

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. 61 Br. 1-2 Str. 1 - 134 Beograd, 2007.



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: *Vitomir Čupić*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD:
Mirjana Bojanić, Tatjana Božić, Vojin Ivetić, Vera Katić, Ranko Kljajić, Dejan Krnjaić, 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, 2687-475,
e-mail: vetks@eunet.yu; www.vetks.org.yu



VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 61

BROJ 1 - 2

STRANA 1 - 134

Beograd 2007.

1-2

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 61 Br. 1 - 2 str. 1 - 134 Beograd, 2007.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Joksimović-Todorović Mirjana, Davidović Vesna: Selen i vitamin E – reproduktivni poremećaji kod mlečnih krava
Selenium and Vitamin E – Reproductive Disorders in Dairy Cows
Селен и витамин Е – Репродуктивніе расстройства у дойных коров 3

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI – ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ РАБОТЫ

- Stanimirović Z., Ćirković D., Pejin I. Ivana: Strategija ekološke kontrole u borbi protiv *Varroa destructor*
Strategy for Ecologic Control in Fighting *Varroa destructor*
Стратегия экологического контроля в борьбе против *Varroa destructor* 11
- Otava G., Mircu C., Cernescu H., Igna Violeta: Uppedni odnos koncentracije progesterona u krvi i pojave estrusa kod krava
Comparative Relations Between Progesterone Blood Concentration and Appearance of Oestrus in Cows
Сравнительное отношение концентрации прогестерона в крови и явления эструса у коров 37
- Chaprazov Ts., Borissov I., Slavov E., Dzhelebov P.: Phagocytosis In *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Dogs
Fagocitoza kod *Staphylococcus aureus* bakterijemije kod pasa
Фагоцитоз у *Staphylococcus aureus* бактериемии у собак 43
- Jeremić Svetlana, Radosavljević V.: Koi herpesvirusno oboljenje šarana
Koi Herpesvirus Disease in Carp
Кои герпесвирусное заболевание карпов 53
- Ivanović Snežana, Savić S., Baltić Ž. M.: Uticaj starosti jagnjadi na senzorne osobine mesa jagnjadi
Influence of Age on Sensoric Properties of Lamb Meat
Влияние старости ягнят на сенсорные свойства мяса ягнят 65

PRVO SAOPŠTENJE – FIRST REPORT – НАГЛЯДНОЕ СООБЩЕНИЕ

- Gumusova S. Okur, Yazici Z., Albayrak H., Çakiroglu D.: First Report of Bovine Rotavirus and Bovine Coronavirus Seroprevalance in Goats In Turkey
Prvi izveštaj o seroprevalenci bovinog rotavirusa i bovinog koronavirusa kod koza u Turskoj
Первое извещение о серопреваленци бовиног ротавируса и бовиног корона-
вируса у коз в Турции **75**

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Jonić B.: Koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu postkolostralne teladi – odnos nivoa imunoglobulina i pojavljivanje enzotske pneumonije
Immunoglobulin Concentration in Blood Serum of Postcolostral Calves – Ratio Between Immunoglobulin Level and Appearance of Enzootic Pneumonia
Концентрации иммуноглобулинов в кровяном сыворотке постколостральных теллят – отношение уровня иммуноглобулинов и появление энзоотической пневмонии **81**
- Milanović Valentina, Nitovski A., Kulišić Z., Mirilović M., Popović B., Đorđević Dragana: Nalaz *Fasciola hepatica* kod goveda Jablaničkog regiona
Fasciola hepatica Findings in Cattle of Jablanica Region
Результаты *Fasciola hepatica* у крупного рогатого скота региона Ябланицы . . **89**
- Dümen Emek, Kahraman Tolga: Effect of Different Slaughtering Methods on Death Time of Daglic Breed Lambs
Uticaj različitih metoda klanja na vreme smrti jagnjadi Daglic rase
Влияние различных методов убоя на время смерти ягнят Даглиц породы **99**
- Tambur Z., Opačić Dolores, Doder R., Marković M.: Nalaz *Echerichia coli* i enterokoka u sirevima proizvedenim u domaćinstvu
Findings of *Escherichia coli* and *Enterococcus spp.* in Homemade Cheese
Результаты *Escherichia coli* и энтерококков в сырах произведённым в хозяйстве **109**
- Vučinić Marijana: Upotreba feromona u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju domaćih životinja
Pheromone Application in Prevention and Therapy of Domestic Animal Behavioural Disorder
Употребление феромона в превентиве и терапии нарушения в поведении домашних животных **115**
- Živanov D.: Udari iz vazduha na postrojenja za obogaćivanje uranijuma kao potencijalni izvori radioekološke opasnosti
Air Strikes on Uranium Enrichment Plants as Potential Sources of Radioecological Danger
Удары из воздуха на оборудования для обогащения урана как потенциальные источники радиологической опасности **123**

PRIKAZI KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ **129**

DIPLOMI RANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKJE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ **131**

SELEN I VITAMIN E – REPRODUKTIVNI POREMEĆAJI KOD MLEČNIH KRAVA*

SELENIUM AND VITAMIN E – REPRODUCTIVE DISORDERS IN DAIRY COWS

Mirjana Joksimović-Todorović, Vesna Davidović**

Deficit selena i vitamina E dovodi do reproduktivnih poremećaja kod mlečnih krava: retencije placente, ovarijalnih cista, metritisa, smanjenog procenta koncipiranja, abortusa, rađanja slabo vitalne teladi. Zaostajanje posteljice je postpartalno oboljenje, multifaktorijalne etiologije koje ima štetne efekte na reprodukciju i rentabilnost proizvodnje mleka. Davanjem selena i vitamina E smanjuje se pojava zaostajanja posteljice što sugeriše da je oksidativni stres odgovoran za nastanak ovog oboljenja. Nastanak ovarijalnih cista ima za posledicu poremećaj estralnog ciklusa. Vitamin E prevenira oksidativna oštećenja lipidnih membrana, tako što sprečava formiranje razornih hidroperoksida, delujući sinergistički sa selenom. Ovi nutrijenti štite ćelijske membrane i lipidne organele, inhibišu i razaraju endogene perokside i na taj način čuvaju integritet membrana i smanjuju oksidativni stres.

Ključne reči: selen, vitamin E, reproduktivni poremećaji, krave

Uvod / Introduction

Selen je esencijalni element za očuvanje zdravlja, poboljšanje reproduktivnih i proizvodnih karakteristika kod mlečnih krava. Obezbeđenjem adekvatnih količina selena i vitamina E smanjuje se mogućnost nastanka reproduktivnih poremećaja. Ovi nutrijenti imaju izraženu antioksidativnu ulogu u ćelijama, čime sprečavaju tkivna oštećenja posredovana slobodnim radikalima nastalim u toku fizioloških procesa.

Deficit selena i vitamina E uzrokuje poremećaje u reprodukciji: retencija placente, bolest cističnog jajnika, smanjen estope koncipiranja i produženje

* Rad primljen za štampu 3. 4. 2007. godine

** Dr Mirjana Joksimović-Todorović, vanredni profesor, mr Vesna Davidović, asistent, Poljoprivredni fakultet, Zemun

servis perioda, abortusa, rađanje slabo vitalne i mrtvorodne teladi. Zaostajanje posteljice je postpartalno oboljenje mlečnih krava, koje ima štetne efekte na reprodukciju, mlečnost i zdravlje mlečne žlezde. Sve ovo dovodi prvenstveno do skraćivanja proizvodnog perioda mlečnih krava, a zahteva i dodatne troškove. Javlja se u proseku kod 10 posto mlečnih krava, dok pri infekciji materice i u geografskim područjima sa niskim sadržajem selena, čak i kod 50 posto. Zaostajanje posteljice karakteriše multifaktorijalna etiologija: fiziološki, patološki, ekološki i nutritivni faktori. Adekvatna prepartalna ishrana je jedan od faktora koji može da spreči nastanak ovog oboljenja [15, 33]. Nastaje usled nenormalnih fizioloških procesa tokom oslobađanja fetalne membrane ili uticaja patoloških faktora, koji dovode do gubitka mehanizma izbacivanja posteljice. Trinder i sar [30] ustanovili su povećan broj slučajeva zaostajanja posteljice kod mlečnih krava, koje su imale nutritivnu mišićnu distrofiju, i smanjili broj obolelih grla dodavanjem selena i vitamina E u hranu. Autori navode da je ovo oboljenje u vezi sa deficitom vitamina E i da davanje vitamina E i selena, rešava i pojavu mišićne distrofije i zaostajanja posteljice.

Kod mlečnih krava sa niskim statusom selena učestalije je pojavljivanje cističnih jajnika. Kod ovog oboljenja ovarijalni folikuli ne prskaju, što ima kao posledicu anestrus ili stalni estrus. Kod grla tretiranih selenom značajno se smanjuje pojavljivanje ovog sindroma [8].

Biološka uloga selena i vitamina E / *Biological functions of selenium and vitamin E*

Selen ima ulogu prirodnog antioksidansa, reguliše različite fiziološke procese u organizmu. Kao sastavni deo selenoenzima glutation peroksidaze (GSH-Px), selen ima primarnu i sekundarnu ulogu u oksidativnoj zaštiti ćelija. Nivo GSH-Px u krvnoj plazmi je pouzdan pokazatelj usvojivog selena. Međutim, pri određenim koncentracijama selena, nivo GSH-Px dostiže plato, tako da veći nivoi ne dovode i do veće aktivnosti ovog selenoenzima [12, 19].

U našem ogledu, dodavanje visokih nivoa neorganskog selena u hranu za piliće nije dovelo do linearnog povećanja aktivnosti seleno-enzima. Za ogled je korišćeno 100 pilića provenijence Hybro podeljenih u pet grupa. Prva grupa hranjena je smešom bez dodatka selena. Ostale grupe (II, III, IV i V) hranjene su hranom u koju se dodavalo 2, 5, 10 ili 15 mg Se/kg Na₂SeO₃, tokom celog perioda tova. Korišćen je natrijum-selenit (Merck) koji je sadržavao 45 posto selena.

Kod svih oglednih grupa najviši nivoi ustanovljeni su na početku tova (11. dana). Pri tome, kod II, III, IV i V grupe aktivnost je bila značajno viša nego kod I, a posebno je bio visok porast kod pilića II grupe (dvostruko). Već u drugoj nedelji tova zapažen je značajan pad aktivnosti enzima kod svih grupa. Na kraju šeste nedelje kod pilića IV i V grupe ustanovljene su najniže aktivnosti enzima (7,0 odnosno 5,15 μ kat/L). Verovatno visoke doze selena u početku dovode do

povećanja aktivnosti GSH-Px, ali već od jedanaestog dana ćelije koje sintetišu ovaj enzim postaju toliko oštećene, da je sinteza enzima znatno smanjena ili prekinuta. Tako da može da se objasni pad aktivnosti GSH-Px ustanovljen na kraju tova, kod grupa pilića koje su unosile najviše doze selena [11].

Tabela 1. Aktivnost GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$) /
Table 1. Activity of GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$)

Grupa/ Group	Dodato Se / Added Se (mg/kg hrane / feed)	11. dan / day 11	2. nedelja / week 2	3. nedelja / week 3	4. nedelja / week 4	5. nedelja / week 5	6. nedelja / week 6
I	0	16,55 $\pm$ 0,2	9,1 $\pm$ 1,8 P<0,05	13,0 $\pm$ 3,1 P>0,05	10,2 $\pm$ 2,5 P<0,05	10,6 $\pm$ 3,15 P<0,05	9,7 $\pm$ 1,65 P<0,05
II	2	36,75 $\pm$ 1,2 t*=21,5	15,2 $\pm$ 4,8 t=6,3 t*=2,38	11,7 $\pm$ 1,85 t=15,2 t*=0,81	17,05 $\pm$ 4,0 t=8,1 t*=3,3	11,6 $\pm$ 2,6 t=13,9 t*=0,55	12,3 $\pm$ 1,8 t=7,4 t*=2,39
III	5	20,35 $\pm$ 0,15 t*=21,1	14,4 $\pm$ 6,3 t=1,98 t*=1,83	16,7 $\pm$ 3,3 t=2,23 t*=1,83	12,8 $\pm$ 2,7 t=4,19 t*=1,58	13,9 $\pm$ 2,3 t=3,8 t*=2,07	10,9 $\pm$ 1,8 t=5,06 t*=1,1
IV	10	25,8 $\pm$ 0,52 t*=34,2	27,4 $\pm$ 4,8 t=0,75 t*=7,15	11,5 $\pm$ 2,3 t=4,46 t*=0,87	11,8 $\pm$ 1,5 t=5,5 t*=1,23	11,4 $\pm$ 2,3 t=3,78 t*=0,5	7,0 $\pm$ 1,2 t=7,0 t*=2,79
V	15	19,2 $\pm$ 0,5 t*=4,49	10,6 $\pm$ 0,35 t=5,37 t*=1,63	9,6 $\pm$ 3,1 t=5,16 t*=1,73	11,6 $\pm$ 1,05 t=10,27 t*=1,16	7,9 $\pm$ 2,7 t=6,27 t*=1,46	5,15 $\pm$ 1,1 t=18,9 t*=5,14

t – Ocena značajnosti u odnosu na početnu vrednost / *Estimation of significance in relation to initial value*

t* – Ocena značajnosti u odnosu na I grupu / *Estimation of significance in relation to group I*

U ishrani domaćih životinja koristi se organski selen u formi selenometionina (koji je prisutan i u biljkama u različitim koncentracijama) i neorganski selen u formi natrijum-selenita ili selenata. Razlika između ova dva oblika selena je u njihovom metaboličkom putu i efikasnosti delovanja. Visoki nivoi selenita su toksičniji nego isti nivoi organskog selena [20, 21, 22, 28, 29]. Generalno može da se kaže da adekvatan nivo selena u hrani je krucijalni faktor u obezbeđenju zdravlja, visoke produktivnosti [10, 13] i reproduktivnih karakteristika kod domaćih životinja. Funkcija selena u metaboličkim putevima prisno je vezana za funkciju vitamina E. Pojedine bolesti uzrokovane deficitom selena mogu da se preveniraju selenom ili vitaminom E, dok neke bolesti isključivo mogu da se spreče jednim ili drugim nutrijentom. Vitamin E neutrališe slobodne radikale. U reakciji sa njima se oksiduje u tokoferol semikvinon radikal, koji brzo podleže razgradnji, a prethodni radikal prima atom vodonika i neutrališe nespareni elektron. Vitamin E se nalazi u ćelijskoj membrani uz fosfolipide i nezasićene masne kiseline, tako može da prekine lančanu reakciju u kojoj učestvuju peroksid radikali masnih kiselina. Vitamin E i selen deluju na različitim mestima, ali oboje smanjuju

stepen peroksidacije lipida, a samim tim i oštećenje ćelijske membrane. Pored toga što sprečava oštećenje tkiva, nastanak degenerativnih i inflamatornih procesa, vitamin E je i glavni pokretač imunskog odgovora. Tako, dodavanje ovog vitamina iznad nutritivnih potreba, u nekim slučajevima rezultira u poboljšanju imunskog odgovora [2].

Zaostajanja posteljice kod mlečnih krava / *Retained placenta in dairy cows*

Odnos između proizvodnje i odstranjivanja oksidativnih molekula je esencijalan za tkivnu homeostazu [23]. Povećana produkcija i smanjena sposobnost uklanjanja vodi ka njihovom nagomilavanju i oštećenju ćelija [3]. Međutim, mnogobrojni antioksidativni sistemi prisutni u ćeliji omogućavaju uklanjanje slobodnih radikala.

Selenoenzim, glutation peroksidaza (GSH-Px) lokalizovan u citosolu, koristi redukcionu potencijal glutationa, i redukuje hidrogen perokside i organske preokside [1]. Vitamin E je jako redukujuće sredstvo i glavni je antioksidans u plazma membranama [32].

Poznat je odnos antioksidativne ishrane, oksidativnog stresa i pojave zaostajanja posteljice kod mlečnih krava. Ipak patogeneza ovog oboljenja, povezana sa deficitom Se i vitamina E nije potpuno jasna, ali učešće oksidativnog stresa u etiologiji ovog sindroma, ukazuje na smanjenu pojavu nakon primene selena. Dodavanjem vitamina E i Se u hranu, povećava se nivo ovog vitamina u eritrocitima, neutrofilima, plazmi, a povećava se i aktivnost enzima GSH-Px. Ovi nutrijenti redukuju oksidativni stres i dovode do određenih promena u placenti. Selen i vitamin E poseduju imunomodulatorne efekte, u smislu poboljšanja funkcije neutrofila, povećavaju njihovu migraciju i hemotaksičnu aktivnost [6]. Deficit selena nepovoljno utiče na funkciju polimorfonuklearnih neutrofila i na promene nivoa GSH-Px [18, 31]. Odsustvo leukocita u placenti dovodi do zaostajanja posteljice kod 100% krava posle teljenja [24]. Se i vitamin E povećavaju broj leukocita u placenti, leukocitnu hemotaksu, pomažu u slabljenju veza između fetomaterinskog spoja i izbacivanju posteljice.

Istraživanja Brzezinske-Slebozdinske i sar [4] ukazala su da je davanje Se i vitamina E uzrokovalo smanjen procenat zaostajanja posteljice kod mlečnih krava. Jedna ogledna grupa krava tretirana je sa 1000 IU vitamina E kao DL- α -tokoferol acetat, druga sa 3 mg Se (kao Na₂SeO₃), treća je dobijala iste nivoe i vitamina E i Se kao prethodne dve, a četvrta grupa je služila kao kontrola. Grla su bila u ogledu šest nedelja pre teljenja i dnevne doze su davane u obliku želatinoznih kapsula. Kod prve grupe mlečnih krava učestalost ovog oboljenja bila je smanjena za 33 posto, kod druge za 47 posto, a kod treća za 50 posto u odnosu na kontrolnu grupu. Grla koja nisu imala problem sa zaostajanjem posteljice, imala su statistički značajno veću aktivnost GSH-Px u plazmi, u drugoj nedelji pre teljenja i na dan teljenja, u odnosu na obolela grla.

Zaostajanje posteljice može da se spreči davanjem Se i vitamina E, ako nije izazvano mehaničkim i patološkim faktorima [16]. Autori su sprečili pojavljivanje ovog oboljenja kod mlečnih krava davanjem injekcija (50 mg Na_2SeO_3 i 680 IU vitamina E) oko tri nedelje pre teljenja, ili davanjem 0,92 mg Se/kg u formi Na_2SeO_3 , svakodnevno, 60 dana pre teljenja.

Gupta i sar [7] ispitivali su efekte prepartalnog davanja vitamina E i selen na koncentraciju kortizola u plazmi, peroksidaciju eritrocita i učestalost pojavljivanja zaostajanja posteljice. Takođe, pratili su aktivnost mieloperoksidaze, lizozoma, elastaze, i aktivnost enzima kisele fosfataze u kotiledonima krava, sa ili bez zaostale posteljice. U ogledu je bilo 50 mlečnih krava, koje su bile podeljene u dve grupe. Ogledna grupa je dobila tri nedelje pre partusa injekciju koja je sadržala rastvor 1100 IU i 30 mg Na_2SeO_3 . Primena Se i vitamina E, u navedenim istraživanjima nije uticala na smanjeni procenat pojavljivanja ove bolesti. Do istih rezultata su došli i drugi autori [9, 25, 26]. Nasuprot ovim konstatacijama, Eger i sar [5], Thomas i sar [27] i Kim i sar [17] ustanovili su smanjen procenat zaostajanja posteljice kod krava tretiranih Se i vitaminom E.

Lipidna peroksidacija je biohemijska oksidativna degradacija nezasićenih masnih kiselina, uzrokovana ireverzibilnom denaturacijom esencijalnih proteina. S obzirom na rasprostranjenost nezasićenih masnih kiselina u ćelijskim membranama, peroksidativna oštećenja imaju uticaja na funkciju ćelija i na regulaciju pojedinih metaboličkih puteva.

Gupta i sar [7] ustanovili su povećan sadržaj citotoksičnog aldehida (malonil aldehida) u eritrocitima i povećanu koncentraciju kortizola, i smatraju da su to glavni pokazatelji nastanka zaostajanja posteljice. Smanjena aktivnost mieloperoksidaze u kotiledonima ukazuje na smanjenu funkciju neutrofila, a visoka aktivnost lizozoma i kisele fosfataze kod zaostale posteljice, ukazuju na akutnu inflamatornu reakciju fetomaterinskog spoja.

Povećana koncentracija kortizola kod ovog oboljenja je odgovor na stres i inflamaciju bremenitog uterusa. Proces oslobađanja između kotiledona i karunkula zavisi od histoloških promena u njima. Smanjena je hemotaksična aktivnost i smanjena migracija leukocita, kod krava sa zaostalom posteljicom. Kortizol smanjuje funkciju neutrofila, a može i potpuno da spreči njihovu aktivnost i time dovede do razvoja zaostale posteljice.

Suprotno, povećana hemotaktična aktivnost i broj leukocita u placentomu, omogućavaju proces izbacivanja posteljice. U ovakvim slučajevima procenat zaostajanja posteljice kod krava je oko 1,4 posto, a kada je jedan od ova dva faktora smanjen ovo oboljenje se javlja kod 6,8 do 9,6 posto krava. Buduća istraživanja bila bi usmerena ka povećanju prisustva neutrofila i katalitičkih peptida (sa prirodnim antibiotskim svojstvima) u placentomu.

Bolest cističnog jajnika / *Cystic Ovarian Disease*

Nizak nivo glutation peroksidaze u krvi uzrokuje pojavljivanje anestrusa ili subestrusa, ovulatornih oboljenja ili cističnih ovarijuma [14]. Davanjem seleno inekcionim putem u periodu zasušenja ili vitamina E u zadnjoj trećini graviditeta prevenira se pojavljivanje ovarijalnih cista i metritisa kod mlečnih krava. Cistični ovarijumi su dijagnostikovani kod 19 posto krava tretiranih selenom, a kod 47 posto grla koja nisu dobijala selen [8].

Zaključak / *Conclusion*

Reproduktivni poremećaji kod mlečnih krava često su izazvani niskim nutritivnim statusom seleno i vitamina E. Zaostajanje posteljice, ako nije izazvano mehaničkim ili patogenim faktorima, kao i pojavljivanje ostalih reproduktivnih poremećaja, mogu da se preveniraju adekvatnim dodavanjem ovih nutrijenata.

NAPOMENA:

Rad je finansiran iz sredstava projekta BTN 351010B Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije.

Literatura / *References*

1. Arthur J. R.: Cell Mol. Life Sci. 57, 1825-1835, 2000. - 2. Baldi A.: Livestock Production Science 98, 1-2, 117-122, 2005. - 3. Berry E. M., Kohen R.: Med. Hypotheses 53, 397-401, 1999. - 4. Brzezinska-Slebodzinska E., Miller J. K., Quigley J. D., Moore J. R.: J. Dairy Sci. 77, 3087-3095, 1994. - 5. Eger S., Drori D., Kadorri J., Miller N., Schindler H.: J. Dairy Sci. 68, 2119-2122, 1985. - 6. Finch J. M., Turner R. J.: Res. Vet. Sci. 60, 97-106, 1996. - 7. Gupta S., Harendra K. G., Jyoti S.: Theriogenology 64, 1273-1286, 2005. - 8. Harrison J. H., Hancock D. D., Conrad H. R.: J. Dairy Sci. 67, 1, 123-132, 1984. - 9. Hidioglou M., McAllister A. J. and Williams C. J.: J. Dairy Sci. 70, 1281-1288, 1987. - 10. Jokić Ž., Joksimović-Todorović Mirjana, Davidović Vesna: Biotehnologija u stočarstvu 21, 79-89, 2005. - 11. Joksimović-Todorović Mirjana, Jokić Ž.: Biotehnologija u stočarstvu 21, 3-4, 125-131, 2005a. - 12. Joksimović-Todorović Mirjana, Jokić Ž.: Veterinarski glasnik 59, 3-4, 383-390, 2005b. - 13. Joksimović-Todorović Mirjana, Jokić Ž., Hristov S.: Acta Veterinaria 56, 5-6, 489-495, 2006. - 14. Jukola E., Hakkarainen J., Saloniemi H., Sankari S.: J. Dairy Sci. 79, 838-845, 1996. - 15. Julien W. E., Conrad H. R.: Ohio Agr. Res. Dev. center, Dairy Sci. Dep. Series 19, 6, 1975. - 16. Julien W. E., Conrad H. R.: J. Dairy Sci. 59, 11, 1955-1959, 1976. - 17. Kim H. S., Lee J. M., Park S. B., Jeong S. G., Jung J. K., Im K. S.: Asian Aust. J. Anim. Sci. 10, 308-312, 1997. - 18. Larson H. J., Overnes G., Moksnes K.: Res. Vet. Sci. 45, 11-15, 1988. - 19. Mihailović M., Todorović Mirjana, Ilić V.: Acta Veterinaria 23, 75-80, 1991. - 20. Mihailović M., Todorović Mirjana, Jovanović M., Palić T., Jovanović J., Pešut O., Kosanović M.: The Sixth Internat. Symp. on selenium in Biol. and Med. - Peking NR Kina, Program and Abstracts, 125, 1996a. - 21. Mihailović M., Todorović Mirjana, Jovanović M., Palić T., Jovanović J., Pešut O., Kosanović M.: Ninth Internat. Symp. of Trace Elements in Man and Animals (Tema 9) - Banff Alberta - Canada Trace Elements in Man Animals 9, 554-555, 1996b. - 22. Mihailović M., Todorović Mirjana, Jovanović M., Palić T., Jovanović J., Pešut O.: XIth International Congress of the World Poultry Association 18-22 August, Budapest, Hungary, 1997. - 23. Paul-Lopes F. F., Al-Katanani Y. M., Majewski A. C., McDowell L. R., Hansens P. J.: J. Dairy Sci.

86, 2343-2351, 2003. - 24. Putnam M. E., Comben N.: Vet. Rec. 121, 541-545, 1987. - 25. Rosa L. C. A., Andrade P., Sampaio A. A. M., Siqueira M. M., Oliveria M. D. S.: Ars Veterinaria 1, 117-122, 1985. - 26. Segerson E. C., Riviere G. J., Dalton H. L., Whitacre M. D.: J. Dairy Sci. 64, 1833-1836, 1981. - 27. Thomas D. G., Miller J. K., Mueller F. J., Holmes C. R., Madsen F. C.: J. Dairy Sci. 73, 166 abstr., 1990. - 28. Todorović Mirjana, Mihailović M.: Savremena poljoprivreda 48, 1-2, 239-241, 1998. - 29. Todorović Mirjana, Mihailović M., Hristov S.: Acta Veterinaria 49, 5-6, 313-320, 1999. - 30. Trinder N., Woodhouse C. D., Rentam C. P.: Vet. Res. 85, 550-562, 1969. - 31. Turner R. J., Finch J. M.: J. comp. Pathol. 102, 1044-1049, 1990. - 32. Wang X., Quinn P. J.: Mol. Membr. Biol. 17, 143-156, 2000. - 33. Wetherhill G. D.: A brief review. Can. Vet. J., 6, 290-302, 1965.

ENGLISH

SELENIUM AND VITAMIN E – REPRODUCTIVE DISORDERS IN DAIRY COWS

Mirjana Joksimovic-Todorovic, Vesna Davidovic

Selenium and vitamin E deficiency leads to reproductive disorders in dairy cows: placental retention, ovarian cysts, metritis, reduced percentage of conception, abortions, birthing of poorly vital calves. Placental retention is a post partal disorder of multifactorial etiology which has harmful effects on reproduction and the feasibility of milk production. The administration of selenium and vitamin E reduces the incidence of placental retention, which suggests that oxidative stress is responsible for the occurrence of this disorder. The occurrence of ovarian cysts has as its consequence a disorder in the oestral cycle. Vitamin E prevents oxidative damage of lipid membranes by preventing the forming of destructive hydroperoxides, acting in synergy with selenium. These nutrients protect cell membranes and lipid organelles, inhibit and destroy endogenous peroxides, and in that way protect the integrity of the membranes and reduce oxidative stress.

Key words: Selenium, vitamin E, reproductive disorders, cows

РУССКИЙ

СЕЛЕН И ВИТАМИН Е – РЕПРОДУКТИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА У ДОЙНЫХ КОРОВ

Мирыяна Ёксимович-Тодорович, Весна Давидович

Дефицит селена и витамина Е приводит до репродуктивных расстройств у дойных коров: ретенция плаценты, овариальных цист, метрита, уменьшенного процента конципирования, аборта, рождения слабо витальных телят. Отставание последа постпартальное заболевание, мультифакториальной этиологии, имеющее вредные эффекты на репродукцию и рентабельность производства молока. Даванием селена и витамина Е уменьшается явление отставания последа, что внушает, что окислительный стресс ответственный для возникновения этого заболевания. Возникновение овариальных цист имеет для последствия расстройство эстрального цикла. Витамин Е предупреждает окислительные повреждения липидов.

идных мембран, так что предупреждает формирование разрушительных гидропероксидов, действуя синергистически с селеном. Эти питатели охраняют клеточные мембраны и липидные органеллы, ингибируют и разрушают эндогенные пероксиды и таким образом охраняют целостность мембран и уменьшают окислительный стресс.

Ключевые слова: селен, витамин E, репродуктивные расстройства, коровы

**STRATEGIJA EKOLOŠKE KONTROLE U BORBI PROTIV
*Varroa destructor*******STRATEGY FOR ECOLOGIC CONTROL IN FIGHTING******Varroa destructor*****Z. Stanimirović, D. Ćirković, Ivana I. Pejin, D. Pejović****

Ektoparazit Varroa destructor je jedan od najrasprostranjenijih parazita medonosne pčele, koji iz godine u godinu povećava rezistentnost na tradicionalne sintetičke akaricide. Novi propisi EU o kvalitetu zabranjuju prisustvo rezidua u pčelinjim proizvodima što isključuje upotrebu hemijskih sredstava u toku medobranja. Koncept ekološke kontrole varoa krpelja u pčelinjim zajednicama podrazumeva komplementarnu upotrebu adekvatnih biotehničkih i biofizičkih mera i tretmana preparatima na bazi eteričnih ulja i organskih kiselina. Kombinacija ovih tretmana prema priloženoj strategiji omogućava da se varooza drži pod kontrolom

Ključne reči: Varroa destructor, koncept ekološke kontrole varoa krpelja

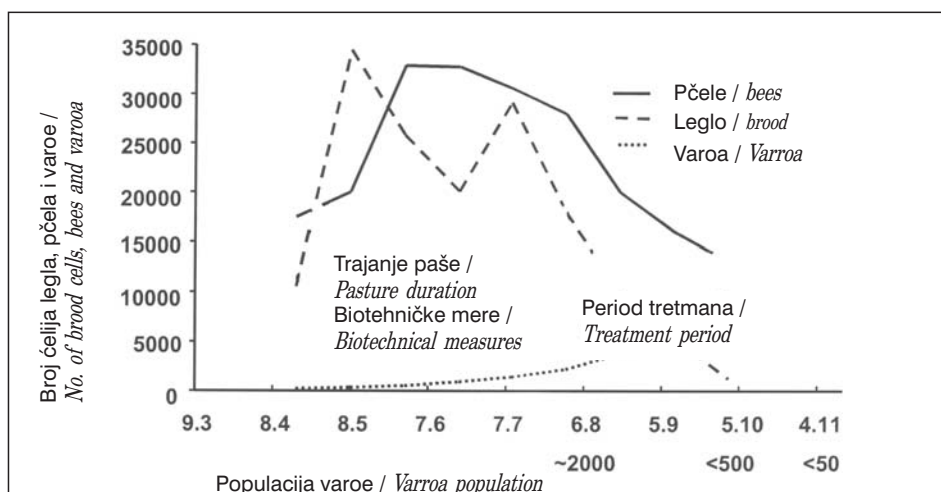
Uvod / Introduction

Parazit *Varroa destructor* je jedan od najrasprostranjenijih parazita medonosne pčele, za čije se suzbijanje u najvećoj meri koriste sintetički akaricidi. Međutim, ovaj krpelj iz godine u godinu povećava rezistentnost na tradicionalne varoacide. Takođe, njihova upotreba nosi i veliki rizik pojavljivanja rezidua u medu, vosku i propolisu [1, 2]. Zato je razvijen drugačiji pristup u suzbijanju krpelja, kao što je primena organskih kiselina i eteričnih ulja, koji daje nadu u daljoj borbi protiv varoe [3]. Pored ovih, predviđaju se i biotehničke mere radi smanjivanja broja jedinki varoe po pčelinjem društvu, kako bi se naknadnom primenom organskih kiselina postigao veći efekat.

* Rad primljen za štampu 3. 4. 2007. godine

** Dr Zoran Stanimirović, vanredni profesor, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Dragan Ćirković, Ministarstvo poljoprivrede i vodoprivrede Republike Srbije, Raški okrug, Novi Pazar; Ivana I. Pejin, saradnik, mr Dejan Pejović, saradnik, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

U parametre koji mogu da utiču na primenjenu strategiju borbe protiv varoe ubrajaju se klimatski uslovi, dužina trajanja pašnog perioda, kao i razvoj varoe u pčelinjem društvu [4]. S obzirom na nove standarde Evropske unije o kvalitetu, striktno se zabranjuje prisustvo rezidua u pčelinjim proizvodima, što isključuje primenu hemijskih preparata u toku medobranja [5]. Period paše u našim uslovima podrazumeva dug vremenski period i traje od početka cvetanja voćne paše, a završava se cvetanjem livade i lučenjem medljike. Populacija varoe u ovom osetljivom periodu raste, ali se primenom biotehničkih mera njihov broj može da smanji na razumnu meru (grafikon 1).



Grafikon 1. Plan borbe protiv varoe [4]
Graph 1. Plan for control of varroa [4]

Koncept *ekološke kontrole varoa krpelja* u pčelinjim zajednicama podrazumeva komplementarnu upotrebu adekvatnih biotehničkih mera (isećanje trutovskog legla, upotreba rama-građevnjaka, upotreba „mamac” saća i formiranje nukleusa) i tretmana preparatima na bazi eteričnih ulja (timol, eukaliptol, kamfor i mentol) i organskih kiselina (mravlje, mlečne i oksalne). Ovi tretmani pojedinačno nisu dovoljni, ali primenjeni prema priloženoj strategiji nadopunjuju se međusobno i tako svede infestiranost na minimum, odnosno, varoza se drži pod kontrolom [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Detekcija i suzbijanje varooze / *Detection and control of varroosis*

Dijagnostika i detekcija varooze / Diagnostics and detection of varroosis

Za uspešno suzbijanje i preventivu bolesti najznačajnije je rano utvrđivanje prisustva varoe. Najsigurniji i najbrži način je kontrola trutovskog legla,

ali je isto tako efikasna metoda kontrole pomoću žičane podnjače [16, 17]. Za dijagnostikovanje varooze jako je bitna vizuelna opservacija podnih uložaka. U tom smislu najbolje je da se obavi pregled uložaka sa žičanom rešetkom, jer ona istovremeno pčele štiti od otpalih varoa na podnjači. Otpale varoe se skupljaju nakon sedam dana, broje i procenjuje se brojnost varoa koje otpadnu u toku jednog dana. Procena infestiranosti se obavlja zavisno od godišnjeg doba i stanja zajednice. Ako već u julu otpadne od 5 do 10 varoa na dan zajednica odmah treba da se tretira kako bi se obezbedio uzgoj zdravih zimskih pčela. U oktobru ili novembru, ako je prosečno na dan otpala jedna varoa, u društvu se nalazi populacija od 500 varoa, pa se obavezno pristupa zimskom tretmanu [18]. Svaka sumnja na varoozu treba da se otkloni laboratorijskim pregledom legla i odraslih pčela.

Suzbijanje varooze / *Control of varroosis*

U borbi protiv varoe danas se pored hemijskih, preduzima niz biotehničkih i genetičko-seleksijskih mera. Od tehničkih mera koristi se: ram građevnjak, isecanje poklopljenog trutovskog legla, uklanjanje prvog i zadnjeg legla, uklanjanje celog poklopljenog legla, formiranje novih rojeva bez legla, blokiranje matice za 20 do 30 dana i slično [19]. U genetičko-seleksijskom pogledu pristupa se praćenju higijenskog i negovateljskog ponašanja pčelinjih zajednica sa merama selekcije radi dobijanja novih linija pčela otpornijih na bolesti (matice otpornije na američku kugu, askosferozu i varoozu, odnosno SMR matice sa sposobnošću blokiranja reprodukcije krpelja) [17].

Biotehničke mere suzbijanja varooze / *Biotechnical measures in control of varroosis*

Ograničavanje legla se sastoji u smanjivanju legla u infestiranom društvu kako bi se sprečila migracija ženki *Varroa destructor* u poklopljene ćelije. Na ovaj način matica se ograničava na jedan ili dva prazna rama, koja su okružena saćem sa poklopljenim ćelijama.

Isecanje trutovskog legla je metoda koja može da se koristi tokom cele sezone uzgoja trutovskog legla, od aprila do jula, s obzirom na to da je *Varroa destructor* 5 do 10 puta zastupljenija u trutovskom leglu u odnosu na radiličko. Samo jedna varoa koja nije uklonjena sa trutovskog legla do kasnog leta može da dâ više od 70 potomaka. Isecanje delova saća sa trutovskim leglom nije se pokazalo mnogo uspešno zbog velikog truda i oštećenja saća. Bolji rezultati se postižu kada se iseku samo poklopčići na ćelijama s trutovskim larvama i to prvih dana posle poklapanja larvi.

