pyogenes*) dominira gnojni sadržaj. Promene na vimenu nisu karakteristične i zavise od uzročnika koji je izazvao zapaljenjski proces. Koža na vimenu je jače ili slabije crvena ili cijanotična, otečena i bez mleka. Kod gnojnih mastitisa u žlezdanom tkivu vimena se nalaze gnojni čvorići, ispunjeni žutozelenkastim sadržajem.

Klinička slika / Clinical picture

Prvi znaci oboljenja javljaju se najranije 12 časova posle prašenja. Disanje je ubrzano i otežano. Krmače leže sternalno, što je karakteristično za MMA, time onemogućavaju prasad da sisaju, jer usled mastitisa akt sisanja je veoma bolan. Vime je zacrvenjeno, bolno na dodir i sa smanjenom količinom mleka ili potpunim prekidoŕn lučenja. Krmače gube apetiti i prestaje lučenje mleka (*agalactiae*), a kod prasadi se često javlja proliv koji ako se ne leči dovodi do uginuća. Prasad skiče od gladi i prisutan je određeni stepen dehidracije. Prasad su manje živahna, lenjo se kreću i više leže. Ovakvo stanje prati pad telesne temperature i povremena pojava grčeva donje vilice i usana. Najčešće nastaju infekcije gastrointestinalnog trakta prasadi praćene prolivom. Pri akutnom endometritisu krmače pokazuju težak poremećaj opšteg stanja. Iz vagine se cedi žuto do prljavo crveno obojeni sekret, a krmače pokazuju znake apatije, povišenu temperaturu i više od 40°C, ubrzanog pulsa i srčanog rada, depresije i inapetencije. Vaginalni iscedak ne mora da bude uvek prisutan kao indikator zapaljenjskog procesa materice. Endometritis je jedan od primarnih uzroka nastanka agalaktije, odnosno prestanka lučenja mleka.

Dijagnoza / Diagnosis

Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike, patomorfološkog nalaza i bakteriološke analize sadržaja koji potiče iz vagine ili uterusa. Diferencijalno-dijagnostički treba da se ima u vidu gnojni hronični endometritis, piometra, aktinomikoza vimena i drugo. Od virusnih infekcija treba da se navedu korona virusi, parvovirusi i enterovirusi.

Terapija i profilaksa / Therapy and prophylaxis

Terapija / Therapy

Lečenje endometritisa krmača sastoji se u aplikaciji antibiotika parenteralno i lokalno. Terapija se sastoji od davanja kombinacije streptomicina i penicilina, kao i davanje oksitocina [7]. Hirsch i sar [5] kao osnov terapija MMA sindroma koristili su kombinaciju antibiotika i oksitocina (5-10 ij). Intrauterino se preporučuje i davanje rastvora 1% Lotagena u količini od 100 do 150 ml. U svome radu upotreбили su dve ogledne grupe krmača, gde su na osnovnu terapije kod jedne grupe krmača upotreбили meloksikam, a kod druge grupe fluniksin. Obe grupe ispitivanih krmača tretirane ovim nesteroidnim antireumaticima (NSAIDs) postigle su brži oporavak i niži mortalitet prasadi, nego grupa krmača tretirana osnovnom terapijom. Ovaj noviji pristup terapiji MMA sindroma potkrepljen je činjenicom da dajući samo antibiotike uništava se infektivni uzrok ove bolesti. Proces zapaljenja su i dalje nastavljeni i uzrokovali su uništavanje ćelije sa posledičnim oslobađanjem i aktivacijom arahidonske kiseline [4].

Arahidonska kiselina se transformiše kroz ključni enzim ciklooksigenazu u jedinjenja kao što su prostaglandini i trombolizani koji su medijatori lokalne i sistemske zapaljenjske reakcije. Iz tih razloga NSAIDs-om je postignut dobar efekat u lečenju MMA sindroma, jer se davanjem ovih preparata blokiraju i smanjuju efekti medijatora zapaljenjskih reakcija kao što su prostaglandini i slično. Prasadima treba supkutano da se dâ izotonični rastvor glikoze i da se stave pod sisu druge krmače da bi se smanjio broj uginule prasadi.

Profilaksa / Prophylaxis

Sastoji se u navedenom:

- visoko suprasnim krmačama treba da se prilagode ishrana i nega;
- od 7 do 10 dana pred prašenje krmačama se prepolovi obrok, a dan uoči očekivanog prašenja potpuno se ukine hrana;
- obavezno se daje laksans (gorka so) ili još bolje, kako bi se smanjili troškovi proizvodnje, zadnjih 7 do 10 dana u obrok se ukomponuju mekinje koje imaju izuzetno dobro laksativno dejstvo;
- dan uoči očekivanog ili indukovnog porođaja ukida se obrok i omogućava samo pojenje;
- obavezno je termometriranje posle porođaja, a svakoj krmači kojoj je izmerena temperatura viša od 39,3 °C treba da se daju antibiotici, jer povišena temperatura ukazuje na mogućnost pojavljivanja MMA sindroma;
- sprovođenje higijenskih mera u prasilištu (dezinfekcija prostora i pribora);
- suzbijanje infekcija polnih organa i pravovremena akušerska pomoć pri prašenju;
- smanjiti mogućnosti nastajanja stresa;

– u krmnu smešu dodati optimalne količine fosfora, kalcijuma, selena i vitamina E.

Literatura / References

1. Awad-Masalimeh M., Baumgartner A., Passering R., Silber F., Hinterdorfer: Bakteriologische Untersuchungen bei an puerperaler Mastitis (MMA-Syndrom) erkrankten Sauen in verschiedenen tierbeständen Österreichs- Tierarztl. Umsch. 45, 526-535, 1990. -
2. Blackstrom L. *et al.*: Clinical study of mastitis-metritis-agalactia in sows in Illinois. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 1, 70-73, 1984. -
3. Belstra B. A.: Effect of a Seven Day Stars- steps. Feeding Regiment Versus Ad Libitum Feeding throughout Lactation on Sow and Litter Performans. Purchue University Swine Day Report, 1998. -
4. Douring F. *et al.*: Control losses from MMA and locomotor disorder. Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH. Ingelheim. Germany, 2003. -
5. Hirsch A. C., Kleemann R. P.: Investigation on the efficacy of meloxicam in sows with MMA. J. Vet. Pharmacol. Ther. 26, 5, 355-360, 2003. -
6. Korudzhinski N. *et al.*: Drug resistance of bacterial strains isolated from sows with the clinical picture of mastitis-metritis-agalactia. Vet. Med. Nauki, 24, 7, 15-19, 1987. -
7. Miljković V.: Veštačko osemenjivanje i sterilitet svinja. Savez veterinara i veterinarskih tehničara, Beograd, 1969. -
8. Paufler S.: Fortpflanzungsstörungen, bei Schweinen. Verl. M. Schaper, Hanover, 1965. -
9. Ross R. F., *et al.*: Bacteriologic study of sow agalactia. Am. J. vet. Res. 42, 949-955, 1981. -
10. Quinn P. J.: Clinical Veterinary Microbiology. Year Book Europe Limited. London. England, 1998. -
11. Waldmann K. H., Heide J.: Uterusatonie als pathogenetischer Faktor bei Puerperalerkrankungen von Sauen. Der praktische Tierarzt, 79, 1, 1998. -
12. Wagner W. C.: Prolaktinsekretion und Agalactic beim Schwei. wien, Tierarztl. Monatsschr. 72, 412, 1985. -
13. Stamatović S. M., Šamanc H.: Bolesti svinja, Beograd, 2001.

ENGLISH

MMA SYNDROME IN SWINE

V. Pavlovic, Slobodanka Vakanjac, M. Pavlovic, N. Pavlovic

The so-called swine civilization disease, also known as the MMA syndrome, implies good housing conditions and primarily a good diet. It occurs in highly productive swine breeds, and it does not occur in primitive breeds or in free-range swine production. Coprostasis which is present because of a subatantial diet occurs just before delivery of piglets. As a result of the altered conditions resulting from the appearance of coprostasis, the normal saprophytic microflora becomes pathogenic causing toxemia and bacteriemia which lead to puerperal diseases known as the metritis-mastitis-agalactia (MMA) syndrome. This disease is characterized by inflammation of the mammary gland (mastitis), the uterus (metritis), and reduced and suspended milk secretion (agalactia).

The most recent data in literature indicate the complex etiology of this disease which involves infection with coliform bacteria, stress and hormonal disbalance.

Key words: swine, MMA syndrome

РУССКИЙ

ММА СИНДРОМ У СВИНЕЙ

В. Павлович, Слободанка Вакањц, М. Павлович, Н. Павлович

Болезнь „свиной цивилизации“, как ещё называется ММА синдром, подразумевает хорошие условия помещения и в первую очередь хорошее кормление. Является увысоко продуктивных пород свиней, не является у примитивных пород и у свободного содержания свиней. Копростаз, присутствующий из-за обильного кормления является непосредственно до родов. Нормальная сапрофитная микрофлора из-за изменчивых условий до которых привело явление копростаза, становится патогенным, вызывая токсемию и бактериемию, приводящие до пuerперальных заболеваний известных как метрит-мастит-агалактия (ММА) синдром. Эта болезнь характеризуется воспалением молочной железы (мастит), матки (метрит) и уменьшением и прекращением секреции молока (агалактия).

Более новая литература указывает на комплексную этиологию этого заболевания в которое включена инфекция колиформными бактериями, стресс и гормональный дисбаланс.

Ключевые слова: свиней, ММА синдром

**ISPITIVANJE OSETLJIVOSTI SOJEVA *SALMONELLA* VRSTA
POREKLOM OD ŽIVINE SA RAZLIČITIH EPIZOOTIOLOŠKIH
PODRUČJA NA ANTIBIOTIKE***

***INVESTIGATIONS OF SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS OF
SALMONELLA STRAIN SPECIES ORIGINATING FROM POULTRY
FROM DIFFERENT EPIZOOTIOLOGICAL AREAS***

Zorica Stošić, M. Mitrić, F. Kiškarolj, D. Mišić, Ružica Ašanin**

Ispitano je ukupno 1666 uzoraka. Od toga 512 uzoraka parenhimatoznih organa uginulih ili prinudno žrtvovanih jedinki, 60 uzoraka oplodjenih jaja iz kojih se nisu izlegli pilići (ugušaka), 202 uzorka fecesa, 652 uzorka kloakalnih briseva, 221 uzorak briseva sa zidova objekata za odgoj, inkubatorskih stanica i transportnih vozila i 19 uzoraka prostirke i šuške. Uzorci su poticali sa farmi živine i odmah nakon uzorkovanja dopremani su u laboratoriju i istog dana zasejavani. Ukupno je izolovano 104 soja salmonela: 94 soja iz uzoraka parenhimatoznih organa uginulih ptica, jedan soj iz uzoraka ugušaka jaja, tri soja iz uzoraka fecesa, jedan soj iz uzoraka kloakalnih briseva, četiri soja iz uzoraka briseva sa površina objekata za odgoj i transportnih vozila i jedan soj iz uzoraka prostirke i šuške. Serološkom tipizacijom ustanovljeno je prisustvo sledećih serovarijeteta: *Salmonella* Enteritidis 79 sojeva, *Salmonella* Hartford 17 sojeva, *Salmonella* Typhimurium pet sojeva, *Salmonella* Mbandaka dva soja i *Salmonella* Glostrup jedan soj. Ispitana je osetljivost sojeva *Salmonella* na ampicilin, amoksicilin, gentamicin, streptomycin, neomicin, enrofloxacin, norfloksacin, flumekvin, eritromicin, linkospektin, kolistin, fluorfenikol i kombinaciju sulfametoksazola i trimetoprima. Kod sojeva *S. Enteritidis*, nije otkrivena rezistencija na kolistin, fluorfenikol i sulfametoksazol+trimetoprim, odnosno, osetljivost na ove antibakterijske lekove bila je sto posto. Prevalencija rezistencije od 0,96%, odnosno samo kod jednog soja utvrđena je na enrofloxacin. Visoka prevalencija rezistencije od 33,6% us-

* Rad primljen za štampu 23. 3. 2006. godine

** Dipl. vet. Zorica Stošić, spec. mikrobiologije, Milan Mitrić, dipl. vet., Veterinarski specijalistički institut „Šabac“, Šabac; dipl. vet. Ferenc Kiškarolj, spec. mikrobiologije, Veterinarski specijalistički institut „Subotica“, Subotica; mr Dušan Mišić, asistent, dr Ružica Ašanin, redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

tanovljena je na neomicin, dok je prevalencija rezistencije od 3,86 posto ustanovljena na srodni amino-glikozidni antibiotik gentamicin. Najviša prevalencija rezistencije kod sojeva *S. Hartford* ustanovljena je na eritromicin od 15,38 posto i streptomycin od 7,6 posto. Rezistencija *S. Typhimurium* otkrivena je na flumekvin i eritromicin kod 1,9 posto sojeva. Kod sojeva *S. Mbandaka* i *S. Glostrup* nije ustanovljena rezistencija na antibiotike.