Ram građevnjak može da se pripremi i primeni u raznim varijantama, a prema želji pčelara. Kod njegove primene važno je da se pridržava nekoliko preporuka:

- koristiti ram građevnjak stalno u toku čitave aktivne sezone od aprila do jula, sve dok u košnici postoji trutovsko leglo. Korišćenje rama građevnjaka samo u proleće nije dovoljno, jer krpelji koji su ostali u gnezdu ubrzavaju proces

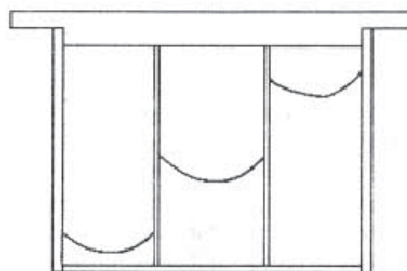
umnožavanja i u jesen društva imaju podjednaku infestiranost, kao i društva kod kojih se uopšte nije primenjivala ova biotehnička metoda borbe protiv *Varroa destructor*. Međutim, korišćenje izgrađenog trutovskog saća više puta može da prouzrokuje pojavu krečnog legla [6],

- potrebno je da se ram građevnjak postavi u sredinu legla, a ne na periferiju. Nakon dve do tri nedelje oni se vade i pretapaju ili se samo stave u zamrzivač. Bolji rezultati se postižu primenom dva građevnjaka po zajednici koji se isecaju naizmenično svakih 7 do 10 dana. Uklanjanjem trutovskog legla iz tri građevnjaka po sezoni (godišnje) moguće je da se broj varoa u zajednici smanji do avgusta za više od 50 posto, tako da se dobija više vremena pre prvih hemijskih tretmana (nakon kasne šumske paše). Primenom građevnjaka u borbi protiv varooze postiže se i smanjenje rojidbenog nagona pčelinje zajednice,

- pčelinjim zajednicama obezbediti dovoljno praznih ramova sa trutovskim ćelijama koje će matica zaleći neoplođenim jajima. Najefikasnije se pokazala metoda rada sa jednim ili dva rama građevnjaka po matici.

Upotrebom građevnjaka postižu se dobri rezultati samo u godinama sa vrlo povoljnom pašom i klimatskim prilikama, tj. u vreme povoljnih uslova za izgradnju saća. Najbolje da se upotrebe tri puta i to sa napomenom da je efekat mnogo bolji pri srednje jakoj paši, jer tokom jake paše, trutovsko saće se iskorišćava za smeštaj nektara i matica u njega ne stigne da položi neoplođena jaja. Zato je opravdano da se ram građevnjak koristi od samog proleća, a pri slabijim klimatskim uslovima i pri slaboj paši njegova upotreba treba da se izostavi. Pri uslovima slabe paše preporučuje se isecanje poklopčića na zatvorenom trutovskom leglu, istresanje trutovskih lutki, ispiranje saća vodom i ponovno vraćanje saća u košnicu. Ovakvi okviri mogu da posluže za izvođenje više generacija trutova, čak i u vreme kada pčele rado ne grade saće. Osim toga, ovakvi ramovi mogu da se koriste i kao rezervni ramovi sa trutovskim saćem koji mogu da se upotrebe i sledeće godine.

Jedna od biotehničkih metoda u borbi protiv varooze jeste i **upotreba trutovskog „mamac” saća** za hvatanje varrooe (slika 1) [20], koja visoku efikasnost postiže u zajednicama bez legla i tokom pašne sezone može da bude dobra metoda za sprečavanje rojenja. U ovu svrhu se koriste TIT-3 ramovi koji predstavljaju ram-zamku, a stavljaju se u jaka društva četiri nedelje pre početka rojenja. Ovi ramovi se umeću između okvira sa leglom u slaboj paši ili kod slabijih društava napadnutih varoom. Iseca se trutovsko saće iz jednog polja, nakon sedam dana iz drugog, a posle sedam dana iz trećeg ili se osam dana od dana umetanja TIT-3 rama u košnicu oslobađa jedno od tri polja, tj. u



Slika 1. Šema rama TIT-3 [21]
Figure 1. TIT-3 frame scheme [21]

njemu se izreže celo saće nakon čega se TIT-3 ram rotira za 180° i stavlja na isto mesto.

Ciklus se ponavlja dok postoji trutovsko leglo. Naime, ram-lovac (zamka, mamac) je okvir sa zaleženim, mladim, nepoklopljenim leglom na sredini saća koji se dodaje pčelinjoj zajednici sa prethodno oduzetim celokupnim leglom. Ženke krpelja sa svih pčela u košnici se usmeravaju u ćelije otvorenog legla i tako su poklopljene. Posle poklapanja legla, ram-lovac se odstranjuje iz košnice. Jednokratnom upotrebom ove metode može da se eliminiše do 80 posto varoa iz pčelinje zajednice.

Biotehničke mere suzbijanja varoe su još i **formiranje mladih zajednica ili veštačkih rojeva**, što doprinosi sprečavanju rojidbenog nagona. U jesen i u leto može da se pristupi izrojavanju proizvodnih zajednica, što je jedna od neophodnih mera za saniranje jako napadnutih i oslabljenih zajednica.

Metoda klopka je najefikasnija biotehnička metoda, jer se njim eliminiše više od 80 posto varoe. Osnovno je da se stvara pčelinje društvo bez legla, tj da se napravi roj od starih pčela u koji se postavlja okvir sa trutovskim praznim saćem da pokupi varou, a najveći broj varoe ostaje u starku ili obrnuto, tj. tamo gde je ostalo leglo. Posle izleganja pčela iz zatvorenog legla izlazi i varoa koja se takođe sa ramom praznog trutovskog saća, kao mamcem, može da pokupi. Ovakvim izrojavanjem sprečava se neželjeno prirodno rojenje, prekida se leglo kod pčela, ali i leglo kod varoe i njena dalja reprodukcija. Ako se ova metoda koristi pčelinja društva mogu da se sačuvaju i do tri godine bez ikakvog tretmana, nakon čega mora da se primeni drugi način borbe protiv varoe (termički ili hemijski).

Biofizičke mere borbe / Biophysical measures in control of varroosis

Seoba pčelinjih zajednica je značajna fizička metoda u borbi protiv varoe, jer pri seljenju uznemirene pčele podižu temperaturu u košnici i do 41°C, što uslovljava obaranje parazita sa pčela na podnjaču, ali i uginuće varoozom i akarozom oštećenih pčela, što povoljno utiče na zdravstveno stanje pčelinjih zajednica.

Osunčavanje košnica doprinosi povišenju temperature i do 37°C u leglu, što nepovoljno deluje na životni ciklus ženki varoe, jer u potpunosti prestaju sa polaganjem jaja, dok već položena jaja varoe uginu.

Podizanje pčela na platformu povoljno utiče na razvoj društva, s jedne strane, kao i na smanjenje broja parazita u leglu, s druge strane. Košnice postavljene na platforme visine od 60 do 70 centimetara imale su manji stepen infestiranosti krpeljima, dok su košnice postavljane na platforme od 3 metra od površine zemlje, postizale vrlo efikasnu biološku ravnotežu, maksimalan razvoj zajednice (do 6 kg pčela), eliminaciju rojidbenog nagona i značajno visoke prinose (ruski eksperimenti – Moravskaja, 1984) [16].

U poslednje vreme se sve češće, u borbi protiv varooze, primenjuje i **termička metoda**. Tabor i Ambrose [21] u svom eksperimentu smeštali su pčele u

dve inkubacione komore sa kontrolisanom temperaturom i relativnom vlažnosti vazduha. Tretman je, u toku pet dana, izvođen na temperaturama od 22°C, 35°C i 40°C. Na maloj udaljenosti od dna test-kutije, koja je smeštana u inkubacionu komoru, postavili su metalnu mrežu, kroz čija okca su mogli propasti jedino krpelji, a na samom dnu se nalazila kartonska podloga, prevučena gelom, na koju su se oni lepili. Pčele infestirane varoom su iz svojih društava prenošene u transportne kutije, koje su preko vinilnih cevi bile povezane sa test-kutijom. Prelazak pčela iz transportne u test-kutiju je podstican svetlošću. Prelaz iz jedne u drugu kutiju je prekidano kada bi u test-kutiju prešlo 50 pčela. Ukupan broj krpelja je određen centrifugovanjem pčela u 95% alkoholu, kome se dodao broj krpelja otpalih u eksperimentu i broj krpelja koji je, eventualno, zaostao na pčelama. Najviši stepen otpadanja krpelja je primećen u toku prva dva dana zagrevanja do temperatura od 35°C i 40°C, pri čemu je zagrevanje od 40°C izazvalo najintenzivnije otpadanje krpelja.

Huang [22] u svojim eksperimentima je takođe koristio temperaturni tretman protiv varoe i to u samim košnicama. U osnove saća postavljao je grejače (čeličnu žicu), koji su uz pomoć baterije (12 V, 6 A) uronjeni u osnovu voska (slike 2 i 3). Kroz svaki ram žica je prolazila dvanaest puta. Na ovaj način pripremljena dva rama, autor je stavljao u košnicu sa pčelinjim društvom koje ranije nije bilo tretirano hemijskim sredstvima protiv krpelja. Radilice su na ovim osnovama izgradile trutovske ćelije, koje su normalno poklopljene i u kojima su se našli krpelji. Puštanjem struje kroz žice (grejač), pri sredinskoj temperaturi od 27°C i prosečnom otporu od 1,8 Ω, za pet minuta dostignuta je temperatura od 45°C na kojoj je smrtnost krpelja bila 59 posto. U drugom testu, pri sredinskoj temperaturi od 32°C i prosečnom otporu od 2 Ω, bilo je potrebno 7,5 minuta da se dostigne temperatura od 43°C, koja je održavana tri minuta, nakon čega je smrtnost krpelja bila sto posto. Krpelji neizloženi povišenoj temperaturi, pokazali su prirodni stepen mortaliteta (9,5%). Problem u ovom eksperimentu predstavlja topljenje voska u blizini grejača, što se može prevazići korišćenjem žice uronjene u termootpornu plastiku. Ova metoda koja je u laboratorijskim uslovima pokazala visoku efikasnost, trenutno se ispituje na terenu, kako bi se odredilo da li je dovoljna za suzbijanje varoe i preživljavanje pčelinjih društava tokom zime.

U našoj zemlji se izvode slični postupci saniranja varoe na selećim pčelinjacima u košnicama u kojima je instalirano grejanje košnica na početku proleća. I ovde se nameće veliki problem topljenja saća, ali ima nagoveštaja da se sa kratkotrajnim termičkim tretmanima saće sačuva, a varoa obori. Porodica Plužnikov iz Stalaća je više godina za suzbijanje varoe u zimskom periodu primenjivala metodu istresanja pčela u rešetkasti bubanj, a zatim izlaganje pčela temperaturnom tretmanu u trajanju od 10 minuta na temperaturi od 46 do 48°C. Ova metoda zahteva veliku aktivnost, rad i vreme, ali se pčele, saće i košnica čuvaju od kontaminacije, a pčelinja društva do sledeće zime ne moraju dodatno da se tretiraju.

Tretman organskim kiselinama / *Treatment with organic acids*

Primena mravlje kiseline (FA) u kontroli varooze /

Use of formic acid (FA) in control of varroosis

Predostrožnosti. Pročitati etiketu na pakovanju mravlje kiseline pre korišćenja i preduzeti sve preporučene predostrožnosti. Mravlja kiselina je veoma korozivna.

Izbegavati:

- Kontakt sa kožom – mravlja kiselina može da izazove opekotine na koži.
- Kontakt sa očima – mravlja kiselina može da izazove slepilo.
- Ingestiju – mravlja kiselina može da izazove oštećenja gastrointestinalnog trakta i bubrega.
- Udisanje – mravlja kiselina može da izazove štetne posledice (opstruktivni bronhitis).

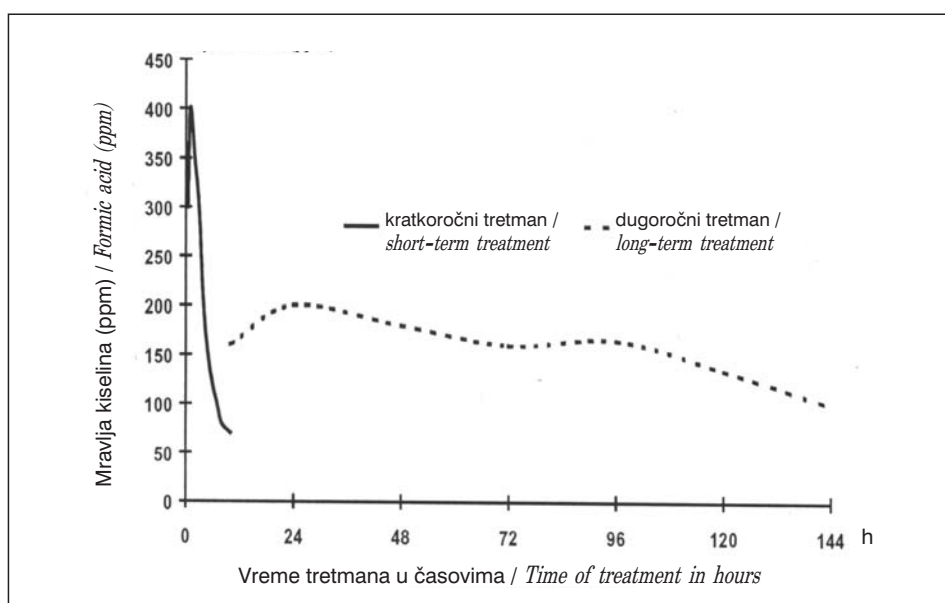
Zaštita pčelara / *Beekeeper protection*

- Moraju da se nose naočare i rukavice otporne na dejstvo kiseline.
- Treba da se koristi kecelja otporna na dejstvo kiseline, dugi rukavi i čizme.
- Pri radu sa mravljom kiselinom u zatvorenim prostorijama preporučuje se respirator za prečišćavanje vazduha, odnosno dobro provetravanje prostorija.
- Obezbediti dovoljnu količinu vode i krpa za slučaj da dođe do akcidenta ili prosipanja kiseline.
- Izbegavati korišćenje tople mravlje kiseline po toplom vremenu. Manje štetne pare će se osloboditi kada je kiselina hladna. Preporučuje se rashlađivanje mravlje kiseline do temperature od +4°C.
- Napraviti plan za raspoređivanje (postavljanje) posuda u košnici.
- Sve posude treba obeležiti i posle upotrebe oprati.

Izbegavanje rezidua – tokom pčelinje paše i medobranja ne treba primenjivati mravlju kiselinu.

Metode primene. Mravlja kiselina može da se primenjuje u kontroli varoe u prisustvu pčelinjeg legla. Prirodni je sastojak meda i vrlo efikasno može da se upotrebljava u borbi protiv varoe, jer efekat ostvaruje kako u otvorenom, tako i u poklopljenom leglu. Rezistentnost varoe na mravlju kiselinu za sada nije registrovana i u Evropskoj uniji je jedino hemijsko sredstvo čija je primena, uz timol, dozvoljena u ekološkom pčelarenju. Mravlja kiselina deluje stvaranjem pare koja prodire u košnicu. Para mravlje kiseline je teža od vazduha i zato aplikaciju kiseline treba obaviti sa satonoše plodišnih nastavaka LR košnice. Para mravlje

kiseline se ravnomerno raspoređuje po celoj košnici prodirući i u zatvorene ćelije saća. Efikasnost u primeni mravlje kiseline, kao i ostalih organskih kiselina, može da se postigne samo u kombinaciji sa biotehničkim merama borbe [23, 24, 19, 12, 13]. Mravlja kiselina treba da se primenjuje izvan perioda pčelinje paše i medo-branja u vidu kratkoročnih i dugoročnih tretmana. Kratkoročni tretman podrazu-meva zadržavanje mravlje kiseline u košnici najduže do 4,5 dana, dok dugoročni tretman podrazumeva prisustvo mravlje kiseline u košnici u dužem vremenskom periodu (više od 21 dana). Analize efekata dugoročnih i kratkoročnih tretmana mravljom kiselinom [3, 4] ukazuju na činjenicu da mravlja kiselina svoj efekat postiže za 24 časa, što primenu dugoročnog tretmana u ovom kontekstu čini izlišnim (grafikon 2).



Grafikon 2. Zasićenje pare mravlje kiseline u košnici tokom kratkoročnog i dugoročnog tretmana [3] /

Graph 2. Saturation with FA vapor in the hive during short-term and long-term treatment [3]

Postoji više načina kratkoročne aplikacije mravlje kiseline u košnici, a ovde će biti opisana dva načina: kratkoročni tretman 60% i 65% mravljom kiselinom.

*Kratkoročni tretman 60% mravljom kiselinom /
Short-term treatment with 60% formic acid*

Mravlja kiselina u prodaji može da se nađe u različitim koncentracijama, ali često u mnogo većim koncentracijama nego što je potrebno u kontroli varooze. Tabela 1 prikazuje shemu dobijanja željenih koncentracija mravlje

kiseline od komercijalnih pakovanja. Međutim, željena koncentracija može da se dobije i primenom formule:

$$85 \text{ g FA} : 100 \text{ g rastvora} = 60 \text{ g} : X$$

$$X = \frac{100 \times 60}{85} = 70.59$$

Naime, ako raspolažemo komercijalnim pakovanjem 85% mravlje kiseline, to znači da se u 100 grama 85% rastvora nalazi 85 grama čiste mravlje kiseline. 60% mravlju kiselinu ćemo dobiti po već navedenoj proporciji iz koje izlazi da za dobijanje 100 ml 60% mravlje kiseline, po formuli treba uzeti 70.59 ml 85% kiseline, međutim, kiselina ima nešto veću gustinu od jedan, pa je neophodno da se dobijena vrednost (70.59) podeli sa 1.198 što predstavlja specifičnu gustinu mravlje kiseline. Konačna vrednost je 58.92. Znači, za dobijanje 1000 ml (1l) 60% rastvora mravlje kiseline, u posudu od 1 litre najpre treba uliti 100 ml destilovane vode, a zatim u vodu dodati 589,20 ml 85% mravlje kiseline i ostatak do 1000 ml dopuniti destilovanom vodom. Tako smo dobili 1 litar 60% mravlje kiseline. Pri pravljenju rastvora neophodno je da se uvek doda kiselina u vodu, nikako obrnuto (nikada VUK – voda u kiselinu), jer to može da uzrokuje oslobađanje značajne količine toplote, pucanja staklene posude sa kiselinom i povređivanja.

Tabela 1. Shema dobijanja željenih koncentracija mravlje kiseline od komercijalnih pakovanja /

Table 1. Scheme for obtaining desired concentration of FA from commercial use package

	Potrebna zapremina (ml) mravlje kiseline poznate koncentracije, koju treba dopuniti do 1000 ml vodom da bi se dobio rastvor željene koncentracije / A needed volume (ml) of formic acid of known concentration which should be filled up at 1000 ml with water to reach desired concentration			
	98%	86%	80%	72%
65%	543.66	630.90	685.80	777.60
60%	501.84	582.36	633.38	712.25
55%	406.02	533.86	579.68	652.90
50%	418.20	485.30	526.98	593.54
45%	376.30	436.77	474.28	534.19
40%	334.56	388.24	421.58	474.93
35%	292.74	339.71	368.98	415.48
30%	250.92	291.18	316.19	356.12
25%	209.10	242.65	263.49	296.77
20%	176.28	194.12	210.79	237.42
15%	125.46	145.59	158.09	178.06

Aplikacija 60% mravljom kiselinom može da se obavi tako što se sunderasta krpa dimenzija 20 x 20 x 0,5 cm natopi kiselinom i stavi u košnicu, što bliže pčelama odozgo ili odozdo (slika 2). Tretman se obavlja od tri do četiri puta u razmaku četiri do sedam dana. Ako se krpa stavlja odozgo, onda se ravno postavlja na satonoši. Ako se krpa postavlja od dole, treba da se stavi ispod mrežaste podnjače. Aplikacija može da se obavi i tako što se u određenu posudu postavi kartonski umetak ili sunderasta krpa koja se natopi otprilike sa 25 ml 60% mravlje kiseline. Po pravilu koristi se 2 ml mravlje kiseline na jednu ulicu pčela. Tretman može da se ponovi i tri do četiri puta u razmaku pet do šest dana. Postoji mogućnost aplikacije i pomoću specijalnih daščica natopljenih mravljom kiselinom, ali se u poslednje vreme koriste i smolasti granulati kao nosioci mravlje kiseline. Efikasnost mravlje kiseline primenjene na opisane načine je od 61% do 98% na temperaturama od 12°C (14 ili 16°C) do 25°C. Ako je dnevna temperatura viša od 25°C, tretman se obavlja uveče. Mravlja kiselina pre upotrebe treba da se rashladi na temperaturi od +4°C. Tokom tretmana neophodno je da se obavlja prihranjivanje pčela šećernim sirupom u odnosu 1 : 1 ili 2 : 1 (šećer : voda). Prihranjivanje je neophodno da bi se obezbedila dovoljna količina energetske hrane potrebne za eliminaciju štetnih efekata mravlje kiseline. Naime, mravlja kiselina tokom primene omekšava hitin kod pčela, utiče na smanjenje zaleganja jaja matice i usporava rast legla.



Slika 2. Aplikacija 60% mravlje kiseline /
Figure 2. Application of 60% formic acid

Tabela 2. Uputstvo za kratkoročni tretman mravljom kiselinom (FA) /
Table 2. Instruction for a short-term treatment with formic acid (FA)

Aktivna supstancija / <i>Active substance</i>	Mravlja kiselina – kratkoročni tretman / <i>Formic acid-short-term treatment</i>									
Aplikacija / <i>Application</i>	Pasivna evaporacija sa absorbentnog materijala / <i>The pasive evaporation from the absorbing material</i>									
Vreme tretmana / <i>Time of treatment</i>	Početak: posle medobranja / <i>Start: after honey harvest</i> Kraj: Zavisi od okolne temperature / <i>Finish: depends on environ. temp</i> Preporuka / <i>Recommendation</i> 1. blok tretman / <i>block treatment</i> → početkom avgusta / <i>at the beginning of August</i> 2. blok tretman / <i>block treatment</i> → krajem septembra / <i>at the end of September</i>									
Broj tretmana / <i>Number of treatments</i>	4 x u razmaku od 4 dana / <i>4x in 4 day intervals</i>									
Temperatura tokom dana / <i>Daily temperature</i>	12-20°C → tretman tokom dana / <i>treatment during the day</i> 20-25°C → tretman uveče ili ujutro / <i>treatment in the evening or in the morning</i> 25°C → tretman rano ujutro / <i>treatment early in the morning</i>									
Koncentracija / <i>Concentration</i>	Tretman odozgo / <i>Treatment from above</i> → 60% FA Tretman odozdo / <i>Treatment from below</i> → 60% FA (zavisno od okolne temperature / <i>depends of environmental temperature</i>)									
Doze (zavisno od veličine košnice) / <i>Doses (depending on hive size)</i>	<table><tr><td></td><td>1 sprat (ml) / <i>1. floor (ml)</i></td><td>2 sprat (ml) / <i>2. floor (ml)</i></td></tr><tr><td>Odozgo / <i>from above</i></td><td>20-30 (25)</td><td>40-50 (50)</td></tr><tr><td>Odozdo / <i>from below</i></td><td>20-30 (30)</td><td>40-60 (60)</td></tr></table>		1 sprat (ml) / <i>1. floor (ml)</i>	2 sprat (ml) / <i>2. floor (ml)</i>	Odozgo / <i>from above</i>	20-30 (25)	40-50 (50)	Odozdo / <i>from below</i>	20-30 (30)	40-60 (60)
	1 sprat (ml) / <i>1. floor (ml)</i>	2 sprat (ml) / <i>2. floor (ml)</i>								
Odozgo / <i>from above</i>	20-30 (25)	40-50 (50)								
Odozdo / <i>from below</i>	20-30 (30)	40-60 (60)								
Absorbentni materijal / <i>Absorbing material</i>	– Viskozni sunder (sporija evaporacija) / <i>Ropy sponge (slow evaporation)</i> , – Meki vlaknasti pamučni karton (brza evaporacija) / <i>Smooth fibrous cotton card (fast evaporation)</i> , – Meka vlaknasta Pavatex ploča (drveno vlakno) / <i>Smooth fibrous Pavatex plate (woody fiber)</i>									
Površina evaporacije / <i>Evaporation surface</i>	Približno / <i>Approx</i> 15 x 20 x 0.5 cm									
Kontrola efikasnosti tretmana / <i>Treatment efficacy control</i>	Merenje prirodnog mortaliteta krpelja / <i>Measure of natural mortality of mite</i> Početak → 14 dana nakon poslednjeg tretmana / <i>Start → 14 days after the latest treatment</i> , Trajanje → 2 nedelje / <i>Duration → 2 weeks</i> , Više od 1 varoe/danu → preporučuje se dodatni kratkoročni tretman / <i>More than 2 varroa/day → recommenaed one more short-term treatment</i>									
Sigurnosne mere pri aplikaciji / <i>Safety measures during application</i>	Zaštitne naočari, gumene rukavice, dostupna voda / <i>protective glasses, protective gloves, available water</i>									

Dugoročni tretman mravljom kiselinom / *Long-term treatment with formic acid*

Dugoročni tretman podrazumeva prisustvo mravlje kiseline u košnici duže od 21 dana. Ovaj tretman, zbog produženog zadržavanja mravlje kiseline uslovljava promenu ukusa meda. Međutim, ako se tretmani obave pre medobranja i posle medobranja opasnosti po promenu ukusa meda su minimalne ili ne postoje. Postoji više načina dugoročnog tretmana mravljom kiselinom, a ovde će biti opisan tretman sa 15% mravljom kiselinom u kaseti, 65% kiselinom na letu, kao i dugoročni tretman 65% kiselinom upotrebom celuloznih apsorbujućih materijala i 60% kiselinom primenom plastičnih isparivača i kompresionog fumigatore „EKO FOG 2000”.

Aplikacija 15% mravlje kiseline u kaseti /

Application of 15% formic acid in the cassette

Aplikacija 15% mravlje kiseline u kaseti zahteva prisustvo duboke (visoke) podnjače, kao i plastične kadice (kasete) zapremine do 3,5 litra.

- U plastičnu kasetu naliti 3 litra 15% mravlje kiseline,
- Kasetu sa mravljom kiselinom staviti na dno visoke podnjače i ostaviti da stoji 21 do 28 dana.

Aplikacija 65% mravlje kiseline preko leta /

Application of 65% formic acid over the entrance

Mravlja kiselina može da se primeni direktno na podnjaču preko leta:

- Da bi se izbeglo ubijanje pčela, nadimiti leto;
- Upotrebiti gradušani špric ili pištolj za vodu, špricati 15 ml 65% kiseline preko leta po podnjači;
- Tretman se ponavlja u intervalima od jednog do četvrtog dana (zavisno od brzine isparavanja);
- Neohodno je da se obavi 5 do 6 tretmana.

Aplikacija 60% mravlje kiseline upotrebom plastičnih isparivača /

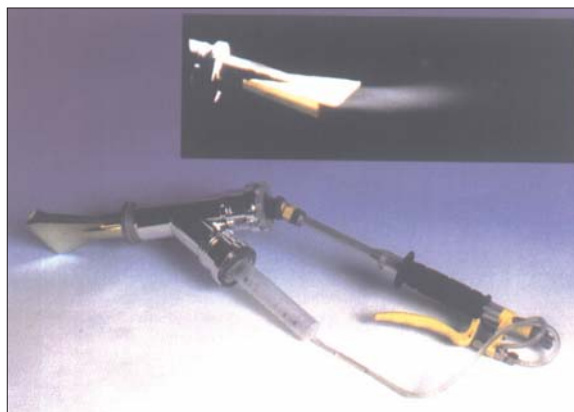
Application of 60% formic acid by plastic evaporators

Plastični isparivači koriste se dva puta godišnje: posle vrcanja meda i nakon prihranjivanja pčela. Efikasnost ove metode se postiže pri temperaturama od 5 do 30°C.

- Plastični isparivač se fiksira za ram.
- Za svaku zajednicu treba da se obezbedi po 30 ml 60% mravlje kiseline.
- Posle vrcanja meda treba da se obezbedi dnevno isparavanje mravlje kiseline u količini od 15 do 20 ml tokom pet dana.
- Nakon prihranjivanja treba da se obezbedi dnevno isparavanje mravlje kiseline u količini od 6 do 10 ml u intervalu od deset dana.

- Jedan isparivač se dodaje po jednom nastavku.
- U zajednicama sa jednim nastavkom isparivač se stavlja dalje od leta, a kod zajednica sa dva nastavka postavljaju se dva isparivača dijagonalno i to po jedan u svakom nastavku.
- Veća efikasnost se postiže u košnicama u kojima su ramovi postavljeni „na toplo”.

Osim navedenih tehnika aplikacije mravlje kiseline, u novije vreme se primenjuje i metoda aplikacije mravlje kiseline, ali i amitraza, pomoću kompresionog fumigatora pod nazivom „EKO FOG 2000” (slika 3). Pri aplikaciji mravlje kiseline upotrebljava se 60% ili 65% rastvor koji se u vidu finog aerosola pod pritiskom od 8 bara ubacuje preko leta u košnicu. Ova metoda pokazuje efikasnost i do 99%, ali poseduje i nedostatke. Glavni nedostatak joj je što pritisak od 8 bara deluje stresno na maticu i pčele radilice, ali izaziva i oštećenja na membranama Jakobsonovih organa.



Slika 3. „Eco Fog 2000” – aparat za kompresionu fumigaciju košnica aerosolom mravlje kiseline i amitraz-a /

Figure 3. „Eco Fog 2000” – apparatus for formic acid and amitraz compressive fumigation

Primena oksalne kiseline (OA) u kontroli varooze /

Use of oxalic acid (OA) in control of varroosis

Oksalna kiselina može da se nabavi u kristalnom obliku kao dihidrat oksalne kiseline. Ovaj oblik oksalne kiseline je u prahu i u njemu je sadržaj samo 71,4% oksalne kiseline, tako da je važno da se koristi ovaj faktor korekcije prilikom pripremanja rastvora. Da bi se odredio procenat (težina/zapremina) oksalne kiseline u sirup rastvoru, podeliti stvarnu količinu oksalne kiseline (težina dihidrata oksalne kiseline x 0,714) sa ukupnom zapreminom šećernog rastvora. Rastvaranjem jednog kilograma šećera u 1 litru vode dobija se sirup rastvor količine 1.67 litra.

Pročitati etiketu na pakovanju oksalne kiseline pre korišćenja i preduzeti sve preporučene predostrožnosti. Oksalna kiselina je jako korozivna. Preporučuju se iste mere predostrožnosti i zaštitna oprema kao kod primene mravlje kiseline.

Oksalna kiselina treba da se koristi zimi kada je malo legla u košnici ili uopšte nema legla, jer efekat eliminacije krpelja može da se smanji ako se primenjuje tokom jeseni kada je invazija krpeljima visoka (akutno stanje).

Preporučuje se primena na temperaturama višim od tačke mržnjenja (+5°C), jer niske temperature mogu da uslove prehladivanje ili čak smrzavanje pčela tretiranih rastvorom oksalne kiseline [25, 12, 13].

Postoji više načina aplikacije oksalne kiseline, a ovde će biti opisana dva:

- fajtanje (prskanje) pčela finim aerosolom rastvora oksalne kiseline;
- nakapavanje oksalne kiseline špricom po ulicama pčela.

Fajtanje (prskanje) pčela finim aerosolom rastvora oksalne kiseline /
Fighting (spraying) bees with oxalic acid fine aerosol solution

Oksalna kiselina se koristi za kontrolu varoe u pčelinjim zajednicama bez legla u kasnu jesen ili zimu kada je spoljašnja temperatura viša od tačke mržnjenja. Aplikacija se obavlja kroz topli šećerni rastvor (temperature 37°C), koji se spravlja u odnosu 1 : 1 (šećer : voda). Za pet pčelinjih zajednica pravi se rastvor od 250 ml šećernog sirupa, u koji se rastvara 9 grama dihidrat-oksalne kiseline. Prilikom tretmana koriste se brizgalice do 100 ml i obavezno se vodi računa o jačini pčelinje zajednice. U slabim društvima (manje od jednog nastavka), aplikuje se 30 ml ovog rastvora, u srednje jakim društvima (jedan nastavak) – 40 ml, a u snažnim društvima (više od jednog nastavka) 50 ml rastvora u jednom tretmanu. Prskaju se samo pčele u ulicama, dok se vosak i okviri ne prskaju.

Nakapavanje oksalne kiseline špricom po ulicama pčela /
Oxalic acid dropping by syringe over the beeway

Napraviti šećerni sirup sa 1,7% oksalnom kiselinom (w/v). Pomešati jedan litar vode sa jednim kilogramom šećera i dodati 35 grama dihidrata oksalne kiseline. Rastvor dobro promešajte da bi se kristali šećera i oksalne kiseline potpuno rastvorili. Koristiti 5 ml rastvora oksalne kiseline u šećernom sirupu po jednoj ulici pčela. Aplikaciju obaviti



Slika 4. Nakapavanje oksalne kiseline špricom po ulicama pčela
Figure 4. Oxalic acid dropping by syringe over the beeway

pomoću šprica zapremine od 150 ml. Uzmite odgovarajuću dozu za jednu pčelinju zajednicu (5 ml rastvora oksalne kiseline u šećernom sirupu x broj ulica pčela) i nakapati sirup po pčelama duž ulica pčela (slika 4).

Primena mlečne kiseline (LA) u kontroli varooze /

Use of lactic acid (LA) in control of varroosis

Mlečna kiselina je najmanje korozivna u odnosu na mravlju i oksalnu kiselinu, ali i pored toga preporučuje se upotreba adekvatne zaštitne opreme i strogo pridržavanje svih mera predostrožnosti kao i pri upotrebi mravlje i oksalne kiseline. Prirodni je sastojak meda, kao i mravlja kiselina, a za sada nije utvrđeno postojanje bilo kakvih rezidua ove kiseline u pčelinjim proizvodima.

Mlečna kiselina se upotrebljava u kontroli varooze kod mladih zajednica bez poklopljenog legla leti i zimi kada su temperature više od tačke mržnjenja ($> +4^{\circ}\text{C}$). U kontroli varooze upotrebljava se 15% (L+) mlečna kiselina koja se dobija mešanjem 100 ml 85% mlečne kiseline i 500 ml destilovane vode. Za aplikaciju upotrebljavati ručni raspršivač (fajtalicu) koji stvara fini aerosol prilikom upotrebe. Aplikaciju obaviti dvokratno u roku od šest dana, s tim da je najveća doza 8 ml po jednoj strani pčelama zaposednutog rama (znači 16 ml po jednom ramu).

Primena timola u kontroli varooze / Use of timol in control of varroosis

Timol može da se nabavi u kristalnom obliku i onda se ili rastvara u alkoholu ili koristi direktno u vidu kristala. Timol deluje oslobađanjem pare koja se ravnomerno raspoređuje u sve delove košnice. Značajno je da u košnici postoji dovoljno prostora za isparavanje timola između satonoša ramova i poklopca. Timol u kontroli varooze može da se upotrebi kao:

- tečnost natopljena na apsorbentne uloške i
- u kristalnom obliku.

Aplikacija timola u tečnom stanju preko apsorbentnih uložaka /

Application of liquid timol over the absorbent pads

Apsorbentni ulošci mogu da se naprave od vermikulata, zelene pene koja se koristi u cvećarstvu ili kuhinjskih „truleks” krpa. Uložak iseći na pravougaonike dimenzija 6 cm x 4 cm, debljine 0,5 cm (slika 5). Za svaku košnicu u tretmanu treba da se rastvori 4 grama timola u 4 ml 75% alkohola. Rastvor dobro izmešati da bi se u potpunosti rastvorili kristali timola. Za aplikaciju koristiti veliki špric u koji se uzima 8 ml rastvora timola i nanosi na uložak. Postaviti dva uložka na satonoše u suprotnim uglovima nastavka sa leglom. Pri upotrebi timola, kao i pri upotrebi organskih kiselina, neophodno je da se koristi zbeg radi obezbeđivanja dovoljno prostora za fluktuaciju isparenja aplikovanih preparata. Tretman ponoviti dva do tri puta u intervalu od osam dana.



Slika 5. Aplikacija timola preko apsorbentnih uložaka /
Figure 5. Timol application over the absorbing pads

Aplikacija timola u kristalnom obliku / Application of timol in crystal form

Aplikaciju timola u kristalnom stanju obaviti upotrebom plastičnih poklopaca sa tegli, prečnika od 5 do 7 cm. Po svakoj košnici u tretmanu upotrebiti dva poklopca postavljajući ih na satonoše u dijagonalnom rasporedu na suprotnim uglovima plodišta. Aplikovati po 4 grama kristala timola u svaki poklopac. Neophodna je upotreba zbeaga. Tretman ponoviti dva do tri puta u intervalu od osam dana.

Efikasnost timola je u opsegu od 54 do 98 posto. Neželjeni efekti su neznatni, osim ako se predozira, što može da dovede do gubljenja matice ili izlaska celog društva iz košnice. Ostavlja rezidue u medu u količini čak do 0,8 mg/kg. Izaziva promenu ukusa i mirisa meda pa se preporučuje njegova upotreba posle medobranja.

Strategija ekološke kontrole varooze / *Ecological strategy in control of varroosis*

U ovom poglavlju date su detaljne preporuke za kontrolu varoe pčelama različitih kategorija i tipova proizvodnje. Preporuke zavise od dužine trajanja perioda u infestiranosti varoom na pčelinjaku.

Pčelari hobisti / Hobby beekeepers

Konvencionalna proizvodnja / Conventional production

- Pregledati sva društva, koristeći jednu od metoda detekcije. Preglede obaviti:
 - pre prolećnog tretmana;
 - nakon prolećnog tretmana radi utvrđivanja njegove efikasnosti;
 - sredinom leta radi izbegavanja značajnijih oštećenja jesenjih pčela;
 - pre jesenjeg tretmana i

- nakon jesenjeg tretmana radi utvrđivanja njegove efikasnosti.
- Tretirati sva društva u rano proleće na početku zaleganja jaja i u jesen posle zadnjeg medobranja.
- Tretman otpočeti dovoljno rano da bi se izbegao kolaps društva od invazije. Sa medobranjem završiti što je pre moguće, čak iako poslednje medonosne biljke i dalje mede.
- Upotrebiti registrovane supstancije za kontrolu varoe i strogo se pridržavati naznačenih uputstava za upotrebu [26, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30].
- U jesen koristiti supstancije koje nisu korišćene u proleće da bi izbegli razvoj krpelja rezistentnih na hemijske preparate (na primer, Matisan u rano proleće, mravlja kiselina u jesen).
- Tretman obaviti korišćenjem registrovanih supstancija za kontrolu varoe uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja u košnici ekvivalentna broju od 2500 krpelja [31, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30].
- Proveriti broj krpelja u nekoliko košnica nakon tretmana da bi se utvrdila efikasnost.