Ključne reči: salmonela, rezistencija, antibiotici

Uvod / Introduction

Salmoneloza je zarazna bolest ljudi i životinja prouzrokovana bakterijama iz roda *Salmonella*. Podvrsta *Salmonella enterica* subsp. *enterica* je na osnovu antigenskih karakteristika podeljena na skoro 2400 serotipova, među kojima se nalazi ogroman broj salmonela koje se nisu adaptirale na određenog domaćina pa mogu da izazovu bolest domaćih i divljih životinja, kao i čoveka. Poznato je da ljudi mogu da se inficiraju salmonelama direktnim kontaktom sa životinjama ili fekalno-oralnim putem. Međutim, najznačajniji i statistički najčešći put prenošenja salmoneloze je preko kontaminisanih namirnica životinjskog porekla. Na osnovu višegodišnjih ispitivanja u zemljama EU ustanovljeno je da je najčešći uzročnik salmoneloze ljudi *Salmonella Enteritidis* koja potiče od živine, a odmah iza nje je *Salmonella Typhimurium*.

Stoga, posebno značajan problem u javnom zdravstvu predstavlja salmoneloza živine. Prisustvo salmonela u jatima živine, kao i pojava salmoneloze uzrokuje velike ekonomske gubitke u živinarskoj proizvodnji. Direktno štete mogu da se pojave u svakoj fazi proizvodnje. Najpre, u zaraženim jajima nastaje smrt embriona ili se uginuća javljaju u prvih nekoliko dana života. Iako su stariji pilići znatno otporniji na infekciju, stres može da poveća pojavljivanje infekcije izazvane salmonelama, a zaražene jedinke imaju znatno slabije proizvodne sposobnosti. Infekcije odrasle živine najčešće prolaze asimptomatski, međutim, u ovoj fazi se znatno povećavaju troškovi proizvodnje zbog mera koje se preduzimaju da bi se sprečilo širenje na potomstvo, odnosno na ljude. Mere kontrole obuhvataju dezinfekciju objekata i opreme, deratizaciju, vakcinaciju i laboratorijska ispitivanja.

Antimikrobna sredstva koja se primenjuju kod životinja u različite svrhe utiču na pojavljivanje sojeva salmonela rezistentnih na jedan ili više antibiotika i hemioterapeutika. Pojava rezistentnih sojeva salmonela može da dovede u pitanje mogućnost lečenja životinja i ljudi, čime se indirektno povećava ekonomski pritisak na živinarsku proizvodnju, odnosno zahteva se rigoroznije sprovođenje mera za suzbijanje salmoneloze. Posebno je opasna preventivna primena antibiotika u živinarstvu, ali se zbog povećane osetljivosti životinja iz intenzivnog uzgoja na infekcije praktično ne može da izbegne svakodnevno dodavanje antibiotika u hranu. Osim toga, antibiotici se u supertapijskim dozama dodaju

stočnoj hrani radi poboljšanja prirasta, čime se praktično izvodi selekcija rezistentnih loza salmonela. Uprkos tome, rezistencija salmonela na antibiotike se relativno retko pojavljuje i one se još uvek smatraju „antibiotik predvidivim” bakterijama. Međutim, u poslednjih dvadeset godina zabeležene su epidemije salmoneloze životinja i ljudi izazvane multirezistentnim sojevima *Salmonella Typhimurim*, a u nekoliko slučajeva došlo je do smrtnog ishoda inficiranih ljudi koji nisu mogli da se leče antibioticima.

Naročito se povećalo interesovanje za otkrivanjem i proučavanjem sojeva *Salmonella* koji su rezistentni na fluorohinolone. Smatra se da je rezistencija bakterija iz ovoga roda na ciprofloksacin i druge fluorohinolone izrazito opasna pojava, jer su takvi sojevi uglavnom rezistentni i na skoro sve ostale antibiotike, pa je mogućnost terapije infekcija ovim sojevima minimalna ili čak i ne postoji. Prema istraživanjima u Velikoj Britaniji, učestalost inficiranja ljudi sojevima *S. Enteritidis* koji su rezistentni na ciprofloksacin povećala se sa 0,4% koliko je bila 1994. godine na 1,3% u 1997. godini. Prema dosadašnjim istraživanjima u našoj zemlji se veoma retko otkrivaju sojevi *Salmonella* koji potiču od životinja koji su rezistentni na fluorohinolone pored činjenice da se kod nas fluorokinoloni vrlo široko upotrebljavaju. Takođe, prema podacima iz literature, sojevi *Salmonella* rezistentni na ciprofloksacin i druge fluorohinolone, još uvek se retko pojavljuju u svetu. Prema rezultatima dvogodišnjeg istraživanja sprovedenog u SAD od 2001. do 2003. godine od 760 izolovanih sojeva *S. Enteritidis* iz hraniva životinjskog porekla i organizma obolelih ljudi, ni jedan nije bio rezistentan na ciprofloksacin, ali je 6 posto ispitanih sojeva bilo rezistentno na nalidiksinsku kiselinu. Ustanovljeno je, naime, da kod infekcija izazvanih sojevima *S. Enteritidis* rezistentnim na nalidiksinsku kiselinu, uprkos *in vitro* osetljivosti ovih sojeva na ciprofloksacin i enrofloksacin, tokom terapije ovim hemioterapeuticima ne nastaje kliničko poboljšanje. Još uvek nije ustanovljeno koji je uzrok ovoj pojavi, ali NCCLS iz ovih razloga preporučuje istovremeno ispitivanje svih sojeva i serotipova salmonela na nalidiksinsku kiselinu i ciprofloksacin.

Interesantno je da se napomene da je već više od petnaest godina u stručnoj i naučnoj mikrobiološkoj literaturi, kao i u literaturi vezanoj za infektivne bolesti u humanoj i veterinarskoj medicini, naglašeno da je crevna salmoneloza kod ljudi i životinja gotovo uvek „samolimitirajuća” infekcija i da nije neophodna terapija antibioticima, naročito posle utvrđivanja da se antibioticima ne skraćuje vreme trajanja ovih infekcija, niti ublažavaju simptomi bolesti. Takođe je otkriveno da antibiotici značajno doprinose produženom izlučivanju salmonela fecesom kod prebolelih jedinki i to tokom perioda od nekoliko nedelja do nekoliko godina. Međutim, uprkos tome, i dalje se posle otkrivanja jedinki inficiranih salmonelama najčešće pribegava antibiotskom tretmanu, čime se utiče na pojavljivanje multirezistentnih sojeva bakterija iz ovoga roda. Za razliku od toga, sistemske infekcije salmonelama, kao i salmoneloze kod dece i starih osoba moraju da se leče antibioticima, ali se upravo kod ovih infekcija kao uzročnici najčešće pojavljuju multirezistentni sojevi salmonela, pa je antibiotski tretman otežan ili praktično nije moguć.

Materijal i metode / *Materials and methods*

U ispitivanju su korišćeni prvenstveno uzorci koji potiču od živine. U tu svrhu je ispitano ukupno 1666 uzoraka i to 512 uzoraka parenhimatoznih organa uginulih ili prinudno žrtvovanih ptica, 60 uzoraka oplođenih jaja iz kojih se nisu izlegli pilići (ugušaka), 202 uzorka fecesa, 652 uzorka kloakalnih briseva, 221 uzorak briseva sa zidova objekata za uzgoj, inkubatorskih stanica i transportnih vozila, 19 uzoraka prostirke i šuške. Uzorkovanje je obavljeno na farmama živine i svi uzorci su odmah posle uzorkovanja dopremani u laboratoriju i istoga dana metodom predobogaćenja zasejavani u puferizovanu peptonsku vodu (Torlak) u odnosu 1:10. Posle 24 časa inkubacije na temperaturi od 37°C obavljeno je presejavanje, takođe u odnosu 1:10 u selektivne podloge: Rapaport Vasiliadis bujon (BBL), selenit cistein bujon (BBL), selenit F bujon (Torlak) i tetratonat bujon (Oxoid). Za selektivno obogaćenje primenjene su četiri različite podloge radi upoređivanja kvaliteta, odnosno osetljivosti podloge za otkrivanje prisustva salmonela. Selektivne podloge su inkubisane 18 časova na temperaturi od 37°C nakon čega je materijal presejavan na čvrste diferencijalne podloge: Rambach agar (Merck), MacConkey agar (BioLife), Hektoen enteric agar (BBL) i XLD agar (Bio Merieux). Karakteristično obojene, laktoza negativne kolonije prenošene su sa diferencijalnih podloga na trostruki šećer (Torlak), kao i na Lysine iron agar (BBL).

Kod sojeva koji su bili laktoza i saharoza negativni, lizin i sumpor pozitivni izvedeno je ispitivanje upotrebom proširenog biohemijskog niza koji je uključivao ispitivanje sposobnosti stvaranja indola, reakciju sa metil crvenim, Voges-Proskauer reakciju, sposobnost korišćenja citrata, prisustvo enzima ureaze, želatinaze, fenilalanin deaminaze i β galaktozidaze (ONPG test) i test pokretljivosti u TTC podlozi. Ukoliko je biohemijski profil ispitivanog soja odgovarao profilu prikazanom u tabeli 1 obavljena su dalja serološka ispitivanja radi tipizacije soja primenom specifičnih dijagnostičkih seruma.

Tabela 1. *Biohemijski profil Salmonella spp.*
Table 1. *Biochemical profile of Salmonella spp.*

	Indol	M. red	VP	Citrat <i>Citrate</i>	Lak- toza <i>Lactosis</i>	H ₂ S	Pok- retlji- vost <i>Motility</i>	Fenil alanin <i>Phenyl alanine</i>	Ureja / <i>Urea</i>	Želatin <i>Gelatine</i>	ONPG	Lizin <i>Lysine</i>
<i>Salmonella</i> <i>subgenus</i> I	–	+	–	+	–	+	+	–	–	–	–	+
<i>Salmonella</i> <i>subgenus</i> III	–	+	–	+	–	+	+	–	–	–	+	+

Osim toga, u slučajevima otežane determinacije određenih sojeva bakterija korišćen je i automatski identifikacioni sistem API20E (BioMerieux)

Serološka tipizacija *Salmonella* vrsta izvedena je primenom specifičnih polivalentnih dijagnostičkih seruma proizvođača RZZ Srbije „Milan Jovanović Batut”, kao i Becton Dickinson, USA.

Za ispitivanje osetljivosti izolovanih sojeva bakterija na antibiotike korišćeni su Mueller Hinton agar (Torlak) i Mueller Hinton agar II (BioLab). Prilikom ispitivanja osetljivosti bakterija disk difuzionom metodom po Kirby Baueru korišćeni su antibiogram diskovi (Becton Dickinson, Bioanalyse) i antibiogram tablete (Torlak). Ispitana je osetljivost sojeva *Salmonella* na ampicilin, amoksicilin, gentamicin, streptomycin, neomicin, enrofloxacin, norfloxacin, flumekvin, eritromicin, linkospektin, kolistin, fluorfenikol i kombinaciju sulfametoksazola i trimetoprima. Tokom ispitivanja korišćen je i kontrolni referentni soj *Salmonella enteritidis* ATCC 31806.

Rezultati / Results

Ukupno je izolovano 104 soja salmonela od kojih su 94 soja poticala iz uzoraka parenhimatoznih organa uginulih ptica, jedan soj iz ugušaka jaja, tri soja iz uzoraka fecesa, jedan soj iz uzoraka kloakalnih briseva, četiri soja iz uzoraka briseva sa površina objekata za odgoj i transportnih vozila i jedan soj iz uzoraka prostirke i šuške.

Serološkom tipizacijom ustanovljeno je prisustvo serovarijeteta: *Salmonella Enteritidis* 79 sojeva, *Salmonella Hartford* 17 sojeva, *Salmonella Typhimurium* 5 sojeva, *Salmonella Mbandaka* 2 soja i *Salmonella Glostrup* 1 soj.

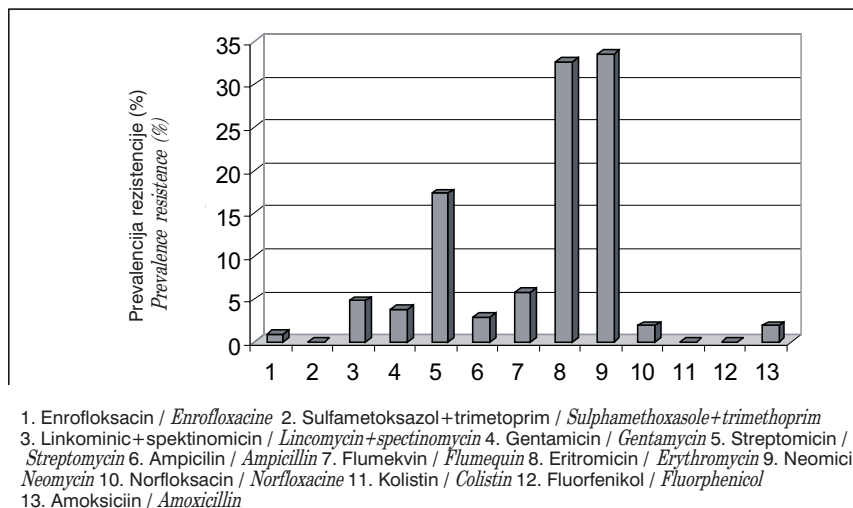
Ispitivanjem osetljivosti izolovanih sojeva *S. Enteritidis* na antibakterijske lekove, nije otkrivena rezistencija na kolistin, fluorfenikol i sulfametoksazol+trimetoprim, odnosno, osetljivost na ove antibiotike i hemioterapeutike bila je sto posto.

Prevalencija rezistencije na enrofloxacin bila je 0,96 posto, odnosno otkriven je samo jedan soj rezistentan na ovaj hemioterapeutik.

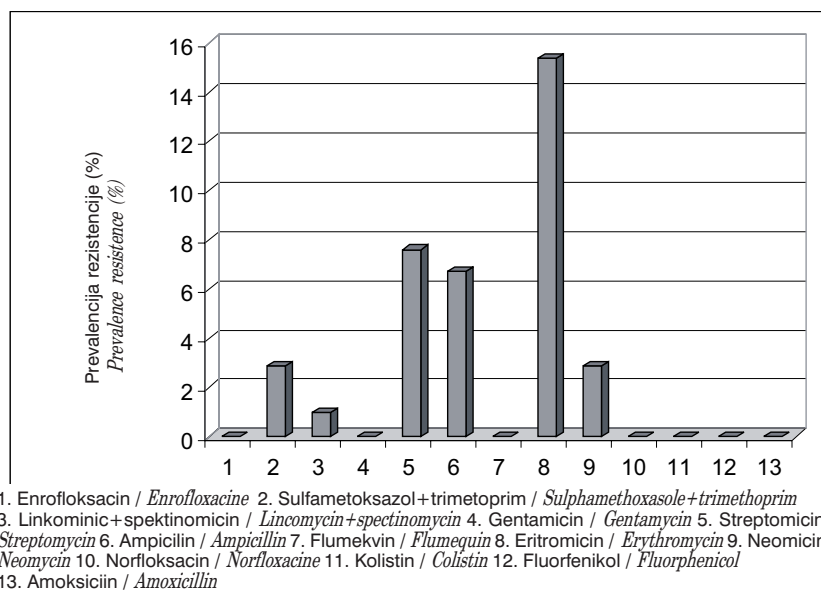
Visoka prevalencija rezistencije ustanovljena je na neomicin i bila je 33,6 posto, dok je prevalencija rezistencije na srodni amino-glikozidni antibiotik gentamicin bila samo 3,86 posto.

Ostali rezultati povezani sa rezistencijom kod sojeva *S. Enteritidis* na antibiotike u odnosu na ukupan broj ispitanih sojeva salmonela prikazani su na grafikonu 1.

Prilikom ispitivanja osetljivosti izolovanih sojeva *S. Hartford* na antibakterijske lekove, ustanovljena je osetljivost svih ispitanih sojeva na enrofloxacin, flumekvin, norfloxacin, kolistin i fluorfenikol, odnosno rezistencija na ove lekove nije ustanovljena. Najviša prevalencija rezistencije ustanovljena je na eritromicin 15,38 posto i streptomycin 7,6 posto. Rezultati prisustva rezistencije na antibiotike kod sojeva *S. Hartford* prikazani su na grafikonu 2.



Slika 1. Otpornost sojeva *S. Enteritidis* na različite antimikrobne agense (%)
 Figure 1. Resistance of *S. Enteritidis* strains to different antimicrobial agents (%)



Slika 2. Otpornost sojeva *S. Hartford* na različite antimikrobne agense (%)
 Figure 2. Resistance of *S. Hartford* strains to different antimicrobial agents (%)

Statistički najniža prevalencija rezistencije na antibiotike ustanovljena je kod sojeva *S. Typhimurium* mada je izolovano i ispitano samo pet sojeva ove vrste. Nije ustanovljena rezistencija na enrofloksacin, sulfametoksazol+trimetoprim, linkomicin+spektinomycin, gentamicin, eritromicin, neomicin, norfloksacin, kolistin, fluorfenikol i amoksisilin, odnosno, osetljivost ispitanih sojeva *S. Typhimurium* na navedene antibiotike bila je 100 posto. Rezistencija je otkrivena kod 1,9 posto sojeva na flumekvin i eritromicin.

Kod sojeva *S. Mbandaka* i *S. Glostrup* nije ustanovljena rezistencija na antibiotike.

Diskusija / Discussion

Ispitivanjem uzoraka koji potiču od živine iz jednog od ispitivanih regiona izolovano je petnaest sojeva salmonela od kojih je kod samo dva soja otkrivena rezistencija na gentamicin, dok nije ustanovljena rezistencija na ostale primenjene antibiotike ni kod jednog ispitivanog soja.

Za razliku od toga, kod salmonela izolovanih iz drugog ispitivanog regiona ustanovljena je značajno viša prevalencija rezistencije na nekoliko antibiotika, što je i prikazano u prethodnom poglavlju. Ako je pojava rezistencije vezana za količinu i vrstu upotrebljenih antibakterijskih lekova može da se pretpostavi da se u jednom od ispitivanih regiona koristi znatno veća količina ovih lekova u lečenju obolele živine, a verovatno i u profilaktične svrhe i radi poboljšanja prirasta.

Uprkos širokoj upotrebi fluorohinolona kod živine u našoj zemlji, otkriven je samo jedan soj *S. Enteritidis* rezistentan na ovaj hemioterapeutik.

Takođe, treba da se naglasi da je broj od 104 izolovane salmonеле iz 1666 različitih uzoraka veoma mali. Razlog ovome može da bude niska incidenca salmoneloze kod živine u regionima koji su bili obuhvaćeni ispitivanjem, ali i nepravilno uzorkovanje materijala. Naime, prema preporukama međunarodnih institucija neophodno je da se uzorkuje veća količina fecesa, pet do deset grama koja potiče od malih i 25 grama od velikih životinja. Rektalni i kloakalni brisevi su neprihvatljiv uzorak za ispitivanje na prisustvo salmonela. U mnogim radovima domaćih autora jasno je naglašena potreba za izmenom domaćih pravilnika i protokola u svrhu adekvatnijeg uzorkovanja materijala, zato što je poznato da se u našim uslovima na pregled u laboratorije veoma često dopremaju rektalni i kloakalni brisevi ili feces u nedovoljnim količinama. U tu svrhu, neophodno je da se dodatno edukuju kolege na terenu koji se bave uzorkovanjem materijala i njegovim slanjem u laboratorije. Osim toga, veoma veliki broj mikrobioloških laboratorija u našoj zemlji i dalje koristi selenit F bujon kao referentnu podlogu za selektivno obogaćanje, a poznato je da je ova podloga izbačena iz upotrebe u EU zbog izraženog inhibitornog delovanja selena na mnoge vrste salmonela.

Literatura / References

1. Eu cast: Metode za određivanje osetljivosti bakterija na antimikrobne agense – Terminologija. Institut za imunologiju i virusologiju „Torlak“, Beograd, Odeak za antibiogram, 1998. - 2. Hoorfar J. D., Baggesen L.: Importance of pre-enrichment media for isolation of *Salmonella* spp. from swine and poultry. FEMS Microbiology Letters 169, 125-130, 1998. - 3. Jones Y. E., Chappell S., McLaren I. M., Davies R. H., Wray C.: Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from animals and their environment in England and Wales from 1988 to 1999. *Veterinary record* 150, 649-654, 2002. - 4. Kauffman F. et al.: The Bacteriology of Enterobacteriaceae. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1966. - 5. Leon-Velarde C. G., Cai H. Y., Larkin C., Bell-Rogers P., Stevens R. W. C., Odumeru J. A.: Evaluation of methods for the identification of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 from poultry environmental samples. *Journal of Microbiological Methods* 58, 79-86, 2004. - 6. Michael Teuber: Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology* 4, 493-499, 2001. - 7. Molnar O., Molnar T., Kiškarolj F., Smiljanić-Vlahović M., Benčik G., Krtinić G.: Salmoneloze i zastupljenost serotipova u regionu Subotice u periodu od deset godina i nalaz antitela protiv *S. enteritidis* u serumu živine u DD „Topiko“ Bačka Topola. Simpozijum „V epizootiološki dani“, Zbornik referata i kratkih sadržaja, 270-276, 2003. - 7. Nagy B., Kovács S., Kostyák A., Bittay Z.: Significance of Salmonellosis in Food Safety and Opportunities to Reduce Losses in Hungary. *Magyar Állatorvosok Lapja* 119, 672-685, 1997. - 8. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Fifth edition, 2004. - 9. Orlić D., Ilić Ž., Rašić Z.: Aktuelna patologija živinarske proizvodnje u Srbiji. Zbornik radova i kratkih sadržaja, 15. savetovanje veterinara Srbije, 2003. - 10. Pickering L. K.: Antimicrobial resistance among enteric pathogens. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases* 15, 71-77, 2004. - 11. Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje salmoneloze pernate živine. Službeni list SFRJ, br. 6/88. - 12. Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje tifusa peradi. Službeni list SFRJ, br. 6/88.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS OF *SALMONELLA* STRAIN SPECIES ORIGINATING FROM POULTRY FROM DIFFERENT EPIZOOTIOLOGICAL AREAS

Zorica Stosic, M. Mitric, F. Kiskarolj, D. Misic, Ruzica Asanin

A total of 1666 samples were examined, of which 512 samples of parenchymatous organs of dead or deliberately sacrificed animals, 60 samples of non-hatched fertilized eggs, 202 samples of feces, 652 samples of cloacal smears, 221 samples of smears from walls of maintenance objects, incubator stations, and transport vehicles, 19 samples of beddings and shavings. The samples originated from poultry farms and which were taken to a laboratory immediately on sampling and sown the same day. A total of 104 strains of *Salmonella* were isolated: 94 strains from samples of parenchymatous organs of dead chicks, 1 strain from non-hatched eggs, 3 strains from feces samples, 1 strain from samples of cloacal smears, 4 strains from samples of surface smears of maintenance objects and transport vehicles, and 1 strain from samples of beddings and shavings. Serological typization established the presence of the following serovarieties: *Salmonella Enteritidis* 79 strains, *Salmonella Hartford* 17 strains, *Salmonella Typhimurium* 5 strains, *Salmo-*

nella Mbandaka 2 strains, and *Salmonella Glostrup* 1 strain. We examined the sensitivity of *Salmonella* strains to ampicillin, amoxicillin, gentamycin, streptomycin, neomycin, enrofloxacin, norfloxacin, flumequin, erythromycin, lincospectin, colistin, florphenicol, and a combination of sulphamethoxazole and trimethoprim. In *S. Enteritidis* strains, no resistance was established to colistin, florphenicol and sulphamethoxazole+trimethoprim, in fact, the sensitivity to these antibiotics and chemotherapeutics was 100%. Prevalence resistance of 0.96%, in only one strain, was established for enrofloxacin. A high prevalence resistance of 33.6% was established for neomycin, while prevalence resistance of 3.86% was established for the related aminoglycoside antibiotic gentamycin. The highest prevalence resistance in *S. Hartford* strains was established for erythromycin, 15.38%, and streptomycin, 7.6%. Resistance of *S. Typhimurium* was established for flumequin and erythromycin in 1.9% strains. No resistance to antibiotics was established in the strains *S. Mbandaka* and *S. Glostrup*.