Organska proizvodnja / Organic production

U organskoj proizvodnji, procedura je ista kao i u konvencionalnoj, jedino što je u ovom slučaju neophodno da se upotrebe organske supstancije za kontrolu varoe, kao što su mravlja kiselina u rano proleće, posle medobranja, i mlečna ili oksalna kiselina kasno u jesen uz strogo pridržavanje uputstava za upotrebu (videti poglavlja o primeni organskih kiselina u kontroli varoze). Tokom sezone je neophodno primeniti biotehničke mere borbe protiv varooze u svakoj prilici kada je racionalno [19]. Tretman obaviti korišćenjem organskih supstancija za kontrolu varoe uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja u košnici ekvivalentna broju od 2500 krpelja [31, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30]. Na kraju proveriti efikasnost tretmana.

Komercijalni pčelari / Commercial beekeepers

Konvencionalna proizvodnja / Conventional production

- Pregledati 10 posto košnica na svakom pčelinjaku, koristeći jednu od metoda opisanih u radu Ćirković i sar [31].
 - Preglede obaviti:
 - pre prolećnog tretmana;
 - nakon prolećnog tretmana u cilju utvrđivanja njegove efikasnosti;
 - sredinom leta u cilju izbegavanja značajnijih oštećenja jesenjih pčela;
 - pre jesenjeg tretmana i

– posle jesenjeg tretmana radi utvrđivanja njegove efikasnosti.

- Tretirati sva društva u rano proleće na početku zaleganja jaja i u jesen posle zadnjeg medobranja.

- Tretman otpočeti dovoljno rano da bi se izbegao kolaps društva od invazije. Sa medobranjem završiti što je pre moguće, čak iako poslednje medonosne biljke i dalje mede.

- Upotrebiti registrovane supstancije za kontrolu varoe i strogo se pridržavati naznačenih uputstava za upotrebu [26, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30].

- U jesen koristiti supstance koje nisu korišćene u proleće da bi izbegli razvoj krpelja rezistentnih na hemijske preparate (npr. Matisan u rano proleće, mravlja kiselina u jesen).

- Tretman obaviti korišćenjem registrovanih supstancija za kontrolu varoe uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja u košnici ekvivalentna broju od 2500 krpelja [31, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30].

- Proveriti broj krpelja u nekoliko košnica nakon tretmana da bi se utvrdila efikasnost.

Organska proizvodnja / Organic production

- U organskoj proizvodnji, procedura je ista kao i u konvencionalnoj, jedino što je u ovom slučaju neophodno da se upotrebe organske supstancije za kontrolu varoe, kao što su mravlja kiselina u rano proleće, posle medobranja, i mlečna ili oksalna kiselina kasno u jesen uz strogo pridržavanje uputstava za upotrebu (videti poglavlja o primeni organskih kiselina u kontroli varooze). Pošto se radi o komercijalnoj proizvodnji koja zahteva rad sa velikim brojem društava, primenu mravlje kiseline obaviti u dugoročnom tretmanu (15% mravljom kiselinom u kaseti, 65% kiselinom na letu, 65% kiselinom upotrebom celuloznih apsorbujućih materijala i 60% kiselinom primenom plastičnih isparivača i kompresionog fumigatore „EKO FOG 2000”). Tokom sezone je neophodno da se primene biotehničke mere borbe protiv varooze u svakoj prilici kada je racionalno [19]. Tretman obaviti korišćenjem organskih supstancija za kontrolu varoe uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja u košnici ekvivalentna broju od 2500 krpelja [31, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30]. Na kraju proveriti efikasnost tretmana.

Proizvođači matica / Queen producers

Konvencionalna proizvodnja / Conventional production

- Tretirati sva odgajivačka društva i nukleus društva u rano proleće, a u jesen nukleuse koji će ponovo da budu spojeni.

- Upotrebiti registrovane supstancije za kontrolu varoe [26, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30] uz strogo pridržavanje naznačenih uputstava za upotrebu.

- U jesen koristiti supstancije koje se nisu koristile u proleće da bi se izbegao razvoj krpelja rezistentnih na hemijske preparate (na primer Matisan u rano proleće i mravlja kiselina u jesen).
- Obezbediti dovoljan broj društava za proizvodnju trutova neophodnih za parenje matica, s obzirom da varoa utiče na smanjenje broja trutova.
- Tretirati društva za proizvodnju trutova najmanje 40 dana unapred, tj. 40 dana pre sazrevanja trutova namenjenih za parenje sa maticama.
- Pregledati trutovsko leglo da li ima varoe koristeći tehniku skidanja poklopčića sa zatvorenog trutovskog legla pomoću pčelarske viljuške [31, 8, 9, 27, 28, 12, 13, 14, 29, 30].
- Pregledati 10 posto odgajivačkih društava koristeći jednu od metoda opisanih u radu Ćirković i sar [31], svakog drugog meseca tokom aktivne pčelarske sezone.
- Preduzeti tretman koristeći registrovane supstancije za kontrolu na svakoj odgajivačkoj košnici uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja ekvivalentna broju od 2500 krpelja.
- Proveriti broj krpelja u nekim košnicama nakon tretmana radi utvrđivanja njegove efikasnosti.
- Kao odgajivačke, odabrati one matice koje su pokazale najbolje rezultate u pogledu higijenskog ponašanja i supresije reprodukcije krpelja (SMR) [32, 33, 34, 35, 17, 36].

Organska proizvodnja / Organic production

- Tretirati sva odgajivačka društva i nukleus društva u rano proleće, a u jesen nukleuse koji će ponovo da budu spojeni.
- Upotrebiti organske supstancije za kontrolu varoe kao što su mravlja kiselina u proleće, odnosno mlečna i oksalna kiselina u jesen (videti poglavlje Upotreba organskih kiselina u kontroli varooze) uz strogo pridržavanje uputstava za upotrebu.
- Izbegavati korišćenje mravlje kiseline u društvima za proizvodnju trutova, pošto se pokazalo da ta hemikalija utiče na proizvodnju trutova.
- Obezbediti dovoljan broj društava za proizvodnju trutova neophodnih za parenje matica, s obzirom da varoa utiče na smanjenje broja trutova.
- Tretirati društva za proizvodnju trutova najmanje 40 dana unapred, tj. 40 dana pre sazrevanja trutova namenjenih za parenje sa maticama.
- Pregledati trutovsko leglo da li ima varoe koristeći tehniku skidanja poklopčića sa zatvorenog trutovskog legla pomoću pčelarske viljuške [31].
- Upotrebiti metode biotehničke kontrole varoe cepanjem društava i druge shodno uputstvima u radu Mladenović i sar [19].
- Pregledati 10 posto odgajivačkih društava, korišćenjem jedne od metoda opisanih u radovima Ćirković i sar [31]; Dobrić i sar [8, 9]; FAO/WHO [27],

MAF [28], Stanimirović i Dobrić [12], Stanimirović i sar [13], Stanimirović i sar [14], Stevanović i Stanimirović [29] i Taber [30].

- Preduzeti tretman organskim kiselinama ili timolom za kontrolu varooze u svakoj odgajivačkoj košnici uvek kada pregled pokaže da je ukupna populacija krpelja ekvivalentna broju od 2500 krpelja.

- Proveriti broj krpelja u nekim košnicama nakon tretmana radi utvrđivanja njegove efikasnosti.

- Kao odgajivačke, odabrati one matice koje su pokazale najbolje rezultate u pogledu higijenskog ponašanja i supresije reprodukcije krpelja (SMR) [32, 33, 34, 35, 17, 36].

Tabela 3. Intenzitet infestacije varoom i dinamika preduzetih mera /
Table 3. Varroa infestation intensity and dynamics of undertaken measures

Vreme / Time	Broj otpalih krpelja / <i>Number of dropped off mites</i>	Mere koje treba preduzeti/ <i>Measures that should be necessary to attempted</i>
Krajem maja / <i>At the end of May</i>	> 3	odmah nakon prolećnog medobranja treba preduzeti dugoročni tretman mravljom kiselinom / <i>Right after spring honey harvest it is necessary to apply long-term treatment with formic acid</i>
Krajem jula / <i>In the end of July</i>	> 10	Neophodna su dva dugoročna tretmana mravljom kiselinom / <i>it is necessary to apply two long-term treatments with formic acid</i>
Početkom septembra / <i>in the beginning of September</i>	> 1	neophodno je primeniti drugi dugoročni tretman mravljom kiselinom / <i>it is necessary to apply second long-term treatment with formic acid</i>
Tokom cele pčelarske sezone / <i>During whole honey bee season</i>	> 30	Dostignut prag oštećenja. Preti kolaps društva. Neophodno je primeniti tretman bez odlaganja / <i>Damage threshold. There is a threat of collapse of the bee colony</i>

Tabela 4. Sezonska dinamika infestacije varoom i preporuke /
Table 4. Seasonal varroa infestation dynamics and recommendations

Metoda / Method	Doba godine / Season of the year	Veličina uzorka / Sample size	Granični nivo / Border level	Preporuka / Recommendation
Žičane podnjače / Wired bottom boards	Zima / Winter	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>0,5 krpelja dnevno / <i>mite per day</i>	Obavezan tretman hemiterapeutcima (Aitol, Amitraz, Perizin) ili organskim kiselinama (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treat- ment with chemitherapeutics (Aitol, Ami- traz, Perizin) or with organic acids (FA, OA, LA)</i>
	Proleće / Spring	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>6 krpelja dnevno / <i>mite per day</i>	Obavezan tretman hemiterapeutcima (Aitol, Amitraz, Perizin) ili organskim kiselinama (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treat- ment with chemitherapeutics (Aitol, Ami- traz, Perizin) or with organic acids (FA, OA, LA)</i>
	Rano leto / Early summer	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>20 krpelja dnevno / <i>mites per day</i>	Obavezan tretman organskim kiselina- ma (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treatment with organic acids (FA, OA, LA)</i>
	Sredina leta / Middle summer	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>16 krpelja dnevno / <i>mites per day</i>	Obavezan tretman organskim kiselina- ma (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treatment with organic acids (FA, OA, LA)</i>
	Leto / Summer	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>8 krpelja dnevno / <i>mite per day</i>	Dva kratkoročna tretmana FA / <i>Two short-term FA treatments</i>
	Leto / Summer	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	2 krpelja dnevno / <i>mite per day</i>	Neophodna kontrola za dva meseca; Jedan kratkoročni tretman FA / <i>Necessary control in two months One short-term FA treatment</i>
	Leto / Summer	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	1 krpelj dnevno / <i>mite per day</i>	Neophodna kontrola za tri meseca ili pre zime; Jedan kratkoročni tretman FA / <i>Necessary control in three months or before the winter One short-term FA treatment</i>
	Kasno leto po- sle medobra- nja / <i>Late sum- mer after honey harvest</i>	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>33 krpelja dnevno / <i>mites per day</i>	Obavezan tretman hemiterapeutcima (Aitol, Amitraz, Perizin) ili organskim kiselinama (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treat- ment with chemitherapeutics (Aitol, Ami- traz, Perizin) or with organic acids (FA, OA, LA)</i>
	Jesen (društva bez legla) / <i>Autumn (colonies without brood)</i>	Dnevno otpali krpelji / <i>Daily dropped mites</i>	>20 krpelja dnevno / <i>mites per day</i>	Obavezan tretman hemiterapeutcima (Aitol, Amitraz, Perizin) ili organskim kiselinama (FA, OA, LA) / <i>Obligatory treat- ment with chemitherapeutics (Aitol, Ami- traz, Perizin) or with organic acids (FA, OA, LA)</i>

Zaključak / Conclusion

Praćenje stepena infestacije i smanjenje populacije krpelja u avgustu i septembru mravljom kiselinom ili timolom i u novembru mlečnom i oksalnom kiselinom predstavljaju „kamen temeljac” ove strategije [37, 38, 39, 40, 9, 12, 13, 14].

Mart / March		8 - 6 nedelja pre glavne paše tretman FA – organsko pčelarenje Flumetrin, Fluvalinat ili Amitraz – konvencionalno pčelarenje / 8 - 6 weeks before main pasture FA treatment – organic production Flumetrin, Fluvalinat or Amitraz – conventional production
April / April		
Maj / May		Upotreba biotehničkih mera kontrole i praćenje prirodnog mortaliteta krpelja / Use of biotechnical control measures and Monitoring of natural mortality of mites
Jun / June		
Jul / July		
August / August		2 kratka ili 1 dugi tretman FA odnosno tretman timolom približno tri nedelje organsko pčelarenje Amitraz, Flumetrin ili Fluvalinat / 2 short or 1 long treatment with FA, or treatment with timol for approximately three weeks organic production Amitraz, Flumetrin or Fluvalinat
Septembar / September		
Oktobar / October		Zimski tretman u društvima bez legla. Oksalna ili mlečna kiselina – u organskom pčelarenju Perizin ili Apitol – u konvencionalnom pčelarenju / Winter treatment in colonies without brood Oxalic or lactic acid – in organic production Perizin or Apitol – in conventional production
Novembar / November		

Slika 6. Generalna strategija /
Figure 6. General Strategy

Jedino u slučajevima velike nekontrolisane infestacije, zapuštenih pčelinjih zajednica, neminovnost je primena amitraza (Pericina ili Apitola) [41, 42, 12, 43, 44].

Literatura / References

1. Stanimirovic Z., Stevanovic J., Bajic V., Radovic I.: Evaluation of genotoxic effects of fumagillin by cytogenetic tests in vivo, Mutat. Res.: Genet. Toxicol. Environ. Mutagen., doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.09.014, 2007. - 2. Stanimirovic Z., Stevanovic J., Jovanovic M., Andjelkovic M.: Evaluation of genotoxic effects of Apitol (cymiazole hydrochloride) in vitro by measurement of sister chromatide exchange, Mutat. Res., 588, 152-157, 2005. - 3. Imdorf A., Charriere J.D., Bachofen B.: Wann ist die Oxalsäure als Varroazid geeignet? Schweizerische Bienen-Zeitung, 7, 389-391, 1995a. - 4. Imdorf A., Charriere J.D., Maquelin C., Kilchenmann V., Bachofen B.: Alternative Varroabekämpfung, Schweizeri-

sche Bienen-Zeitung, 8, 450-459, 1995b. - 5. Bogdanov S., Charriere J.D., Imdorf A., Kilchenmann V., Fluri P.: Determination of residues in honey after treatments with formic acid under field conditions, *Apidologie*, 33, 4, 399-409, 2002. - 6. Buchler R., Drescher W., Tornier I.: Grooming behavior of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata* and its effects on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*, *Exp Appl Acarol*, 16, 313-319, 1992. - 7. Buchler R.: Varroa tolerance in honey bees - occurrence, characters and breeding, *Bee World*, 75, 54-70, 1994. - 8. Dobrić Đ., Vicković D., Kulišić Z.: Bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, ISBN 86-81043-07-2, Beograd, 2000. - 9. Dobrić Đ., Stanimirović Z., Todorović D., Obrenović S., Bacić D.: Ektoparaziti i pojava virusnih infekcija—mere zaštite i suzbijanja, Zbornik plenarnih radova, I Savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Dec, pp 19-26, Beograd, 2001. - 10. Stanimirović Z., Soldatović B., Vučinić M.: Medonosna pčela-Biologija pčele, Fakultet veterinarske medicine i Medicinska knjiga-Medicinske komunikacije, Beograd, 1-375, 2000a. - 11. Stanimirović Z., Mladen V., Vučićević M., Todorović D.: Biološki potencijal higijenskog ponašanja medonosne pčele o otpornost na bolesti, II Savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, *Clinica Veterinaria* 2000, Jun 12-16, 216-220, Budva, YU, 2000b. - 12. Stanimirović Z., Dobrić Đ.: Varoza: etiologija, biološke i hemijske mere suzbijanja, In: Lazarevic M. (Ed.), Zbornik radova IV Savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, *Clinica Veterinaria* 2002, June 10-14, 105-112, Budva, YU, 2002. - 13. Stanimirović Z., Ćirković D., Đurić B., Stevanović J.: Preveniranje i kontrola američke kuge, nozemoze i varoze pčela, In: Lazarevic M. (Ed.), Zbornik radova V Savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja *Clinica Veterinaria* 2003, June 9-13, 248-253, Budva, YU, 2003c. - 14. Stanimirović Z., Stevanović J., Mladenović M., Nedić N.: Ekološka kontrola i strategija borbe protiv varoze, II Savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, Nov 22, 45-66, Beograd, YU, 2003d. - 15. Wongsiri S., Lekprayoon C., Potichot S.: Biological control of the varroa bee mite: mass rearing biological control agent by crossing the Chinese strain *Apis cerana cerana* with the Thai strain *Apis cerana indica* by artificial insemination, Proceedings of workshop on research in agricultural biotechnology 1990, Thailand, Kosetsart University and USAID, 1990. - 16. Stanimirović Z., Stevanović J.: Savremena strategija suzbijanja parazita *Varroa destructor* sa osvrtom na molekularno genetički aspekt selekcije pčela u funkciji rezistentnosti na varou, Zbornik radova, Međunarodni seminar na temu Pčelarenje za budućnost, Dec 14-15, 34-58, Niš, YU, 2002. - 17. Stanimirović Z., Pejović D., Stevanović J., Vučinić M., Mirilović M.: Investigations of hygienic behaviour and disease resistance in organic beekeeping of two honeybee ecogeographic varieties from Serbia, *Acta Vet.*, 52(2-3), 169-180, 2002. - 18. Moosbeckhofer R.: Universalverdunster, Zusammenfassung der Prüfung der Anwendung von Ameisensäure mit dem patentgeschützten "Universalverdunster", *Bienenvater*, 121, 7/8, 21-23, 2000. - 19. Mladenović M., Nedić N., Stanimirović Z., Stevanović J.: Biotehničke mere u borbi protiv varoze, U: Stanimirovic Z., (Ed.), Zbornik plenarnih radova. I Savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Nov, 38-44, Beograd, 2003. - 20. Bosca G.: Guida pratica di apicoltura con agenda lavori, Milano, 1994. - 21. Tabor K. L., Ambrose J. T.: The use of heat treatment for control of the honey bee mite, *Varroa destructor*, *Am. Bee J.*, 141, 10, 733-736, 2001. - 22. Huang Z., Mite zapper – a new and effective method for *Varroa* mite control, *Am. Bee J.*, 141, 10, 730-732, 2001. - 23. Imdorf A., Bogdanov S.: Use of essential oil for the control of *Varroa jacobsoni*, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 24. Imdorf A., Charriere J. D., Rosenkranz P.: Varroa control with formic acid, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 25. Nanetti A., Oxalic acid for mite control - results and review, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 26. Čupić V.: Lečenje varoze, U: Z. Stanimirovic (Ed.), Zbornik plenarnih radova, I savetovanje

o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Nov, 30-37, Beograd, 2003. - 27. FAO/WHO: Evaluation of certain veterinary drug residues in food: thirty-sixth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives, WHO Tech Rep Ser 799 1990 12525 (c) 982-1994. *Roy Pharm Soc G B*, 81, 1990. - 28. MAF - Ministry of Agriculture and forestry, Control of Varroa - A guide for New Zealand Beekeepers, ISBN 0-478-07958-3, Astra Print, Wellington. 2001. - 29. Stevanović J., Stanimirović Z.: Biologija pčelinjeg krpelja *Varroa destructor*, U: Z. Stanimirović (Ed.), Zbornik plenarnih radova, I Savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Nov, 1-9, Beograd, 2003. - 30. Taber S., III, Determining resistance to brood diseases, *Am. Bee J.*, 122, 422-425, 1982. - 31. Ćirković D., Stanimirović Z., Stevanović J.: Klinička slika i dijagnostika varoze, U: Z. Stanimirović (Ed.), Zbornik plenarnih radova, I savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Nov, 16-29, Beograd, 2003. - 32. Spivak M., Gilliam M., Facultative expression of hygienic behavior of honey-bees in relation to disease resistance, *J. Apic. Res.*, 32, 143-147, 1993. - 33. Stanimirović Z., Stevanović J., Mladenović M.: Selekcija i otpornost pčela na bolesti, Zbornik plenarnih radova, I savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela, 22. Dec, 8-18, Beograd, 2001a. - 34. Stanimirović Z., Stevanović J., Pejović D., Mirilović M.: Hygienic and grooming behaviour in disease resistance of two honeybee ecogeographic varieties (*Apis mellifera carnica*) from Serbia, *Mellifera* 1-2, 56-61, 2001b. - 35. Stanimirović Z., Pejović D., Stevanović J.: Hygienic behavior in disease resistance of two honeybee ecogeographic varieties (*Apis mellifera carnica*) from Serbia, XXXVII International Apiculture Congress (APIMONDIA 2001), Durban, South Africa, 2001c. - 36. Vučinić M., Radenković B., Stanimirović Z.: Higijensko ponašanje pčela kao oblik rezistencije na *Varroa jacobsoni*, II savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, *Clinica Veterinaria* 2000, Jun 12-16, 221-227, Budva, YU, 2000. - 37. Kristiansen P.: Ecological Varroa control - notes on control strategies for North Europe, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 38. Pascual M. H., Ecological Varroa control - notes on control strategies for South Europe, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 39. Ritter W., Building strategies for Varroa control, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 40. Charriere J. D., Imdorf A., Ecological Varroa control - notes on control strategies for Central Europe, FAIR CT97-3686 „Coordination in Europe of integrated control of Varroa mites in honey bee colonies”, final technical report for the period from 98-01-01 to 99-12-31, 37-42, 1999. - 41. Stanimirović Z., Stevanović J., Mladenović M.: Effects of Fumagillin to human and honeybee health, Book of abstracts, The 2nd international exhibition “INTERMIOD-2001”, Sep 14, 200-201, Moscow, Russia, 2001d. - 42. Stanimirović Z., Stevanović J., Mladenović M., Apitol – antivaroic of the first choice—yes or no? Book of abstracts, The 2nd international exhibition “INTERMIOD-2001”, Sep 14, 202-203. Moscow, Russia, 2001e. - 43. Stanimirović Z., Todorović D., Stevanović J., Mladenović M., Janković Lj., Đorđević M.: Influence of cymiazole hydrochloride on mitotic and proliferative activities of cultured human lymphocytes, *Acta Vet. (Beograd)*, 53, 1, 47-55, 2003a. - 44. Stanimirović Z., Fišter S., Stevanović J.: Analysis of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with cymiazole hydrochloride, *Acta Vet.*, Beograd, 53, 5-6, 419-425, 2003b.

ENGLISH

STRATEGY FOR ECOLOGIC CONTROL IN FIGHTING *Varroa destructor*

Z. Stanimirovic, D. Cirkovic, Ivana I. Pejin, D. Pejović

The ectoparasite *Varroa destructor* is one of the most wide-spread parasites of the honey bee, which is increasing its resistance to traditional synthetic acaricides more and more with each year. New regulations on quality of the European Union ban the presence of residue in bee products, which rules out the use of chemical means in the course of the honey harvest. The concept of ecologic control of *Varroa destructor* in honey bee colonies implies the complementary use of adequate biotechnical and biophysical measures and treatments using preparations based on etheric oils and organic acids. The combination of these treatments according to the presented strategy makes it possible to keep varroasis under control.

Key words: *Varroa destructor*, concept of ecologic control of honey bee mites

РУССКИЙ

**СТРАТЕГИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ В БОРЬБЕ ПРОТИВ
*Varroa destructor***

З. Станимирович, Д. Чиркович, Ивана И. Пеин, Д. Пейович

Эктопаразит *Varroa destructor* один из самых распространённых паразитов медоносной пчелы, который из года в год увеличивает резистентность на традиционных паразитов медоносной пчелы, который из года в год увеличивает резистентность на традиционные синтетические акарициды. Новые предписания ЕС о качестве запрещают присутствие остатков в пчелиных продуктах, что исключает употребление химических средств в течение медосбора. Черновик экологического контроля варроа клещей в пчелиных сообществах подразумевает комплексное употребление адекватных биотехнических и биофизических мер и лечения препаратами на базе эфирных масел и органических кислот. Комбинацией этих лечений по приложенной стратегии даёт возможность, что варроз держится под контролем.

Ключевые слова: *Varroa destructor*, черновик экологического контроля варроа клещей

**UPOREDNI ODNOS KONCENTRACIJE PROGESTERONA U
KRVI I POJAVE ESTRUSA KOD KRAVA******COMPARATIVE RELATIONS BETWEEN PROGESTERONE BLOOD
CONCENTRATION AND APPEARANCE OF OESTRUS IN COWS*****G. Otava, C. Mircu, H. Cernescu, Violeta Igna****

Pravovremeno otkrivanje estrusa predstavlja važan stručni postupak sa kojim se veoma često pored veterinara suočavaju i stočari, jer neotkrivanje estrusa predstavlja veliki ekonomski problem. Cilj ovog rada je da se proceni efikasnost otkrivanja estrusa krava određivanjem koncentracije progesterona (P4) u krvnoj plazmi. U ovaj ogled bile su uključene 22 životinje, od kojih su 15 krave, a 7 junice, kod kojih je otkriven spontani estrus. Koncentracija P4 je određivana ELISA testom u uzorcima krvi koja je od životinja uzimana u momentu osemenjavanja. Od 15 krava, četiri krave (26,6%) nisu osemenjene u optimalno vreme i kod njih je nivo P4 bio veći od 1 ng/ml. Sve junice su imale koncentraciju progesterona više od 1 ng/ml, i procenat koncepcije koji je bio 85 posto. Veliki nivo P4 u momentu osemenjavanja kod junica može da bude i posledica stresa izazvanog pregrupisanjem i izdvajanjem životinja. Iako su junice bile pod stresom, o čemu govore velike vrednosti progesteronemije u momentu osemenjavanja, procenat koncepcije kod njih je bio iznad očekivanja. Prema tome, određivanje vrednosti P4 u momentu osemenjavanja je pogodna metoda za poboljšanje menadžmenta reprodukcije na farmama krava. Neprikladan tretmant krava kod kojih se očekuje estrus može da prouzrokuje stres i porast vrednosti koncentracije P4 u krvi. Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu, nije uočeno negativno dejstvo stresa na rezultate osemenjavanja kod junica.

Ključne reči: krava, estrus, progesteron

* Rad primljen za štampu 10. 3. 2007. godine

** Dr Gabriel Otava, asistent, dr Mircu Calin, docent, dr Horia Cernescu, profesor, dr Violeta Igna, docent, Katedra za reprodukciju, akušerstvo i ginekologiju, Fakultet veterinarske medicine, Temišvar, Rumunija

Uvod / Introduction

Neotkrivanje estrusa krava i junica predstavlja, sa stručnog gledišta, ozbiljan problem sa kojim se često suočavaju stočari i farmeri. Netačnost i/ili neefikasnost u otkrivanju estrusa često je glavni uzrok za loše rezultate koncepcije i produženje međutelidbenog intervala kod krava [4]. Procenjuje se da oko 50 posto stočara ne koriste odgovarajući protokol u oblasti reprodukcije goveda. Rhodes [7] smatra da i pomoću dobro utvrđenih i proverenih metoda za otkrivanje estrusa, čak oko 20 posto krava se ne osemeni u optimalno vreme. Neki autori smatraju da procenat može da bude i do 30 posto plotkinja u zapatu. Metoda pomoću koje se otkrivaju plotkinje u estrusu jeste praćenje progesteronskog statusa. Metoda se zasniva na činjenici da je u proestrusu i estrusu (folikularna faza polnog ciklusa) nivo P4 niži, ali posle ovulacije, zajedno sa razvojem žutog tela, progresivno raste [3]. Za potvrđivanje estrusa na osnovu monitoringa progesteronskog statusa, korišćenjem imunoenzimske metode, smatra se da su u estrusu plotkinje kod kojih su vrednosti progesterona manje od 1 ng/ml seruma [6, 8].

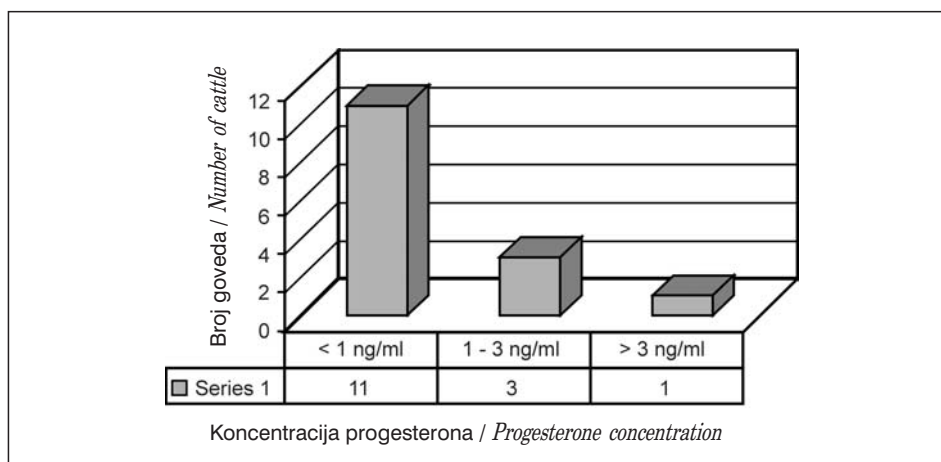
Materijal i metode rada / Materials and methods

Na jednoj farmi krava za ispitivanje su odabrana 22 grla, od kojih se 15 krava otelilo jedanput ili više puta i 7 junica. Junice su uključene u ogled u trenutku kada su ispoljavale znakove estrusa. Pronalaženje krava u estrusu (otkrivanje estrusa) obavljalo se tri puta dnevno, ujutru, u podne i uveče. Obilazak je trajao oko pola časa. Uzorci krvi za ispitivanje su uzimani u momentu kada je obavljeno osemenjavanje. Krv je uzimana iz repne vene (*v. coccigea*). Uzorci krvi su odmah centrifugovani na 3000 obrtaja/min, a dobijena krvna plazma je odmah transportovana u laboratoriju za ispitivanje. Ovaj postupak je veoma važan, jer je poznato da se progesteron brzo metaboliše u kontaktu sa eritrocitima [10].

Rezultati rada i diskusija / Results and discussion

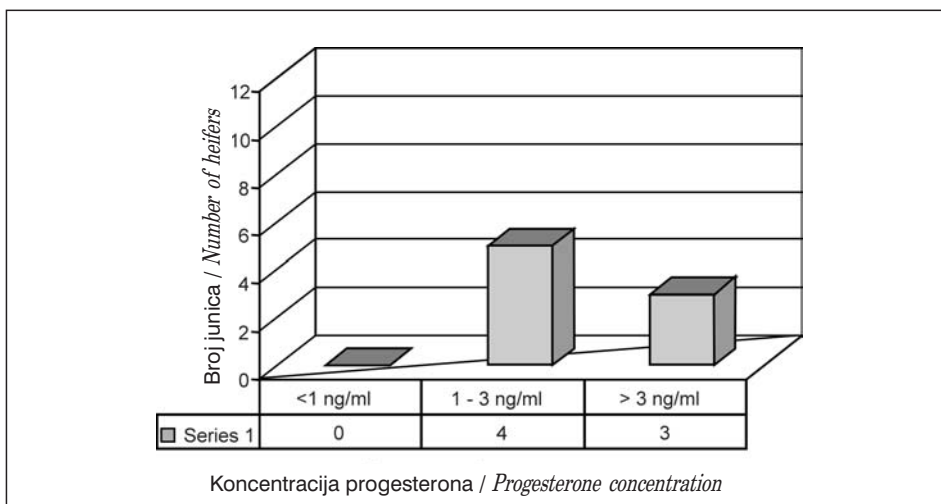
Iako u dostupnoj stručnoj literaturi ne postoje rezultati koji ukazuju na razlike u vrednostima progesterona nultog dana, između krava i junica, ipak je potrebno tumačenje i razmatranje pojedinačnih rezultata za svaku kategoriju životinja.

Kod plotkinja koje su imale vrednost progesterona više od 1 ng/ml krvne plazme nije nastala koncepcija što je znak da one nisu bile veštački osemenjene u najpovoljnijem momentu (grafikon 1). Dakle, može da se kaže da četiri od petnaest krava (26,6%) uključene u ogled nisu bile veštački osemenjene u optimalno vreme. Rezultati osemenjavanja su utvrđeni posle obavljenog rektalnog pregleda 50. do 60. dana posle veštačkog osemenjavanja.



Slika 1. Grafički prikaz vrednosti progesterona kod krava u momentu osemenjavanja
Figure 1. Graphic presentation of progesterone values in cows at time of insemination

Kod junica je takođe dosledno ispoštovan protokol kao i kod krava. Uzorci krvi za određivanje koncentracije progesterona su uzimani iz repne vene od sedam junica. Vrednosti progesterona kod ove grupe životinja su prikazane u grafikonu 2. Iz grafikona 2 se vidi da ni jedna junica nije imala vrednost progesterona nižu od 1 ng/ml, što je bila normalna vrednost kod plotkinja u estrusu.



Slika 2. Grafički prikaz vrednosti progesterona kod junica u momentu osemenjavanja /
Figure 2. Graphic presentation of progesterone values in heifers at time of insemination

Procenat koncepcije od 85 posto junica potvrđuje pretpostavku da su estrusi junica bili tačno otkriveni, a one su osemenjavane u najpovoljnije vreme, iako su vrednosti progesterona bile veće od 1 ng/l. Međutim, isključene su sve eventualne greške za vreme uzimanja uzoraka krvi, izdvajanja krvne plazme i analiza u laboratoriji. Veći nivoi P4 u momentu osemenjavanja kod junica su možda mogući zbog stresa prilikom grupisanja junica i prebacivanja u druge objekte. Zbog postojećeg sistema držanja (slobodno držanje) junice su posle identifikacije podeljene po grupama i posle prebacivanja veštački osemenjene. Zbog toga može da se smatra da je stres, izazvan naporom usled grupisanja i prebacivanja, odgovoran za visoku vrednost P4 u krvi junica u momentu veštačkog osemenjavanja.

Withe i Sheldon [11] eksperimentalno su dokazali da aplikacija ACTH uzrokuje porast nivoa P4 u krvi. Bolanos i saradnici [1] prouzrokovali su eksperimentalno stres kravama kojima su hirurškim putem odstranili jajnike, pa su zapazili veće nivoe progesterona posle 120 minuta od aplikacije ACTH. Watson i saradnici [12] oponašali su stres pomoću aplikacije različitih doza ACTH (1 µg, 10 µg, 500 µg) kod krava čiji su jajnici bili odstranjeni. Zapazili su značajan porast progesterona 15 minuta posle aplikacije ACTH. Visoka vrednost progesterona se održavala između 60. i 120. minuta kod krava koje su dobijale niže doze ACTH. Nasuprot tome, plotkinje kojima je ACTH aplikovan u dozi od 500 µg imale su višu vrednost progesterona 240 minuta posle aplikacije.

Porast nivoa P4 zahvaljujući hiperfunkciji nadbubrežnih žlezda može da prouzrokuje odlaganje ovulacije i tako omete oplodjenje, odnosno ima negativno dejstvo na nidaciju i rezultate veštačkog osemenjavanja. Ovi kratkotrajni skokovi nivoa P4 u vreme ovulacije mogu da prouzrokuju smanjenje procenta oplodjenja životinja [12].

I ako su junice iz eksperimenta bile pod stresom, dokazano pomoću velike vrednosti progesterona u momentu osemenjavanja ($x = 3,349$ ng/ml), nije se primetio negativan uticaj na procenat koncepcije. Do ovog zaključka može da se dođe poređenjem rezultata koncepcije kod junica, kod kojih je koncepcija bila 85 posto od broja osemenjenih, što je potpuno u saglasnosti i sa podacima iz literature. Imajući u vidu mali broj životinja o kojima govorimo (7 junica) potrebna su dodatna ispitivanja da bi se merodavnije dokazala prisna veza između stanja stresa u trenutku osemenjavanja, velike vrednosti progesterona i rezultata oplodjenja posle veštačkog osemenjavanja.

Zaključak / Conclusion

Određivanje koncentracije P4 u krvnoj plazmi plotkinja imunoenzimskom metodom (ELISA) predstavlja dobar postupak za utvrđivanje reproduktivnog statusa krava. Koncentracija P4 u trenutku veštačkog osemenjavanja može da bude važan postupak za poboljšanje menadžmenta reprodukcije krava na farmama. Neprimereno postupanje sa kravama, kod kojih se očekuje estrus a potom

i osemenjavanje, može da prouzrokuje stres i naravno porast vrednosti koncentracija ACTH i P4 u krvi. Rezultati našega rada ne ukazuju na negativan uticaj stresa na rezultate koncepcije posle osemenjavanja kod junica.

Literatura / References

1. Bolanos J. M., Molina J. R., Forsberg M.: Effect of blood sampling and administration of ACTH on cortisol and progesterone levels in ovariectomized zebu cows (*Bos indicus*). *Acta Vet Scand.*, 38, 1, 1-7, 1997. - 2. Nebel R. L.: On-farm milk progesterone tests. *J Dairy Sci.* Jun, 71, 6, 1682-1690, 1988. - 3. O'Connor M.: Heat detection and timing of service. Penn State College of Agricultural Science Research. 1993. - 4. O'Connor M.: Milk progesterone analysis for determining reproductive status. *DAS 5 Dairy cattle* (replaces 98-3, 91-3, 92-3) 1998. - 5. Păcală N., Corin N., Bencsik I., Dronca D., Carabă V.: *Biotehnologia transferului de embrioni la vacă*. Ed. Marineasa Timisoara 2003. - 6. Pritchard J. Y., Schrick F. N., Inskeep E. K.: Relationship of pregnancy rate to peripheral concentration of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology* 32, 548-551, 1994. - 7. Rhodes R. C.: Use for milk progesterone assay for reproductive management. *Dairy integrated reproductive management IRM-9*. - 8. Ricoy E. F., Acua C., Rincon R. M., Cortes D. F., Bauelos-Valenzuela R., Arechiga C. F.: True estrus determination through evaluation of serum-progesterone levels at the time of insemination of dairy cows from semi-intensive dairies in north-central Mexico. *J. Anim. Sci.* 79, Suppl.1, 228, 2000. - 9. Shearer J. K.: The milk progesterone test and its application in dairy cattle reproduction. *Dairy Production Guide*. Fact Sheet DS 60 sept. 1992. - 10. Sousa N. M., El Amiri B., Sulon J., Beckers J. F.: Dosages réalisables pour le diagnostic de la gestation. *SFB-Paris*, 29, 30, 31 Oct. p. 137. 2002. - 11. Withe M., Sheldon M.: Accuracy of estrus detection in cattle in Northern Ireland. *Irish Veterinary Journal* Vol. 54(6) 287-288 June 2001. - 12. Watson E. D., Munro C. D.: Adrenal progesterone production in the cow. *British Veterinary Journal*. 140. 300-306, 1984.