Key words: *Salmonella*, resistance, antibiotics

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НА АНТИБИОТИКИ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ ВИДОВ ПРОИСХОЖДЕНИЕМ ОТ ДОМАШНИХ ПТИЦ С РАЗЛИЧНЫХ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИХ РАЙОНОВ

Зорица Стошич, М. Митрич, Ф. Кишкарь, Д. Мишич, Ружица Ашанин

Нами испытано совокупно 1666 образчиков от чего образчиков паренхиматозных органов околетьх или принудительно жертвованных единичных животных, 60 образчиков оплодотворенных яиц из которых не вылупились цыплята (сгущёнок), 202 образчика помёта, 652 образчика клоакальных мазков, 221 образчик мазков со стен объектов для выращивания, инкубаторных станций и транспортных средств, 19 образчиков подстилка и стружки. Образчики происходили с ферм домашних птиц и сразу после образчикования были доставляны в лабораторию и тот же самого дня засеиваны. Совокупно изолировано нами 104 штамма сальмонелл а именно: 94 штамма из образчиков паренхиматозных органов околетьх птиц, 1 штамм из образчиков (сгущёнок) яиц, 3 штамма из образчиков помёта, 1 штамм из образчиков клоакальных мазков, 4 штамма из образчиков мазков с поверхностей объектов для выращивания и транспортных средств и 1 штамм из образчиков подстилки и стружки. Серологической типизацией нами установлено присутствие следующих серовариететов: *Salmonella Enteritidis* 79 штаммов, *Salmonella Hartford* 17 штаммов, *Salmonella Typhimurium* 5 штаммов, *Salmonella Mbandaka* 2 штамма и *Salmonella Glostrup* 1 штамм. Нами испытана чувствительность штаммов Сальмонелл на ампициллин, амоксициллин, гентамицин, стрептомицин, неомицин, энрофлоксацин, норфлоксацин, флумеквин, эритромицин, линкоспектин, колистин, флуорфеникол, и комбинация сульфаметоксазоля и триметоприма. У штаммов *S. Enteritidis*, не открыто нами сопротивление на колистин, флуорфеникол и сульфаметоксазол + триметоприм, то есть, чувствительность на эти антибиотики и химиотерапевтики составляла (в сумме) 100%. Преобладание супротивления от 0,96% или только у одного штамма утверждено нами на энрофлоксацин. Высокое преобладание супротивления от 33,6% установлено нами на неомицин пока преобладание

сопротивления от 3,86% установлено нами на родственный аминогликозидный антибиотик гентамицин. Наибольшее преобладание сопротивления у штаммов *S. Hartford* установлено нами на эритромицин от 15,38% и стрептомицин от 7,6%. Сопротивление *S. Typhimurium* открыто нами на флумеквин и эритромицин у 1,9% штаммов. У штаммов *S. Mbandaka* и *S. Glostrup* не остановлено нами сопротивление на антибиотики.

Ключевые слова: сальмонелла, сопротивление, антибиотики

ENDOSKOPSKA I RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA OBOLJENJA JEDNJAKA PASA*

ENDOSCOPIC AND RADIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF ESOPHAGUS DISEASES IN DOGS

V. Krstić, N. Krstić**

Da bi se spektar dijagnostičkih metoda oboljenja jednjaka proširio i bio prisutniji u svakodnevnoj kliničkoj praksi, poželjno je da se detaljnije razradi postupak endoskopskog i radiološkog pregleda, utvrde njihove granice i mogućnosti, opiše topografsko-anatomski i morfološki status jednjaka u endoskopskoj i radiološkoj slici i da se definiše koja su to najzastupljenija oboljenja ovog organa.

U radu su prikazani rezultati šestomesečnih ispitivanja oboljenja jednjaka na psima različitih rasa i uzrasta. Ukupno je pregledano petnaest jedinki od kojih su: dva zlatna retrivera, dva rotvajlera, pet nemačkih ovčara, tri velika šnaučera, dva mešanca i jedan dalmatinac. Opisani su slučajevi hroničnog ezofagitisa, prisustva stranog tela u jednjaku i megaezofagusa.

Cljučne reči: pas, jednjak, rendgenografija, endoskopija

Uvod / Introduction

Radiološko i endoskopsko ispitivanje gastrointestinalnog sistema je od primarnog značaja za rešavanje većeg broja pitanja iz oblasti fiziologije i patologije ovog područja. Etiološki faktori koji mogu da uzrokuju pojavljivanje oboljenja alimentarnog kanala su raznoliki i obuhvataju: mehaničke, termičke, hemijske, nutritivne, infektivne, neoplazmatske i idiopatske uzroke.

Uspeh rendgenskog pregleda gastrointestinalnog sistema zavisi od adekvatne pripreme pacijenta i celishodnog planiranja samog pregleda. U tom smislu mora da postoji dobra saradnja između kliničara i rendgenologa. Radiološko ispitivanje ne može da bude početna faza ispitivanja, niti treba da prethodi kliničkom pregledu. Cilj rendgenske analize je da potvrdi i dopuni klinički nalaz ili da otkloni sumnju. Kako su dosadašnji klasični načini kliničkog pregleda gastro-

* Rad primljen za štampu 15. 2. 2006. godine

** Dr Vanja Krstić, docent, dr Nikola Krstić, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

intestinalnog sistema koji obuhvataju uzimanje anamneze, opservaciju pacijenta i laboratorijske analize bili relativno insuficijentni, tek uvođenjem novih imidžing dijagnostičkih postupaka mogla je da se dobije validna i blagovremeno određena dijagnoza. To se, pre svega, odnosi na endoskopsku dijagnostiku alimentarnog kanala dopunjenu rendgenskom, kompjuterizovanom tomografijom i magnetnom rezonancom. Zahvaljujući njihovoj upotrebi, moguće je da se dobiju objektivne informacije o stanju digestivnog sistema i da se pravovremeno otkriju važne patološke pojave. Osim utvrđivanja topografsko-anatomskog položaja, morfologije (odnosno oblika, veličine i izgleda sluznice), dobijaju se i podaci o fiziološkoj aktivnosti jednjaka (ritmički pokreti, tonus, motilitet, brzina punjenja i pražnjenja kontrastom, prohodnost i tako dalje).

Rendgenski i endoskopski pregled / *X-ray and endoscopic examinations*

Podaci iz literature ističu da je rendgenska dijagnostika bila jedna od prvih specijalnih kliničkih metoda koja se koristila za postavljanje adekvatne dijagnoze različitih patoloških stanja jednjaka. Radiološki pregled ima izuzetan značaj u ispitivanju morfologije i fiziologije jednjaka. Ovaj pregled podrazumeva izvođenje rendgenoskopije i rendgenografije, a započinje nativnom rendgen-dijagnostikom, nakon čega sledi pregled jednjaka pozitivnim kontrastnim sredstvom.

Po podacima dobijenim iz različitih izvora zapaža se da se nativnim snimkom ne može da vizualizuje prazan jednjak, jer daje senku mekog tkiva, pa se uklapa u integralnu senku mekog tkiva vrata i toraksa.

Specijalna metoda pregleda jednjaka (specijalna rendgenoskopija ili specijalna rendgenografija) primenjuje se u svim onim slučajevima kada nije moguće da se postavi dijagnoza bolesti na osnovu nativnog snimanja. Ova metoda podrazumeva upotrebu pozitivnog kontrastnog sredstva (vodena suspenzija barijum-sulfata) koji u rendgenskoj slici daje metalnu senku i tako omogućava izdvajanje pojedinih organa od okolnih senki. Metalna senka kontrasta tada odgovara lumenu jednjaka, što omogućava da se utvrde njegov topografsko-anatomski položaj, oblik i veličina, dok granična linija između metalne senke kontrasta i okolne senke mekog tkiva vrata ili toraksa odgovara reljefu sluzokože jednjaka [1, 2, 6].

Endoskopija predstavlja izuzetno značajnu metodu koja se koristi u savremenoj veterinarskoj medicini i može slobodno da se kaže da je danas njena primena u dijagnostikovanju oboljenja jednjaka gotovo neophodna. Reč endoskopija potiče od grčke reči *endo*, što znači unutra i *skopien* što znači gledati. Upotrebom ove metode dobijaju se direktni i precizni podaci o obliku i veličini lumena jednjaka, kao i eventualnom prisustvu različitog patološkog sadržaja u njemu. Pored ovoga, gastroskopijom može da se ustanovi i prisustvo patoloških promena na sluzokoži ovog organa [7].

Oboljena jednjaka koja mogu da se dijagnostikuju rendgenografijom / *Esophagus diseases diagnosed using X-ray examination*

Nativnim snimanjem jednjaka mogu da se ustanove nakupljanje gasova u jednjaku i strana tela koja u nativnoj rendgenskoj slici daju senku veću od senke mekog tkiva, dok je specijalnom grafijom sa pozitivnim kontrastom moguće da se zapazi više oboljenja: *dysphagia, dystonia (atonia, hipotonia, hipertonia), dilatatio oesophagi (ectasio et diverticulum), stenosis, oesophagitis chronica, cardiospasmus, corpora aliena, neoplasmae, comunicatio oesophagotrachealis* [3, 5].

Oboljenja jednjaka koja mogu da se dijagnostikuju endoskopijom / *Esophagus diseases diagnosed using endoscopy*

Ezofagoskopija kao dijagnostička metoda se primenjuje kod pasa kod kojih dominiraju klinički simptomi kao što su regurgitacija, disfagija, odinofagija i intenzivna salivacija. U kliničkoj praksi, a i iz podataka dobijenih iz stručne literature, bolesti ezofagusa koje mogu da se dijagnostikuju endoskopom su strana tela u ezofagusu, ezofagitis, ezofagealne striktore, tumori jednjaka, perzistentni aortni luk, gastroezofagealni intususceptum [3]. Zna se, takođe, da se ovom metodom, a uz pomoć kontrastne radiografije postiže definitivna dijagnoza megaezofagusa, divertikuluma, hijatalne hernije i kompresije jednjaka periezofagealnih masa. Veliki broj kliničara ističe da se putem endoskopa može da uzme isečak zida jednjaka za histološku analizu, što u velikoj meri ubrzava postavljanje tačne dijagnoze i sprovođenje adekvatne terapije [4, 7].

Materijal i metode / *Materials and methods*

Endoskopskim i radiološkim ispitivanjima su bili obuhvaćeni psi kod kojih je pri ambulantnom kliničkom pregledu postojala sumnja da se radi o oboljenju jednjaka. Ove dijagnostičke metode su se primenjivale na psima različitih rasa, svih starosnih kategorija i oba pola, u toku šest meseci.

Za video endoskopski pregled koristio se aparat marke „Xion” koji se sastoji od gastroskopa (dijametra od 1 cm, radnog kanala 2,2 mm dužine 1100 mm), izvora svetlosti i kamera (Matrix Combo) i Sony color monitor 14" (PVM-14N5 MDE), a za rendgenska ispitivanja koristio se aparat „Selenos 4”, uz primenu klasičnih olovnih kaseta za snimanje formata 24x30 cm i folijama plemenitih metala. Za dobijanje kvalitetnih rendgenograma upotrebljavali su se Kodac filmovi sa odgovarajućim ekspozicijama za svakog pacijenta, pri udaljenosti anodnog fokusa od filma 60 do 70 cm.

Priprema životinje za rendgenski pregled jednjaka /

Preparing animal for native X-ray examination of esophagus

Nativni pregled jednjaka nije podrazumevao posebnu pripremu pacijenta, osim kod dva agresivnija pacijenta, pa je izvedena sedacija.

Pre primenjivanja pozitivnog kontrastnog sredstva psima je uskraćivana hrana 24 časa, uz uzimanje tečnosti *ad libitum*. Kao pozitivno kontrastno sredstvo za pregled jednjaka korišćena je vodena suspenzija barijum-sulfata u odnosu 1:1, koja je prethodno homogenizovana i zagrejana na temperaturu tela. Pre aplikovanja kontrastnog sredstva, životinji se u usta postavljao drveni zalogaj ili otvarač za usta. Kroz otvor na zalogaju lagano se provlačila gumena sonda do početnog dela jednjaka, a nakon toga pas se postavljao u bočni ležeći položaj i pomoću brizgalice, koja je bila fiksirana za spoljašnji kraj sonde, aplikovao se barijum u manjim porcijama. Kontrastno sredstvo se davalo u dozi od 15 do 20 ml/kg telesne mase.

Priprema životinje za ezofagoskopiju /

Preparing animal for esophagoscopy

Najmanje 12 do 24 časa pre ovog zahvata, pacijentima je uskraćena hrana, a četiri časa pre endoskopije uskraćena je i voda. Životinja je prvo uvedena u opštu anesteziju (atropin, acepromazin i ketamin-hlorid). Nakon uvođenja u anesteziju obolela životinja je ležala u levom bočnom položaju, postavljen joj je drveni zagriz u usta i pristupilo se pregledu.

U toku pregleda psima je aplikovana i.v. infuzija (Hartmanov rastvor), a posle pregleda i postavljene dijagnoze pristupalo se adekvatnoj terapiji komercijalnim lekovima registrovanim u veterinarskoj medicini.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

U periodu od novembra 2004. do aprila 2005. godine ukupno je pregledano petnaest pasa sa kliničkim simptomima koji su ukazivali na različita oboljenja jednjaka.

Zbog toga je postavljen zadatak da se ispitaju dijagnostičke mogućnosti radiološkog i endoskopskog pregleda, kao i metodika njihove primene, čime bi bile zadovoljene osnovne stručne postavke za ostvarivanje realne terapije.

Kod devet pasa od kojih su tri nemačka ovčara, tri velika šnaučera, dva rotvajlera i jedan mešanac dijagnostikovana je upala jednjaka. Ovo oboljenje je utvrđeno posle opšteg kliničkog pregleda, a zatim radiološkim, pa endoskopskim dijagnostikovanjem.

Na rendgenskom snimku jednjaka psa urađenom u LL projekciji uz upotrebu pozitivnog kontrastnog sredstva ustanovljeno je zaostajanje barijum-

skog mleka u kaudalnim partijama vratnog i početnim delovima torakalnog dela jednjaka. Njegov lumen je bio neujednačen, naročito iznad baze srca. Kontrastno sredstvo je mrvičaste konzistencije i nehomogenog karaktera. Granica metalne senke barijum-sulfata sa okolnim senkama tkiva toraksa je narezuckana, diskontinuirana i magličasta, što upućuje na postojanje zapaljenjskog procesa. Potvrda za ovakvu dijagnozu je i trakast izgled sluzokože jednjaka između čijih nabora se uvlači metalna senka kontrastnog sredstva (slika 1).

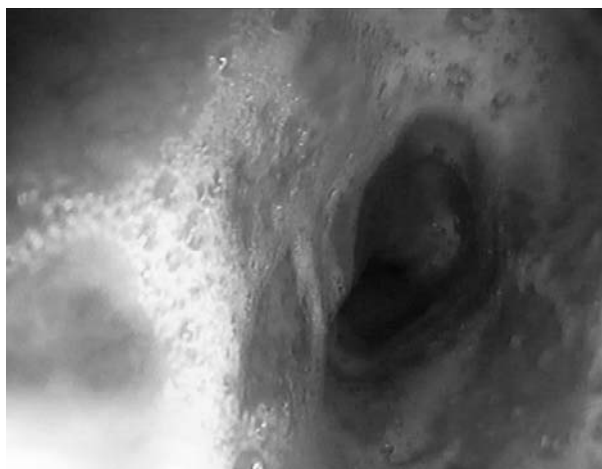


Slika 1. *Rendgenski snimak hroničnog ezofagitisa*
Figure 1. X-ray of chronic esophagitis

Da bi se potvrdila rendgenološka dijagnoza urađena je ezofagoskopija. Nakon pripreme pacijenta i date anestezije pristupilo se pregledu. Endoskopskim pregledom jednjaka kod šest pasa, primećen je penasti beličasti sadržaj, sa hiperemijom i edemom sluzokože u torakalnom delu ezofagusa (slika 2). Kod četiri psa, zbog dilatirane kardije primećeni su pojačan želudačni refluks, prisustvo želudačnog kiselog sadržaja i edematozno-hiperemične sluznice jednjaka u predelu ezofagogastričnog spoja.

Prisustvo stranih tela u jednjaku dijagnostikovano je kod dva nemačka ovčara (slika 3). Na osnovu anamnestičkih podataka pristupilo se endoskopskom i radiološkom pregledu. Kod jednog pacijenta je utvrđeno da se u lumenu organa nalaze tela koja ne mogu da se determinišu radiološkom analizom, zato što daju senku mekih tkiva koja se integriše sa okolnom senkom ili je suviše diskretna (čaćkalica, mala riblja kost).

Endoskopom se uočila njihova precizna lokacija, a potom se pristupilo eliminaciji putem forcepsa za ekstrakciju stranih tela.



Slika 2. *Endoskopski nalaz ezofagitisa*
Figure 2. Endoscopic finding of esophagitis



Slika 3. *Endoskopski nalaz stranog tela u jednjaku (šaranska kost)*
Figure 3. Endoscopic finding of foreign body in esophagus (carp bone)

Kod četiri psa (dva zlatna retrivera, jedan dalmatinac i mešanac) različitog uzrasta dijagnostikovano je potpuni nedostatak tonusa jednjaka (*mega-esophagus*). Kod dva psa postojala je sumnja da se radi o naslednom, a kod druga dva o takozvanom stečenom megaezofagusu. Validna dijagnostika je ustanovljena prvo radiološki, pa endoskopski.

Na rendgenskom snimku vratnog i torakalnog dela jednjaka pacijenta u LL projekciji, uz upotrebu pozitivnog kontrastnog sredstva zapazili smo metalnu senku barijumske kaše koja je ispunila jednjak skoro celom njegovom dužinom. Promer njegovog lumena je neujednačen, od debljine prsta u vratnom delu, zatim je filiforman u predelu ulaska u grudnu duplju, a u toraksu se naglo proširuje, oko 7 cm. Pri procenjivanju ovakve rendgenske slike vodili smo računa o fiziološkim suženjima i proširenjima lumena jednjaka (slika 4).



Slika 4. *Rendgenski snimak megaezofagusa*
Figure 4. *X-ray of megaesophagus*

Pri ezofagoskopiji kod pasa se primećivala mlitavost jednjaka celom njegovom dužinom, pri čemu su se isticali obrisi hrskavičavih prstenova dušnika u vratnom delu jednjaka.

Rezultati ispitivanja oboljenja jednjaka prikazani u obliku rendgenskih i endoskopskih snimaka u saglasnosti su sa rezultatima koje su utvrdili drugi autori, pa može da se zaključi da su savremene imidžing metode dijagnostike neophodna i pouzdana metoda pregleda celog organizma.

Literatura / References

1. Krstić N., Lazarević-Macanović Mirjana: Praktikum iz rendgenologije za studente veterinarske medicine, Beograd, 2003. - 2. Krstić V., Lazarević-Macanović Mirjana: Radiološka i endoskopska i endoskopska dijagnostika oboljenja jednjaka pasa, Zbornik radova petog međunarodnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, 142-146, Budva, 2003. - 3. Krstić V., Krstić N.: Endoskopska i radiološka i patomorfološka dijagnostika prisustva stranog tela u jednjaku, Vetrinarski glasnik 55, 5-6, 299-303, 2001. - 4. Krstić V.: Endoskopija: tehničke karakteristike i dijagnostičke mogućnosti fiberoptičkih endo-

skopa, Zbornik radova šestog međunarodnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Budva, 2004. - 5. Morgan J. P., Silverman S. *et al.*: Techniques of veterinary radiography 2nd. ed, Veterinary radiology associates, Davis, 1997. - 6. Thrall E.: Textbook of veterinary diagnostic radiology. 4th ed W.B. Saunders, Philadelphia, 2002. - 7. Todd R.: Handbook of Small Animal Gastroenterology, 2nd ed, W. B. Saunders, Philadelphia, 2003.

ENGLISH

ENDOSCOPIC AND RADIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF ESOPHAGUS DISEASES IN DOGS

V. Krstic, N. Krstic

In order to expand the range of diagnostic methods for determining diseases of the esophagus and to make them more present in everyday practise, it is desirable to work out in more detail the procedure of endoscopic and radiological examinations, determine their limitations and possibilities, describe the topographic-anatomical and morphological status of the esophagus in an endoscopic and radiological picture, as well as to define which diseases of this organ are most represented.

The paper presents the results of six-month investigations of esophagus diseases in dogs of different breeds and ages. A total of 15 animals were examined: 2 golden retrievers, 2 rottweilers, 5 German shepherds, 3 giant schnauzers, 2 cross-breeds, and 1 dalmatian. Cases of chronic esophagitis were described, as well as the presence of a foreign body and megaesophagus, and the prescribed therapy for all these diseases.

Key words: Dog, esophagus, X-ray, endoscopy.

РУССКИЙ

ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ И РАДИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ ПИЩЕВОДА СОБАК

В. Крстич, Н. Крстич

Чтобы спектр диагностических методов заболеваний пищевода расширился и был более присутствующий в ежедневной клинической практике, нужно: более детально разработать поступок эндоскопического и радиологического осмотра, утвердить их границы и возможности, описать топографическо анатомический и морфологический статус пищевода в эндоскопической и радиологической картине, словно и определить, которые это наиболее представленные заболевания этого органа.

В работе показаны результаты шестомесечных испытаний заболеваний пищевода на собаках различных пород и старости. Совокупно обследовано нами пнядцать единичных животных из которых суть: 2 золотых ретривера, 2 ротвайлера, 5 немецких овчарок, 3 больших шнауцера, 2 метиса и один далматинец. Описаны случаи хронического эзофагита, присутствия инородного тела и мегаэзофагуса, словно и приём терапии этих заболеваний.