ENGLISH

COMPARATIVE RELATIONS BETWEEN PROGESTERONE BLOOD CONCENTRATION AND APPEARANCE OF OESTRUS IN COWS

G. Otava, C. Mircu, H. Cernescu, Violeta Igna

The timely detection of oestrus presents an important professional procedure with which cattle farmers, in addition to veterinarians, are very often faced, because failure to detect oestrus poses a big economic problem. The objective of this work is to evaluate the efficacy of discovering oestrus in cows by determining the progesterone concentration (P4) in blood plasma. This experiment covered 22 animals, including 15 cows and 7 heifers, in which spontaneous oestrus was discovered. P4 concentration was determined using the ELISA test in samples of blood taken from the animals at the moment of insemination. Of the 15 cows, four cows (26.6%) were not inseminated at the optimal time, and the P4 level in these animals was higher than 1 ng/ml. All the heifers showed a progesterone concentration of over 1 ng/ml, and a percentage of conception which was 85%. The high P4 level in heifers at the moment of insemination could also be a consequence of stress caused by the regrouping and separating of the animals. Even though the heifers were under stress, which is indicated by the high progesteronemia values at the moment of insemination.

nation, the percentage of conception among them was beyond expectations. Therefore, the determination of P4 values at the moment of insemination is a suitable method for improving reproduction management on cattle farms. Inappropriate treatment of cows which are expected to show oestrus can cause stress and an increase in the values of the blood concentration of P4. On the grounds of the results obtained in this work, no negative influence of stress on the insemination results in heifers was observed.

Key words: cow, oestrus, progesterone

РУССКИЙ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОТНОШЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРОГЕСТЕРОНА В КРОВИ И ЯВЛЕНИЯ ЭСТРУСА У КОРОВ

G. Otava, C. Mircu, H. Cernescu, Violeta Igna

Своевременное открытие эструса представляет собой важный специальный поступок с которым очень часто возле ветеринаров дают очную ставку и животноводы, ибо неоткрытие эструса представляет собой большую экономическую проблему. Цель этой работы оценить эффективность открытия эструса коров определением концентрации прогестерона (114) в кровяной плазме. В этот опыт были включены 22 животного, из которых 15 коровы, а 7 тёлки у которых открыт спонтанный эструс. Концентрация P_4 определена *ELISA* тестом в образчиках крови, которая от животных брана в моменте осеменения. Из 15 коров, четыре коровы (26,6%) не осеменены в оптимальное время и у них уровень P_4 был бóльший от 1 нг/мл. Все телки имели концентрацию прогестерона бóльшую от 1 нг/мл, и процент концепции, который был 85 процентно. Большой уровень P_4 в моменте осеменения у тёлочек может быть и последствие стресса, вызванного перегруппированием и выделением животных. Хотя тёлки были под стрессом, о чём говорят большие стоимости прогестерона в моменте осеменения, процент концепции у них был сверх ожидания. Согласно этому, определение стоимости P_4 в моменте осеменения подходящий метод для улучшения менеджмента репродукции на фермах коров. Непригодное лечение коров у которых ожидается эструс может причинить стресс и рост стоимости концентрации P_4 в крови. На основе результатов, полученных в этой работе, не замечено отрицательное действие стресса на результаты осеменения у тёлочек.

Ключевые слова: корова, эструс, прогестерон

PHAGOCYTOSIS IN *Staphylococcus aureus* BACTERIAEMIA IN DOGS*

FAGOCITOZA KOD *Staphylococcus aureus* BAKTERIJE MIJE KOD PASA

Ts. Chaprazov, I. Borissov, E. Slavov, P. Dzhelebov**

Staphylococcus aureus is the leading pathogenic cause of nosocomial infections, especially in bacteraemia and sepsis. Phagocytosis is known to be an essential factor of innate immunity. The aim of this study was to evaluate phagocytic activity of leucocytes in experimental bacteraemia.

Bacteraemia was induced in six adult male mongrel dogs (experimental group) by intravenous injection of *Staphylococcus aureus* isolate (1.2×10^9 cells/ml). Phagocytic activity was evaluated before infection (0 h.), and on the 2nd, 6th, 24th, 48th hour, and on the 7th, 14th and 21st day after infection. Six control animals were tested in the same dynamics. Phagocytic activity was evaluated by using the Nitroterazolium blue reduction (NBT) test, and the immune fluorescence method (Samnalliev et al., 1995) for detection of phagocytic index and percentage of phagocytizing leucocytes (FITC marked *Staphylococcus aureus* were used).

Percentage of phagocytizing leucocytes showed an increase in experimental animals, compared to control animals, on the 24th h.

Production of reactive oxygen species, evaluated by NBT, showed changes within experimental group as follows: an increase on the 24th h. compared to the 2nd h., 6th h., and the 14th day after infection; and an increase on 48th h., compared to the 2nd h. and 14th day.

Comparison of reactive oxygen species production between groups, revealed an increase in the experimental group, as compared to the control group, on the 24th h. and on the 48th h.

* Rad primljen za štampu 18. 6. 2007. godine

** Tsvetan Chaprazov, Ivan Borissov, Department of Veterinary Surgery; Evgeni Slavov, Petco Dzhelebov, Department of General and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

In conclusion cell elements of innate immunity are mostly activated on the first two days after inducing Staphylococcus aureus bacteraemia in dogs.

Key words: Staphylococcus aureus, experimental bacteraemia, phagocytosis, dog

Introduction / Uvod

Staphylococcus aureus is the leading pathogenic cause of nosocomial infections, especially in bacteraemia and sepsis. Factors of innate resistance of the organism play a major role in pathogenesis of staphylococcal infection [5]. Phagocytosis is an essential factor of innate immunity [19]. Phagocytes play an important role in mechanism of immune response by means of cytokine production and antigen destruction by enzymes and cytotoxic components [2, 22]. Release of exotoxins by gram positive bacteria, most of which are superantigens i.d. stimulate T-cells, leads to differences in cell response in relatively low levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and interleukin-6 (IL-6) and high levels of interleukin-8 (IL-8) [4, 24, 30]. Gram positive bacteria have immunogenic elements on their surface- lipoteichoic acid and peptidoglycans [24, 30]. Monocytes contacting these molecules start producing proinflammatory cytokines [25]. Macrophages, together with monocytes, play an important role in the defense against staphylococcal infection. Some proinflammatory mediators activate macrophages to produce intracellular oxide radicals [18]. Engulfment and destruction of microorganisms, a process known as phagocytosis, is based on the production of oxide radicals, other cytotoxic products or lysosomal components [23, 16].

The ability of phagocytes to kill bacteria is decisive, because such a defense is not specific and does not depend on initial counteraction between micro and macroorganism [7]. Gram negative microorganisms can be neutralized in intercellular space by complement and antibodies [26], while gram positive microorganisms are submitted to intracellular killing by neutrophils and macrophages [31]. During bacterial infections phagocytic activity has been reported either increased or decreased depending on the kind of infection, the used techniques and the parameters detected.

The aim of the conducted study, was to evaluate changes in phagocytic activity of neutrophils during staphylococcal infection, experimentally induced by intravenous injection (v. jugularis) of bacterial culture (1.2×10^9 cells/ml) after 24 hours' growth.

Material and methods / Materijal i metode rada

Experimental animals / Eksperimentalne životinje

We used 12 healthy, mature, mongrel dogs, 6-7 years of age, weighing 16 ± 2 kg. The dogs were placed in individual cages of 1.5 m², and 1.8 m. height. Each dog was fed individually and had free access to water. During the experiment the animals were fed a standard maintenance diet for adult dogs „Canil”-21% (Sosil Guyomarc, H, Sao Paolo, Brasil), as recommended by the producer.

In the adapting period, which lasted one week, the dogs were treated against parasites with Prazimec – D (Biovet Co, Peshtera, Bulgaria) (containing praziquantel and abamectinum) at a dose of 1 tab./10 kg. Also, they were treated against ectoparasites with Tapilan (Dorvet, Israel).

Experimental design / Eksperimentalni postupak

Experimental infection was induced by intravenous injection (v.jugularis) of 5ml of bacterial culture of *Staphylococcus aureus* (1.2×10^9 cells/ml) after 24 hours growth. A terrain strain was used. Identification of strain was done by "Sceptor - Becton Dickinson Diagnostic" system, in the department of "Hygiene, Microbiology, Infectious diseases and Epidemiology", Faculty of Medicine, Thrakia University, Stara Zagora. Colonies had typical morphology of staphylococci (2-5 mm).

Parameters of innate immunity / Parametri urođenog imuniteta

During the experiment the following parameters were detected:

Phagocytic activity of neutrophils-evaluated by their ability to produce oxide radicals using microscopic slide histochemic nitroblue tetrazolium chloride reduction (NBT) test.

Phagocytic index and percentage of phagocytizing leucocytes: evaluated by the immune fluorescence method (Samnaliev *et al.*, 1995-FITC marked *Staphylococcus aureus* were used).

Experimental animals were tested in the following dynamics: before infection (0h.), and on the 2nd, 6th, 24th, 48th hour and on the 7th, 14th and 21st day after that. Animals from the control group were tested in the same dynamics.

Statistical analysis / Statistička analiza

Results are presented as means $\pm$ SE and were statistically processed by one-way ANOVA (StatMost, version 2.5), provided by DataMost corporation. Differences were considered statistically significant at the $p < 0.05$ level.

Results / Rezultati

Three parameters of innate immunity showed no statistically significant changes in animals of the control group (Fig. 1 and Fig. 2).

After inducing staphylococcal infection, comparison of phagocytic index between experimental and control group in dynamics, showed no statistically significant differences. The phagocytic index also did not change in infected animals within the period of experiment.

In the experimental group the percentage of phagocytizing neutrophils was significantly higher on the 2nd hour, 6th hour, 24th hour and 21st day compared to the 14th day as follows: $40.75 \pm 2.75 > 21.47 \pm 6.25$, $p < 0.01$; $36.45 \pm 3.46 > 21.47 \pm 6.25$, $p < 0.05$; $35.18 \pm 10.41 > 21.47 \pm 6.25$, $p < 0.05$; $31.64 \pm 6.1 > 21.47 \pm 6.25$, $p < 0.05$ (Fig. 1).

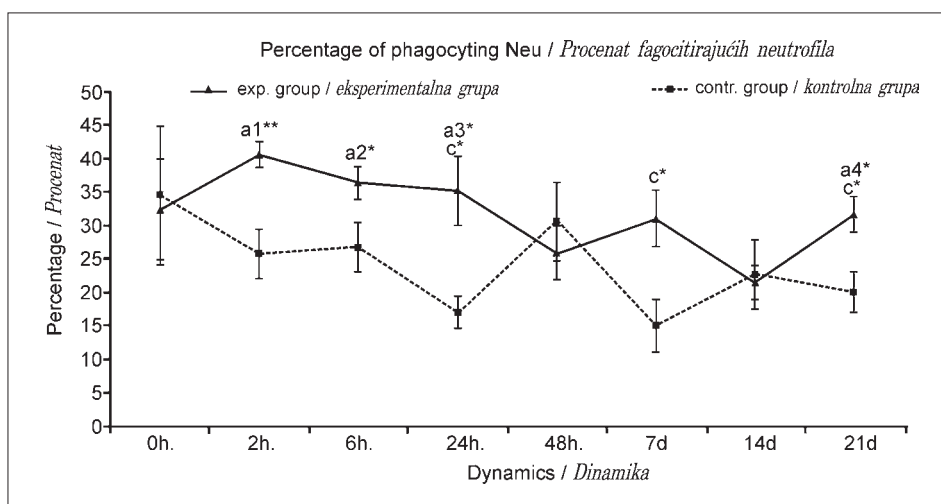


Figure 1. Percentage of phagocytizing neutrophils in dogs ($n=6$) with experimental *S. aureus* bacteraemia, within 21 days lasting period ($\bar{x} \pm S\bar{x}$). Statistically significant changes are shown as follows: a1 – within experimental group (14 d./2h.); a2 – within experimental group (14 d./6h.); a3 – within experimental group (14 d./24h.); a4 – within experimental group (14 d./21 d.); c – in experimental group as compared to control group. ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.05$

Slika 1. Procenat fagocitirajućih neutrofila kod pasa ($n=6$) sa eksperimentalnom *S.aureus* bakterijemijom tokom perioda od 21 dana ($\bar{x} \pm S\bar{x}$). Statistički značajne promene su prikazane na sledeći način: a1 – unutar eksperimentalne grupe (14. d./2. sata); a2 – unutar eksperimentalne grupe (14. d./6. sata); a3 – unutar eksperimentalne grupe (14. d./24. sata); a4 – unutar eksperimentalne grupe (14. d./21. dana); c – u eksperimentalnoj grupi u poredjenju sa kontrolnom grupom. ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.05$

The comparison of the percentage of phagocytosing neutrophils between two groups in the dynamics, revealed an increase in the experimental group compared to the control group on the 24th hour - $35.18 \pm 10.4 > 17 \pm 4.8$, $p < 0.05$. Trend was similar on the 7th day (31.1 ± 10.41 in the experimental group and 14.98 ± 9.71 in the controls, $p < 0.05$) and on the 21st day (31.64 ± 6.1 as compared to 19.98 ± 6.75 in control animals, $p < 0.05$) (Fig. 1).

When evaluating production of reactive oxygen species of neutrophils by the NBT-test in the dynamics in the experimental group we found a statistically significant increase on the 24th hour compared to the 2nd hour - $52.75 \pm 4.57 > 23 \pm 6.98$, $p < 0.001$ (Fig. 2). Similar changes occur on the 24th hour as compared to the 6th hour (35.5 ± 13.9 , $p < 0.05$) and the 14th day (29.2 ± 11.21 , $p < 0.01$). Values were also higher on the 48th hour (56.6 ± 19.28) as compared to the 2nd hour (23 ± 6.98 , $p < 0.05$), and the 14th day (29.2 ± 11.21 , $p < 0.05$).

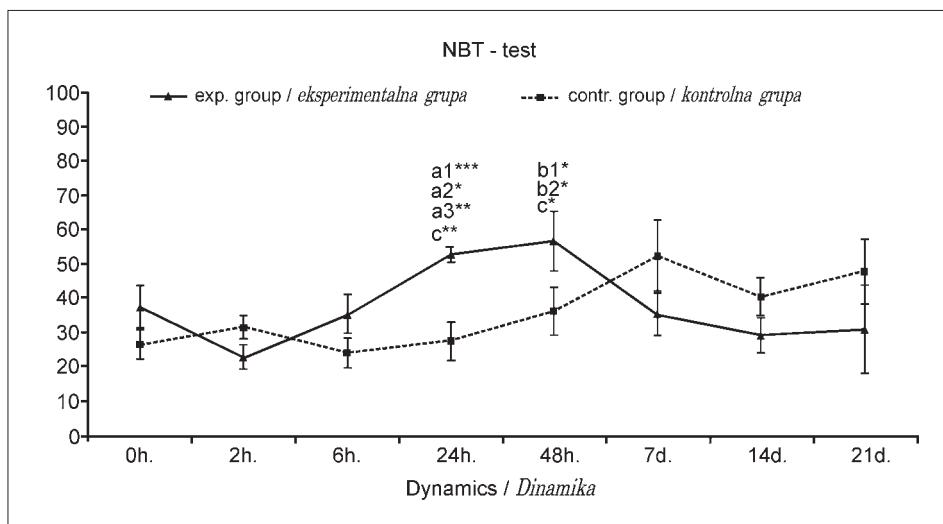


Figure 2. Production of reactive oxygen species of neutrophils, measured by NBT-test in dogs ($n=6$) with experimental *S. aureus* bacteraemia, within 21 days lasting period ($\bar{x} \pm Sx$). Statistically significant changes are shown as follows: a1 – within experimental group (24h./2h.); a2 – within experimental group (24h./6h.); a3 – within experimental group (24h./14d.); b1 – within experimental group (48h./2h.); b2 – within experimental group (48h./14d.); c – in experimental group as compared to control group; *** - $p < 0.001$; ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.05$

Slika 2. Proizvodnja reaktivnih vrsta kiseonika neutrofila merenih NBT testom kod pasa ($n=6$) sa eksperimentalnom *S.aureus* bakterijemijom tokom perioda od 21 dan ($\bar{x} \pm Sx$). Statistički značajne promene su prikazane na sledeći način: a1 – unutar eksperimentalne grupe (24. sata/2. sata); a2 – unutar eksperimentalne grupe (24. sata/6. sata); a3 – unutar eksperimentalne grupe (24. sata/14. dana); b1 – unutar eksperimentalne grupe (48. sata/2. sata); b2 – unutar eksperimentalne grupe (48. sata/14. dana); c – u eksperimentalnoj grupi u poredjenju sa kontrolnom grupom; *** - $p < 0.001$; ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.05$

Comparing both groups in dynamics, we found higher reactive oxygen species production of neutrophils in the experimental group (Fig. 2). Values were higher as compared to the controls on the 24th hour ($52.75 \pm 4.57 > 27.5 \pm 11$, $p < 0.01$), and on the 48th hour ($56.6 \pm 19.28 > 30.25 \pm 9.14$, $p < 0.05$).

Discussion / Diskusija

Experimental infection in dogs, caused by intravenous application of a terrain strain of *Staphylococcus aureus*, is characterized by some changes in phagocytic activity of neutrophils. Cell elements of innate immunity are activated in the early stages of infection. This suggests rapid neutralizing of microorganisms.

Bacteremia and sepsis are often accompanied by the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). In such cases macrophages produce a large number of pro-inflammatory mediators, which leads to the so called „inflammatory cytokine storm“ [13]. Dysbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory mediators may lead to an exceedingly strong inflammatory response, followed by immunosuppression, apoptosis and organ dysfunction. Neutrophils show changes in phagocytic activity [14] with high levels of neutrophil sequestration and reduction of their count [12, 28].

Cell elements of innate immunity, including neutrophils, have the ability to „recognize“ bacterial cell components. Recognition can be direct or indirect by means of complement and antibodies bound to bacterial surface [31]. As a result opsonisation occurs, which makes easier lysis of bacteria by phagocytes [24]. In gram positive microorganisms these functions are done by lipoteichoic acid (LTA), peptidoglycans (PGNs), free and bound proteins (protein A, hemolysins and phenol soluble modulin) [15, 10].

LTA and PGNs cause release of NO, IL-1, IL-6 and TNF- α by monocytes and macrophages and activation of oxidative burst in vitro [32, 17].

In humans some changes in cell-mediated immunity during sepsis have been observed [1] - decrease in T-lymphocytes count, higher phagocytic activity of monocytes and macrophages and higher (over 50%) values of NBT-test, which is controversial to the above-mentioned hypothesis.

Phagocytosis is mostly activated in experimental staphylococcal infection in dogs within the 24th – 48th hour after infection [3]. This was also proved in the conditions of our experiment, where *Staphylococcus aureus* was induced intravenously.

After a subcutaneous injection of 5 ml bacterial suspension of *Staphylococcus aureus* 24 hours after of growth, Dimitrova *et al.*, 2003, have observed a statistically significant increase of percentage of phagocytizing leucocytes up to 29.33 ± 0.42 , as compared to initial levels 27.00 ± 0.52 . Changes in phagocytic in-

dex are similar- 24 hours after inducing of infection values increase and are higher up to the end of the experimental period (1.85 ± 0.05 on 8th day).

Although pro-inflammatory components and mediators stimulate phagocytosis (by increasing the number of engulfed bacteria and activating ROS production) and bactericide activity of blood [6], in severe infections and intoxications phagocytosis may be suppressed [Krukowski & Smith, 1983]. It is possible that *Staphylococcus aureus* uses the inflammatory response to reach certain structures of polymorphonuclear leucocytes, where it is protected from opsonisation and lysis [11].

Conclusion / Zaključak

Experimental *Staphylococcus aureus* bacteriemia (in non lethal doses) leads to activation of cell elements of innate immunity mostly in the first two days after inducing the infection, characterized by an increase in percentage of phagocytosing neutrophils and a higher production of oxide radicals, although it is known that *Staphylococcus aureus* interacts with polymorphonuclear leucocytes, which prevents opsonisation and lysis.

References / Literatura

1. Dikov I., Markova B.: Sepsis. Znanie, St. Zagora, 68-70, 2000. - 2. Petrov N., Kržin E. Abraševa M.: SIRS, Sepsis, Septičen šok, Akos, Sofija, 23-24, 2003. - 3. Andonova M., Borissov I., Dimitrova D.: Experimental Staphylococcal infection in dogs and its effects upon the functional activity of phagocytes. First International conference „Bacterial, Viral and Parasitic infections in human and veterinary medicine”, Varna, 2002. - 4. Bone R. C.: Gram-positive organisms and sepsis. Arch. Intern. Med., 154, 26-34, 1994. - 5. Ceron J., Eckersall P., Martinez-Subiela S.: Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet Clin Pathol., 34, 2, 85-99, 2005. - 6. Czygier M., Mroczko B., Olszanska D., Dakowicz L., Szmitkowski M., Kemon H.: Phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus* by mouse granulocytes after interleukin-3 (IL-3) injection. Med. Dosw. Mikrobiol., 50, 3-4, 141-149, 1998. - 7. DeLeo F.: Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens. Apoptosis, 9, 4, 399-413, 2004. - 8. Dimitrova D., Borissov I., Andonova M., Pashov D., Dimitrov D., Sotirova P., Koleva M.: Studies of the Therapevtic Effect of Cloxacillin in Dogs with Experimental Staphylococcal Infection. Bulg J of Agricultural Science, 8, 103-110, 2002. - 9. Dimitrova D., Andonova M., Borissov I., Pashov D., Dimitrov D., Sotirova P., Dimitrov D., Koleva M.: Studies of the Therapevtic Effect of Flucloxacillin in Dogs with Experimental Staphylococcal Infection in the skin and soft tissues. Trakia Journal of Sciences, 1, 1, 53-60, 2003. - 10. Fournier B., Philpott D.: Recognition of *Staphylococcus aureus* by the Innate Immune System. Clin Microbiology Reviews, 18, 3, 521-540, 2005. - 11. Gresham H., Lowrance J., Caver T., Wilson B., Cheung A., Lindberg F.: Survival of *Staphylococcus aureus* Inside Neutrophils Contributesw to Infection. J of Immun., 164, 3713-3722, 2000. - 12. Guo R., Riedemann N., Bernacki K., *et al.*: Neutrophil C5a receptor and the outcome in a rat model of sepsis. FASEB J, 1, 1, 2003. - 13. Guo R., Ward P.: C5a, a Therapeutic Target in Sepsis. Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery, 1, 57-65, 2006. - 14. Huber-Lang M., Younkin E., Sarma J., *et al.*: Complementinduced impairment of innate immunity during sepsis. J Immunol, 169, 3223-3231, 2002. - 15. Hunt C., Nauseef

W., Weiss J.: Effect of D-Alanylation of (Lipo) Teichoic Acid of *Staphylococcus aureus* on Host Secretory Phospholipase A2 Action before and after Phagocytosis by Human Neutrophils. *J Immunol*, 176, 4987-4994, 2006. - 16. Jones S., Lindberg F., Brown E.: Phagocytosis. In: Paul WF, ed. *Fundamental Immunology*. New York: Lippincott-Raven, 97-1020, 1999. - 17. Keller R., Fischer W., Keist R., Bassetti S.: Macrophage response to bacteria: induction of marked secretory and cellular activities by lipoteichoic acids. *Infect. Immun*, 60, 3664-3672, 1992. - 18. Kobayashi S., Voyich J., DeLeo F.: Regulation of the neutrophil-mediated inflammatory response to infection. *Microbes Infect*, 5, 1337-1344, 2003. - 19. Krause K.: Professional phagocytes: predator and prey of microorganisms. *Schweiz Med Wochenschr*, 130, 4, 97-100, 2000. - 20. Krukowski Z., Smith G.: A unifying of polymorphonuclear neutrophil function in acute bacterial infection. *World J of Surgery*, 7, 3, 424-429, 1983. - 21. Matot I., Sprung C.: Definition of sepsis. *Intens Care Med*, 343, 83-88, 2001. - 22. Medzhitov R., Janeway C.: Innate Immunity. *NEJM*, 343, 338-344, 2000. - 23. Nauseef W., Clark R.: Granulocytes. In: Mandell GI, Bennett JE, Dolin R, eds. *Basic Principles in the Diagnosis and Management of Infectious disease*. New York: Churchill Livingstone, 89-112, 2000. - 24. Opal M., Cohen J.: Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? *Crit. Care Med.*, 27, 1608-1616, 1999. - 25. Opal S., Cross A., Bhattacharjee A., Visvanathan K., Zabriskie J.: Immunoprophylaxis Against Bacterial Sepsis. *Sepsis*, 3, 225-234, 1999. - 26. Pieters J.: Evasion of host cell defense mechanisms by pathogenic bacteria. *Curr. Opin. Immunol.*, 13, 37-44, 2001. - 27. Samnaliev M., Mladenov K., Draskova T., Samnalieva T., Padevsky P., Radinov A.: Development and clinical assesment of some nonspecific factors of immunity. *Proceedings of the First National Congress of Immunology*, Sofia, Bulgaria: 1-3 November, 1995, 135-137, 1995. - 28. Seely A., Naud J., Campisi G., *et al.*: Alteration of chemoattractant receptor expression regulates human neutrophil chemotaxis in vivo. *Ann Surg*, 235, 550-555, 2002. - 29. Shearer D.: An investigation of fagocytosis and intracellular killing of *Staphylococcus intermedius* by canine neutrophils in vitro. *Vet Immunol Immunopathol*, 58, 219-230, 1997. - 30. Srisikandan S., Cohen J.: Gram-positive sepsis. Mechanisms and differences from gram-negative sepsis. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 13, 397-412, 1999. - 31. Van Amersfoort E., Van Berkel T., Kuiper J.: Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 16, 3, 379-414, 2003. - 32. Wang E., Jorgensen P., Almlof M., Thiernemann C., Foster S., Aasen A., Solberg R.: Peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induce tumor necrosis factor alpha, interleukin 6 (IL-6), and IL-10 production in both T cells and monocytes in a human whole blood model. *Infect. Immun.*; 68, 3965-3970, 2000.

SRPSKI

FAGOCITOZA KOD *Staphylococcus aureus* BAKTERIJEMIJE KOD PASA

Ts. Čaprazov, I. Borisov, E. Slavov, P. Dželebov

Staphylococcus aureus je vodeći patogeni uzročnik nozokomijalnih infekcija, a posebno kod bakterijemije i sepse. Zna se da je fagocitoza bitan faktor urođenog imuniteta. Cilj ovih istraživanja bio je da se obavi procena fagocitne aktivnosti leukocita kod eksperimentalne bakterijemije.

Bakterijemija je izazvana kod šest odraslih pasa mešanaca, mužjaka, (eksperimentalna grupa) putem intravenske injekcije izolata *Staphylococcus aureus* (1.2×10^9 ćelija/ml). Fagocitna aktivnost je procenjena pre infekcije (0 sat), 2, 6, 24. i 48. sata, i 7, 14. i 21. dana posle infekcije. Šest kontrolnih životinja je ispitano istom dinamikom. Fagocitna

aktivnost je procenjena koristeći test nitrotetrazolium plave redukcije (NBT test), a metoda imune fluorescencije (Samnaliev i sar, 1995) korišćen je za detekciju fagocitnog indeksa i procenata leukocita koji fagocituju (korišćeni su *Staphylococcus aureus* obeleženi FITC-om).

Procenat fagocitirajućih leukocita pokazao je povećanje 24. sata kod eksperimentalnih životinja u poredjenju sa kontrolnim životinjama.

Proizvodnja reaktivnih vrsta kiseonika procenjena korišćenjem NBT testa pokazala je sledeće promene unutar eksperimentalne grupe: povećanje 24. sata u poredjenju sa rezultatima 2. i 6. sata i 14. dana posle inficiranja; kao i povećanje 48. sata u poredjenju sa rezultatima 2. sata i 14. dana. Poređenje proizvodnje reaktivnih vrsta kiseonika između grupa pokazalo je povećanje u eksperimentalnoj grupi u poređenju sa kontrolnom grupom 24. sata i 48. sata posle inficiranja.

Može da se zaključi da se ćelijski elementi urođenog imuniteta aktiviraju uglavnom tokom prva dva dana nakon izazivanja bakterijemiju sa *Staphylococcus aureus* u pasa.

Ključne reči: *Staphylococcus aureus*, eksperimentalna bakterijemija, fagocitoza, pas

РУССКИЙ

ФАГОЦИТОЗ У *Staphylococcus aureus* БАКТЕРИЕМИИ У СОБАК

Ts. Čaprazov, I. Borisov, E. Slavov, P. Dželebov

Staphylococcus aureus ведущий патогенный возбудитель нозокомиальных инфекций, а отдельно у бактериемии и сепсиса. Известно, что фагоцитоз существенный фактор врождённого иммунитета. Цель этих исследований была совершить оценку фагоцитарной активности лейкоцитов у экспериментальной бактериемии.

Бактериемия вызвана у шести взрослых собак емтисов, самцов, (экспериментальная группа) путём внутривенной инъекции изолята *Staphylococcus aureus* ($1,2 \times 10^9$ клеток/мл). Фагоцитарная активность оценена до инфекции (0 час), 2, 6, 24 и 48 часов и 7, 14 и 21 день после инфекции. Шесть контрольных животных испытано нами тот же самой динамикой. Фагоцитарная активность оценена, пользуя нитротетразолиум синей редукции (НБТ тест), а метод иммунной флуоресценции (Самналиев и сотр., 1995) пользован для детекции фагоцитарного индекса и процента лейкоцитов, фагоцитирующие (пользованы *Staphylococcus aureus* ФИТЦ-ом).

Процент фагоцитирующих лейкоцитов показал увеличение 24 часа у экспериментальных животных в сравнении с контрольными животными.

Производство реактивных видов кислорода оценено использованием НБТ теста показало следующие изменения внутри экспериментальной группы: увеличение 24 часа в сравнении с результатами 2 и 6 часов и 14 дней после инфицирования; словно и увеличение 48 часов в сравнении с результатами 2 часа и 14 дней. Сравнение производства реактивных видов кислорода среди групп показало увеличение в экспериментальной группе в сравнении с контрольной группой 24 часа 48 часов после инфицирования.

Можно сделать вывод, что клеточные элементы врождённого иммунитета активируются главным образом в течение первых двух дней после вызывания бактериемии с *Staphylococcus aureus* у собак.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, экспериментальная бактериемия, фагоцитоз, собака

KOI HERPESVIRUSNO OBOLJENJE ŠARANA* *KOI HERPESVIRUS DISEASE IN CARP*

Svetlana Jeremić, V. Radosavljević**

Oboljenje koi šarana (*Cyprinus carpio koi*) i običnog šarana (*Cyprinus carpio carpio*), izazvano herpes virusom, praćeno visokim mortalitetom, od 1998. godine je zahvatilo mnoge ribnjake širom sveta, izazivajući masovna uginuća i značajne finansijske gubitke. Virus nalik herpes virusima, nazvan koi herpesvirus (KHV) izolovan je i identifikovan iz koi i običnog šarana tokom pojavljivanja masovnih uginuća. Prva pojava bolesti sa visokim mortalitetom običnog i koi šarana izazvana koi herpesvirusom (KHV) opisana je 1998. godine u Izraelu i SAD. Od tada je potvrđen veći broj slučajeva izbijanja ovog oboljenja širom sveta, uključujući SAD, Izrael i veliki broj evropskih zemalja. Uginuća su se javljala sezonski, krajem proleća i početkom jeseni, kada je temperatura vode od 18 do 28°C. Najznačajniji faktor spoljašnje sredine koji utiče na pojavu i težinu bolesti je temperatura vode. Trenutno se ovo oboljenje smatra jednim od činilaca koji predstavlja najveću opasnost za populacije običnog i koi šarana. Obolele ribe su dezorijentisane, nekoordinisanih pokreta, ubrzanog disanja, otečenih škrga i sa lokalnim kožnim lezijama. Virus je izolovan iz tkiva obolelih riba i kultivisan na KF-1 (koi fin cells) ćelijskoj liniji. Elektronskom mikroskopijom su uočene virusne čestice identične virusima iz familije Herpesviridae. Analizom polipeptida viriona i DNK utvrđene su razlike između KHV i ranije poznatih herpes virusa ciprinida, Herpesvirus cyprini (CHV) i virusa kanal-skog somića (Channel catfish virus – CCV).

U 2004. i 2005. godini utvrđen je visok mortalitet jednogodišnje i dvogodišnje mlađi šarana na tri ribnjaka. Na dva ribnjaka uginuće se javljalo kod jednogodišnje i dvogodišnje mlađi šarana u prolećnom periodu, kada je temperatura vode bila viša od 18°C. U jesenjem periodu javilo se uginuće jednogodišnje mlađi šarana pri temperaturi vode višoj od 23°C.

* Rad primljen za štampu 18. 4. 2007. godine

** Dr sci. Svetlana Jeremić, naučni savetnik, mr Vladimir Radosavljević, istraživač saradnik, Odeljenje za epizootologiju i zdravstvenu zaštitu riba, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

Na osnovu utvrđenih patomorfoloških promena i visokog mortaliteta u periodu godine kada je temperatura bila viša od 18°C, sumnja se da je KHV prisutan i na ribnjacima u Srbiji, iako virus nije izolovan.

Cilj ovog rada je da ukratko prikaže relevantne podatke o ovom oboljenju koje nanosi značajne gubitke proizvodnji šarana, trenutnu rasprostranjenost oboljenja, dijagnostičke metode i mogućnosti prevencije i kontrole KHV.

Cljučne reči: šaran, koi šaran, herpes virus, koi herpesvirus

Uvod / Introduction

Koi herpes virus (KHV) je uzročnik akutnog oboljenja sa visokim mortalitetom kod svih starosnih kategorija šarana i koi šarana. Prva pojava bolesti je zapažena kod koi šarana još 1996. godine, ali prva značajna izbijanja zaraze su opisana na uzgajalištima šarana i koi šarana u Izraelu 1998. godine. Virus sličan herpes virusima, kasnije nazvan koi herpesvirus (KHV) prvi put je izolovan u SAD 1998. godine nakon izbijanja bolesti kod koi i običnog šarana u Izraelu i SAD [6].

Oboljenje je rasprostranjeno po čitavom svetu, od evropskih zemalja (Belgija, Velika Britanija, Holandija, Nemačka, Austrija, Švajcarska, Italija i Luksemburg), preko Južne Afrike, do Izraela, Indonezije i Japana. Još uvek nema potvrđenih slučajeva u istočnoj Evropi, gde ova bolest i ne podleže obavezi prijavljivanja. Iako do sada nije potvrđeno izbijanje bolesti u Srbiji, to ne znači da su naše populacije riba „slobodne” od koi herpesvirusa. Ubrzano širenje KHV je pre svega vezano za trgovinu ribama. Jedna od preventivnih mera za sprečavanje širenja patogena je kontrola riba pre transportovanja i na samom ribnjaku.

Infekcija izazvana koi herpesvirusom je veoma kontagiozna i izaziva visok mortalitet kod svih kategorija šarana (*Cyprinus carpio carpio*) i njegovog varijeteta koi šarana (*Cyprinus carpio koi*). Šaran (*Cyprinus carpio carpio*) je vrsta koja se, za ishranu ljudi, gaji širom sveta. Godišnja proizvodnja je oko 1,5 miliona tona, pri čemu su najveći proizvođači Kina i druge azijske i evropske zemlje i Izrael. Koi šaran je varijetet običnog šarana dobijen selekcijom. Gajenje ove ukrasne ribe, prvobitno praktikovano u Japanu, postepeno se proširilo po čitavom svetu.

Prilikom pojavljivanja KHV oboljenja u polikulturi, uginuće je nastalo samo kod običnog i koi šarana. Istraživanja obavljena u Izraelu su pokazala da ne dolazi do prenošenja bolesti sa KHV-inficiranih šarana na pet najčešće uzgajanih vrsta riba – tilapija (*Oreochromis niloticus*), smuđ (*Bidyanus bidyanus*), beli tolstolobik (*Hypophthalmichthys molitrix*), babuška (*Carassius auratus*) i beli amur (*Ctenopharyngodon idella*), čak ni nakon duge kohabitacije sa bolesnim ribama na optimalnoj temperaturi za nastanak bolesti [14].

Imajući u vidu moguće ekonomske gubitke, OIE i EU su još 2002. godine razmatrali mogućnost stavljanja KHV oboljenja na listu bolesti koje su

obavezne za prijavljivanje. Tom prilikom je uvažena činjenica da je KHV neizlečivo oboljenje sa velikim negativnim uticajem na proizvodnju šarana u celom svetu i da zahteva stavljanje na listu. Iako se KHV se već tada značajno raširila, usled nedostatka dijagnostičkih metoda nije bilo moguće sa sigurnošću isključiti prisustvo bolesti, a posledično ni odrediti zone slobodne od bolesti. Ukoliko to nije moguće da se uradi sa visokim stepenom sigurnosti, zakonska regulativa je od male pomoći u kontroli i prevenciji širenja virusa. Sa ovim argumentima, odlučeno je da se KHV ne stavlja na listu bolesti čije je prijavljivanje obavezno.

Cilj ovog rada je da ukratko prikaže relevantne podatke o ovom oboljenju koje nanosi značajne gubitke proizvodnji šarana, trenutnu rasprostranjenost oboljenja, dijagnostičke metode i mogućnost prevencije i kontrole KHV.