Ключевые слова: собака, эзофагус, рентген, эндоскопия

POJAVA GUBITKA PERJA KOD KOKOŠI NOSILJA* *FEATHER LOSS IN LAYING HENS*

S. Hristov, S. Mitrović, Mirjana Todorović V. Đermanović, I. Cvetković,**

U radu je ispitivana pojava različitih oblika gubitaka perja kod kokoši nosilja u uzrastu od 74 nedelje posle mitarenja i nemitarenih kokoši nosilja u uzrastu od 62 nedelje. Oblici gubitaka perja su detaljno razmatrani ponovljenim pregledom video zapisa i razvrstavani prema lokalizaciji i to na gubitke perja u ventralnom delu vrata, zatim dorzalnom delu vrata i leđnom delu između krila

Gubitak perja na ventralnom delu vrata ustanovljen kod 47,9 posto kokoši, a na dorzalnom delu vrata kod 16,77 posto kokoši od ukupno 167 nosilja u uzrastu od 74 nedelje posle mitarenja. U grupi nemitarenih kokoši nosilja uzrasta od 62 nedelje ustanovljena je znatno učestalija pojava gubitka perja, i to kod 96,90 posto kokoši lokalizovanih na ventralnom delu vrata, kod 60,47 posto kokoši na dorzalnom delu vrata i 20,16 posto kokoši na leđima između krila od ukupno 129 jedinki. Poređenjem rezultata o učestalosti pojavljivanja lokalizovanih oblika gubitaka perja obe grupe kokoši nosilja t-testom ustanovljene su statistički vrlo značajne razlike. Detaljnim razmatranjem video zapisa primenom metode sekvencionalne analize nije uočena pojava drugih oblika kanibalizma kod obe grupe kokoši nosilja.

Ključne reči: kokoši nosilje, gubitak perja, učestalost pojavljivanja, lokalizacija

Uvod / Introduction

Gubici perja i kanibalizam svrstavaju se među najznačajnije probleme dobrobiti kod kokoši nosilja. Iako su proučavanja ovih problema odmakla u znatnoj meri, odgovarajuće naučno i praktično rešenje za njihovo uklanjanje još uvek nije predloženo.

* Rad primljen za štampu 7. 3. 2006. godine

** Dr Slavča Hristov, redovni profesor, dr Sreten Mitrović, redovni profesor, dr Mirjana Todorović, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Zemun; Vladan Đermanović, dipl. ing, istraživač pripravnik, Ivica Cvetković, dipl. ing, istraživač pripravnik, Institut PKB „Agroekonomik“, Padinska Skela

U Evropskoj uniji upotreba konvencionalnih kaveza biće zabranjena od 2012. godine, primenom direktive o zaštiti dobrobiti kokoši nosilja, koja je usvojena 1999. godine. U poslednje vreme detaljno se proučavaju sistemi sa modifikovanim kavezima i sistemi grupnog stajskog gajenja. U ovim kavezima živina ima više mogućnosti za ispoljavanje bihevioralnih aktivnosti u odnosu na konvencionalne kaveze, ali je i u njima prostor još uvek limitiran u odnosu na potrebe organizma ovih vrsta.

U sistemima grupnog stajskog gajenja kokoši nosilje imaju više mogućnosti za ispoljavanje kretanja. Nažalost, pojavu gubitka perja i kanibalizma u tim sistemima gajenja je baš zbog toga znatno teže kontrolisati u poređenju sa kavezima, gde se jedinke, koje ispoljavaju ove poremećaje u ponašanju, mogu lako uočiti i ukloniti. Osim toga, kljucanje perja se može lakše širiti u slobodnim jatima nego u kavezima, budući da se ovaj poremećaj u ponašanju može da prenosi putem procesa socijalnog učenja [17].

Višegodišnji multidisciplinarni program istraživanja koji razmatra gubitke perja kod kokoši nosilja započeo je u Holandiji u 1999. godini, a nešto kasnije i u drugim zemljama. U ovim programima proučavaju se fiziološki, etološki, ontogenetski i genetski aspekti pojave gubitaka perja kod kokoši nosilja.

U našoj zemlji ne postoje podaci u literaturi o sistematskom praćenju učestalosti pojavljivanja, manifestacija pojavnih oblika, uzroka i posledica gubitaka perja kod kokoši nosilja, kako u intenzivnim, tako i u ekstenzivnim sistemima gajenja. Imajući u vidu navedeno postavljeni su osnovni ciljevi u ovom radu koji su obuhvatili proučavanje učestalosti pojavljivanja, manifestacija, uzroka i posledica gubitaka perja kod kokoši nosilja u konvencionalnim kavezima na jednoj farmi u našoj zemlji sa intenzivnim sistemom gajenja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Ispitivanja pojave gubitaka perja kod kokoši nosilja sprovedena su korišćenjem digitalne kamere Kamkorder VP-D20 I na jednoj farmi sa intenzivnim sistemom gajenja u našoj zemlji. Za utvrđivanje učestalosti pojavljivanja i manifestacija pojavnih oblika gubitaka perja kod kokoši nosilja hibrida Lohmann LSL dve starosne grupe, smeštenih u konvencionalnim kavezima, detaljno su analizirani video zapisi metodom sekvencionalne analize. Prva grupa je obuhvatila kokoši nosilje u uzrastu od 74 nedelje, posle mitarenja, a druga grupa nemitarene jedinke kokoši nosilja uzrasta od 62 nedelje. U prvoj grupi ukupan broj ispitivanih jedinki bio je 167, smeštenih u 30 konvencionalnih kaveza, prosečno 5,6 grla u svakom od njih. U drugoj grupi, u istom broju kaveza, bilo je smešteno 129 grla, odnosno prosečno 4,3 grla u svakom konvencionalnom kavezu. Oblici gubitaka perja kod kokoši nosilja detaljno su razmatrani ponovljenim pregledom video zapisa i razvrstavani prema lokalizaciji i to na gubitke perja u ventralnom delu vrata, zatim dorzalnom delu vrata i leđnom delu između krila. Dobijeni rezultati su obrađeni statistički i prikazani u odgovarajućoj tabeli.

Rezultati ispitivanja i diskusija / Results and discussion

Rezultati ispitivanja učestalosti pojavljivanja različitih oblika gubitaka perja prema lokalizaciji kod kokoši nosilja na farmi sa intenzivnim sistemom gajenja prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Učestalost pojavljivanja različitih oblika gubitaka perja /
Table 1. Incidence of occurrence of different forms of feather loss

Parametar / Parameter	I grupa / Group I	II grupa / Group II	Statistička značajnost / Statistical significance
Ukupan broj kaveza / Total number of cages	30	30	
Prosečan broj grla u kavezu / Average number of hens per cage	5,6	4,3	
Ukupan broj grla / Total number of hens	167	129	
Ukupan broj delova grla sa gubitkom perja, n, % / Total number of hen body parts with feather loss, n, %	108 64,67%	229 177,52%	
Mesto gubitka perja / Localization of feather loss			
• Ventralni deo vrata / Ventral part of neck	80 (47,9%)	125 (96,90%)	9.06, **
• Dorzalni deo vrata / Dorsal part of neck	28 (16,77%)	78 (60,47%)	7.78, **
• Leđni deo između krila / Back part between wings	0	26 (20,16%)	6.07, **

Iz prikazanih rezultata u tabeli 1 može da se uoči da je gubitak perja na ventralnom delu vrata ustanovljen kod 80 kokoši (47,9%), a na dorzalnom delu vrata kod 28 kokoši (16,77%) od ukupno 167 kokoši nosilja u uzrastu od 74 nedelje posle mitarenja. U grupi kokoši uzrasta od 62 nedelje ustanovljeno je znatno učestalije pojavljivanje ovih gubitaka, i to kod 125 kokoši (96,90%) lokalizovanih na ventralnom delu vrata, kod 78 kokoši (60,47%) na dorzalnom delu vrata i 26 kokoši (20,16%) na leđima između krila od ukupno ispitivanih 129 grla. U ovoj grupi kokoši nosilja uočeni su gubici perja na više delova tela istovremeno kod iste jedinice. Poređenjem rezultata o učestalosti pojavljivanja lokalizovanih na istim delovima tela obe grupe kokoši nosilja t-testom ustanovljene su statistički vrlo značajne razlike.

Detaljnijim razmatranjem video zapisa primenom metode sekvencionalne analize nije uočeno pojavljivanje kanibalizma kod obe ispitivane grupe kokoši nosilja.

U ekonomskom pogledu, gubitak perja rezultira u povećanju potrošnje hrane i smanjenu proizvodnju jaja. Zbog toga je suštinsko poboljšanje stanja perja kokoši nosilja od merljivog ekonomskog značaja za proizvođače.

Gubitak perja je veoma značajna pojava kod kokoši nosilja [6]. On može da nastane iz fizioloških i različitih patoloških razloga [6]. Poznato je da se fiziološki gubitak javlja kod mitarenja kao prirodnog procesa obnavljanja perja kod kokoši. Pored estetskog pokazatelja gubitak perja predstavlja i veoma značajan indikator pojave različitih problema u jatu nosilja. Ovi problemi mogu da budu nutritivne, medicinske, mikroklimatske, kao i socijalne prirode [6, 16, 14]. Većina postupaka i mera koje se danas primenjuju u svetu radi sprečavanja pojave gubitka perja zahtevaju temeljite promene u tehnološkom procesu proizvodnje [5, 6, 16].

Mitarenje je fiziološki proces koji se sastoji najpre od opadanja postojećeg perja, posle čega sledi zamena sa novim perjem. Ovaj proces najčešće prati smanjenje ili čak i potpuno zaustavljanje nošenja jaja. U kokoši nosilja prirodno mitarenje nastaje u periodu godine kada su dani kraći, odnosno od januara do juna [1]. Hormoni koje luči tireoidna žlezda determinišu tok mitarenja. Primena veštačkog osvetljenja u obliku održavanja konstantnog svetla može da se koristi da bi se odložilo prirodno mitarenje. Ovo odlaganje uglavnom nastaje promenom diurnalnog „biološkog-hormonskog sata” kod živine.

Trajanje mitarenja je različito, slabije nosilje zamenjuju perje za 6 do 8 nedelja, dok dobre nosilje posle pauze u nošenju mogu da zamene perje za 2 do 4 nedelje.

Izazvano mitarenje je strategija koja služi produženju ekonomskog života jata kokoši nosilja. Ona se uglavnom ogleda u ishrani celim zrnom ječma ili ovsa u trajanju od 5 do 21 dan, zavisno od potrebne dužine narednog perioda nošenja. Ova strategija ima prednosti u obnavljanju produkcije jaja, poboljšanju kvaliteta jaja i kvaliteta ljuske kod starijih jedinki.

Od poroka koji uzrokuju gubitak perja najznačajnije je kljucanje perja [6]. Kada se pojavi kljucanje perja se teško kontroliše i najbolji postupak je preventiva. Kljucanje kod socijalnog rangiranja primarno je usmereno prema glavi i po intenzitetu nije izraženo. Izraženo kljucanje perja usled prenaseljenosti, svetlosnih problema i neizbalansiranog obroka može da ozledi telo živine [14]. Kljucanje perja mogu da prate pojave drugih oblika kanibalizma i veoma izraženi problemi dobrobiti [6, 9].

Ustanovljeno je da pigmentacija perja kokoši nosilja može da ima predisponirajuću ulogu u smislu žrtve: jedinke pate drastičnije od kljucanja perja kada je boja njihovog perja posledica ekspresije divljeg recesivnog alela na genu PMEL17 koji kontroliše melanizaciju perja, odnosno kada su ovakve jedinke relativno često zastupljene u jatu. Ovi nalazi, utvrđeni pri ukrštanju domaće kokoši i njenog divljeg pretka, imaju neposredne implikacije po dobrobit domaće vrste, a pružaju uvid u genetske promene u vezi evolucije kljucanja perja u toku ranih stadijuma domestikacije [8, 17].

Kljucanje perja koje izaziva bilo koju povredu praćenu pojavom krvarenja pospešuje dalje kljucanje koje vodi u pojavu kanibalizma. Ovaj poremećaj u ponašanju može da se prenosi procesom socijalnog učenja [13, 19]. Radi spreča-

vanja pojavljivanja kanibalizma najbolje je uklanjanje obolelih, povređenih ili agresivnih ptica iz jata ili kaveza. Debikiranje smanjuje verovatnoću pojavljivanja kljucanja perja i drugih oblika kanibalizma, naročito ako se problemi sa svetlošću, gustinom naseljenosti ili ishranom koriguju [5, 4, 6]. Dodatno, ustanovljeno je da su neke rase ptica više sklone pojavi kljucanja perja od drugih.

Gubitak perja takođe je uzrokovan trenjem o druge ptice ili okolne inertne predmete, naročito ako su smeštene na ograničenom prostoru. Radi smanjenja gubitaka perja trebalo bi da se smanji gustina naseljenosti kokoši nosilja, a sve oštre i neravne površine u kavezima da se eliminišu. Alternativni kavezni materijali takođe mogu da pomognu u sprečavanju pojavljivanja gubitka perja u različitom stepenu pojavljivanja.

Veoma značajni činioci koji doprinose pojavljivanju gubitaka perja i prekida nošenja jaja su stresori i različite frustracije kokoši nosilja [14]. Generalno, nedostatak hrane i vode su najznačajniji stresori koji uzrokuju gubitak perja. Loše izbalansirani obroci ili plesniva hrana takođe mogu da utiču, kako na mitarenje, tako i na pojavu gubitka perja, pa i druge oblike kanibalizma. Nedostatak hladne i čiste vode, čak i u kratkom trajanju, može da utiče na mitarenje i na pojavljivanje gubitka perja. Gubitak perja može da nastane takođe pod uticajem hladnoće, toplote i loše ventilacije. U stajama treba da se obezbedi odgovarajuća toplotna izolacija i ventilacija i time odgovarajući mikroklimatski uslovi koji eliminišu temperaturne ekstreme [13]. Gubitak perja mogu da prouzrokuju povrede, bolesti, paraziti ili loši tehnološki postupci. Primena odgovarajuće terapije i redovno praćenje stanja jedinki u kavezima može da smanji pojavljivanje stresa i gubitka perja [9, 15].

Kljucanje perja se javlja kod domaće kokoši *Gallus gallus domesticus* pre pronošenja kao i u periodu nošenja jaja. Ovo poremećeno ponašanje uzrokuje znatne ekonomske gubitke i probleme dobrobiti, jer može da rezultira u oštećenju perja, pojavi povreda, čak i uginuća kod kokoši [5, 11, 4]. Uočava se ne samo kod živine u kaveznom sistemu već i u alternativnim sistemima gajenja [2]. U sprečavanju pojave oštećenja perja kokoši nosilja najčešće se primenjuje debikiranje. Međutim, smatra se da ovaj postupak ima negativan uticaj na dobrobit ovih vrsta, jer uzrokuje značajne bihevioralne promene koje su verovatno posledica hroničnog bola [5, 10].

Danas postoje dve osnovne hipoteze u literaturi o uzrocima pojavljivanja kljucanja perja. Hipoteza perušanja u prašini sugerise da je primarni uzrok kljucanja perja abnormalni razvoj mehanizma percepcije odgovornog za detekciju prašine za perušanje [16, 17]. Prema ovoj hipotezi kljucanje perja potiče od ponašanja čija je osnovna aktivnost perušanje, a u suštini predstavlja pogrešnu usmerenost prema perjima iste vrste ptica koje nemaju pristup odgovarajućem supstratu za perušanje u periodu ranog uzrasta. U smislu podupiranja ove hipoteze ustanovljeno je da se pilići mogu da uvežbaju za perušanje na perju [17, 16], da se kljucanje perja povećava tokom perioda u kome živina ispoljava perušanje ili pokazuje intenciju pokreta u vidu perušanja [16] i da se kljucanje perja iste vrste

može da integriše u sekvencijama ponašanja koje pripada sistemu perušanja [16, 17].

U hipotezi kljucanja zemlje, s druge strane, sugerije se da se kljucanje perja može da smatra kao preusmereno kljucanje zemlje [3]. U seriji eksperimenata utvrđeno je da nisku stopu kljucanja zemlje prati visoka stopa kljucanja perja iste vrste i *vice versa* [5, 3, 7]. Blokhuis [4] sugerije da kljucanje perja može da bude povezano sa hranidbenim ponašanjem. Ovaj autor je postavio hipotezu po kojoj kljucanje čestica na perju istih vrsta može da pospeši usmeravanje kljucanja perja i da ovo preusmeravanje sa kljucanja zemlje na perja nastaje zbog male stimulativne vrednosti poda bez prostirke.

Drugi autori takođe naglašavaju blisku sličnost kljucanja perja sa hranidbenim ponašanjem [Hoffmeyer 1969; Wennrich 1975; Martin 1987; Baum 1995] i nekoliko studija pokazuju da se kljucanje perja smanjuje, ako se pticama obezbede podsticaji koji izmamljuju hranidbeno ponašanje, kao što su prostirka ili zelena hrana [5, 11, 6, 3, 7].

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata ispitivanja učestalosti pojavljivanja različitih oblika gubitaka perja prema lokalizaciji kod kokoši nosilja na farmi sa intenzivnim sistemom gajenja može da se zaključi:

- gubitak perja na ventralnom delu vrata ustanovljen kod 47,9 posto kokoši, a na dorzalnom delu vrata kod 16,77 posto kokoši od ukupnog broja kokoši nosilja u uzrastu od 74 nedelje;
- u grupi kokoši uzrasta od 62 nedelje ustanovljeno je znatno učestalije pojavljivanje gubitaka perja, i to kod 96,90 posto kokoši lokalizovanih na ventralnom delu vrata, kod 60,47 posto kokoši na dorzalnom delu vrata i 20,16 posto kokoši na leđima između krila;
- poređenjem rezultata o učestalosti pojavljivanja oblika gubitaka perja iste lokalizacije obe grupe kokoši nosilja t-testom ustanovljene su statistički vrlo značajne razlike;
- detaljnim razmatranjem video zapisa primenom metode sekvencionalne analize nije uočena pojava kanibalizma kod obe grupe kokoši nosilja; i
- gubitak perja pored estetskog pokazatelja predstavlja i veoma značajan indikator pojave različitih problema u jatu.

Ovi problemi mogu da budu nutritivne, medicinske, mikroklimatske, kao i socijalne prirode kod nosilja u tehnološkom procesu proizvodnje.

Literatura / References

1. Aggrey E. S., Kroetzl H., Foelsch W. D.: Behaviour of laying hens during induced moulting in three different production systems, Appl. Anim. Behav. Sci., 25, 1-2, 97-105, 1990. - 2. Appleby, M. C., Hughes B. O.: Welfare of laying hens in cages and alternative systems: environmental, physical and behavioural aspects. World Poultry Sci. J. 47, 109-

128, 1991. - 3. Blokhuis J. H.: Feather-pecking in poultry: Its relation with ground-pecking, Appl. Anim. Behav. Sci., 16, 1, 63-67, 1986. - 4. Blokhuis J. H.: The effect of a sudden change in floor type on pecking behaviour in chicks, Appl. Anim. Behav. Sci., 22, 1, 65-73, 1989. - 5. Blokhuis J. H., Arkes G. J.: Some observations on the development of feather-pecking in poultry Appl. Anim. Behav. Sci., 12, 1-2, 145-157, 1984. - 6. Blokhuis J. H., Van Der Haar W. J.: Effects of floor type during rearing and of beak trimming on ground pecking and feather pecking in laying hens, Appl. Anim. Behav. Sci., 22, 3-4, 359-369, 1989. - 7. Blokhuis H. J.: The development and causation of feather pecking in the domestic fowl, Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1989. - 8. Damme K., Pirchner F.: Genetic differences of feather-loss in layers and effects on production traits. Arch. Geflügelk. 48, 215-222, 1984. - 9. El-Lethey A. V., Jungi T. W., Wechsler B.: Stress and feather pecking in laying hens in relation to housing conditions. Br. Poultry Sci. 41, 22-28, 2000. - 10. Gentle J. M., Thorp H. B., Hughes O. B.: Anatomical consequences of partial beak amputation (beak trimming) in turkeys, Research in Veterinary Science, 58, 158-162, 1995. - 11. Huber-Eicher Beat, Wechsler Beat: Feather pecking in domestic chicks: its relation to dustbathing and foraging, Anim. Behav., 54, 757-768, 1997. - 12. Hughes O. B., Whitehead C. C.: Behavioural changes associated with the feeding of low-sodium diets to laying hens, Appl. Anim. Ethol., 5, 3, 255-266, 1979. - 13. Vestergaard S. K., Kruijt P. J., Hogan A. J.: Feather pecking and chronic fear in groups of red junglefowl: their relations to dustbathing, rearing environment and social status, Anim. Behav., 45, 1127-1140, 1993. - 14. Vestergaard K. S.: Dustbathing and its relation to feather pecking in the fowl: motivational and developmental aspects. Dissertation, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark, 1994. - 15. Vestergaard K. S., Kruijt J. P., Hogan J. A.: Feather pecking and chronic fear in groups of red junglefowl: their relations to dustbathing, rearing environment and social status. Anim. Behav. 45, 1127-1140, 1993. - 16. Wechsler B., Huber-Eicher B.: The effect of foraging material and perch height on feather pecking and feather damage in laying hens. Appl. Anim. Behav. Sci. 58, 131-141, 1998. - 17. Zeltner E., Klein T., Huber-Eicher B.: Is there social transmission of feather pecking in groups of laying hen chicks? Anim. Behav. 60, 211-216, 2000.

ENGLISH

FEATHER LOSS IN LAYING HENS

S. Hristov, S. Mitrovic, Mirjana Todorovic, V. Djermanovic, I. Cvetkovic

The paper examined the incidence of different forms of feather loss and cannibalism in laying hens aged 74 weeks following moulting and in laying hens following exploitation for a period of one year. The forms of feather loss were considered in detail through a repeated examination of video recordings and they were sorted according to localization – to feather loss on the ventral part of the neck, on the dorsal part of the neck, and on the back between the wings.

Feather loss on the ventral part of the neck was established in 47.9% hens, and in the dorsal part in 16.77% hens of the 167 laying hens aged 74 weeks following moulting. The group of 129 laying hens that were observed following one-year exploitation exhibited considerably more frequent feather loss, in 96.90% hens it was localized on the ventral part of the neck, in 60.47% hens on the dorsal part of the neck, and in 20.16% hens it was localized on the back between the wings. A comparison of the results of the incidence of colocalized forms of feather loss in the one and the other group of laying hens using the t-test showed statistically very significant differences. A detailed consideration of the video

recordings using the method of sequence analysis did not reveal any cannibalism in either group of laying hens.

Key words: laying hens, feather loss

РУССКИЙ

ЯВЛЕНИЕ ПОТЕРИ ПЕРЬЕВ У КУР НЕСУШЕК

С. Христов, С. Митрович, Миряна Тодорович, В. Джерманович, И. Цветкович

В работе испытано нами явление различных форм потерь перьев и каннибализма у кур несушек в возрасте от 74 недель после линьки и кур несушек после эксплуатации в продолжительности от года. Формы потерь перьев детально рассматриваны повторным осмотром видео записей и сортированы к локализации а именно на потери перьев в вентральной части шеи между крыльями.

Потеря перьев на вентральной части шеи установлена нами у 47,9% кур, а на дорзальной части шеи у 16,77% кур из 167 несушек в возрасте от 74 недель после линьки. В группе кур после эксплуатации в продолжительности от года установлено нами значительно более частотное явление потерь перьев, а именно у 96,90% кур, локализованных на вентральной части шеи, у 60,47% кур на дорзальной части шеи и 20,16% кур на спине между крыльями из совокупно 129 единичных животных. Сравнением результатов о частотности явления, локализованных форм потерь перьев одной и второй группы кур несушек т-тестом установлены нами статистически очень значительные различия. Детальным рассматриванием видеозаписей применением метода секвенционального анализа не замечено явление каннибализма у обеих групп кур несушек.

Ключевые слова: куры несушки, потеря перьев

Dragana Pešić-Mikulec:
MIKROBIOLOŠKE ANALIZE NAMIRNICA U ODNOSU NA
EVROPSKU ZAKONSKU REGULATIVU

Izdavač: Pešić i sinovi, Beograd, 2005.