Geografska rasprostranjenost KHV oboljenja / *Geographic distribution of KHV disease*

KHV je prvi put izolovan 1998. godine u SAD kod riba koje potiču iz ribnjaka u Izraelu i SAD, na kojima je izbila zaraza. Trenutna situacija, prema izveštaju međunarodne radionice o KHV [8] je:

Država / Country	Trenutni status / Current status
Austrija / Austria	Prvi slučaj 2003. godine kod koi šarana – potvrđeno PCR / <i>First case in 2003 in koi carp – confirmed with PCR</i>
Belgija / Belgium	Oboljenja koi šarana sa povremenom pojavom simptoma i mortalitetom do 90% prijavljivana od 1999, izbijanje zaraze 2002. i 2003. godine – potvrđeno PCR / <i>Disease in koi carp with occasional appearance of symptoms and mortality of up to 90% registered since 1999, disease outbreak in 2002 and 2003 confirmed with PCR</i>
Danska / Denmark	Od jula 2002. KHV pozitivna – potvrđeno PCR / <i>Since July 2002, KHV positive – confirmed with PCR</i>
Engleska i Vels / England and Wales	Prva izolacija 2000, sumnje 1998, 1999 i prethodno 1996, 36 izbijanja bolesti 2002. kod šarana različite veličine, infekcija potvrđena i 2003. godine – potvrđeno PCR / <i>First isolation in 2000, suspected in 1998, 1999, and previously in 1996, 36 outbreaks of disease in 2002 in carp of different sizes, infection confirmed also in 2003 – confirmed with PCR</i>
Francuska / France	Dve sumnje 2001, virus detektovan 2003. kod koi šarana uvezenog iz Izraela / <i>Suspected twice in 2001, virus detected in 2003 in koi carp imported from Israel</i>
Nemačka / Germany	Prvo izbijanje zaraze 1997, virus detektovan od 2002. godine – potvrđeno PCR, RT-PCR i <i>in situ</i> hidridizacijom / <i>First outbreak of disease in 1997, virus detected since 2002 – confirmed with PCR, RT-PCR and in situ hybridization</i>
Italija / Italy	KHV pozitivna u 2003. godini / <i>KHV positive in 2003</i>
Luksemburg / Luxembourg	KHV pozitivan u 2003. godini / <i>KHV positive in 2003</i>
Holandija / The Netherlands	Prvi put detektovan 2001 (PCR), pozitivni nalazi od 2002. / <i>First detected in 2001 (PCR), positive findings since 2002</i>

Švajcarska / <i>Switzerland</i>	Izbijanje zaraze 2003, sumnje od 2001. godine / <i>Outbreak of disease in 2003, suspect since 2001</i>
Poljska / <i>Poland</i>	Prvi put detektovan 2003, dva izbijanja zaraze 2004. – potvrđeno PCR, RT-PCR i in situ hidridizacijom / <i>First detected in 2003, two outbreaks of disease in 2004 – confirmed with PCR, RT-PCR and in situ hybridization</i>
Azija / <i>Asia</i>	
Indonezija / <i>Indonesia</i>	KHV pozitivna od 2002. godine / <i>KHV positive since 2002</i>
Izrael / <i>Israel</i>	KHV prvi put dijagnostikovao 1998, nakon uvoza koi šarana iz Evrope, izbijanje zaraze u svim narednim godinama / <i>KHV diagnosed for the first time in 1998, after imports of koi carp from Europe, outbreaks of disease in all subsequent years</i>
Japan / <i>Japan</i>	KHV pozitivan od maja 2003. godine / <i>KHV positive since May 2003</i>
Tajvan / <i>Taiwan</i>	Prvo izbijanje zaraze prijavljeno 2002, nakon toga i 2003. i 2004. / <i>First outbreak of disease reported in 2002, after that in 2003 and 2004</i>
Tajland / <i>Thailand</i>	KHV pozitivni koi šarani izvezeni u Nemačku 2004. godine / <i>KHV positive koi carp exported to Germany in 2004</i>
Države sa sumnjom na KHV / <i>Countries with suspected KHV</i>	
Kina / <i>China</i>	Izbijanje zaraze prijavljeno 2001. u Hong Kongu, koi poreklom iz Kine KHV pozitivni (CEFAS), 2002. nije potvrđeno na mestu porekla / <i>Outbreak of disease reported in 2001 in Hong Kong, koi originating from China KHV positive (CEFAS), in 2002, not confirmed at place of origin</i>
Malezija / <i>Malaysia</i>	Koi šarani potiču iz Malezije pozitivni, 2001. nije potvrđeno na mestu porekla / <i>Koi carp originating from Malaysia positive in 2001, not confirmed at place of origin</i>
Afrika / <i>Africa</i>	
Južna Afrika / <i>South Africa</i>	Izbijanje zaraze prijavljeno 2001-2003. godine / <i>Outbreak of disease reported in 2001-2003</i>
Severna Amerika / <i>North America</i>	
SAD / <i>USA</i>	Prvo izbijanje zaraze 1998. godine / <i>First outbreak of disease in 1998</i>
Južna Amerika / <i>South America</i>	
Čile / <i>Chile</i>	Nema zaraze / <i>No disease</i>
Australija	Nema zaraze / <i>No disease</i>

Trenutna situacija u Srbiji / *Current situation in Serbia*

U 2004. i 2005. godini utvrđen je visok mortalitet jednogodišnje i dvogodišnje mlađi šarana na tri ribnjaka na teritoriji Republike Srbije. Na dva ribnjaka uginuća su se javljala kod jednogodišnje i dvogodišnje mlađi šarana u prolećnom periodu (april-maj), kada je temperatura vode bila viša od 18°C. U pojedinim jezerima uginulo je više od 80 posto jednogodišnje mlađi šarana, a procenat uginuća

dvogodišnje mlađi šarana bio je nešto niži, 60 posto, sa kliničkim simptomima i pato-morfološkim promenama koje upućuju na KHV, a da pri tome nije bilo uginuća tolstolobika i amura koji su bili u kohabitaciji sa obolelim šaranima.

Na jednom ribnjaku uginuće jednogodišnje mlađi šarana se javilo u jesenjem periodu (septembar) kada je temperatura vode bila oko 23°C.

Obolele ribe su prestale da uzimaju hranu i nekoordinisano se kretale. Kod svih obolelih riba utvrđene su promene na škrgama u vidu jačih ili slabijih diskoloracija sa umerenom do jakom nekrozom. Kod pojedinih primeraka utvrđena su tačkasta krvarenja u osnovi peraja. Po koži su bila prisutna nepravilno raspoređena polja svetlije boje. U tim područjima utvrđeno je smanjeno lučenje sluzi. Sekcijom na unutrašnjim organima nisu utvrđene promene.

Parazitološkim pregledima utvrđene su umerene do jake infestacije protozoama (*Trichodina* sp., *Chilodonella cyprini* i *Ichthyophthirius* sp.) i monogenim trematodama.

Bakteriološkim ispitivanjima utvrđene su bakterijske infekcije sa *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp. i miksobakterijama.

Za virusološka ispitivanja uzeti su delovi promenjenih škrga i pulirani uzorci parenhimatoznih organa koji su inokulisani na EPC, FHM, RTG-2 i BF-2 ćelijsku liniju. Ni nakon treće slepe pasaže nije se javio citopatogeni efekat.

Karakteristike Koi herpes virusa / *Characteristics of koi herpesvirus*

Do sada je poznato približno 130 herpesvirusa. Za osam je poznato da izazivaju infekciju kod ljudi, a ostali su izolovani iz drugih kičmenjaka, uključujući i ribe.

Koi herpes virus je DNK herpes virusima sličan patogen. Okruglog je oblika, veličine 170-230 nm, a prečnik spoljašnjeg lipoproteinskog omotača virusa je od 70 do 120 nm. Nukleokapsid sadrži dvolančanu DNK oko koje se nalazi kapsid sastavljen od kapsomera raspoređenih po simetriji ikosaedra, prečnika od 100 do 110 nm. Virion se sastoji od trideset jednog polipeptida i najmanje osam glikoproteina, i sadrži tegument. Glavna komponenta omotača je lipoproteinski dvosloj.

Morfologija i veličina ovog virusa odgovara virusima iz familije Herpesviridae. Međutim, veličina genoma KHV, koja je ~280 kbp, prevazilazi 250 kbp, što je karakteristika pripadnika familije *Herpesviridae* [17]. Trenutno poznate sekvence virusne DNK ukazuju na veliku divergentnost genoma koji sadrži male fragmente (16 do 45 bp), slično genomima nekoliko velikih DNK virusa. Takođe, amino-kiselinske sekvence kodirane fragmentima virusne DNK pokazuju sličnost sa sekvencama virusa iz familija *Poxviridae*, *Herpesviridae* i drugih velikih dvolančanih DNK virusa [19].

Waltzek i sar [19], analizirali su sekvence četiri gena kako bi utvrdili srodnost KHV sa tri virusa riba iz familije *Herpesviridae*: herpesvirus boginja šarana (herpesvirus ciprinida 1, CyHV-1), herpesvirus hematopoezne nekroze zlatne

ribice (herpesvirus ciprinida 2, CyHV-2) i herpesvirusa kanalskog somića (herpesvirus iktalurida, IchV-1). Rezultati su pokazali da postoji značajna sličnost analiziranih gena KHV sa genima CyHV-1 i CyHV-2, kao i sličnost ova tri virusa ciprinida sa IchV-1. Ovi nalazi, kao i morfološki i biološki podaci, ukazuju da KHV treba svrstati u grupu srodnih virusa nižih kičmenjaka u okviru familije *Herpesviridae*, kao herpesvirus ciprinida 3 (CyHV-3) [19].

Skorašnja poređenja većeg broja virusa sličnih herpesu izolovanih iz šarana, zlatne ribice, jegulje, jesetre, pastrmke i žaba, ukazuju da ovi virusi predstavljaju grupu jedinstvenih virusa, značajno različitih od drugih virusa iz familije *Herpesviridae* i drugih virusa uopšte. Sekvence, dobijene analizom DNK polimeraza i drugih gena KHV i još 11 virusa sličnih herpesu izolovanih iz riba i vodozemaca, pokazuju da se virusi razlikuju zavisno od vrste domaćina. Utvrđeno je da je KHV najrodniji sa herpesvirusom ciprinida 1 (izolovan iz šarana) i 2 (izolovan iz zlatne ribice). Prema tome, KHV može da se smatra herpes virusom ciprinida 3 (CyHV-3), familija *Herpesviridae*. Očigledno je i da je potrebno redefinisati familiju *Herpesviridae* kako bi obuhvatila viruse slične herpesu riba i vodozemaca, i herpesviruse sisara, ptica i reptila [7].

Prva izolacija virusa / First isolation of virus

KHV je prvi put izolovan 1998. godine u SAD posle masovnog uginuća koi šarana iz uzgajališta u SAD i Izraelu. Kako novi virus nije bilo moguće izolovati na ćelijskim linijama koje se standardno koriste u laboratorijama, za njegovu izolaciju se koristila KF-1 (koi fin) ćelijska linija. KF-1 ćelijska linija je inkubisana na temperaturi od 25°C, a posle inokulacije na temperaturi od 20°C. Virus je izolovan iz različitih tkiva obolelih riba (škrge, parenhimatozni organi i creva). Petog dana posle inokulacije, na temperaturi od 20°C, pojavila se fuzija ćelija i izrazita vakuolizacija citoplazme. Potpuniji CPE se javio 7 do 10 dana posle inokulacije, a kompletan CPE je uočen 14 dana posle inokulacije [6]. Virus je umnožavan na KF-1 ćelijskoj liniji na temperaturama od 15 do 25°C, sa optimalnom temperaturom 20°C [5]. Najveća koncentracija virusa je bila sedmog dana nakon inokulacije, pri temperaturi od 20°C. Količina virusa detektovana na temperaturi od 4°C i 10°C i sedmog i trinaestog dana je bila malo viša od detekcionog limita testa (42 TCID₅₀KHV/ml). Nije bilo umnožavanja virusa na 30°C ili 37°C [5].

U Koreji su tkivni homogenati bubrega i slezine obolelih riba inokulisani na CHSE-214, FHM, EPC i RTG-2 ćelijske linije [11]. CPE je uočen samo na FHM ćelijskoj liniji, tri do pet dana nakon inokulacije. Kompletan liza ćelija mogla je da se uoči nakon 15 dana. Elektronskom mikroskopijom FHM ćelija sa citopatogenim efektom, detektovane su jasno uočljive virusne partikule, prečnika od 70 do 80 nm.

U Nemačkoj, pulirani uzorci parenhimatoznih organa su inokulisani na CCB (ćelijska linija koja potiče od moždanog tkiva šarana), CCG (ćelijska linija

koja potiče od škrga šarana), FHM, CHSE-214 i EPC ćelijske linije [10]. Na CCB ćelijama, pet dana nakon inokulacije homogenata organa, pojavio se CPE u vidu velikih sincicijalnih formacija. Sinicijum se širio u ćelijskoj kulturi tokom narednih četiri do pet dana. Na CCG ćelijama, CPE je nastao šest dana posle inokulacije. Na EPC ćelijama, prvi sincicijum je detektovan od jedanaestog dana posle inokulacije. CPE nije uočen na CHSE-214 i FHM ćelijama.

U Izraelu, uzorci bubrega i jetre inficiranih riba inokulisani su na KF-1 i EPC ćelijske linije. Citopatogeni efekat se na KF-1 ćelijskoj liniji javio pet do šest dana posle inokulacije, dok na EPC ćelijskoj liniji nije uočen [9].

Način širenja virusa / *Manner of virus spreading*

Virus se prenosi direktnim kontaktom sa inficiranom ribom, ekskretima obolelih riba i/ili vodom ili muljem. Zavisno od temperature vode, prijemčive ribe se inficiraju i obolevaju ili postaju kliconoše [12]. Virus ostaje infektivan u vodi najmanje četiri časa [13, 14, 15]. Još uvek nije definitivno utvrđeno da li virus ulazi u organizam riba preko škrga ili creva [6, 14]. Najverovatnije je da virus ulazi u organizam riba preko škrga, s obzirom da su škrge prvi organ zahvaćen infekcijom [16]. U škrgama se virus replikuje, i odatle krvlju dospeva u bubreg i creva, gde se nastavlja umnožavanje virusa [6, 4]. Šta više, dokazano je da je bubreg organ u kome se virus najintenzivnije umnožava [16].

Uticaj temperature na tok bolesti / *Effect of temperature on course of disease*

Kod poikilotermnih kičmenjaka, temperatura ima značajan uticaj na nastanak, tok i težinu bolesti [1, 2]. Temperatura vode direktno utiče na funkcionisanje celularnog i humoralnog imuniteta. Na nastanak KHV kod šarana utiče temperatura vode. Koncentracija virusa u spoljašnjoj sredini nije presudan faktor u izbijanju zaraze, za razliku od temperature. Eksperimentalno inficirani koi šarani su obolevali i pri infekciji sa veoma niskim koncentracijama virusa ($12\text{TCID}_{50}\text{KHV/ml}$ i $1.2\text{TCID}_{50}\text{KHV/ml}$); na 23°C mortalitet je bio 90-95 posto, na 18°C 90 posto, na temperaturi 13°C nije bilo uginuća [5]. Koncentracije KHV DNK su određivane u različitim tkivima koi šarana izloženih virusu koji su držani u vodi temperature od 13°C , 18°C , 23°C i 28°C , pomoću „real-time” PCR. Virusna DNK je detektovana na sve četiri temperature vode, ali je do uginuća došlo samo kod riba na temperaturama od 18°C , 23°C i 28°C [4].

Najkritičniji period za nastanak KHV bolesti je proleće, kada je imuni odgovor domaćina supresiran [3, 6]. Eksperimentalno je dokazano da uginuća riba nastala u prolećnom i letnjem periodu, kao posledica delovanja koi herpes virusa, predstavljaju aktivaciju virusne infekcije koja je nastala ranije, ali je bila neaktivna na niskoj temperaturi (13°C). Prebacivanjem inficiranih riba iz hladnije u topliju vodu (na primer 23°C) brzo dolazi do uginuća.

Klinička slika / Clinical picture

Oboljenje se javlja pri temperaturi vode od 18 do 28°C, sa inkubacionim periodom od 7 do 21 dan što zavisi od temperature vode. Morbiditet je najčešće 100 posto, a mortalitet i do 90 posto pri višim temperaturama. Obolele ribe često prestaju da uzimaju hranu tri do četiri dana pre uginuća. Kod obolelih riba su prisutni poremećaji u ponašanju – letargija, dezorijentacija i nekoordinirano plivanje. Ribe često uginu u roku od nekoliko časova od pojave prvih simptoma oboljenja, dok je pri nižim temperaturama vode, bolest nešto dužeg toka [18]. Uvek prisutan opšti klinički simptom bolesti je mestimična diskoloracija škrge sa umerenom do jakom nekrozom. Ostali, najčešće prisutni klinički simptomi su: anoreksija, endoftalmus, otvoreni škržni poklopci, oštećenje peraja, površinska krvarenja u osnovi peraja, nepravilno raspoređena polja svetlije boje po koži sa smanjenom količinom sluzi, pa ovi, promenjeni delovi kože izgledaju poput šmirgle, i povećana količina sluzi na nepromenjenim delovima kože. Pri sekciji, promene na unutrašnjim organima ne moraju uvek da budu prisutne, a ukoliko su prisutne, zapažaju se u vidu povećanja prednjeg dela bubrega i otoka slezine u ranim stadijumima bolesti. Često su prisutne sekundarne, umerene do jake parazitske infekcije (*Trichodina sp.*, *Ichtyobodo sp.*, *Ichthyophthirius sp.*, *Dactylogyrus sp.* i *Chilodonella cyprini*), kao i sekundarne bakterijske infekcije izazvane sa *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, i *Shewanella putrefaciens* [16].

Patohistološke promene / Pathohistological changes

Oboljenje karakteriše jak intersticijalni nefritis i nekroza škrge, sa blagim fokalnim zapaljenjem jetre. Nervno tkivo nije zahvaćeno bolešću, ali su kod eksperimentalno inficiranih riba zapažene intranuklearne inkluzije u neuronima [6, 13].

Histološkim pregledom se primećuje proliferacija škržnog epitela sa degenerativnim i nekrotičnim promenama, i intranuklearne inkluzije u inficiranim ćelijama. Mikroskopskim pregledom parenhimatoznih organa i gastrointestinalnog trakta uočava se nekroza parenhimskih i epitelnih ćelija i prisustvo velikog broja makrofaga sa ingestiranim ćelijskim ostacima. Pri eksperimentalnoj infekciji [16], patološke promene na škragama su primećene već drugog dana posle inficiranja, u vidu gubitka lamela na pojedinim filamentima praćenog pojavom infiltrata sastavljenog od inflamatornih ćelija. Od šestog dana posle infekcije, promene na škragama su postajale sve naglašenije, sa kompletnim gubitkom građe škrge, što je pratila jaka inflamacija, u gotovo svim filamentima. U ovom stadijumu je bila primetna i kongestija centralnog venskog sinusa škrge. Ovakve promene su bile prisutne i osmog i desetog dana posle infekcije. Promene na škržnim lukovima su bile još uočljivije od onih na filamentima, i obuhvatale su jaku subepitelijalnu inflamaciju i kongestiju krvnih sudova škržnih lukova.

Pored promena na škragama, najizraženije patološke promene su prisutne na bubrezima, u kojima virus izaziva jak intersticijalni nefritis. Nakon eksperimentalne infekcije, umereni peritubularni inflamatorni infiltrat je bio prisutan već drugog dana posle infekcije. Šestog dana je uočena pojava obimnog intersticijalnog infiltrata, zajedno sa kongestijom krvnih sudova. Osmog dana posle infekcije infiltracija je bila još izraženija i praćena degeneracijom epitela tubula u većini nefrona.

U jetri je prisutan zapaljenjski infiltrat i to uglavnom u parenhimu. Na preseku moždanog tkiva se uočavaju fokalne meningealne i parameningealne zapaljenjske promene [16].

Dijagnostika / *Diagnostics*

Tokom radionice nacionalnih referentnih laboratorija o bolestima šarana (CEFAS, Weymouth, 2003), data je preporuka da se, radi povećanja sigurnosti dijagnoze KHV, paralelno koriste najmanje dve od raspoloživih dijagnostičkih metoda, a to su:

- Svetlosna mikroskopija,
- Elektronska mikroskopija,
- Izolacija virusa na kulturi ćelija,
- PCR detekcija KHV DNK,
- Detekcija antitela protiv KHV (*ELISA*),
- *in situ* hibridizacija.

Preporučene dijagnostičke metode: Sumnja na KHV se postavlja na osnovu kliničke dijagnoze i patohistoloških promena na škragama, parenhimatoznim organima i crevima. Definitivna dijagnoza se postavlja na osnovu izolacije virusa, ili, još pouzdanije, PCR detekcijom DNK KHV u tkivnim homogenatima škriga i bubrega.

Zaključak / *Conclusion*

Prisustvo velikog broja slučajeva KHV oboljenja u Evropi upozorava na značajnu pretnju šaranskom ribarstvu u istočno-evropskim zemljama i divljim populacijama šarana širom Evrope. Kako bi se sprečila pojava i širenje bolesti u našoj zemlji potrebno je da se preduzmu sve neophodne mere, koje obuhvataju: kontrolu uvoza šarana i koi šarana, obavezno sprovođenje karantina u trajanju od najmanje 21 dana, obavljanje redovne kontrole zdravstvenog stanja šarana na ribnjacima, i brza i pouzdana detekcija i identifikacija KHV koje obavljaju dijagnostičke laboratorije koje se bave ovom problematikom.

Literatura / References

1. Ahne W., Bjorklund H. V., Essbauer S., Fijan N., Kurath G., Winton J. R.: Spring viremia of carp (SVC). *Diseases of Aquatic Organisms*, 52, 261-272, 2002.
2. Alcorn S. W., Murray A. L., Pascho R. J.: Effects of rearing temperature on immune functions in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Fish & Shellfish Immunology*, 12, 303-334, 2002.
3. Fijan N., Petrinc Z., Sulimanovic O., Zwillenberg L. O.: Isolation of the viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp. *Veterinarski Archiv*, 41, 125-138, 1971.
4. Gilad O., Yun S., Zagmutt-Vergara F. J., Leutenegger C. M., Bercovier H., Hedrick R. P.: Concentrations of a Koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally infected *Cyprinus carpio koi* as assessed by real-time TaqMan PCR. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60, 179-187, 2004.
5. Gilad O., Yun S., Adkison M. A., Way K., Willits N. H., Bercovier H., Hedrick R. P.: Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of General Virology*, 84, 2661-2668, 2003.
6. Hedrick R. P., Gilad O., Yun S., Spangenberg J., Marty G., Nordhausen R., Kebus M., Bercovier H., Eldar A.: A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat. Anim. Health* 12, 44-55, 2000.
7. Hedrick R. P., Gilad O., Yun S. C., McDowell T. S., Waltzek T. B., Kelley G. O., Adkison M. A.: Initial isolation and characterization of a herpes-like virus (KHV) from koi. Report of International Workshop on Koi Herpesvirus, 12-13 Februar 2004, London, 6-7, 2004.
8. Haenen O. L. M., Way K., Bergmann S. M., Ariel E.: The emergence of koi herpesvirus and its significance to European to aquaculture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24, 293-307, 2004.
9. Hutoran M., Ronen A., Perelberg A., Ilouze M., Dishon A., Bejerano I., Chen N., Kotler M.: Description of an as yet unclassified DNA virus from diseased *Cyprinus carpio* species. *Journal of Virology*, 79, 1983-1991, 2005.
10. Neukirch M., Bottcher K., Bunnajirakul S.: Isolation of a virus from Koi with altered gills. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 19, 221-224, 1999.
11. Oh M. J., Jung S. J., Choi T. J., Kim H. R., Rajendran K., Kim Y. J., Park M. A., Chun S. K.: A viral disease occurring in cultured carp *Cyprinus carpio* in Korea. *Fish Pathol.* 36, 147-151, 2001.
12. Ornamental Aquatic Trade Association (OATA): Koi Herpes Virus (KHV). OATA, Westbury, Wilts, UK. 4-33, 2001.
13. Perelberg A., Smirnov M., Hutoran M., Diamant A., Bejerano Y., Kotler M.: Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Israeli J. Aquaculture* 55, 5-12, 2003.
14. Perelberg A., Smirnov M., Hutoran M., Diamant A., Bejerano Y., Kotler M.: Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamid-geh*, 55, 5-12, 2003.
15. Perelberg A., Ronen A., Hutoran M., Kotler M.: Protection of cultured *Cyprinus carpio* against lethal disease by attenuated virus. *Vaccine* 23, 3396-3403, 2005.
16. Pikarsky E., Ronen A., Abramowitz J., Levavi-Sivan B., Hutoran M., Shapira Y., Steinitz M., Perelberg A., Soffer D., Kotler M.: Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology*, 78, 9544-9551, 2004.
17. Ronen A., Perelberg A., Abramowitz J., Hutoran M., Tinman S., Bejerano I., Steinitz M., Kotler M.: Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine*, 21, 4677-4684, 2003.
18. Walster C. I.: Koi carp mortality syndrome: an update. *Fish Vet. Journal* 5, 72-75, 2000.
19. Waltzek T. B., Kelley O. G., Stone D. M., Way K., Hanson L., Fukuda H., Hirono I., Aoki T., Davison A. J., Hedrick R. P.: Koi herpesvirus represents a third cyprinid herpesvirus (CyHV-3) in the family Herpesviridae. *J. Gen. Virol.* 86, 1659-1666, 2005.

KOI HERPESVIRUS DISEASE IN CARP

Svetlana Jeremic, V. Radosavljevic

A disease in the koi carp (*Cyprinus carpio koi*) and the common carp (*Cyprinus carpio carpio*), caused by the herpesvirus and accompanied by a high mortality rate, has spread across numerous fish ponds all over the world since 1998, resulting in massive mortality and significant financial losses. The herpesvirus-like virus, called the koi herpesvirus (KHV) has been isolated and identified from the koi and the common carp in the course of the incidences of massive mortalities. The first appearance of a disease with a high mortality in the common and the koi carp caused by the koi herpesvirus (KHV) was described in 1998 in Israel and the United States of America (USA). Since that time, a large number of cases of outbreaks of this disease have been confirmed throughout the world, including the USA, Israel, and a large number of European countries. The deaths occurred seasonally, in late spring or early autumn, when the water temperature was from 18-28°C. The most important factor of the environment that affects the occurrence and gravity of this disease is the water temperature. This disease is currently considered one of the factors that present the biggest threat to populations of the common and the koi carp. Diseased fish are disoriented, their movements uncoordinated, their breathing rapid, gills swollen, and they have local skin lesions. The virus was isolated from tissue of diseased fish and cultivated on a KF-1 (koi fin cells) cell line. Electronic microscopy examinations revealed virus identical viral particles of the Herpesviridae family. Analyses of the virion polypeptide and DNA established differences between the KHV and the previously known herpesvirus of the Cyprinida family, *Herpesvirus cyprini* (CHV), and the virus of the channel catfish (*Channel catfish virus* – CCV).

In the years 2004 and 2005, high mortality was established among one-year and two-year carp fry on three fish ponds. At two ponds, the deaths occurred among one-year and two-year carp fry during the spring period, when the water temperature was over 18°C. During the autumn period, mortality was recorded among one-year carp fry at water temperatures above 23°C.

On the grounds of the determined pathomorphological changes and the high mortality during the period of the year when the temperature was above 18°C, we suspect that KHV is also present in fish ponds in Serbia, even though the virus itself has not been isolated.

The objective of this work is briefly to present the relevant data on this disease which is inflicting significant losses to carp production, to show the current distribution of this disease, the diagnostic methods, and the possibilities for the prevention and control of KHV.

Key words: carp, koi carp, herpesvirus, koi herpesvirus

КОИ ГЕРПЕСВИРУСНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ КАРПОВ

Светлана Еремич, В. Радосавлевич

Заболевание кои карпов (*Cyprinus carpio koi*) и обычного карпа (*Cyprinus carpio carpio*), вызвано герпес вирусом, слежено высокой смертностью, от 1998 года захватило многи пруды по всему миру, вызывая массовые гибели и значительные финансовые убытки. Вирус похожий герпес вирусами, назван кои герпесвирус (КГВ) изолирован и идентифицирован из кои и обычного карпа в течение явлений массовых гибелей. Первое явление болезни с высокой смертностью обычного и кои карпа вызвано кои герпесвирусом (КГВ) описано 1998 года в Израиле и США. С тех пор подтверждено большее число случаев возникновения этого заболевания по всему миру, включая США, Израиль и большое число европейских стран. Гибели являлись сезонно, в конце весны и в начале осени, когда температура воды от 18-28°C. Наиболее значительный фактор внешеней среды, влияющий на явление и тяжести болезни температура воды. Мгновенно это заболевание считается одним из факторов, представляющий собой наибольшую опасность для популяций обычного и кои карпа. Заболевшие рыбы дезориентированы, некоординированных движений, ускоренного дыхания, опухлых жабр и с локальными повреждениями. Вирус изолирован из тканей заболевших рыб и культивирован на *KF-1 (koi fin cells)* клеточной линии. Электронной микрокопией замечены вирусные частицы идентичные вирусами из семейства *Herpesviridae*. Анализом полипептидов вириона и ДНК утверждены разницы среди КГВ и раньше знакомых герпес вирусов ципринидов, *Herpesvirus cyprini* (ЦХВ), и вируса канавного сомика (*Channel catfish virus - CCV*).

В 2004 и 2005 году утверждена высокая смертность однолетней и двухлетней молоди карпа на трёх прудах. На двух прудах гибель явилась у однолетней и двухлетней молоди карпов в весеннем периоде, когда температура воды была больше 18°C. В осеннем периоде явилась гибель однолетней молоди карпов при температуре воды высшей 23°C.

На основе утверждённых патоморфологических изменений и высокой смертности в периоде года, когда температура была сверх 18°C, мы сомневаем, что КГВ присутствующий и на прудах в Сербии, хотя вирус не изолирован.

Цель этой работы вкратце показать релевантные данные об этом заболевании, наносящее значительные убытки производству карпов, мгновенную распространённость заболевания, диагностические методы и возможности превенции и контроля КГВ.

Ключевые слова: карп, кои карп, герпес вирус, кои герпесвирус

**UTICAJ STAROSTI JAGNJADI NA SENZORNE OSOBINE
MESA JAGNJADI***
INFLUENCE OF AGE ON SENSORIC PROPERTIES OF LAMB MEAT

Snežana Ivanović, S. Savić, M. Ž. Baltić**

Ovčije meso, što podrazumeva i kategoriju jagnječeg mesa, koriste potrošači širom sveta u svim kulturama i religijama, mada znatan broj ljudi ne prihvata ovu vrstu mesa zbog karakterističnog mirisa i ukusa. Jedan od faktora koji utiču na prihvatljivost mesa i proizvoda od mesa su senzorne osobine (izgled, ukus i miris što zajedno čini aromu, nežnost i sočnost, odnosno tekstura).

Kao materijal u ovom eksperimentu korišćeno je meso jagnjadi meleza svrljiško-pirotske pramenke. Jagnjad su bila stara jedan, tri i pet meseci prilikom klanja i hranjena su kombinovano: mlekom, na ispaši i dodavanjem u obrok koncentrovanih hraniva. Meso je obrađeno toplotom u pećnici pri temperaturi od 170°C u trajanju od 60 minuta.

Učestvovalo je osam ocenjivača. Za kvantitativnu deskriptivnu analizu (ISO 6564/85) korišćene su strukturne skale intenziteta sa sedam tačaka, pri čemu su ispitivani intenzitet mirisa, mekoća, sočnost, intenzitet (punoća) ukusa, prihvatljivost arome i ukupna prihvatljivost. Nakon termičke obrade, miris mesa je bio najizraženiji kod mesa jagnjadi uzrasta od pet meseci. Najmekše meso je bilo meso koje je poticalo od jagnjadi uzrasta od tri meseca, ali najsočnije je bilo meso jagnjadi uzrasta od pet meseci. Prema ocenjivačima, najukusnije je bilo meso koje je poticalo od jagnjadi uzrasta od tri meseca. Specifična aroma jagnječeg mesa je bila najizraženija kod mesa jagnjadi uzrasta od tri meseca. Ukupna prihvatljivost, kao veoma kompleksna osobina, zavisna od više faktora, iznijansirana velikim brojem isparljivih jedinjenja, koja pojedinačno imaju jako nizak prag detekcije, ali zajedno i u kombinaciji sa ostalim organoleptičkim osobinama, ocenjena je najpovoljnije kod mesa jagnjadi uzrasta od tri meseca.

Ključne reči: jagnjeće meso, kvalitet, organoleptičke osobine

* Rad primljen za štampu 3. 4. 2007. godine

** Dr sci Snežana Ivanović, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; Srađan Savić, vet. specijalista, dr Milan Ž. Baltić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Ovčije meso, što podrazumeva i kategoriju jagnječeg mesa, koriste potrošači širom sveta u svim kulturama i religijama, što nije slučaj sa svinjskim i goveđim mesom. Ipak, znatan broj ljudi ne prihvata ovu vrstu mesa zbog karakterističnog mirisa i ukusa koji su naročito izraženi u toku toplotne obrade. Pored karakterističnog mirisa, prilikom žvakanja javlja se i poseban osećaj u ustima, koji se definiše terminom „na vosak”. Ipak, jagnjeće meso kao proizvod karakterističnog mirisa i ukusa, visoke je cene i tretira se kao luksuzni proizvod [10].

Koliko će jedan proizvod da bude prihvatljiv zavisi od njegovog kvaliteta. Kvalitet je teško u potpunosti da se definiše, jer on predstavlja zbir osobina ili specifičnih činilaca, pa otuda postoji nekoliko definicija. U Standardu JUS ISO 8402 : 1996 (S) u tački 2.1 kvalitet je definisan kao „skup svojstava i karakteristika proizvoda, procesa i usluga, koji se odnose na mogućnost da zadovolje utvrđene ili indirektno izražene potrebe”. Sa druge strane, kvalitet se definiše kao „pogodnost za upotrebu” i „zadovoljstvo potrošača”.

Činioci koji utiču na prihvatljivost mesa i proizvoda od mesa mogu da se podele na senzorne faktore (izgled, ukus i miris što zajedno čini aromu, nežnost i sočnost odnosno tekstura), zdravstvena ispravnost, stabilnost proizvoda, podesnost – prikladnost za upotrebu, upotrebljivost, hranljiva vrednost i informisanost o proizvodu.

Meisinger i Miler [11], attribute kvaliteta mesa dele u dve grupe: vizuelne karakteristike kvaliteta i jestive karakteristike kvaliteta koje predstavljaju palatabilnost mesa. Navedeni autori su definisali da na vizuelne karakteristike kvaliteta utiču: sposobnost zadržavanja vode ili gubitak tečnosti, boja mesa, intramuskularni lipidi i sjajnost. Ali, isti autori smatraju da se pod vizuelnim karakteristikama smatraju i mane mesa kao što su oštećenja na mestima aplikacije injekcija i krvni podlivi. U jestive karakteristike kvaliteta ili palatabilnost mesa autori ubrajaju sočnost, mekoću i ukus.

Jedna od važnih osobina mesa je boja i uslovljena je koncentracijom pigmenta mioglobina, njegovim hemijskim statusom na površini mesa, zatim strukturom i fizičkim statusom mišićnih proteina i proporcije mišićne masti. Dalje, boja mesa zavisi od anatomskog dela [4], uzrasta [12], kondicije [1, 3], ishrane [6] i pH vrednosti [5].

Starenjem životinja, menja se sadržaj mioglobina, pa je meso starijih životinja tamnije boje od mesa mlađih.

Važan faktor prihvatljivosti mesa je i sočnost odnosno tekstura. Jedna od definicija koju su dali Sanudo i sar [14] je da je tekstura mikroskopski izgled mišića tkiva na poprečnom preseku sa stanovišta glatkoće i nežnosti. Rezna površina krtog mesa može da se opiše kao glatka, nežna i gruba. Tekstura ili nežnost zavisi od veličine mišićnih snopića. Starenjem nastaju promene debljine mišićnih vlakana koja postaju deblja što ima kao posledicu povećanje grubosti – tvrdoće teksture mišića [17]. Prisustvo tankih mišićnih vlakana u mesu daje mu

veću nežnost i mekoću, a na preseku je meso fine strukture, ravnije površine i jednomernije građe [15, 7].

Sigurno, jedan od najvažnijih faktora prihvatljivosti mesa kod potrošača je aroma.

Teško je aromu izdvojiti kao poseban atribut. Za aromu bi moglo da se kaže da ona predstavlja miris i ukus zajedno. Osnovna ili bazična aroma mesa odnosi se na komponente mesa rastvorljive u vodi kao što su šećeri, amino-kiseline i nukleotidi, koji su uobičajeni za različite vrste. Karakteristična aroma mesa kod različitih vrsta uslovljena je proporcijom različitih masnih kiselina u mastima, naročito nezasićenim masnim kiselinama koje su podložnije oksidaciji od drugih do volatilnih komponenti male molekulske mase kao što su aldehidi, ketoni, ugljeni hidrati i alkoholi, koji učestvuju u stvaranju arome mesa. Fosfolipidi koji su bogati nezasićenim masnim kiselinama takođe imaju fundamentalnu ulogu u stvaranju arome mesa [10].

Wagner [16], grupisao je faktore koji utiču na aromu mesa u tri grupe: genetski uslovljeni faktori (vrsta životinje, rasa i pol), faktori uzgoja (ishrana, uzrast, tretman sa životinjama pre i za vreme klanja) i faktori uslovljeni postupkom sa mesom (uslovi skladištenja – zrenja i uslovi toplotne obrade). U svom radu ovaj autor ističe da mlađe životinje imaju manje izraženu aromu od starijih.

Polazeći od stanovišta da starost životinje utiče na opisana svojstva mesa odlučili smo da u ovom radu obavimo ispitivanje uticaja uzrasta jagnjadi na senzorne osobine mesa jagnjadi gajene na jugu Srbije.

Materijal i metode ispitivanja / *Materials and methods*

Kao materijal u ovom eksperimentu koristili smo meso jagnjadi melezu svrljiško-pirotske pramenke. Jagnjad su bila uzrasta jedan, tri i pet meseci prilikom klanja i hranjena su kombinovano: mlekom, na ispaši i dodavanjem u obrok koncentrovanih hraniva. Od svake starosne dobi ispitano je po 42 uzorka.

Meso smo obradili toplotom u pećnici pri temperaturi od 170°C u trajanju od 60 minuta.

U eksperimentu smo primenili senzorne metode ispitivanja mesa, u kojima je učestvovalo osam obučениh ocenjivača. Za kvantitativnu deskriptivnu analizu (ISO 6564/85) koristili smo strukturne skale intenziteta sa sedam tačaka pri čemu smo ispitivali intenzitet mirisa, mekoću, sočnost, intenzitet (punoću) ukusa, prihvatljivost arome i ukupnu prihvatljivost [2].

Rezultati ispitivanja statistički smo obradili izračunavanjem srednje vrednosti i parametara varijacije (standardna devijacija, koeficijent varijacije) i izračunavanjem t-vrednosti za utvrđivanje razlike u pojedinim organoleptičkim osobinama mesa između grupa, pri čemu je postavljena hipoteza jednakosti aritmetičkih sredina ispitivane osobine.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Pre kulinarske obrade, miris i boju jagnječeg mesa ispitivane jagnjadi ocenili smo kao poželjne i svojstvene za ovu vrstu mesa.