U našoj zemlji zvanična inspekcijska kontrola namirnica životinjskog porekla sprovodi se u skladu sa zakonskom regulativom: Zakonom o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju celu zemlju, Zakonom o zdravstvenoj ispravnosti životnih namirnica i predmeta opšte upotrebe i Zakonom o kontroli kvaliteta poljoprivrednih, prehrambenih proizvoda u spoljno-trgovinskom prometu. Zakonski propisi Evropske unije (EU) postavljaju opšte principe zvanične kontrole namirnica. Organizacija za hranu i poljoprivredu (Food Agricultural Organization) FAO i Svetska zdravstvena organizacija (World Health Organization) WHO, osnovale su 1962. godine zajednički FAO/WHO komitet *Codex Alimentarius*, koji su imali zadatak da pripreme standarde, preporuke i uputstva o bezbednosti hrane radi zaštite zdravlja potrošača. Do 1994. godine komitet je imao 46 zemalja članica. Da bi se zaštitilo zdravlje ljudi i omogućio slobodan promet namirnica potrebno je da se u internacionalnom trgovinskom prometu obezbedi mogućnost primene nove zakonske regulative koja se odnosi na ovu problematiku.

Autor monografije je imao nameru da pomogne svima koji se bave mikrobiološkim ispitivanjem namirnica.

Monografija je napisana tako da vodi čitaoca kroz različite faze savremenog mikrobiološkog pregleda hrane.

Dragana Pešić-Mikulec je monografiju „**Mikrobiološke analize namirnica u odnosu na evropsku zakonsku regulativu**” obradila na 117 stranica raspoređenih u četiri poglavlja sa 37 tabela, 21 crno-belom fotografijom i referencom od 236 naslova od čega je 20 autocitata.

U **prvom** poglavlju autor je prikazao mogućnosti kontaminacije namirnica mikroorganizmima navodeći i vrste mikroorganizama koji uzrokuju kvar namirnica i uslove u samoj namirnici koji mogu da uzrokuju razmnožavanje određenih nepoželjnih mikroorganizama. Autor ukazuje da je u okviru mikrobiološke kontrole namirnica važna i sama procedura uzorkovanja, odnosno pravilno uzorkovanje namirnica za mikrobiološku analizu, obuka osoblja koje obavlja uzorkovanje i pravilno korišćenje pribora i posuda za uzorkovanje. Pored same namirnice važno je da se kontroliše i higijena radnih površina u prehrambenoj industriji što se čini brisevima.

Kroz **drugo** poglavlje autor čitaoca upoznaje sa organizacijom mikrobiološke laboratorije za kontrolu životnih namirnica. U ovom poglavlju prikazani

su evropski standardi organizovanja mikrobioloških laboratorija i organizacija laboratorija u Srbiji i Crnoj Gori. Detaljno su prikazane potrebne prostorije, radna sredina i pravilan raspored aparata i pribora po prostorijama.

U metodologiji rada kao **trećem** poglavlju opisani su prijem uzoraka i obrada podataka prema standardima sa pratećom dokumentacijom. Kao važan deo primarne obrade uzoraka navedeni su i načini obeležavanja u laboratoriji. Bez pravilnog pranja, pripreme pribora i posuda za sterilizaciju kao i sterilizacije nezamisliv je rad u laboratoriji. Posebno je naglašena sterilizacija mikrobioloških podloga.

Autor je opisao i fotografijama prikazao aparate koji se koriste za ispitivanje namirnica u laboratorijama. Takođe, opisao je detaljno pribor koji je neophodan da bi se obavila analiza.

U **četvrtom** poglavlju opisani su mikroorganizmi koji se ispituju u mikrobiološkoj laboratoriji za životne namirnice. Detaljno je opisano izolovanje i identifikacija *Salmonella* vrsta, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus* vrste, koagulaza pozitivnih stafilokoka, *Clostridium* vrste, *Bacillus* vrste, *Proteus* vrste, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* i *Shigella* vrste. Prikazano je i određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, određivanje proteolitičnih bakterija, određivanje lipolitičnih bakterija, određivanje broja kvasaca i plesni i na kraju određivanje mlečno-kiselinskih bakterija. Autor je opisao i morfološke, kulturelne i biohemijske osobine navedenih bakterija.

Navedeni mikroorganizmi su zoonotskog karaktera, pa je neophodno njihovo izolovanje iz namirnica i potpuna identifikacija, ali u skladu sa normama koje je propisala Svetska zdravstvena organizacija.

Nakon opisanih poglavlja slede **Literatura, Normativi za pregled namirnica i Indeks pojmova** čime je ova monografija u potpunosti zaokružena. Gledana u celini, monografija „**Mikrobiološke analize namirnica u odnosu na evropsku zakonsku regulativu**” predstavlja jedno sveobuhvatno delo u kome se na razumljiv i pristupačan način prikazuje rad u mikrobiološkoj laboratoriji u kojoj se obavlja ispitivanje namirnica. Zbog toga je sa zadovoljstvom preporučujem stručnjacima koji počinju ili već rade u laboratorijama.

Dr Snežana Ivanović, naučni saradnik,
Naučni institut za veterinarstvo Srbije

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2006. GODINE

Mandić Z. Maja

Rođena 12. 9. 1979. u Beogradu
Diplomirala 7. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Republička 1a (011/515-691)

Ilić P. Milica

Rođena 28. 5. 1979. u Beogradu
Diplomirala 9. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Stubline
Perića kraj 73 (011/879-0283)

Petković G. Miloš

Rođen 3. 3. 1977. u Aranđelovcu
Diplomirao 9. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Topola
Selo Topola (034/811-576)

Stančić B. Ivan

Rođen 30. 4. 1979. u Novom Sadu
Diplomirao 10. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Begeč
Đure Jakšića 23a (023/898-258)

Plavšić V. Vlajko

Rođen 16. 9. 1977. u Novom Sadu
Diplomirao 9. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Miše Dimitrijevića 87 (021/661-4674)

Čitaković V. Vladimir

Rođen 25. 2. 1976. u Valjevu
Diplomirao 9. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Mionica
Gornji Mušić b.b. (014/67-410)

Veljković I. Slavica

Rođena 5. 4. 1977. u Zaječaru
Diplomirala 9. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Nehruova 93/71 (011/227-8486)

Krstić S. Milan

Rođen 16. 9. 1979. u Zrenjaninu
Diplomirao 14. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Dostojevskog 21 (023/237-603)

Knežević Lj. Dragan

Rođen 18. 5. 1979. u Bijeljini
Diplomirao 13. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Batković
(9938755/389-259)

Milojević N. Ivan

Rođen 25. 12. 1973. u Užicu
Diplomirao 14. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bul. Arsenija Čarnojevića 33/18
(011/145-684)

Pavlović Z. Igor

Rođen 9. 3. 1975. u Beogradu
Diplomirao 10. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bulevar AVNOJ-a 98/17
(063/806-8485)

Golubović J. Aleksandra

Rođena 10. 3. 1978. u Kragujevcu
Diplomirala 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kursulina 16/3 (011/344-4983)

Zečević M. Borislav

Rođen 10. 6. 1976. u Novom Sadu
Diplomirao 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Indija
9. maja 8 (21/552-887)

Jovanović M. Nenad

Rođen 10. 4. 1979. u Nišu
Diplomirao 16. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Aleksinac
Dušana Trivunca 19/III (018/804-052)

Stevanović T. Goran

Rođen 27. 5. 1970. u Banja Luci
Diplomirao 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Nikole Pašića 40 (051/272-765)

Čaušević G. Tisa

Rođena 3. 12. 1979. u Zemunu
Diplomirala 16. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bulevar AVNOJ-a 143/3
(011/213-3392)

Šašić V. Bojana

Rođena 9. 12. 1980. u Sr. Mitrovici
Diplomirala 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Ruma
Nikole Tesle 31 (022/476-021)

Jankov D. Aleksandar

Rođen 25. 10. 1977. u Vukovaru
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Ruma
Olaznica 2/10 (+385 32/444-325)

Pavić R. Dragiša

Rođen 8. 1. 1977. u Šapcu
Diplomirao 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Bogatić
Janka Veselinovića (064/265-7403)

Bošković I. Novica

Rođen 23. 2. 1977. u Beogradu
Diplomirao 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kaluđerica
Vuka Karadžića 5 (011/341-0286)

Gospavić T. Aleksandar

Rođen 18. 2. 1978. u Aranđelovcu
Diplomirao 14. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Aranđelovac
Janka Katića 28 (064/169-8331)

Ivančev N. Predrag

Rođen 3. 11. 1978. u Beogradu
Diplomirao 17. 2. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Aleksandra Belića 21/2
(011/304-7652)

Marković T. Miloš

Rođen 14. 6. 1977. u Beogradu
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Milešluska 38 (011/245-8744)

Sekuić S. Zoran

Rođen 18. 9. 1979. u Sisku
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Cvetanova ćuprija 18/A
(011/346-7833)

Samardžija D. Mirko

Rođen 24. 11. 1980. u Zemunu
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Gradiška
Zaharija Orfelina b.b.
(9938751/813-312)

Živanović B. Radisav

Rođen 7. 10. 1979. u Valjevu
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Lazarevac
Kneza Stanoja 21 (011/8124-684)

Tošević Z. Jelena

Rođena 10. 3. 1976. u Beogradu
Diplomirala 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Đuke Dinića 30 (011/242-2209)

Roksić D. Nataša

Rođena 2. 9. 1971. u Lazarevcu
Diplomirala 21. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Stepojevac
7. oktobra 59 (011/818-1030)

Grahovac D. Vuk

Rođen 15. 11. 1975. u Beogradu
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Molerova 4 (011/243-3722)

Simić M. Aleksandar

Rođen 25. 3. 1975. u Loznici
Diplomirao 20. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Loznica
Ante Bogićevića 1 (015/812-095)

Mandić D. Mirko

Rođen 30. 9. 1978. u Zrenjaninu
Diplomirao 24. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Hunjadi Janoša 49 (023/549-891)

Katić S. Marko

Rođen 25. 4. 1975. u Beogradu
Diplomirao 29. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kotež, Peke Tepavčevića 4
(011/331-8163)

Bulatović M. Vladimir

Rođen 2. 2. 1978. u Banja Luci
Diplomirao 27. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Ravnogorska 10 (051/312-505)

Stanišić Lj. Ana

Rođena 12. 12. 1974. u Beogradu
Diplomirala 31. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kumodraž, Topola 65 (3947-029)

Kostić S. Miomir

Rođen 23. 8. 1976. u Nišu
Diplomirao 31. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Niš
N.M.T. Sindikalni stanovi 1
(018/720-974)

Pavličević S. Miloš

Rođen 14. 1. 1979. u Kruševcu
Diplomirao 31. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kruševac
Konjuh, Ljubava b.b. (037/875-320)

Začko M. Mihal

Rođen 9. 6. 1971. u Novom Sadu
Diplomirao 31. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kisač
Šturova 19 (021/827-590)

Šamatić B. Zorka

Rođena 8. 12. 1971. u Šapcu
Diplomirala 27. 3. 2006. godine
Stalno mesto boravka Majna
Cara Lazara 77 (015/376-020)

Knežević M. Boris

Rođen 29. 6. 1974. u Ljubljani
Diplomirao 12. 4. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Jurija Gagrina 39/13
(011/216-1197)

Radosavljević D. Vladimir

Rođen 21. 4. 1974. u Beogradu
Diplomirao 12. 4. 2006. godine
Stalno mesto boravka Obrenovac
Radenka Rankovića 8 (011/272-3368)

Marinković B. Miodrag

Rođen 3. 1. 1981. u Leskovcu
Diplomirao 17. 4. 2006. godine
Stalno mesto boravka Vučje
Koste Stamenkovića 1/18
(016/886-379)

Spasojević P. Filip

Rođen 27. 4. 1977. u Pljevljima
Diplomirao 19. 4. 2006. godine
Stalno mesto boravka Pljevlja
Volođina 42 (089/323-358)