Rezultate senzornog ocenjivanja u kojima smo koristili numeričko-deskriptivne skale, prikazali smo u tabeli 1, tabeli 2 i tabeli 3.

Tabela 1. *Senzorna ocena mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec*

Table 1. Sensory evaluation of meat of lambs aged 1 month

Svojstvo / <i>Property</i>	Srednja vrednost / <i>Mean average</i>	Standardna devijacija / <i>Standard deviation</i>	Koeficijent varijacije, % / <i>Variation coefficient, %</i>
Miris mesa / <i>Meat smell</i>	4,6	0,14	3,03
Mekoća mesa / <i>Meat tenderness</i>	4,45	0,16	4,05
Sočnost / <i>Meat juiciness</i>	4,45	0,12	2,70
Ukus mesa / <i>Meat taste</i>	4,30	0,23	5,35
Aroma mesa / <i>Meat aroma</i>	4,21	0,22	5,23
Ukupna prihvatljivost / <i>Overall acceptability</i>	4,46	0,16	3,59

Tabela 2. *Senzorna ocena mesa jagnjadi uzrasta tri meseca*

Table 2. Sensory evaluation of meat of lambs aged 3 months

Svojstvo / <i>Property</i>	Srednja vrednost / <i>Mean average</i>	Standardna devijacija / <i>Standard deviation</i>	Koeficijent varijacije, % / <i>Variation coefficient, %</i>
Miris mesa / <i>Meat smell</i>	5,35	0,23	4,30
Mekoća mesa / <i>Meat tenderness</i>	5,06	0,26	5,14
Sočnost / <i>Meat juiciness</i>	4,84	0,21	4,34
Ukus mesa / <i>Meat taste</i>	5,24	0,22	4,20
Aroma mesa / <i>Meat aroma</i>	5,3	0,24	4,53
Ukupna prihvatljivost / <i>Overall acceptability</i>	5,3	0,26	4,91

Tabela 3. *Senzorna ocena mesa jagnjadi uzrasta pet meseci /*
Table 3. Sensory evaluation of meat of lambs aged 5 months

Svojstvo / <i>Property</i>	Srednja vrednost / <i>Mean average</i>	Standardna devijacija / <i>Standard deviation</i>	Koeficijent varijacije, % / <i>Variation coefficient, %</i>
Miris mesa / <i>Meat smell</i>	5,92	0,19	3,21
Mekoća mesa / <i>Meat tenderness</i>	4,97	0,27	5,43
Sočnost / <i>Meat juiciness</i>	4,89	0,15	3,07
Ukus mesa / <i>Meat taste</i>	5,14	0,26	5,06
Aroma mesa / <i>Meat aroma</i>	5,25	0,24	4,57
Ukupna prihvatljivost / <i>Overall acceptability</i>	5,16	0,24	4,65

Iz tabela se vidi da su prosečne ocene intenziteta mirisa bile u mesu $4,62 \pm 0,14$ (uzrasta jedan mesec), $5,35 \pm 0,23$ (uzrasta tri meseca) i $5,92 \pm 0,19$ (uzrasta pet meseci).

Između uzoraka mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec i uzoraka uzrasta tri, odnosno pet meseci utvrdili smo veoma značajnu razliku ($p \leq 0,001$). Statistički veoma značajnu razliku u oceni intenziteta mirisa utvrdili smo i između uzoraka mesa jagnjadi uzrasta tri i pet meseci ($p \leq 0,001$).

Dobijeni rezultati ukazuju da se intenzitet mirisa pojačava kod starijih životinja što se slaže sa navodima iz literature [16].

Za meso jagnjadi uzrasta jedan mesec senzorna ocena mekoće mesa bila je $4,45 \pm 0,18$, za meso jagnjadi uzrasta tri meseca bila je $5,06 \pm 0,26$, dok je za meso jagnjadi uzrasta pet meseci bila $4,97 \pm 0,27$. Takođe, iz ovih tabela se vidi da je između uzoraka mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec i uzoraka uzrasta tri meseca, odnosno pet meseci razlika u ocenama statistički veoma značajna ($p \leq 0,001$). Između prosečnih ocena mekoće uzoraka mesa jagnjadi uzrasta tri meseca i uzoraka uzrasta pet meseci nismo utvrdili statistički značajnu razliku.

Na mekoću mesa, pored starosti, sigurno utiče količina toplote prilikom kulinarske obrade, trajanja i načina njenog delovanja. Zagrevanjem mišića mišićna vlakna postaju grublja zbog denaturacije proteina, dok vezivno tkivo postaje lakše svarljivo pošto se kolagen hidrolizuje u želatin (optimum temperature hidrolize je 75°C). U komadu mesa koji sadrži velike količine vezivnog tkiva, zbog razmekšavanja vezivnog tkiva, stiče se utisak da je meso meko [13].

Od mlađih životinja se dobija mekše meso nego od starijih, kod kojih nastaje povećanje broja inter- i intramuskularnih veza u kolagenu, pa je meso tvrđe [7]. Rezultate koje smo dobili u ovom eksperimentu ne slažu se sasvim sa

navodima iz literature. Ovo neslaganje može da se objasni malom razlikom u „starosti” mesa ispitivane jagnjadi.

U tabeli 1, 2 i 3 prikazali smo i rezultati senzorne ocene sočnosti mesa u zavisnosti od uzrasta jagnjadi. Za meso jagnjadi uzrasta jedan mesec senzorna ocena sočnosti mesa bila je $4,45 \pm 0,12$, za meso jagnjadi uzrasta tri meseca bila je $4,84 \pm 0,21$, a za meso jagnjadi uzrasta pet meseci bila je $4,89 \pm 0,15$. Iz istih tabela se vidi da je između uzoraka mesa jagnjadi starosti jedan mesec i uzoraka starosti tri meseca odnosno pet meseci razlika u ocenama statistički veoma značajna ($p \leq 0,001$). Između prosečnih ocena sočnosti uzoraka mesa jagnjadi uzrasta tri meseca i pet meseci nismo utvrdili statistički značajne razlike.

Sočnost mesa, koja je kod jagnječeg mesa izražena i ne predstavlja problem, zavisi od sposobnosti mišićnog tkiva da zadrži prirodnu ili veže dodatu vodu [18]. Sočnost u mnogome zavisi od postupaka sa mesom kao što su hlađenje, zamrzavanje i kulinarska obrada. Meso koje ima dobru sposobnost zadržavanja sopstvene vode tokom toplotne obrade zadrži više vode, pa je samim tim sočnije. Horcada i sar [8], utvrdili su da se ova sposobnost umanjuje tokom starenja, što direktno utiče na sočnost. Rezultati koje smo dobili u ovom eksperimentu podržavaju navode pomenutog autora.

Pored mirisa, ukus sigurno čini jedno od najvažnijih svojstava mesa. Od odnosa mirisa i ukusa zavisi kakva će aroma biti. Iz rezultata koji su prikazani u tabeli 1, 2 i 3 vidi se da je senzorna ocena mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec bila $4,30 \pm 0,23$, za meso jagnjadi uzrasta tri meseca $5,24 \pm 0,22$ a za meso jagnjadi uzrasta pet meseci $5,14 \pm 0,26$. Postojala je statistički veoma značajna razlika ($p \leq 0,001$) između svih ispitivanih uzoraka.

Kada je aroma u pitanju senzorna ocena ispitivanog mesa izgledala je ovako: ocena arome mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec bila je $4,21 \pm 0,22$, za meso jagnjadi uzrasta tri meseca bila je $5,30 \pm 0,24$ a za meso jagnjadi starosti pet meseci bila je $5,25 \pm 0,24$. Iz tabela se takođe vidi da je između uzoraka mesa jagnjadi uzrasta jedan mesec i uzoraka uzrasta tri meseca odnosno pet meseci razlika u ocenama statistički veoma značajna ($p \leq 0,0001$). Između prosečnih ocena arome uzoraka mesa jagnjadi starosti tri meseca i uzoraka starosti pet meseci nismo utvrdili statistički značajnu razliku.

Wagner [16] je utvrdio da mlađe životinje imaju manje izraženu aromu nego starije jer sa povećanjem starosti, aroma mesa je izrazitija, pre svega, zbog povećanja sadržaja količine intramuskularne masti. Ova tvrdnja je sigurno tačna kada su u pitanju različite kategorije starosti ali, u okviru jedne kategorije kao što je slučaj u ovom eksperimentu ova tvrdnja ne može sasvim da se podrži.

U ovom eksperimentu, ukupna prihvatljivost mesa u kojoj se prilikom ocenjivanja zapravo sumiraju svi atributi koji daju organoleptičke osobine mesa jagnjadi bila je izražena kroz senzorna ocene: za meso jagnjadi uzrasta jedan mesec bila je $4,46 \pm 0,16$, za meso jagnjadi uzrasta tri meseca $5,30 \pm 0,26$, dok je za meso jagnjadi starosti pet meseci bila $5,16 \pm 0,24$. Na osnovu navedenih ocena i statističke obrade može se tvrditi da je između uzoraka mesa jagnjadi starosti je-

dan mesec i uzoraka uzrasta tri meseca, odnosno pet meseci bila statistički veoma značajna razlika ($p \leq 0,001$). Između prosečnih ocena ukupne prihvatljivosti uzoraka mesa jagnjadi uzrasta tri meseca i uzoraka uzrasta pet meseci nismo utvrdili statistički značajnu razliku.

Za ukupnu prihvatljivost može da se kaže da obuvata ispitivane osobine (miris mesa, mekoća mesa, sočnost, ukus i aroma mesa) ali i druge komponente koje mogu da utiču na aromu ili opšti izgled. Wagner [16] je istakao da je aroma višekomponentni sistem; otkriveno je više od 800 komponenti od kojih svaka pojedinačno nema aromu mesa; a mnoge od ovih komponenata formiraju se tek nakon zagrevanja. Delovanje toplote na meso prouzrokuje reakcije između sastojaka mišićnih vlakana i masti. U tim reakcijama učestvuju i proizvodi razgradnje koji nastaju tokom postmortalnih promena u mesu [18]. Ovčiji loj zagrejan u vakuumu stvara specifičnu, jako izraženu aromu [9].

Iz prikazanih rezultata dobijenih u našem eksperimentu vidi se da je najprihvatljivije meso jagnjadi u uzrastu tri meseca.

Zaključak / Conclusion

1. Kvalitet jagnječeg mesa kod potrošača je definisan bojom, sočnošću, mekoćom i aromom. Boja i miris mesa korišćenog u ispitivanjima, bili su svojstveni za jagnjeće meso.

2. Nakon termičke obrade, miris mesa je bio najizraženiji kod mesa jagnjadi uzrasta pet meseci.

3. Najmekše meso je bilo meso koje je poticalo od jagnjadi uzrasta tri meseca, ali najsočnije je bilo meso jagnjadi uzrasta pet meseci.

4. Prema ocenjivačima, najukusnije je bilo meso koje je poticalo od jagnjadi uzrasta tri meseca.

5. Specifična aroma jagnječeg mesa je najizraženija bila kod mesa jagnjadi uzrasta tri meseca.

6. Ukupna prihvatljivost, kao veoma kompleksna osobina, zavisna od niza faktora, iznijansirana velikim brojem isparljivih jedinjenja, koja pojedinačno imaju jako nizak prag detekcije, ali zajedno i u kombinaciji sa ostalim organoleptičkim osobinama, ocenjena je najpovoljnije kod mesa jagnjadi uzrasta tri meseca.

Literatura / References

1. Aalhus J. L., Price M. A., Shand P. J., Hawrysh Z. L.: Endurance-exercised growing sheep II. Tenderness increase and change in meat quality. Meat Sci 29, 57. 1991. -
2. Baltić M.: Kontrola namirnica, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, 1994. -
3. Barnard R. J., Edgerton V. R., Peter J. B.: Effect of exercise on skeletal muscle, biochemical and histochemical properties, J. Appl. Physiol. 28, 762, 1970. -
4. Beecher G. R., Cassens R. G., Hoekstra W. G., Briskey E. J.: Red and white fiber content and associated post-mortem properties of seven porcine muscles. J. Food Sci. 30, 969, 1965. -
5. Briskey E. J.: The etiological status and associated studies of pale, soft and exudative porcine muscula-

ture. Adv. Food Res. 13, 89, 1964. - 6. Cross H. R., Durland P. D., Seideman S. C.: Sensory qualities of meat. Muscle as Food, Bechtel, P. (ed.). Academic Press, Orlando, Florida, p. 286, 1986. - 7. Giffe J. W.: Proc. Meat Industry Res. Conf., MAIF, Chicago, 1985. - 8. Horcada A., Beriain M.J., Purroy A., Lizaso G., Chasco, J.: Effect of sex on meat quality of Spanish lamb breeds (Lacha and Rasa Aragonesa). Anim. Sci., 67: 541-547, 1998. - 9. Hornstein I.: Chemistry of Meat Flavor. The Science of Meat and Meat Products, Freeman & Co., San Francisco, 1971. - 10. Snežana Ivanović, Lilić S., Žujović M., Pavlović I.: Organoleptičke osobine jagnječeg mesa-faktor kvaliteta. Veterinarski glasnik, 58, 3-4, 350-358, 2004. - 11. Meisinger D., Miler R. K.: Pork Quality Issues. National Pork Producers Council, Des Moines, IA, 29-32, 1998. - 12. Morbidini L., Panella F., Sarti D. M., Sarti F. M., Drozd A., Cirus, J.: Slaughtering characteristics and carcass quality of export polish mountain lambs. 45th European Association of Animal Science, Edinburgh, 4-9 September 1994. - 13. Savić I.: Rim 4, 1, 19, 49, 1972. - 14. Sanudo C., Santolaria M. P., Maria G., Osorio M., Sierra I.: Influence of carcass weight on instrumental and sensory lamb meat quality in intensive production systems. Meat Science, 42, 2, 195-202, 1996. - 15. Silva T. J. P., Orcutt M. W., Forest J. C., Bracker C. E., Judge M. D.: Effect of heating rate on shortening, ultrastructure, and fracture behavior of prerigor beef muscle. Meat Science, 33, 1, 1-27, 1993. - 16. Wagner H.: Aromabildende Stoffe in Fleisch. Chemisch-physikalische Merkmale der Fleischqualität. Kulmbacher Reihe, Bd. 6, Kulmbach, 111, 1986. - 17. Wheeler T. L., Koohmaraie M.: Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. Journal of Animal Science, 72, 5, 1232-1238, 1994. - 18. Vuković K. I.: Osnovne tehnologije mesa. Veterinarska komora, Beograd 126-128, 1998.

ENGLISH

INFLUENCE OF AGE ON SENSORIC PROPERTIES OF LAMB MEAT

Snezana Ivanovic, S. Savic, M. Z. Baltic

The meat of sheep, which also includes the category of lamb meat, is used by consumers all over the world of all cultures and religions, even though a considerable number of people do not accept this type of meat because of its characteristic smell and taste. One of the factors that influence the acceptability of meat and meat products are the sensoric properties (appearance, taste and smell which all together make up the aroma, tenderness and juiciness, the meat texture)

The meat of lambs of mixed breed, combined Svrljig and Pirot Pramenka, was used as the material in this experiment. The lambs were aged one, three and five months at the time of slaughter. They were fed in a combined manner: with milk, on pastures, and with the addition of concentrated feeds to their diet ration. The meat was heat processed in an oven at a temperature of 170°C over a period of 60 minutes.

Eight evaluators took part in the experiment. The quantitative descriptive analysis (ISO 6564/85) comprised structure scales of intensity with seven points, with the examination of smell intensity, tenderness, juiciness, intensity (fullness) of taste, acceptability of aroma, and total acceptability. Following thermic processing, the smell of the meat was the most intense in the meat of lambs aged five months. The most tender meat was that originating from lambs aged three months, and the juiciest meat was that of lambs aged five months. According to the evaluators, the tastiest meat was that originating from lambs aged three months. The specific aroma of lamb meat was most expressed in the meat of lambs aged three months. Total acceptability, as a very complex property dependent on a series of

factors, nuanced by a large number of volatile compounds which individually have a very low threshold of detection, but are observed together and in combination with the other organoleptic characteristics, was most favorably assessed in the meat of lambs aged three months.

Key words: lamb meat, quality, organoleptic characteristics

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ СТАРОСТИ ЯГНЯТ НА СЕНСОРНЫЕ СВОЙСТВА МЯСА ЯГНЯТ

Снежана Иванович, С. Савич, М. Ж. Балтич

Овечье мясо, что подразумевает и категорию ягнячьего мяса, пользуются потребители по всему миру во всех культурах и религиях, хотя значительное число людей не принимает этот вид мяса из-за характеристического запаха и вкуса. Один из факторов, влияющие на принимаемость мяса и продуктов из мяса сенсорные свойства (вид, вкус и запах, что вместе составляет аромат, нежность и сочность, относительно текстура).

В качестве материала в этом эксперименте пользовано мясо ягнят метисов сврлигско-пиротской кудрючной. Ягнятам было один, три и пять месяцев при убое и кормленные комбинировано: молоком, на выпасе и добавлением в принятие пищи концентрированных кормов. Мясо обработано теплотой в духовке при температуре от 170°C в продолжении от 60 минут.

Участвовали восемь оценщиков. Для количественного дескриптивного анализа (ISO 6564/85) пользованы структурные шкалы интенсивности с семью точками при чём испытаны интенсивность запаха, мягкость, сочность, интенсивность (полнота) вкуса, принимаемость аромата и совокупная принимаемость. После термической обработки, запах мяса был наиболее выразительный у мяса ягнят старости пять месяцев. Наиболее мягкое мясо было мясо, которое происходило из ягнят им три месяца, но наиболее сочное было мясо ягнят старости пять месяцев. Согласно оценщикам, наиболее вкусное было мясо, которое происходило из ягнят им три месяца. Специфический аромат ягнячьего мяса наиболее выразительный был у мяса ягнят старости три месяца. Совокупная принимаемость, как очень комплексное свойство, зависима от ряда факторов, изюансированная большим числом испаряющих соединений, которые отдельно имеют очень низкий порог детекции, но вместе и в комбинации с остальными органолептическими свойствами, оценена наиболее благоприятно у мяса ягнят старости три месяца.

Ключевые слова: ягнячье мясо, качество, органолептические свойства

FIRST REPORT OF BOVINE ROTAVIRUS AND BOVINE CORONAVIRUS SEROPREVALANCE IN GOATS IN TURKEY*

PRVI IZVEŠTAJ O SEROPREVALENCIJI BOVINOG ROTAVIRUSA I BOVINOG KORONAVIRUSA KOD KOZA U TURSKOJ

Okur S. Gumusova, Z. Yazici, H. Albayrak, D. Çakiroglu**

In this study, bovine coronavirus (BCV) and bovine rotavirus (BRV) seroprevalances were detected by ELISA in 107 goat blood serum samples obtained from five different provinces of Northern Turkey. The results of the study reflected 41.12% and 82.24 % seropositivity against BCV and BRV, respectively, in the goat sera.

BCV seroprevalance in mature goats is determined for the first time with this study. Furthermore, this is the first statement of BRV and BCV seroprevalances in the mature goat population in Turkey.

Key words: BRV, BCV, ELISA, goat, seroprevalance

Introduction / Uvod

Various studies around the world have reported that antigen against Bovine rotavirus (BRV) had been detected in young goat's gaita specimen [3, 4, 5, 6]. In addition, Sato *et al.* [7], reported neutralising antibodies presence in goat blood sera against BRV.

The bovine coronavirus (BCV), is an important cause of diarrhoea and is detected in feces of adult cattle with winter dysentery [1, 8]. Eisa *et al.* [2], detected BCV antigen in young goat's gaita. However, Sevinç *et al.* (2005) and Munoz *et al.* [6], could not determine BCV antigen by ELISA in young goats.

Establishing BCV seroprevalance in mature goats is the aim of this study. Furthermore, data that will be obtained during the study will present the BRV and BCV seroprevalance in a mature goat population in Turkey for the first time.

* Rad primljen za štampu 15. 1. 2007. godine

** Okur S. Gumusova, Z. Yazici, Faculty of veterinary Medicine, Samsun, Turkey; H. Albayrak, Veterinary Control and Research Institute, Ministry of Agriculture, Samsun, Turkey; D. Çakiroglu, Faculty of veterinary Medicine, Samsun, Turkey

Materials and methods / Materijal i metode

Sera samples / Uzorci seruma: In this study, goat blood sera specimen were collected from 107 healthy looking, ≥ 1 year-old mature goats non-vaccinated against BRV and BCV, from five different provinces in Northern Turkey. Sera were separated from the collected blood specimens, inactivated at 56°C for 30 minutes and stored at -20°C until use in the test procedure.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) / ELISA test: Competitive-ELISA commercial test kits were used for BRV and BCV serodiagnosis of the animals tested (Rotavirus Elisa Kit Cat.Nr.Bio K 126 and Coronavirus Elisa Kit, Cat Nr.Bio K 127, Bio-X Diagnostics, Jemelle-Belgium). Tests were performed according to the manufacturer's recommendations. At the end of the tests, optical densities were measured with an ELISA reader (Daf, Italy) at 450 nm absorbance according to the instructions in the test procedure.

The mean optical densities of the positive and negative sera (OD pos and OD neg) and those of all the samples (OD samples) were calculated. For each tested sample and the positive serum, the percent inhibition was calculated (%inhib) by means of the following formulas:

$$\% \text{ inhibition of sample} = [(OD_{neg} - OD_{sample}) / OD_{neg}] \times 100$$

$$\% \text{ inhibition of positive} = [(OD_{neg} - OD_{pos}) / OD_{neg}] \times 100$$

Results / Rezultati rada

The results of the ELISA tests of goat blood sera revealed 41.12 % (44/107) and 82.24 % seropositivity against BCV and BRV. These data indicate that BRV infections are more frequently encountered compared to BCV infections in goats in the examined areas of Turkey. Distribution of the results according to the provinces are demonstrated in Table 1.

Table 1. Distribution of goat blood sera according to the provinces /
Tabela 1. Raspored seruma krvi koza prema provincijama

Province where goat blood sera were obtained / Provincije iz kojih su dobijeni serumi krvi koza	Specimen number / Broj uzorka	Bovine coronavirus / Bovini koronavirus		Bovine rotavirus / Bovini rotavirus	
		+	%	+	%
Bafra / Bafra (I)	20	4	20	10	50
Tekkeköy / Tekekoj (II)	16	2	12.5	9	56.2
Amasya / Amasija (III)	51	37	72.5	50	98.03
Samsun / Samsun (IV)	10	–	–	9	90
Çorum / Çorum (V)	10	1	10	10	100
Total / Ukupno	107	44	41.12	88	82.24

According to our results, major bovine coronavirus positivity was determined 72.5% in the third province, while major positivity for bovine rotavirus was recorded for regions III, IV and V, with rates of 98.03%, 90%, and 100%, respectively. These results are the first data demonstrating the rotavirus and coronavirus frequency in goats in Turkey.

Discussion / Diskusija

Considering that BRV infections create epidemics in newborns, the probable source of the widespread BRV antibody positivity (82.24%) obtained at the end of the study may be suggested as a BRV infection the goats had experienced when they were newborn. In addition, because it is demonstrated that BRV were more widespread in provinces III, IV and V compared to the rest, when the five provinces were separately evaluated at the end of the study, it is concluded that BRV constitutes regional epidemics in Turkey. Since BRV are cattle infections, BRV antibodies determined in the study are accepted as proof of the spreading of the infection from cattle to goat. Proceeding from these data, the spreading of infection from infected goat to cattle must be considered, and goats must be investigated in detail as a possible source in BRV epidemics.

BCV antibody positivity determined in quite high rates (41.12%) at the end of the examinations may be an indicator of either a coronavirus diarrhea the goats had experienced in the newborn period, or a BCV infection (winter dysentery) they suffered when they were adults. The rare isolation of BCV antigene in young goats in the previous studies suggests that this infection is not common in young goats. This data strengthens the possibility that the goats had experienced the infection when they were adults. It is a known fact that BCV infections cause winter dysentery in adult cattle. Since BCV are cattle infections, BCV antibodies determined in the study are accepted as proof of the spreading of the infection from cattle to goat. Proceeding from this point, it is possible that BCV infections may also cause winter dysentery in adult goats, due to BCV. The role of mature goats in winter dysentery cases needs further detailed investigations. Besides, a significant advance in province III was detected as a result of the comparative BCV prevalence evaluation in the five provinces in which the study was carried out. This result indicates that BCV infections exist as regional epidemics in Turkey.

In conclusion, with this study BCV prevalence in adult goats is determined for the first time, and it is suggested that it may play a role in a goat winter dysentery epidemic. Furthermore, important epidemiological information was secured on the distribution and infection spectrum of BCV and BRV infections in Turkey by the investigation of BCV and BRV antibodies in adult goat population.

References / Literatura

1. Alenius S., Niskanen R., Juntti N., Larsson B.: Bovine coronavirus as the causative agent of winter dysentery: serological evidence. *Acta Vet Scand*, 32, 163-170, 1991.
2. Eisa M. I., Mohamed A. A.: Role of enteric pathogens in enteritis. In lambs, goat kids and children and their zoonotic importance. *Vet. Med. J. Giza*. 52, 41-59, 2004.
3. Kaminjolo J. S., Adesiyun A. A.: Rotavirus infection in calves, piglets, lambs and goat kids in Trinidad. *Br. Vet. J.* 150, 293-299, 1994.
4. Legrottaglie R., Volpe A., Rizzi V., Agrimi P.: Isolation and identification of rotaviruses as aetiological agents of neonatal diarrhoea in kids. Electrophoretical characterization. *New Microbiol.*, 16, 227-235, 1993.
5. Munoz M., Alvarez M., Lanza I., Carmenes P.: An outbreak of diarrhoea associated with atypical rotaviruses in goat kids. *Res Vet Sci*. 59, 180-182, 1995.
6. Munoz M., Alvarez M., Lanza I., Carmenes P.: Role of enteric pathogens in the aetiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain. *Epidemiol Infect.* 117, 203-211, 1996.
7. Sato K., Inaba Y., Shinozaki T., Matumoto M.: Neutralizing antibody to bovine rotavirus in various animal species. *Veterinary Microbiology* 6, 259-261, 1981.
8. Saif L. J., Brock K. V., Redman D. R., Kohler E. M.: Winter dysentery in dairy herds: electron microscopic and serological evidence for an association with coronavirus infection. *Vet Rec*. 128, 447-449, 1991.
9. Sevinç F., Simsek A., Uslu U.: Massive *Cryptosporidium parvum* infection associated with an outbreak of diarrhoea in neonatal calves. *Turk J Vet Anim Sci*. 29, 1317-1320, 2005.

SRPSKI

PRVI IZVEŠTAJ O SEROPREVALENCIJI BOVINOG ROTAVIRUSA I BOVINOG KORONAVIRUSA KOD KOZA U TURSKOJ

Okur S. Gumusova, Z. Yazici, H. Albayrak, D. Cakiroglu

U ovom radu superprevalencija bovinog koronavirusa (BCV) i bovinog rotavirusa (BRV) otkrivena je pomoću ELISA testa u serumima krvi dobijenih od 107 koza iz pet različitih provincija u severnoj Turskoj. Dobijeni rezultati predstavljaju 41,12% seropozitivnosti protiv BCV i 82,24% seropozitivnosti protiv BRV.

Ovo ispitivanje predstavlja prvo određivanje seroprevalencije za BCV kod zrelih koza. Osim toga, ovo je prvi izveštaj o seroprevalenciji BRV i BVC u populaciji zrelih koza u Turskoj.

Ključne reci: BRV, BCV, ELISA, koza, seroprevalencija

РУССКИЙ

ПЕРВОЕ ИЗВЕЩЕНИЕ О СЕРОПРЕВАЛЕНЦИИ БОВИНОГО РОТАВИРУСА И БОВИНОГО КОРОНАВИРУСА У КОЗ В ТУРЦИИ

Okur S. Gumusova, Z. Yazici, H. Albayrak, D. Cakiroglu

В этой работе суперпреваленца бовиног коронавируса (БКВ) и бовиного ротавируса (БРВ) открыта с помощью ELISA теста в сумах крови, полученных

из 107 коз из пяти различных провинций в северной Турции. Полученные результаты представляют собой 41,12% сероположительности против БКВ и 82,24% сероположительности против БРВ.

Это испытание представляет собой первое определение серопреваленц для БКВ у зрелых коз. Кроме того, это первое извещение о серопреваленце БРВ и БКВ в популяции зрелых коз в Турции.

Ключевые слова: БРВ, БКВ, *ELISA*, коза, серопреваленца

**KONCENTRACIJE IMUNOGLOBULINA U KRVNOM SERUMU
POSTKOLOSTRALNE TELADI – ODNOS NIVOA
IMUNOGLOBULINA I POJAVLJIVANJE ENZOTSKE
PNEUMONIJE***

***IMMUNOGLOBULIN CONCENTRATION IN BLOOD SERUM OF
POSTCOLOSTRAL CALVES – RATIO BETWEEN IMMUNOGLOBULIN
LEVEL AND APPEARANCE OF ENZOOTIC PNEUMONIA***

B. Jonić**

Blagovremeno snabdevanje novorođene teladi optimalnim količinama kolostruma ima ključnu ulogu u procesu imunske zaštite u ranoj fazi njihovog života. Pasivno stečena antitela mogu da zaštite organe za varenje od infekcije izazvane E. coli bakterijom, a po svemu sudeći i od nastajanja oboljenja respiratornog trakta. Na farmi goveda, na kojoj je bronhopneumonija jedan od najznačajnijih zdravstvenih problema, za ova ispitivanja je odabrana grupa od 39 teladi. Telad su posle rođenja napajane kolostrumom svoje majke, a potom zbirnim mlekom. U uzorcima krvi koji su uzimani u postkolostralnom periodu određivana je metodom sa cink-sulfatom koncentracija imunoglobulina. U uzrastu od 40 dana telad su vakcinisane polivalentnom inaktivisanom vakcinom, a 20 dana posle toga revakcinisane (Vibak, Vet. zavod Subotica). Kod 74,34 posto teladi koncentracije imunoglobulina G se kretala od 26 do 40 g/l. Kod 25,66 posto teladi koncentracija imunoglobulina bila je niža i iznosila je 8 do 25 g/l. Telad kod kojih je utvrđena niža koncentracija imunoglobulina u krvi češće su obolevale od bronhopneumonije, a u nekim slučajevima je došlo i do uginuća.

Ključne reci: tele, imunoglobulini, bronhopneumonija, imuno-profilaksa

* Rad primljen za štampu 10. 5. 2007. godine

** Dr Branko Jonić, vanredni profesor, Katedra za bolesti papkara, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Blagovremeno unošenje optimalnih količina kolostruma je od ključnog značaja za postizanje adekvatnih nivoa imunoglobulina u krvnom serumu, posebno IgG, od kojih zavisi imunska zaštita teladi u neonatalnom periodu [2, 7, 14, 17, 18, 22]. Korelativne odnose između učestalosti pojavljivanja bronhopneumonije teladi i niskog nivoa imunoglobulina u krvnom serumu pokazali su Thomas i Swan [34]. Polazeći od hipoteze da ako pasivno stečena antitela iz kolostruma mogu da zaštite telad od kolibaciloze, analogno tome, mogu i od infekcija respiratornog trakta. Kasnije su i drugi autori potvrdili da pasivna imunska zaštita posredstvom imunoglobulina iz kolostruma, predstavlja dobru zaštitu od respiratornih oboljenja [35, 36, 38]. Williams i sar. utvrdili su da postoji čvrst odnos između nivoa imunoglobulina u krvnom serumu teladi od dve nedelje i pojave slučajeva bronhopneumonije u uzrastu od dva do tri meseca. Prosečna koncentracija imunoglobulina G (IgG) u krvnom serumu teladi koja su obolela i uginula kao posledica infekcije respiratornih organa bila je 12,7 g/l, dok kod teladi koja su obolela sa blagim simptomima i nisu uginula ona je bila značajno viša i iznosila je 26,9 g/l [6]. Prema tome, telad koja imaju niže koncentracije IgG u krvnom serumu ispoljavaju „teže” simptome bolesti i leče se mnogo duže, ponekad i sa nepovoljnim ishodom, u poređenju sa teladima koja imaju više vrednosti koncentracije IgG u krvnom serumu.

Respiratorna oboljenja su najvažniji uzrok morbiditeta i mortaliteta teladi i junadi [3]. U dosadašnjim istraživanjima etiologije bolesti, najveća pažnja poklonjena je živim agensima i predisponirajućim činiocima. U grupu predisponirajućih etioloških činioca svakako da se ubraja pravilno snabdevanje kolostrumom i optimalna koncentracija IgG u krvnoj plazmi teladi. Međutim, u stručnoj literaturi o tome još uvek nema dovoljno podataka. Zbog toga je predmet istraživanja u ovom radu bio da se utvrdi povezanost pasivne kolostralne zaštite i učestalosti pojavljivanja bronhopneumonije teladi i junadi.

Materijal i metode rada / Materials and methods

U toku jeseni i početkom zime na farmi goveda zatvorenog tipa dijagnostikovano je masovno pojavljivanje enzooske pneumonije kod teladi i junadi. Opravdano je bilo da se pretpostavi da jedan od činilaca koji doprinosi nastanku bolesti, pogotovu kod teladi, može da bude nedovoljna imunska zaštita kolostralnim antitelima. Krave pre teljenja držane su u porodilištu koje je centralnim hodnikom podeljeno na dva dela. Svaka polovina je imala prostor za smeštaj krava u periodu oko teljenja i profilaktorijum za telad sa odgajivalištem.

Krv od teladi je uzimana u uzrastu od 1 do 27 dana (n=19) i uzrastu od 1 do 37 dana (n=20). Telad su napajana najpre kolostrumom svoje majke, a potom zbirnim mlekom. Prilikom prebacivanja iz profilaktorijuma u odgajivalište telad su parenteralnim putem dobijala propisane doze antibiotika i vitaminskih preparata.

U uzrastu od 40 dana telad su vakcinisane polivalentnom inaktivisanom vakcinom „Vibak” (Veterinarski zavod - Subotica). Nakon dva meseca su revakcinisane. Za sve vreme boravka na farmi obe grupe teladi su klinički opservirane. Povremeno je obavljen pregled respiratornog trakta, a dobijeni podaci su uneti u ambulantni protokol.

Uzorci krvi od teladi uključene u ogled uzimani su punkcijom v. jugularis. Posle koagulacije izdvojen je krvni serum, i posle centrifugovanja na 3000/min, 15 minuta skladišteni su u zamrzivač do ispitivanja. U uzorcima krvnog seruma ispitivana je koncentracija IgG metodom sa cink sulfatom [10, 11, 27].

Test zamućenja cink-sulfatom je test za rutinsku dijagnostiku pouzdan za određivanje koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu novorođene teladi. Test se zasniva na selektivnoj precipitaciji imunoglobulina cink-sulfatom. Nastalo zamućenje se meri spektrofotometrijom. Što je transparentniji rastvor to je niži nivo imunoglobulina u serumu. Step en zamućenja nakon dodavanja cink-sulfata je u korelaciji sa koncentracijom imunoglobulina u krvnom serumu [9].

Rezultati / Results

Rezultati ispitivanja koncentracije imunoglobulina G klase u uzorcima krvnog seruma teladi različitog uzrasta i distribucija frekvencije koncentracija imunoglobulina prikazani su tabelarno (tabele 1 i 2).

Iz prikazanih rezultata u tabeli 1 vidi se da je uzrast teladi uključenih u ogled varirao u širokom rasponu od 1 do 37 dana. Koncentracija imunoglobulina G je takođe značajno varirala. Najniža utvrđena vrednost imunoglobulina bila je 8 g/l, a najviša 45 g/l krvnog seruma. Posmatrajući distribuciju frekvencije koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu ispitivanih teladi uočava se da je najveći broj teladi imala koncentraciju od 26 do 30 g/l (25,64 posto) i od 31 do 45 (48,7 posto). Dakle, kod 74,34 posto teladi koncentracija je bila u intervalu od 26 do 45 g/l, što se smatra kao pouzdan pokazatelj imunske kolostralne zaštite teladi. U ovim grupama teladi, koja su imala optimalne vrednosti Ig u krvnom serumu, ni jedno tele nije obolelo ili uginulo od respiratornih bolesti kako u profilaktoriјumu tako i u odgajivalištu i tovilištu. Za razliku od ove grupe teladi koja su blagovremeno napajana kolostrumom, vakcinisana i preventivno tretirana preparatima vitamina i antibiotika, telad koja nisu podvrgnuta ovom tretmanu obolevala su od enzootske bronhopneumonije, a rezultati terapije nisu u svim slučajevima bili zadovoljavajući. Znat an procenat obolele teladi je uprkos merama terapije uginuo.

Vet. glasnik 61 (1-2) 81 - 88 (2007) B. Jonić: Koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu postkolostralne teladi – odnos nivoa imunoglobulina i pojavljivanje ...

Tabela 1. *Uzrast teladi i koncentracija imunoglobulina G u krvnom serumu (g/l) / Table 1. Calf age and immunoglobulin G concentration in blood serum (g/l)*

Redi broj / Number	Uzrast teladi (dana) / Calf age (days)	Koncentracija Ig / Ig concentration (g/l)	Uzrast teladi (dana) / Calf age (days)	Koncentracija Ig / Ig concentration (g/l)
1.	1	36	1	18
2.	27	32	32	36
3.	26	35	34	39
4.	26	25	33	39
5.	23	32	25	44
6.	22	47	25	29
7.	22	37	15	29
8.	22	44	11	29
9.	20	34	8	32
10.	18	34	6	20
11.	16	28	6	16
12.	14	29	6	28
13.	14	36	6	8
14.	10	37	7	29
15.	9	47	7	27
16.	8	40	6	34
17.	5	34	3	10
18.	24	16	26	25
19.	26	26	1	26
20.	–	–	1	38

Tabela 2. *Distribucija frekvencija koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu teladi / Table 2. Distribution of frequencies of immunoglobulin concentration in blood serum of calves*

Koncentracija Ig / Ig concentration (g/l)	Broj teladi / Number of calves	Procentat (%) / Percentage (%)
1 - 5	0	0
6 - 10	2	5,12
11 - 15	0	0
15 - 20	4	10,25
21 - 25	1	2,56
26 - 30	10	25,64
31 - 35	11	28,20
36 - 40	8	20,51
41 - 45	1	2,56
46 - 50	2	5,12

Diskusija / Discussion

Dosadašnja ispitivanja su pokazala da blagovremeno napajanje teladi optimalnim količinama kolostruma presudno utiče na stepen imunske zaštite od najvažnijih oboljenja u neonatalnom periodu [1, 5, 13, 26]. Rezultati ispitivanja u našem radu pokazuju da je kod 8 posto teladi ustanovljena hipogamaglobulinemija. Od toga 20 posto nije imalo zadovoljavajući stepen kolostralne zaštite jer je koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu bila veoma niska. Ovi rezultati su približni rezultatima koje je pre više od tri decenije utvrdio McBeath [20, 21]. Najveći broj teladi, 74, 34 posto, uključenih u ogled imalo je vrlo visoke vrednosti koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu. Znatne razlike u nivoima IgG, kako kod hipogamaglobulinemične, tako i kod onih sa visokim nivoom IgG mogu se tumače razlikama u kvalitetu i kvantitetu kolostruma za napajanje [15]. Drugi autori smatraju da kada se teladima stavi na raspolaganje adekvatna količina kvalitetnog kolostruma u optimalno vreme za napajanje, opet postoji mogućnost da se kod određenog broja teladi (8 posto) ustanovi hipogamaglobulinemija. S tim podacima su saglasni i rezultati dobijeni u ovom radu. Imunoglobulini se resorbuju preko sluzokože creva samo u kratkom vremenu posle rođenja, a potom stepen resorpcije opada linearno sa vremenom posle teljenja [11, 12, 32]. U svakom slučaju na osnovu rezultata dobijenim u ovom radu jasno se vidi da je procenat teladi koja ne stižu zadovoljavajuću kolostralnu zaštitu približno jednak procentu teladi koja obolevaju od respiratornih bolesti. To se u velikoj meri slaže i sa podacima drugih autora [6, 16, 23, 24, 28, 33, 35, 37, 38].

Kod novorođene teladi imunoglobulini kolostruma majke posle resorpcije iz sistemskog krvotoka dospevaju u sekret respiratornih organa [19, 29, 39]. Pasivno stečena antitela verovatno doprinose dobrim delom zaštiti epitela respiratornih organa. Kod teladi IgG je glavna frakcija imunoglobulina. U prvoj nedelji života u sekretu nosne sluzokože i koncentracija IgM prevazilazi koncentracije IgA klase. Kod teladi koja iz kolostruma dobijaju velike količine IgG1, rano se povećava količina IgG1 u sekretu respiratornog trakta da bi se potom progresivno smanjivala u korist IgA klase [40]. Prisustvo IgG i IgM u sekretu respiratornog trakta pretežno je rezultat procesa transudacije iz krvne plazme, a mnogo manje lokalne proizvodnje, mada je poznato da je u plućnom tkivu dva do tri puta više plazmocita koji u sebi sadrže IgG nego onih koji sadrže IgA [8]. Vrlo je verovatno da ove dve klase imunoglobulina vremenski mogu kraće da ostanu u bronhijalnom sekretu nego IgA, jer se one vrlo slabo vezuju za sekretornu komponentu [25]. U gornjim partijama respiratornog trakta odgovor na neku infekciju ili vakcinaciju atenuisanim sojevima virusa intenzivira se lokalna sinteza IgA. Imunoglobulini A klase neutrališu viruse i sprečavaju njihovo fiksiranje za ćelije bronhijalnog epitela. U bronho-alveolarnom predelu od terminalnih bronhiola do alveola humoralni odgovor se ispoljava značajno većom sekrecijom IgG i IgM nego IgA klase. Uloga IgG klase je značajna, jer stimuliše fagocitoznu aktivnost procesom

opsonizacije, a takođe i aktivaciju komplementa koji je važan mehanizam neutralizacije virusa i toksina.

Posle intranazalnog davanja atenuisanog soja virusa [30] nivo interferona raste i može da se dokaže posle tri dana. Prisustvo interferona se procenjuje da traje oko 15 dana. Interferon sintetišu različite vrste ćelija (epitelne ćelije, makrofagi i T-limfociti). Pored antivirusne aktivnosti interferoni poseduju i druge osobine, posebno u regulaciji celularnog i humoralnog imunskog odgovora putem stimulisanja aktivnosti makofaga ili direktnog uticaja na aktivisanje T i B limfocita. Proizvodnja interferona je posebno dobro proučena kod infekcija goveda herpes virusom (BHV-1).

Od ranije je poznato da u velikim aglomeracijama goveda postoje određeni odnosi između domaćina, ambijentalnih uslova i živih agenasa [31]. U opserviranoj populaciji su skoro svi pomenuti uslovi bili približno isti. Jedina razlika koja je ustanovljena kod ispitivane teladi je bila u koncentraciji Ig u krvi. Iz dobijenih rezultata teško je da se utvrdi povezanost hipogamaglobulinemije i sklonosti ka nastajanju respiratornih oboljenja. Mehanizam zaštite nije lako da se tumači i nije očigledan. Imajući u vidu rezultate našeg rada, teško je da se pojasni kako imunoglobulini krvne plazme u uzrastu od mesec dana (koja u najvećoj meri potiču iz kolostruma i imajući u vidu poluživot od 21 dan), mogu da imaju uticaja na nastajanje infekcije u uzrastu od nekoliko meseci. Može da se pretpostavi da imunoglobulini iz kolostruma mogu posredno da utiču na imunski status teladi u prvim nedeljama života, tako, što kasnije aktivni imunski odgovor bude adekvatan i pruža neophodnu zaštitu teladi. Dakle, pasivno stečeni imunitet može da omogućiti mladom organizmu da blagovremeno stiče aktivnu zaštitu preko specifičnih antitela, pre nego što bude savladan infekcijom izazvanom virusima i bakterijama.

Literatura / References

1. Ben Romdhane i sar.: *Revue Med. Vet.* 148, 7, 627, 1997. - 2. Boyd J. W: *Vet Rec* 90, 645, 1972. - 3. Cvetković A. i sar.: *Vet gl.* 6. 137, 1973. - 4. Caldow G. L i sar.: *Vet Rec.* 16, 122, 3, 63, 1988. - 5. Collen Bruning-Fann: *Veterinary Bulletin* 62, 7, 399, 1992. - 6. Davidson J. N i sar.: *JAVMA.*, 179, 7, 708, 1981. - 7. Irwin: *Vet. Rec.*, 94, 105, 1974. - 8. Holmgren N.: *Acta Vet. Scand* 14, 366. - 9. Hudgens A. R. K i sar.: *AJVR*, 57, 12, 1996. - Jonić B.: *Veterinarski glasnik* 42, 6-7, 361, 1988. - 10. Jonić B i sar.: *Rev. Rom. Med. Vet.*, 8. 1. 1998. - 11. Jonić B., Mirilović M.: *Simpozijum „Stočarstvo, veterinarstvo i agroekonomija u tranzicionom periodu”* Herceg novi, 2006. - 12. Kruse V.: *Anim. Prod*, 12, 619, 1970. - 13. Konwels T. D i sar.: *Vet Rec* 18, 266. - 14. Logan E. F i sar.: *Res. Vet. Sci.*, 14, 349, 1972. - 15. Logan i sar.: *Vet. Rec.*, 94, 367, 1974. - 16. Lombard J. E.: *J. Dairy Sci* 90, 1751, 2007. - 17. McEwan i sar.: *J. Comp. Path.*, 80, 259, 1970a. - 18. McGuire T.C i sar., *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 169, 713, 1976. - 19. Morgan K. L i sar.: *J. Immunol. Methods*, 37, 165, 1980. - 20. McBeath D.G.: *Vet. Rec* 88, 266. 1971. - 21. McBeth D. G.: *M. Sc. Thesis „Bovine Immunoglobulin with relation to their activity within the intestinal tract of the neonatal calf”* University of Edinburgh. - 22. Naylor J. M. i sar.: *Am. J. Vet. Res.*, 38, 1331, 1977. - 23. Nicunen S.: *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 30, 3, 143, 2007. - 24. Olson S. O.: *Acta Vet Scand* 34, 264, 1993. - 25. Person J. M.: *Rec. Med. Vet.*, 165, 12, 1023, 1985. - 26. Perino L. J.: *Am J Vet Res.*, 56, 9, 1144, 1995. - 27. Pfeifer i sar.: *Am. J. Vet. Res* 78, 693, 1977. - 28.

Radostis Om., Blood D. C., Gay C. C.: Diseases caused by viruses and chlamydia – II. In: Radostis O.M., Blood D.C., Gay, CC (EDS) Veterinary Medicine, A Textbook of The Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses, 8th ed. Baillire Tindall, London, 1051-1059, 1994. - 29. Smith W. D. i sar.: Res. Vet Sci., 21, 341, 1976. - 30. Savan M.: Can Vet J 20, 107, 1974. - 31. Schwabe C. W i sar.: Epidemiology in Veterinary practice. Philadelphia. Lea & Febiger. - 32. Selman I. E.: Anm. Behav 18, 284, 1970. - 33. Sivula N. J. i sar.: Prev Vet. Med. 23, 1996. - 34. Thomas i Swan.: Vet. Rec., 92, 454, 1973. - 35. Thomas L. H.: Vet. Annu 18, 73. 1978. - 36. Thomas L. H i sar.: Res Vet Sci 23, 157, 1977. - 37. Virtala A. M. K.: Preventive Veterinary Medicine 39, 1, 25, 1999. - 38. Williams i sar.: Vet. Rec., 46, 81, 1975. - 39. Wells P. W. i sar.: Vet Rec 97, 455, 1975. - 40. Wilkie B. N.: JAVMA, 10, 181, 1074, 1982.

ENGLISH

IMMUNOGLOBULIN CONCENTRATION IN BLOOD SERUM OF POSTCOLOSTRAL CALVES – RATIO BETWEEN IMMUNOGLOBULIN LEVEL AND APPEARANCE OF ENZOOTIC PNEUMONIA

B. Jonić

The timely supply of newborn calves with optimal quantities of colostrum has a key role in the process of immune protection in the early phase of their lives. Passively acquired antibodies can protect the digestive organs from infection caused by *E.coli* bacteria, and it seems also from the appearance of diseases of the respiratory tract. These examinations were performed on a cattle farm where bronchopneumonia was one of the most significant health problems, and a group of 39 calves were selected for the investigations. The calves were fed with their mothers' colostrum after birth, and then with collective milk. Immunoglobulin concentration was determined in blood samples taken during the postcolostrum period, with the method using zinc-sulphate. At the age of 40 days, the calves were administered a polyvalent inactivated vaccine, and revaccinated 20 days after that (Vibak, Veterinary Department Subotica). In 74.34% calves, the immunoglobulin G concentration ranged from 26 to 40 g/l. In 25.66% calves, the immunoglobulin concentration was lower, from 8 to 25 g/l. The calves found to have a lower concentration of immunoglobulin in blood contracted bronchopneumonia more frequently, and the outcome of the disease in some cases was mortality, even.

Key words: calf, immunoglobulins, bronchopneumonia, immunoprophylaxis

РУССКИЙ

КОНЦЕНТРАЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ ПОСТКОЛОСТРАЛЬНЫХ ТЕЛЯТ – ОТНОШЕНИЕ УРОВНЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ПОЯВЛЕНИЕ ЭНЗООТИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИИ

Б. Йонич

Своевременное снабжение новорождённых телят оптимальными количествами колоstrума имеет ключевую роль в процессе иммунной охраны в

ранней фазе из жизни. Пассивно приобретённые антитела могут охранить пищеварительные органы от инфекции вызванной *E. coli* бактерией, а по всему судя и от возникновения заболевания респираторного тракта. На ферме крупног рогатого скота, на которой бронхопневмония одна из наиболее значительных проблем, для этих испытаний отобрана группа из 39 телят. Телята после рождения напаиваны колоострумом своей матери, а потом собирательным молоком. В образчиках крови, бранные в постколостральном периоде определена методом с цинка-сульфатом концентрация иммуноглобулинов. В возрасте 40 дней телята вакцинированы поливалентной инактивационной вакциной, а 20 дней после того ревакцинированы (Ви-бак, Вет. завод Суботица). У 74,34 процентно телят концентрация иммуноглобулинов Г двигалась от 26 до 40 г/л. У 25,66 процентно телят концентрация иммуноглобулинов была ниже от 8 до 25 г/л. Телята у которых утверждена более низкая концентрация иммуноглобулинов в крови чаще заболевали бронхопневмонией, а в некоторых случаях пришло и до околения.

Ключевые слова: телёнок, иммуноглобулины, бронхопневмония, иммунопрофилактика

NALAZ *FASCIOLA HEPATICA* KOD GOVEDA JABLANIČKOG REGIONA*

Fasciola hepatica FINDINGS IN CATTLE OF JABLANICA REGION

Valentina Milanović, A. Nitovski, Z. Kulišić, M. Mirilović, B. Popović,
Dragana Đorđević**

U periodu od januara 2001. do decembra 2005. godine, u klanici AD „Mesokombinat” u Leskovcu pregledano je 6904 zaklanih goveda, sa teritorije Jablaničkog regiona. Kod 429 goveda (6,21%), pronađena je trematoda *Fasciola hepatica*. Zbog neupotrebljivosti, konfiskovano je 2150 kilograma fascioloznih jetri.

Poređenjem broja fascioloznih goveda po godinama, ustanovljena je vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) između 2003. godine (10,02) i 2002. godine (9,97) sa jedne strane u odnosu na 2001. godinu (5,14), 2004. (3,37) i 2005. godinu (5,08) godinu, sa druge strane. Značajna razlika ($p < 0,05$) ustanovljena je 2004. godine (3,37) u odnosu na 2001. (5,14) i 2005. (5,08) godinu.

Analizirajući signifikantnost razlika inficiranih goveda po sezonama ustanovljena je vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) između letnjeg (7,23) i zimskog (4,74) perioda. Signifikantna razlika ($p < 0,05$) ustanovljena je između jesenjeg (6,49) i zimskog perioda.

Količina padavina bila je upravo proporcionalna procentu zaraženosti goveda metiljem.

Ključne reči: goveda, jetra, *Fasciola hepatica*, Jablanički region

Uvod / Introduction

Savremena stočarska proizvodnja, koja ima za cilj proizvodnju higijenski ispravnih namirnica životinjskog porekla, nailazi na stalno prisutan problem očuvanja zdravstvenog stanja životinja. Jedna od bolesti koja nanosi velike gu-

* Rad primljen za štampu 7. 2. 2007. godine

** Valentina Milanović, dipl. vet., asistent, dr Aleksandar Nitovski, docent, Poljoprivredni fakultet, Lešak, Univerzitet u Prištini; dr Zoran Kulišić, red. profesor, dr Milorad Mirilović, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; Boban Popović, dipl. vet., Dragana Đorđević, dipl. vet. Republička veterinarska inspekcija, Leskovac

bitke u stočarstvu je fasciolozu [5, 12, 16]. Prevalencija i incidencija fasciole zavise od niza faktora kao što su klimatski faktori, prisustvo barskih puževa kao prelaznih domaćina, vrsta zemljišta sa kojih se stoka hrani ili napaja, tehnološki proces pripremanja i čuvanja kabaštih hraniva, način ishrane i držanja stoke i drugi [1, 3].

Podatke o fasciozi goveda Jablaničkog regiona objavili su Popović i sar [14]. Pri pregledu na metiljavost u klanici AD „Mesokombinat”, u periodu od 1996. do 2000. godine, procenat inficiranih goveda starijih od dve godine bio je od 5,44 do 9,52 posto. Kod goveda mlađih od dve godine, procenat je bio niži, od 2,50 do 4,99 posto [14]. Za razliku od epizootiološke situacije u Jablaničkom regionu, procenat inficiranih goveda sa *Fasciola hepatica* u Nišavskom okrugu, prilikom koprološke analize, bio je niži i iznosio je 2,89% [7].

S obzirom da fasciolozu ima enzootski karakter, a u kišnim godinama čak i epizootski, zadatak ovog ispitivanja je bio utvrđivanje zastupljenosti fasciole kod goveda po sezonama, na području Jablaničkog regiona.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Klanica AD „Mesokombinat” u Leskovcu je klanica sa izvoznim brojem, namenjena za klanje goveda. Pregled i procena upotrebljivosti mesa i organa zaklanih životinja obavljaju se u okviru permanentne veterinarsko-sanitarne kontrole, a u skladu sa važećim zakonskim propisima [15, 20].

U periodu od januara 2001. do decembra 2005. godine, u ovoj klanici pregledom trupova i organa obuhvaćeno je 6904 zaklanih goveda, sa teritorije Jablaničkog regiona. Pregled jetre zaklanih goveda obavljen je adspekcijom, palpacijom i zareizivanjem, sa dva reza, kojima se otvaraju *ductus hepaticus* i manji žučni kanali.

Metereološki podaci (2000-2004. godina) – količina padavina, srednja mesečna temperatura i vlažnost vazduha, za ovo područje, dobijeni su od Republičkog hidrometeorološkog zavoda Republike Srbije.

Analiza dobijenih podataka urađena je neparametrijskim statističkim testovima, a signifikantnost razlika dobijenih rezultata ustanovljena je na nivoima značajnosti 95 i 99 posto [13]. Tendencije kretanja broja inficiranih grla prikazane su trend linijom prvog stepena. Svi dobijeni rezultati prikazani su tabelarno i grafički.

Rezultati rada i diskusija / Results and discussion

Prilikom pregleda jetre zaklanih goveda, kod 429 goveda (6,21%), pronađena je trematoda *Fasciola hepatica*, što je i u laboratoriji klanice i laboratoriji Katedre za parazitologiju Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu potvrđeno [6, 9]. Adspekcijom jetri, kod nekih, uočeno je povećanje jetre, a pri pregledu visceralne strane jetre, vidno zadebljali žučovodi, čak debljine prsta,

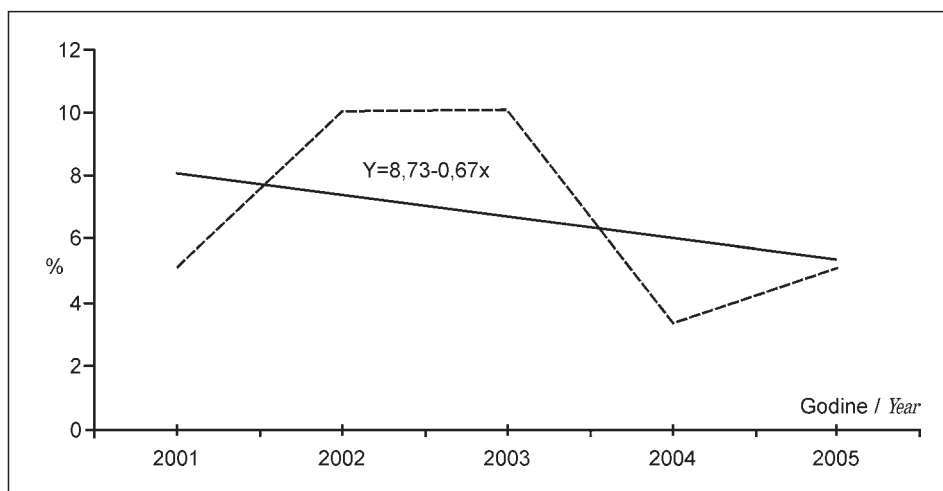
žućkasto-bele boje. U tako promenjenim žučovodima se, posle zasecanja, najčešće nalazila prljavo-zelena masa sluzave konzistencije, u kojoj su često bili zreli metilji. U parenhimu jetre nađene su tamnobraon fokalne lezije, koje mogu da budu posledica prisustva razvojnih oblika ovog parazita [8, 10]. Zbog neupotrebljivosti, konfiskovano je 2150 kg fascioloznih jetri.

Distribucija fascioloznih goveda po godinama prikazana je u tabeli 1.

Tabela 1. *Distribucija fascioloznih goveda po godinama /*
Table 1. Distribution of bovine fasciosis incidence by years

Godine / Year	Broj zaklanih / Number slaughtered	Broj inficiranih / Number infected	Procenat inficiranih / % Infected
2001.	1692	87	5,14
2002.	943	94	9,97
2003.	1.298	130	10,02
2004.	1.928	65	3,37
2005.	1.043	53	5,08
Ukupno / Total	6.904	429	6,21

Analiza kretanja procenta fascioloznih goveda u petogodišnjem periodu obavljena je pomoću pravolinijskog trenda. Tendencija kretanja procenta inficiranih grla je negativna. Prosečna godišnja smanjenja su oko 0,5 posto, što predstavlja minimalno smanjenje u odnosu na posmatrani vremenski period i nastaje kao posledica variranja broja zaklanih goveda sa različitih teritorija (grafikon 1).



Grafikon 1. *Tendencija kretanja inficiranih goveda u petogodišnjem periodu (%)*
Graph 1. Trend of infection of cattle over five-year period (%)

Statističkom analizom (tabela 2 i grafikon 2) ustanovljena je vrlo signifikantna razlika ($p < 0,01$) između 2003. godine (10,02) i 2002. godine (9,97) sa jedne strane u odnosu na 2001. (5,14), 2004. (3,37) i 2005. (5,08) godinu, sa druge strane. Značajna razlika ($p < 0,05$) ustanovljena je 2004. godine (3,37) u odnosu na 2001. (5,14) i 2005. (5,08) godinu. Međusobnim poređenjem procenta inficiranih grla ostalih godina nije ustanovljena signifikantna razlika ($p > 0,05$).

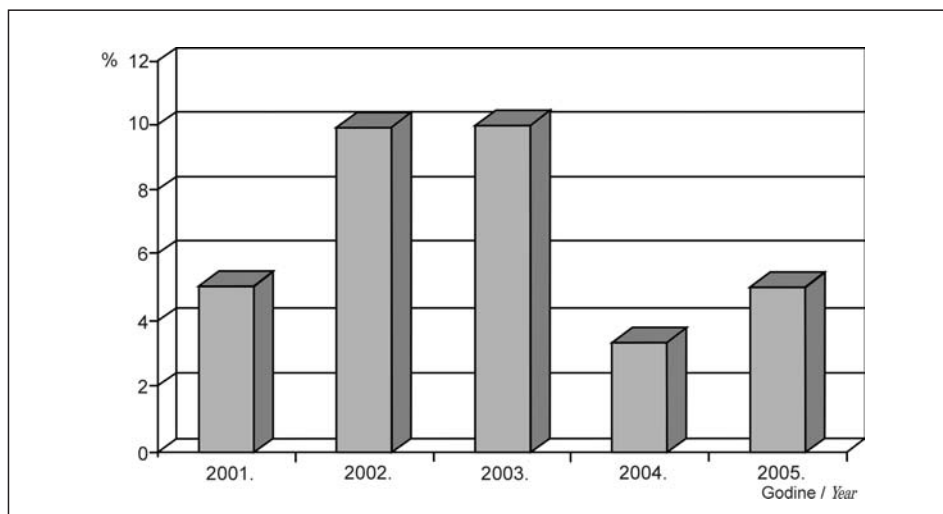
Tabela 2. *Signifikantnost razlika procenata prosečno inficiranih grla po godinama posmatranja /*

Table 2. Significance of difference in percentage of average number of infected head per year of observation

Godine / Year	Procenat / %	2005.	2004.	2003.	2002.	2001.
2001.	5,14	0,07	2,65*	5,09**	4,70**	–
2002.	9,97	4,15**	7,26**	0,04	–	
2003.	10,02	4,42**	7,77**	–		
2004.	3,37	2,28*	–			
2005.	5,08	–				

$t_{0,05} - 1,960$

$t_{0,01} - 2,576$



Grafikon 2. *Prosečna inficiranost goveda po godinama (%)*

Graph 2. Average infection in cattle by year (%)

Analizirajući signifikantnost razlika procenata prosečno inficiranih goveda po sezonama (tabela 3 i grafikon 3) ustanovljena je vrlo značajna razlika

($p < 0,01$) između letnjeg (7,23) i zimskog (4,74) perioda. Signifikantna razlika ($p < 0,05$) ustanovljena je između jesenjeg (6,49) i zimskog perioda. Ostalim poređenjem između sezona nije ustanovljena signifikantna razlika ($p > 0,05$).

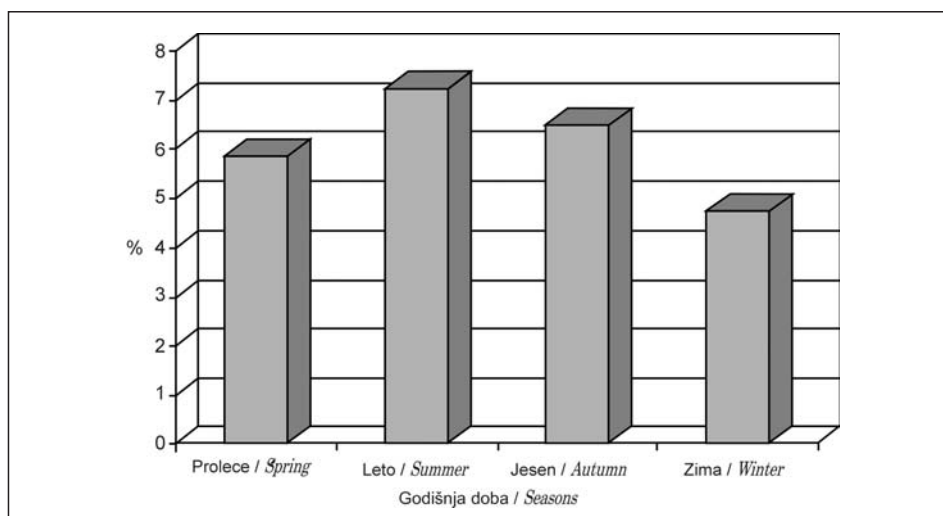
Tabela 3. *Signifikantnost razlika procenata prosečno inficiranih grla po sezonama posmatranja*

Table 3. *Significance of difference in percentage of average number of infected head per season of observation*

Sezone / Season	%	Zima / Winter	Jesen / Autumn	Leto / Summer	Proleće / Spring
Proleće / Spring	5,84	1,35	0,67	1,62	-
Leto / Summer	7,23	3,38**	0,83	-	
Jesen / Autumn	6,49	2,06*	-		
Zima / Winter	4,74	-			

$t_{0,05} - 1,960$

$t_{0,01} - 2,576$



Grafikon 3. *Prosečna inficiranost goveda po sezonama (%)*

Graph 3. *Average infection of cattle by season (%)*

Radi boljeg sagledavanja rezultata istraživanja fasciole goveda Jablaničkog regiona u tabeli 4 prikazani su meteorološki podaci za ovaj region, za period 2000-2004. godine.

Tabela 4. *Metereološki podaci po sezonama, za period 2000-2004. godine /*
Table 4. Meteorological data per season for the period 2000-2004.

Godina / Year	Meteorološki faktori / Meteorological factors	Zima / Winter	Proleće / Spring	Leto / Summer	Jesen / Autumn	Prosečno / Average
2000.	Količina padavina (mm) / <i>Precipitation (mm)</i>	29,10	32,25	37,00	47,95	36,58
	Srednja mesečna t°C / <i>Average monthly t°C</i>	3,30	10,50	21,60	14,50	12,48
	Relativna vlažnost vazduha (%) / <i>Relative air humidity (%)</i>	78,50	63,30	53,80	72,50	67,03
2001.	Količina padavina (mm) / <i>Precipitation (mm)</i>	44,05	99,05	45,00	42,80	57,72
	Srednja mesečna t°C / <i>Average monthly t°C</i>	1,87	10,60	19,95	14,25	11,67
	Relativna vlažnost vazduha (%) / <i>Relative air humidity (%)</i>	81,50	72,00	71,25	76,50	75,31
2002.	Količina padavina (mm) / <i>Precipitation (mm)</i>	39,47	55,05	80,75	57,35	58,15
	Srednja mesečna t°C / <i>Average monthly t°C</i>	3,07	9,80	20,27	13,35	11,62
	Relativna vlažnost vazduha (%) / <i>Relative air humidity (%)</i>	80,25	68,00	71,50	77,00	74,18
2003.	Količina padavina (mm) / <i>Precipitation (mm)</i>	51,20	34,20	33,02	88,45	51,71
	Srednja mesečna t°C / <i>Average monthly t°C</i>	1,80	7,50	21,97	13,00	11,06
	Relativna vlažnost vazduha (%) / <i>Relative air humidity (%)</i>	82,25	67,00	63,25	75,50	72,00
2004.	Količina padavina (mm) / <i>Precipitation (mm)</i>	71,45	50,75	53,85	57,80	58,46
	Srednja mesečna t°C / <i>Average monthly t°C</i>	2,62	9,65	19,05	14,70	11,50
	Relativna vlažnost vazduha (%) / <i>Relative air humidity (%)</i>	79,25	70,00	68,25	75,50	73,25

Na osnovu dobijenih rezultata, uočeno je da je količina padavina upravo proporcionalna procentu zaraženosti goveda metiljem.

Po podacima iz Republičkog hidrometereološkog zavoda, 2000. godina je bila godina sa malom količinom padavina, što je uticalo da procenat fascioloznih goveda bude niži u 2001. godini. Međutim, 2001. i 2002. godina su bile godine sa većom količinom padavina, što se odrazilo i na procenat fascioloznih goveda u 2002. i 2003. godini, koji je znatno veći. Mala količina padavina tokom 2003. godine uslovlila je nizak procenat zaraženosti u 2004. godini, a visoke srednje temperature vazduha u 2003. godini i 2004. godini su, najverovatnije, uticale na manji procenat metiljavosti u 2004. godini i 2005. godini.

U prilog ovome su podaci o poznavanju razvojnog ciklusa velikog metilja. Naime, jedan period u razvojnem ciklusu velikog metilja odvija se u vodi i u prelaznom domaćinu, barskom pužiću *Galba truncatula*, kome odgovaraju

staništa koja su, duže ili kraće vreme u toku godine, pod vodom (plitke bare, potoci i ustajale vode) [9, 10, 18], što se u potpunosti poklapalo sa našim nalazima.

Razvoju velikog metilja potrebna je i povoljna temperatura vode (15-30°C), a pogodna temperatura vode za barskog pužića je 10-27°C. Pri ekstremno nižim temperaturama, pužići se zavlače u mulj, tu preživljavaju i predstavljaju izvor infekcije narednog proleća [9, 18]. Meteorološki podaci prikupljeni za ispitivani period idu u prilog dobijenim rezultatima.

Analizom dobijenih rezultata, očigledno je da su ekonomski gubici znatni, što se podudara sa podacima iz drugih zemalja, pa i onim sa intenzivnijom stočarskom proizvodnjom [5, 12, 17, 19]. Na pojavu i rasprostranjenost fascioleze uticalo je više faktora – klimatski faktori [1, 3, 14, 18], prisutnost prelaznog domaćina u staništima koja su pod vodom duži period u toku godine [2, 3, 9, 14, 18], veliki krug stalnih domaćina, kao i način i stepen iskorišćavanja pašnjaka [9, 14].

Faktori koji su u ispitivanom području doprineli pojavljivanju fascioleze, sigurno su povoljni i za pojavu drugih parazitoza digestivnog trakta goveda [4]. Da bismo doprineli efikasnijoj i ekonomičnijoj govedarskoj proizvodnji u ispitivanom području, ukazuje se neophodnost planske primene adekvatnih antihelmintika, kao i mera radi onemogućavanja razvoja i preživljavanja preparazitskih stadijuma u spoljašnjoj sredini i infekcije životinja. Značajno mesto zauzima i edukacija stočara, posebno ako se ima u vidu da je fascioleza oboljenje zajedničko za životinje i ljude [11].

Literatura / References

1. Azhar M. *et al*: Epidemiology of fasciolosis under different managemental conditions. Vet. Arhiv, 72, 221-228, 2002.
2. Cringoli G. Rinaldi I.: Ware as risk factor for helminthiasis in domestic ruminants in the central and southern Italy and zoonotic risk Ann Ig. 15 (4 suppl 1) 43-46, 2003.
3. Cruz-Mendoza I., Ibarra-Velarde F., Quintero-Martinez M. T., Naranjo-Garcia E., Lecumberri-Lopez J., Correa D.: Seasonal transmission of *Fasciola hepatica* in cattle and *Lymnaea (Fossaria) humilis* snails in central Mexico. Parasitol Res. 95, 4, 283-286, 2005.
4. Damjanović D., Kulišić Z., Aleksić N., Lepojević O.: Gastrointestinal parasites of calves. Abstracts of World Veterinary Congress (WVA Scientific Programme), Yokohama, Japan, 1995, 97.
5. Derylo A, Szilman P.: Extensivity of invasion *Fasciola hepatica* L. in cattle in the period 1957-1998 valuation of losses caused by staggers disease among cattle in Poland, 1995-1997. Wiad Parazytol. 45, 2, 169-179, 1999.
6. Dimitrijević Sanda: Dijagnostika parazitskih bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd 61- 62, 1999.
7. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara: Značaj koprološke analize u dijagnostikovanju važnijih helmintoza domaćih životinja, Vet. glasnik, 58, 3-4, 369-375, 2004.
8. Gajewska A, Smaga-Kozłowska K, Wisniewski M.: Pathological changes of liver in infection of *Fasciola hepatica*. Wiad Parazytol. 51, 2, 115-23, 2005.
9. Kulišić Z.: Helminтологија, Veterinarska komora Srbije, Beograd, 32-37, 2001.
10. Kulišić Z.: Metiljavost - pojavljivanje i mere zaštite. Savremeno stočarstvo, 5, 157-159, 1988.
11. Kulišić Z.: Parazitske zoonoze u Srbiji. Zbornik kratkih sadržaja V savetovanja veterinara Srbije, Kopaonik, 62-65, 1992.
12. Michalski M.: The influence of *Fasciola hepatica* invasion on the assorted milk quality parameters in cows. Wiad Parazytol. 48, 2, 225-229, 2002.
13. Pejin Ivana: Zbirka zadataka, Osnovi statistike. Pomoćni udžbenik. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 133-141,

167-190, 1994. - 14. Popović B., Ilić Tamara, Dimitrijević Sanda: Epizootologija parazitskih oboljenja na području Jablaničkog okruga. Zbornik kratkih sadržaja 9. savjetovanja veterinar Republike Srpske, Teslić, 48, 2003. - 15. Pravilnik o načinu vršenja veterinarsko-sanitarnog pregleda i kontrole životinja pre klanja i proizvoda životinjskog porekla. Sl. list SFRJ 68/89. - 16. Pritchard G. C., Forbes A. B., Williams D. J., Salimi-Bejestani M. R., Daniel R. G.: Emergence of fasciolosis in cattle in East Anglia. Vet Rec. 157, 19, 578-582, 2005. - 17. Schweizer G. et al: Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. Vet Rec. 157, 7, 188-93, 2005. - 18. Šibalić S., Cvetković Lj: Parazitske bolesti domaćih životinja, Univerzitet u Beogradu, Beograd 227-253, 1990. - 19. Theodoropoulos G. et al: Abattoir condemnation due to parasitic infections and its economic implications in the region of Trikala, Greece Vet Med B. Infect Dis Vet Public health, 49, 6, 281-284, 2002. - 20. Zakon o veterinarstvu. Sl. glasnik RS 91/2005.

ENGLISH

***Fasciola hepatica* FINDINGS IN CATTLE OF JABLANICA REGION**

**Valentina Milanovic, A. Nitovski, Z. Kulisic, M. Mirilovic, B. Popovic,
Dragana Djordjevic**

In the period from January 2001 to December 2005, a total of 6,904 slaughtered cattle originating from the territory of the region of Jablanica were examined at the Mesokombinat AD abattoir. The Trematoda *Fasciola hepatica* was found in 429 cattle (6.21%). A total of 2,150 kg livers were condemned due to the presence of the liver fluke.

A comparison of cattle with bovine fasciolosis according to the years yielded a very significant difference ($p < 0.01$) between the year 2003 (10.02) and the year 2002 (9.97), on the one side, in comparison with the years 2001 (5.14), 2004 (3.37), and 2005 (5.08), on the other side. A significant difference ($p < 0.05$) was also established in the year 2004 (3.37) in comparison with the years 2001 (5.14) and 2005 (5.08).

After analyzing the significance of the differences between the infected cattle according to the seasons, a very significant difference ($p < 0.01$) was established between the summer (7.23) and the winter (4.74) periods. A significant difference ($p < 0.05$) was also established between the autumn (6.49) and the winter periods.

The amount of precipitation was directly proportionate to the percentage of cattle infected with fasciolosis.

Key words: cattle, liver, *Fasciola hepatica*, region of Jablanica

РЕЗУЛЬТАТЫ *FASCIOLA HEPATICA* У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РЕГИОНА ЯБЛАНИЦЫ

Валентина Миланович, А. Нитовски, З. Кулишич, М. Мирилович, Б. Попович, Драгана Джорджевич

В периоде от января 2001 до декабря 2005 года, в скотобойне АО "Мясокомбинат" в Лесковце осмотрено 6904 убитого крупного рогатого скота, с территории региона Ябланицы. У 429 крупного рогатого скота (6,21 %), изобретена трематода *Fasciola hepatica*. Из-за неупотребительности, конфисковано 2150 кг фасцилёзных печеней.

Сравнением числа фасциолёзного крупного рогатого скота по годам, установлена очень значительная разница ($p < 0,01$) среди 2003 года (10,02) и 2002 года (9,97) с одной стороны в отношении 2001 (5,14), 2004 (3,37) и 2005 (5,08) года с другой стороны. Значительная разница ($p < 0,05$) установлена 2004 года (3,37) в отношении 2001 (5,14) и 2005 (5,08) года.

Анализируя сигнификантность разниц инфицированного крупного рогатого скота по сезонам установлена очень значительная разница ($p < 0,01$) среди летнего (7,23) и зимнего (4,74) периода. Сигнификантная разница ($p < 0,05$) установлена среди осеннего (6,49) и зимнего периода.

Количество осадок было именно пропорционально проценту заражения крупного рогатого скота метилем.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, печень, *Fasciola hepatica*, регион Ябланицы

**EFFECT OF DIFFERENT SLAUGHTERING METHODS ON
DEATH TIME OF DAGLIC BREED LAMBS***
*UTICAJ RAZLIČITIH METODA KLANJA NA VREME SMRTI JAGNJADI
DAGLIC RASE*

Emek Dümen, Tolga Kahraman**

In this study, 80 Daglic race, male 8-month-old sheep were used as material. The sheep were separated in 4 groups. The sheep in the group 1 were slaughtered in horizontal position and non – stunned. The sheep in group 2 were slaughtered in vertical position and non–stunned. The head-only stunning procedure was applied to the third group and the sheep were stunned in horizontal position. Group 4 sheep were slaughtered in vertical position after the head-only stunning procedure was applied. According to the obtained results, bleeding time, total blood amount, live weight ,and percent of total blood parameters were significantly different among the groups. It is important to apply stunning applications for the welfare of the slaughtering farm animals. Also, the quality of meat and its products is directly related with the bleeding time and total amount of bleeding parameters.

Key words: lamb daglic breed, slaughtering methods

Introduction / Uvod

The European Community Council reports to provide animal welfare conditions of slaughtering animals in all parts of the slaughtering procedure. Also, the Council reports that the staff must avoid inflicting pain to the slaughtering animals by Directive 93 / 119 / EEC accepted on 22nd of December, 1993 [8]. In most developed countries, the procedures that will be applied both before and after slaughtering are prescribed by law [1, 6, 9, 14, 21].

According to the laws of the USA, slaughter without using humane applications is not legal [20]. Failure to provide humane slaughtering conditions,

* Rad primljen za štampu ??? 2007. godine

** Ph. D, Emek Dümen, Tolga Kahraman, Doctoral Researcher, Istanbul University, School of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Avcılar, Istanbul, Turkey

causes a lot of problems regarding staff safety, ethic rules and has a negative effect on the efficiency of the plants. The violation of consumer rights is another problem related to this subject [6, 10, 11, 12].

Consumers increasingly demand that the breeding, transport, and slaughter of slaughtering animals is carried out with humane applications [4, 6, 10, 22, 23]. Some revisions are necessary for developing and developed countries to resolve international trade problems and avoid economic losses [20, 24].

A lot of painless slaughtering methods have been developed by scientists to prevent the pain of the animals during the slaughtering processes [27]. Head-only stunning is an easy to apply and economic method for the plants. Also, it is suitable for the religious beliefs of our country because it is a reversible stunning method for the animals [5, 13, 18, 27]. It is pretty important to restrain the animals in the special traps designed for slaughtering to provide the staff's safety and to prevent stress for the animals [8, 10, 14, 21].

Another important point is the reversible effect of the stunning methods on animals [3, 7]. Death situation occurs by cutting *Arteria carotis communis* or *Vena jugularis* or both of them, hypovolemic shock takes shape after the occurrence of cerebral ischemia and, finally, death takes place [7, 15]. Normal brain activities and pain feeling are restored soon after stunning, so that it is important to take into consideration the time interval between stunning and slaughtering, and suitable processes must be applied for painless slaughtering [2, 3].

The objective of this study is to determine the death time of lambs for different slaughtering methods. Furthermore, it provides scientific information for using humane slaughtering processes in the industry.

Materials and methods / Materijal i metode

Eighty male 8-month-old Daglic race sheep were used as material. The sheep were procured from the Istanbul Metropolitan Municipality Sheep Sales Centre. The sheep were separated into 4 different groups and transported to the slaughterhouse of the Istanbul Metropolitan Municipality. After transportation, the sheep were weighed (Baster, Model BK, 5-300 kg) and homogeneous groups were formed according to the live body weight parameter. Lairaging was applied 24 hours, and feeding was stopped 6 hours before slaughtering. After 24 hours, antemortem examination was performed and the animals were transported to the slaughtering line. Sheep in the stunning group were stunned by the head-only stunning method by applying 220 – 250 Volt, 1.0 – 1.3 ampere alternative current. After stunning, the sheep were restrained from their right back leg and elevated to the monorail line. Slaughtering was applied between the 17th – 20 th second of the tonic phase.

Experiment groups / Eksperimentalne grupe

Group 1: The first group was the control of group 3. 20 sheep were included in group 1 (n=20). This group was slaughtered non – stunned in a horizontal position. *Arteria carotis communis*, *trachea* and *oesophagus* were cut.

Group 2: The second group was the control group of group 4 (n=20). Vertical non – stunning slaughtering procedure was applied by cutting *Arteria carotis communis*, *trachea* and *oesophagus*.

Group 3: After application of the head-only stunning method, *Arteria carotis communis*, *Vena jugularis*, *trachea* and *oesophagus* were cut. The traditional horizontal slaughtering technic was applied to this group.

Group 4: After application of the head-only stunning method, the vertical slaughtering technic was performed by cutting *Arteria carotis dextra*, *Arteria carotis sinstra*, *trachea*, *oesophagus*, *Arteria pulmonaris* and *Aorta*.

The blood of the animals was gathered in cleanable plastic buckets and weighed for the determination of the total blood amount of each sheep. From the beginning of the slaughtering process, various reflexes were checked to fix the exact time of death, and all the slaughtering processes were recorded for further examinations. To determine the exact death time of the sheep, palpebral reflexes, arhythms in respiration, stopping of respiration and pupillar reflexes were checked in order.

Results / Rezultati rada

Duncan one way variance analysis was applied to all the parameters. The tables below show the values of the analysis results.

Table 1. *Duncan Anova (one way variance analysis) values of the parameters*
Tabela 1. *Duncan Anova (analiza jednosmerne varijante) vrednosti parametara*

	Group 1 / <i>Grupa 1</i>	Group 2 / <i>Grupa 2</i>	Group 3 / <i>Grupa 3</i>	Group 4 / <i>Grupa 4</i>
Live Weight (kg) / <i>Živa težina (kg)</i>	37.27	38.22	36.30	39.02
Bleeding Time (sec) / <i>Vreme iskrvarenja (sek)</i>	168 ^{ab}	177.6 ^a	161.4 ^b	144.6 ^c
Total Blood Amount (cc) / <i>Ukupna količina krvi (cc)</i>	1454.15 ^b	1435.10 ^b	1621.35 ^{ab}	1884.40 ^a
Percent of Total Blood (%) / <i>Procentat ukupne krvi (%)</i>	3.90 ^b	3.70 ^{bc}	3.99 ^b	4.582 ^a
Time of Death (sn) / <i>Vreme smrti (sn)</i>	138.00	111.75	–	–

Spearman correlation analysis for all the parameters are indicated in the table 2.

Table 2. Spearman correlation analyze values of the parameters

Tabela 2. Analiza Spearman korelacije za vrednosti parametara

	Live Weight / Živa težina (kg)	Bleeding Time / Vreme iskrvarenja (sec)	Total Blood Amount / Ukupna količina krvi (cc)	Percent of Total Blood / Procenat ukupne krvi (%)	Time of Death Vreme smrti (sn)
Live Weight (kg) / Živa težina (kg)	1.000	0.014	0.626**	0.87	0.013
Bleeding Time (sec) / Vreme iskrvarenja (sek)	0.014	1.000	-0.171	-3.99**	-0.161
Total Blood Amount (cc) / Ukupna količina krvi (cc)	0.626**	-0.171	1.000	0.391**	0.064
Percent of Total Blood (%) / Procenat ukupne krvi (%)	0.087	-3.99**	0.391**	1.000	0.220
Time of Death (sn) / Vreme smrti (sn)	-0.013	-0.161	0.064	0.220	1.000

Discussion and conclusion / Diskusija i zaključak

Eighty Daglic race, male, 8-months-old sheep were used in our study. The sheep were separated into 4 groups. After slaughtering, palpebral reflexes, the breakdown and stopping of the respiration rhythm, and pupillar reflexes were checked in order to determine the exact time of death. After the stopping of the functions above in order, the pupillar reflex test was applied to the sheep, and after the losing of the pupilla reflex due to accommodation paralysis it was decided that the death situation took shape.

According to the studies related with the time of death, scientists report that brain death takes shape in order to stop respiration and the loss of the pupillar reflexes (generally midriasis, occasionally miosis). Hip reflexes are rarely used as a helper parameter [27]. According to a study performed on rats, Stephen *et al.* [25], reports that the brain death occurs because of cerebral perfusion and the decrease of the arterial blood pressure and these situations cause the collapse and loss of corneal reflexes. Newhook and Blackmore [22], determined the exact time of death of 8 calves, by the losing of the corneal and palpebral reflexes and they indicated that the first insensibility existed 65 – 85 seconds after slaughtering and palpebral reflexes were not lost up to the 300th second after slaughtering was applied. The same scientists performed a similar study like us and they showed the reversible insensibility lasted after 18 – 42 seconds in sheep after the

head-only stunning procedure was applied (23). Parallel to Newhook and Blackborne, we determined that the reversible insensibility lasted 25 – 35 seconds after head only stunning technic was applied to the sheep. This situation takes about 15 seconds in pigs [2].

In our study, the determination of the exact time of death was based on the losses of the palpebral reflexes, arhythmies and stopping of the respiration, and lastly the inhibition of the pupillar reflexes due to accommodation paralysis in order. The processes were also recorded for recovery.

Taking shape of the exact time of death was about 138 seconds on the average for the first group according to the criteria indicated above. For the second group, this time interval was about 111,75 seconds on the average. These periods include the moment of inhibition of the last reflexes (pupillar reflexes) according to our criteria for the exact time of death. The inhibition of palpebral reflexes was about 70 seconds on the average and the stopping of respiration was about 118 seconds on the average for the first group. These values were 60 and 93 seconds in order for the second group.

Because the first two groups were the control groups of the 3rd and 4th group, and because the head-only stunning method was not applied to the 1st and 2nd group, the losses of the reflexes and the arhythmies and the stopping of the respiration could be observed clearly. However, a reversible insensibility situation took shape in group 3 and group 4 because the head-only stunning method was applied. The sheep in group 3 and 4 were slaughtered when they were insensible of pain so the reflexes that determine the exact death time could not be observed clearly, unlike in group 1 and group 2.

The sodium – potassium pump is responsible for the sodium and potassium gradients at both sides of the cell membrane. While the sodium is pumped out of the cell, the concentration of sodium in the cell is decreased fast, but the potassium concentration in the cell increases at the same speed of the decreasing concentration of sodium because of the pumping of potassium directly into the cell. This reaction moves ahead within the cells or neurons like a wave and transmission of the impulses is formed [16]. The autonomous nervous system controls the reflex arcs, and its working principle is based on electrical stimulation because of the repolarization and depolarization mechanisms existing in the sodium – potassium pump. We think that we could not determine the exact time of death of the groups to which the head-only stunning method was applied, because of the electrical current that is given to the animals. We believe that the autonomic nervous sistem was affected by the extra, non-physiologic and high voltage electric current and transmission problems occurred in the reflex arcs.

We found significant differences in some parameters according to the Duncan one way variance analysis and Spearman correlation analysis results. According to our results; we did not observe any significant differences in the live weight parameters among the groups. We attempted to form all the groups at the

most homogenous form for gathering the accurate data from the other parameters.

Significant differences were observed in the bleeding time parameter between group 1 and group 4. There were also significant differences between group 2 and group 3, group 2 and group 4, and, finally, between group 3 and group 4. We concluded that lowest value was analysed in group 4 because the vertical slaughtering method was applied and also the arteries close to the heart were cut. An another point according to our findings, there was no spasm in the sheep, included in group 4, because of pain insensibility. So we believe that the bleeding time and total amount of blood parameters are inversely proportional each other.

In the total blood amount parameter, there are significant differences between group 1 and group 3, group 2 and group 3, group 1 and group 4, and, finally, group 2 and group 4. The total amount of blood values in group 3 was higher than in group 2. We think these results are due to the head only stunning method applied to group 3. When the stunning processes are applied, no spasms are observed in the white muscles, and no pain is perceived [17]. This procedure is in keeping with the directive of the European Council prepared for the welfare of the slaughtering animals accepted on the 22nd of December under the number 93/119/EEC, 1993 [8].

When considering the percent of the total amount of blood parameter, group 4 can be observed as the group that has the highest average level. Also, significant differences were determined between group 1 and group 4, and group 2 and group 4. These values strengthen our opinion that the slaughtering procedure must be combined with stunning.

In the time of death parameter, group 1 has the average time of 138 seconds, group 2 has the average time of 111.75 seconds. Unfortunately, the exact death times could not be determined clearly because of the head-only stunning application. Due to this situation, we cannot compare all the groups for this parameter.

For the Spearman correlation analysis among the parameters, negative and positive correlation results were revealed. According to these results;

A positive correlation result and a significant difference was found between live weight and the total blood amount. Because the blood amount of the body and live weight parameters are directly proportional each other, we think that this result is logical. Also, we observed a positive correlation between bleeding time and live weight parameters.

A negative correlation existed between live weight and time of death parameters. According to Guyton [16], calcium is released from the synaptic terminals. The conditions causing the decrease of the calcium ions entering to the presynaptic terminals, will decrease the transmitters that are set free, too. Thus, there would exist the problem of the stepped up transmission of the impulses or the existing defects. The decreasing of the transmitters that are set free is due to

the depolarization of the presynaptic terminal by a weak action potential or a decreasing the permeability of the presynaptic terminal to the calcium ions, or a decreasing the calcium concentration in the extracellular liquid. According to all this information given above, we think that the negative correlation between the live weight and time of death parameters is due to the rapidly decreasing calcium ions in the body. We also think that the head-only stunning and slaughtering processes are the important parameters that effects the calcium concentration and the permeability of the presynaptic terminals.

We determined a positive correlation between the bleeding time and total amount of blood parameters. The total amount of blood would be increase due to bleeding time. We also determined a negative correlation between the bleeding time and time of death parameters. These correlation results are logical, in our opinion, in spite of the differences not being significant.

We observed a positive correlation and significant difference between the total amount of blood and the percent of the blood to the live body weight parameters. We were expecting a direct proportional result between these two parameters. A negative correlation existed between the total amount of blood and time of death parameters, but the difference was not significant.

There was a positive correlation between the percent of the blood to the live body weight and time of death parameters, but the difference between these parameters was not significant, either. We attribute this situation to the inhibition the synaptic transmitters of being set free due to decreasing calcium ions.

According to the obtained results, there are strong relationships between the parameters we analysed and the slaughtering processes. It is important to apply stunning applications both for the welfare of the slaughtering farm animals and the parameters like, bleeding time, time of death, total amount of bleeding. Also, the quality of meat and its products is directly related with the bleeding time and the total amount of bleeding parameters. The application of vertical slaughtering technics with stunning processes would be useful for the welfare of farm animals.

ACKNOWLEDGEMENT: This study was supported by Istanbul University, Scientific Reseaches Projects Institue with the protocol number of 85/15052003.

References / *Literatura*

1. Anderson R. S.: The Welfare of Pigs, Cattle and Sheep at Slaughter. *Compassion in World Farming Trust*, August, 1993. - 2. Anil M. H.: Studies on the return of physical reflexes in pigs following electrical stunning, *Meat Science*, 30, 13-21, 1991. - 3. Anil M. H., Mc Kinstry J. L., Wotton S. B.: Electrical Stunning and Slaughter of pigs. *Fleischwirtschaft*, 3, 8-13, 1997. - 4. Appleby M. C., Hughes B. O.: Introduction. In *Animal Welfare*. M.C Appleby and B.O Hughes (Eds). Wallingford: *CAB International, U.K*, 1998. - 5. Berghaus A., Troeger K.: Electrical stunning of pigs: Minimum current flowtime required to induce epilepsy at various frequencies. *Proc. International Congress of meat Science and Technology (Barcelona, Spain)*, 44, 1070-1071, 1998. - 6. Birchall A.: The rough road to slaughter. *New*

Scientist (24 November), 33-38, 1990. - 7. Cook C. J.: Stunning Science, a guide to better electrical stunning. *Meat Industry Research Conference, Hamilton, New Zealand*, 1992. - 8. Council Directive 93 / 119 / EEC of 22 December 1993 on the protection of animals at the time of slaughter or killing. *Official Journal* 340, 31 / 12 / 1993 pp. 0021-0034, 1993. - 9. Council of Europe Council Directive of 18 November on Stunning of Animals Before Slaughter (74 / 577 / EEC). *Official Journal of European Communities*, No. L 316, (26 November), 10-11, 1990. - 10. Dawkins M. S.: From an animal's point of view. Motivation, fitness and animal welfare. *Behavioral and Brain Sciences*, 13, 1-16, 1990. - 11. Debrot, S. and Constantin, A. Hygiene et Production de la Viande. *Les operations d'abattage, Chapitr 45, Librairie - Maloine S.A. Paris*, 277-287, 1993. - 12. Dumont B. L.: Hygiene et Technologie de la Viande Fraiche, *Editions du Centre Nationale de la Recherche Scientifique 5, quai Anatole France*. 75700 - Paris, 33- 37, 1982. - 13. Grandin T., Regenstein J. M.: Religious Slaughter and Animal Welfare: A Discussion for Meat Scientist. *Meat Focus (March)*, 115-123, 1994. - 14. Grandin T.: Animal handling. E.O. Price Edition. *Vet. Clin. North Am.*, 3, 323, 1987. - 15. Gregory N. G., Wotton S. B.: Sheep slaughtering procedures. 11. Time to loss of brain responsiveness after exsanguination or cardiac arrest. *British Veterinary Journal*, 140, 354-360, 1984. - 16. Guyton A. C.: *Textbook of Medical Physiology, 7th edition, W.B. Saunders Company*, 1986. - 17. Halil A., Kesim Öncesi Kasaplik Koyunlara Uygulanan Elektrikle Bayilma Metodunun Et Kalitesine Etkisi Üzerine Araştırmalar, *Istanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul*, 1999. - 18. Lawrie R. A.: *Meat Science, 86 - 88 Fifth edition, Pergamon Press*, 1991. - 19. Legal Information Institute, US Code Collection: Humane Methods of Livestock Slaughter. - 20. [www4.law.cornell.edu/ uscode/7/ch48.html](http://www4.law.cornell.edu/uscode/7/ch48.html) - 21. Manteca X.: Neurophysiology and assessment of welfare. *Proc. International Congress of Meat Science and Technology (Barcelona, Spain)*, 44, 146-153, 1998. - 22. Newhook J. C., Blackmore D. K.: Electroencephalographic studies of stunning and slaughter of sheep and calves - part 2: The onset of permanent insensibility in calves during slaughter, *Meat Science*, 6, 295-300, 1982a. - 23. Newhook J. C., Blackmore D. K.: Electroencephalographic studies of stunning and slaughter of sheep and calves - part 3: The duration of insensibility induced by electrical stunning in sheep and calves, *Meat Science*, 7, 19-28, 1982b. - 24. Purnell R.: Handling signals: Technology may improve handling practices, but economic incentives will make new practices the norm. *Beef. (November Issue)*, 48-50, 1998. - 25. Stephen W., Gottstein J., Levy R., Blei T. A.: Intracranial pressure waves and intracranial hypertension in rats with ischemic fulminant hepatic failure, *Hepatology*, 14, 715-720, 1991. - 26. Stevenson P.: The Welfare of Pigs, Cattle and Sheep at Slaughter. *Compassion in World Farming Trust*, 1993. - 27. Zang T. X., Shi Y. J., Sheng H. Q., Wei G. H., Zhao W. G.: Clinical Diagnosis of 26 cases of brain death. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 17, 84, 2, 93-96, 2004.

SRPSKI

UTICAJ RAZLIČITIH METODA KLANJA NA VREME SMRTI JAGNJADI DAGLIC RASE

E. Dümen, T. Kahraman

Materijal u ovom dobijen je od 80 mužjaka ovaca Daglic rase starih 8 meseci. Ovce su bile podeljene u 4 grupe. Ovce prve grupe zaklane su u horizontalnom položaju i bez omamljivanja. Ovce druge grupe zaklane su u vertikalnom položaju i bez omamljivanja. Procedura omamljivanja samo preko glave primenjena je kod treće grupe i ovce su omamljivane u horizontalnom položaju. Ovce četvrte grupe su zaklane u vertikalnom položaju pošto

je primenjena metoda omamljivanja samo u predelu glave. U skladu sa dobijenim rezultatima, vreme iskrvarenja, ukupna količina krvi, živa težina, i procenat ukupnih parametara krvi značajno su se razlikovali izmedju grupa. Važno je primenjivati postupak omamljivanja zbog dobrobiti farmских životinja koje se kolju. Takodje, kvalitet mesa i proizvoda od mesa je u direktnoj korelaciji sa vremenom iskrvarenja i ukupnom količinom parametara iskrvarenja.

Ključne reči: jagnjad daglik rase, metode klanja

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ УБОЯ НА ВРЕМЯ СМЕРТИ ЯГНЯТ ДАГЛИЦ ПОРОДЫ

Е. Думен, Т. Кахрамана

Материал в этом получен из 80 самцов овец Даглиц породы им 8 месяцев. Овцы были разделены в 4 групп. Овцы первой группы убиты в горизонтальном положении и без обольщения. Овцы второй группы убиты в вертикальном положении и без обольщения. Процедура обольщения только поверх головы применена у третьей группы и овцы обольщены в горизонтальном положении. Овцы четвёртой группы убиты в вертикальном положении после того как применён метод обольщения только в пределах головы. В соответствии с полученными результатами, время окровавления, совокупное количество крови, живой вес, и процент совокупных параметров крови значительно различались среди групп. Важно применять поступок обольщения из-за благосостояния ферменных животных, убивающих. Также, качество мяса и продуктов из мяса в прямой корреляции с временем окровавления и совокупным количеством параметров окровавления.

Ключевые слова: ягнят даглиц породы, методов убоя

**NALAZ *ESCHERICHIA COLI* I ENTEROKOKA U SIREVIMA
PROIZVEDENIM U DOMAĆINSTVU***
***FINDINGS OF ESCHERICHIA COLI AND ENTEROCOCCUS SPP. IN
HOMEMADE CHEESE***

Z. Tambur, Dolores Opačić, R. Doder, M. Marković**

Za sireve koji se proizvode u domaćinstvu nema podataka koliko je to higijenska proizvodnja i hteli smo da ispitamo ove dve grupe bakterija kao indikatora higijene u proizvodnji sireva proizvedih u domaćinstvu.

*U periodu od februara do marta 2004. godine mikrobiološki je ispitano 108 uzoraka sira proizvedenog u domaćinstvu, sa pijaca iz Pančeva, Subotice i Beograda. Izolovanje *Escherichia coli* je rađena metodama opisanim u Pravilniku o metodama vršenja mikrobioloških analiza i superanaliza životnih namirnica (SI list SFRJ 25/80). Izolovanje *Enterococcus* vrsta u namirnicama je izvođeno na dekstroznom teluritnom agaru.*

*Iz 108 uzoraka mladog sira sa područja Pančeva, Beograda i Subotice izolovani su: *Enterococcus* spp. iz 96%, *Escherichia coli* iz 69% uzoraka sira.*

*Ni iz jednog uzorka sira nije izolovana verocitotoksična *Escherichia coli*.*

*Ključne reči: sir, *Enterococcus*, *Escherichia coli**

Uvod / Introduction

Sir, koji se tradicionalno ne proizvodi u domaćinstvu u pravilu se proizvodi od sirovog mleka, pa može da sadrži mikroorganizme poreklom iz vimena ili mikroorganizme iz okoline [1, 2, 15, 16].

Poslednjih godina, verocitotoksin/Shiga toksin produkujući *E. coli* (VTEC/STEC) pojavljuju se kao značajan uzročnik alimentarnih oboljenja ljudi-

* Rad primljen za štampu 13. 4. 2007. godine

** Mr sc. vet. med. Zoran Tambur, Institut za higijenu, VMA, Beograd; mr sc. biol. Dolores Opačić, Institut za epidemiologiju, VMA, Beograd; doc. dr sc. med. Radoje Doder, Klinika za gastroenterologiju, VMA, Beograd; Miroslav Marković, vet. spec., Institut za toksikologiju i farmakologiju, Centar za kontrolu trovanja, VMA, Beograd

uzročnik dijareja, hemoragičnog kolitisa i hemolitičko uremijskog sindroma [5]. Glavni izvor kontaminacije mleka su goveda, međutim, sojevi verocitotoksin/Shiga toksin produkujui *E. coli* dokazani su i kod ovaca, koza, a sporadično kod živine i svinja [7]. Infekcija ljudi ovim mikroorganizmima dovode se u vezu kada oni jedu kontaminiranu hranu i vodu, termički nedovoljno obrađenu hranu životinjskog porekla i nepasterizovanog mleka [12]. Neki autori su ustanovili prisustvo verocitotoksičnosti *E. coli* u siru proizvedenom u domaćinstvu [6].

Faktori virulencije koji doprinose patogenezi obuhvataju:

- stvaranje jednog ili oba fagom kodirana verocitotoksina (VT1 i VT2), koji inhibiranjem proteinske sinteze izazivaju smrt enterocita, endotelinih ćelija malih krvnih sudova creva, bubrega, mozga i ostalih ćelija koje poseduju Gb3 (globotriazail) receptor, a *in vitro* smrt Vero i HeLa ćelija;

- adhezin intimin kojim je omogućena intimna adherencija za enterocite;

- enterohemolizin [11].

Opisano je trovanje sirom u kome je pronađena enterotoksigena *Escherichia coli* O27:H20 [9]. Fantasia i sar. [4] izveštavaju o nalazu enteropatogenih *E. coli* u siru. Najčešće izolovan soj O124:B17 ne fermentuje laktozu unutar 48 časova. Od pregledanih uzoraka više od 10% izolata je pripadalo serološkim grupama koje izazivaju dijarealna oboljenja. U siru od nepasterizovanog mleka Quinto i sar [15] ustanovili su prisustvo ETEC, VTEC i NTEC.

Budući da Pravilnikom [14] nije predviđeno ispitivanje sira na prisustvo verocitotoksin/Shiga toksin produkujui *Escherichia coli*, a imajući u vidu aktuelnost ovih patogena koji se hranom prenose na ljude, cilj ovog rada je bio da se ispita kontaminacija sira sa *Escherichia coli* i u slučaju nalaza ovog mikroorganizma utvrdi eventualno prisustvo verocitotoksičnih (VTEC) sojeva.

Materijal i metode / Materials and methods

U periodu od februara do marta 2004. godine mikrobiološki je ispitano 108 uzoraka sira iz domaćinstva, koji potiče sa pijaca iz Pančeva, Subotice i Beograda.

Za izolovanje i identifikaciju *Escherichia coli* iz razređenja 1:100 zasejan je 1 ml u epruvetu sa brilijant-zelenim laktoza žučnim bujonom sa Durhamovom cevčicom. Podloga je inkubirana 24 do 48 časova na 44°C. Iz brilijant-zelenih laktoza žučnih bujona u kojima je došlo do stvaranje gasa u Durhamovim cevčicama posle 24 ili 48 časova jedna omčica materijala je presejana na površinu ljubičasto-crvenog žučnog agara. Karakteristične kolonije izrasle na ljubičasto-crvenog žučnog agara posle inkubacije od 24 časa na 44°C su presejane na kosi hranljivi agar. Za dalju identifikaciju sa hranljivog agara je rađen kratki biohemijski niz (IMVC) i zasejavano na površinu Chromo agara.

Enterokoke su izolovane zasejavanjem decimalnog razblaženja sira na površinu podloge sa kalijumteluritom (dekstrozni teluritni agar). Zasejane pod-

loge su inkubirane 24-48 časova na temperaturi od 37°C. Na podlozi sa kalijum teluritom *Enterococcus spp.* obrazuje sitne crne kolonije. Na mikroskopskom preparatu po Gramu vide se kao gram-pozitivne loptaste bakterije, pojedinačno, u parovima ili lancima. *Enterococcus* je identifikovan do nivoa roda na osnovu fermentacije eskulina i negativnog katalaza testa.

Dokazivanje verocitotoksina rađeno je na Vero kulturi tkiva [6]. Kultura Vero ćelija je nakon formiranja kontinualnog sloja tripsinizirana i resuspendovana u 5 ml Medium-a 199 sa 10% goveđeg seruma. Od toga je 2 ml dodato u 20 ml istog medijuma, a po 0.2 ml je sipano u svako okno sistema za minikulture. Sistemi minikultura su inkubirani 24 časa na temperaturi od 37°C uz 5% CO₂ do formiranja konfluentnog sloja. Ispitivani sojevi su zasejavani u 10 ml LB medijuma i inkubirani 24 časa na temperaturi od 37°C. Zatim je obavljeno centrifugovanje (3000 rpm/30 min), a supernatant odvajanje i korišćen za ispitivanje verocitotoksina. U 2 ml supernatanta dodat je gentamicin krajnje koncentracije 80 µg/ml. U svako okno sistema minikultura, dodato je po 0,05 ml ispitivanog supernatanta. Inkubacija je produžena naredna 72h. Nakon inkubacije obavljeno je ispiranje, fiksiranje metanolom i bojenje tkiva 5%-nim rastvorom po Giemsu. Ukoliko je mikroskopskim pregledom utvrđena promena izgleda većine ćelija kulture tkiva i redukcija njihovog broja za najmanje 50%, smatrano je da ispitivani soj stvara verocitotoksin. Kao pozitivna kontrola korišćen je verocitotoksičan soj *E.coli* O157:H7.

Rezultati rada i diskusija / Results and discussion

Rezultati rada mikrobiološkog ispitivanja uzoraka mladog sira sa područja Pančeva, Subotice i Beograda su prikazali u tabeli 1.

Tabela 1. Mikroorganizmi izolovani iz sira proizvedenom u domaćinstvu /
Table 1. Microorganisms isolated from soft cheese in homemade

Vrsta mikroorganizma / <i>Specie of microorganism</i>	Broj ispitanih uzoraka / <i>Number of examined samples</i>	Izolovani mikroorganizmi / <i>Isolated microorganisms</i>	
		Broj / <i>Number</i>	%
<i>Enterococcus spp.</i>	108	104	96,00
<i>Escherichia coli</i>	108	69	63,89

Od 108 pregledanih uzoraka sira ispitivani mikroorganizmi su izolovani iz 104 uzorka. *Enterococcus spp.* je izolovan iz 104 uzorka ispitivanih sireva. Naši rezultati su saglasni rezultatima drugih autora [8, 16]. *Escherichia coli* je izolovana iz 69 ispitivanih uzoraka mladog sira. Najmanji procenat kontaminacije po regionima bio je u Subotici (48,72%). Naši rezultati su saglasni sa rezultatima ispitivanja drugih autora [1, 2, 8]. Ispitivanjem 69 sojeva *E.coli*, izolovanih iz sireva, nije registrovan verocitotoksičan efekat. Naši rezultati se slažu sa atorima Vivegnis i sar. koji nisu izolovali *E.coli* O157:H7 iz 69 uzoraka mekih i polu-mekih

sireva i zaključuju da su ispitivani sirevi napravljeni od pasterizovanog mleka [17]. Nasuprot ovim podacima, Dontorou *et al* [3] utvrdili su prisustvo verocitotoksina (*E.coli* O157) u 1 od 100 (1%) uzoraka nepasterizovanog ovčijeg mleka, dok Quinto and Cepeda [15] ispitivanjem mekih sireva (n=221) napravljenih od nepasterizovanog kravljeg mleka otkrivaju 1 (0.4%) verocitotoksičan soj. Soj je pripadao serogrupi O2, koja se vezuje za nekoliko slučajeva HUS-a. U epidemiji prouzrokovanoj konzumiranjem nepasterizovanog mleka, kod predškolske dece je izolovana VTEC O157:H7, dok je kod 3 (7%) došlo do razvoja HUS-a [15]. Iako kod ovih sojeva nisu utvrđeni dodatni faktori virulencije koji bi izazvali oboljenje, sireve koji su napravljeni od nepasterizovanog mleka trebalo bi smatrati rizičnim zbog sposobnosti VTEC sojeva da prežive u različitim uslovima [17].

Zaključak / Conclusion

Iz 108 uzoraka sira iz domaćinstva uzorkovanih na pijaci u Pančevu, Beogradu i Subotici izolovani su: *Enterococcus* spp. iz 96%, *Escherichia coli* iz 69%. Verocitotoksična *Escherichia coli* nije dokazana kod izolovanih sojeva.

Literatura / References

1. Ansay S. E., Kaspar C. W.: Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7, Lett. Appl. Microbiol., 25, 2, 131-134, 1997.
2. Araujo V. S., Pagliares V. A., Queiroz M. L., Freitas-Almeida A. C.: Occurrence of Staphylococcus and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil, J. Appl. Microbiol., 92, 6, 1172-1177, 2002.
3. Dontorou C., Papadopoulou C., Filioussis G., Economou V., Apostolou I., Zakkas G., Salamoura A., Kansouzidou A., Levitidou S.: Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 From Foods In Greece. International Journal of Food Microbiology 82, 3, 273-279, 2003.
4. Fantasia L. D., Mestrandrea L., Schrade J. P., Yager J.: Detection and growth of enteropathogenic *Escherichia coli* in soft ripened cheese. Applied Microbiology, 179-185, 1975.
5. Heuvelink A. E., van den Biggelaar F. L. A. M., Zwartkruis-Nahuis J. T. M., Herbes R. G., Huyben R., Nagelkerke N., Melchers W. J. G., Monnens L. A. H., de Boer E.: Occurrence of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157 on Dutch Dairy Farms. Journal of Clinical Microbiology, 3480-3487, 1998.
6. Karmali M. A.: Laboratory Diagnosis of Verotoxin-Producing *E. coli* Infections. Clin Microbiol Newslett, 9, 9, 65-70, 1987.
7. Keskimaki M., Saari M., Heiskanen T., Siitonen A.: Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Finland from 1990 through 1997: Prevalence and Characteristics of Isolates. Journal of Clinical Microbiology, 3641-3646, 1998.
8. Laukova A., Czikkova S.: Antagonistic effect of enterocin CCM 4231 from *Enterococcus faecium* on „bryndza”, a traditional Slovak dairy product from sheep milk, Microbiol Res., 156, 1, 31-4, 2001.
9. Marier R., Wells J. G., Swanson R. C., Callahan W., Mehlman I. J.: Update: gastrointestinal illness associated with imported semi-soft cheese, MMWR Weekly, January 20, 33, 2, 16, 22, 1984.
10. Marija Škrinjar: Metode mikrobiološke kontrole životnih namirnica, Novi Sad, 1994. strana 150-151.
11. Nataro J. P., Kasper J. B.: Diarrheagenic *E. coli*. Clin. Microbiol. Rev., 11, 144-186, 1988.
12. Pradel N., Livrelli V., de Champs C., Palcoux J. B., Reynaud A., Scheutz F., Sirot J., Joly B., Forestier C.: Prevalence and Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Cattle, Food and Children during a One-Year Prospective Study in France. Journal of Clinical Microbiology, 1023-1031, 2000.
13. Pravilnik o metodama vršenja mikrobioloških analiza i superanaliza životnih namirnica,

SI.list SFRJ 25/80. - 14. Pravilnik o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu, SI.list SRJ 26/93. - 15. Quinto E. J. Cepeda A.: Incidence of Toxigenic *Escherichia coli* In Soft Cheese Made With Raw or Pasteurized Milk. Letters in Applied Microbiology, 24, 291-295, 1997. - 16. Reinheimer J. A., Binetti A. G., Quiberoni A., Bailo N. B., Rubiolo A. C., Giraffa G.: Natural milk cultures for the production of Argentinian cheeses, J.Food.Prot., Jan. 60, 1, 59-63, 1997. - 17. Vivegnis J., El Lioui M., Leclercq A., Lambert B., Decallonne J.: Detection of Shiga -Like Toxin Producing *Escherichia coli* From Raw Milk Cheeses Produced in Wallonia. Biotechnol Agron Soc Environ, 3, 3, 159-164, 1999.

ENGLISH

FINDINGS OF *ESCHERICHIA COLI* AND *ENTEROCOCCUS* SPP. IN HOMEMADE CHEESE

Z. Tambur, Dolores Opacic, R. Doder, M. Marković

During the period from February until March 2004, 108 samples of soft cheese originating from markets of Pancevo, Subotica and Belgrade were examined. Microbiological analyses of the cheese samples to the presence of *Escherichia coli* was performed using methods described in the Regulations on methods for performing microbiological analyses and superanalyses of consumer articles, while the presence of bacteria *Enterococcus* spp. was performed on the dexter agar. From 108 samples of soft cheese from the territories of Pancevo, Belgrade and Subotica were isolated: *Enterococcus* spp. from 96% and *Escherichia coli* from 69%, cheese samples.

Verocytotoxic *E.coli* was not isolated from any of the taken cheese samples.

Key words: cheese, *Enterococcus*, *Escherichia coli*

РУССКИЙ

РЕЗУЛЬТАТЫ *ESCHERICHIA COLI* И ЭНТЕРОКОККОВ В СЫРАХ ПРОИЗВЕДЁННЫМ В ХОЗЯЙСТВЕ

З. Тамбур, Долорес Опачич, Р. Додер, М. Маркович

В периоде от февраля до марта 2004 года микробиологически испытано нами 108 образчиков молодого сыра, в происхождение с базаров из Панчева, Суботицы и Белграда. Микробиологический анализ образчиков сыра на присутствие Сальмонелл видов, коагуляза положительных стафилококков, сульфитотренирующих клостридий, *Proteus* видов и *Escherichia coli* делана методами, описанными в Регламенте о методах совершения микробиологических анализов и суперанализов продуктов питания. Из 108 образчиков молодого сыра с района Панчева, Белграда и Суботицы изолированы: *Enterococcus* spp. из 96%, *Escherichia coli* из 69%, из образчиков сыра.

Ни из одного образчика сыра не изолирована веротоксическая *E. coli*.

Ключевые слова: сыр, *Enterococcus*, *Escherichia coli*

**UPOTREBA FEROMONA U PREVENTIVI I TERAPIJI
POREMEĆAJA U PONAŠANJU DOMAĆIH ŽIVOTINJA***
*PHEROMONE APPLICATION IN PREVENTION AND THERAPY OF
DOMESTIC ANIMAL BEHAVIOURAL DISORDER*

Marijana Vučinić**

U radu preglednog karaktera izneta su novija saznanja o feromonoterapiji. Feromonoterapija ne znači samo upotrebu strukturnih analoga feromona u terapiji, već i u preventivi poremećaja u ponašanju domaćih životinja. Njihova primena indikovana je u svim slučajevima u kojima se očekuje delovanje stresora i njihov negativan uticaj na zdravstveno stanje, dobrobit i proizvodne rezultate domaćih životinja. Strukturni analozi feromona mogu uspešno da se primene u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju konja, svinja, pasa i mačaka. Novijim istraživanjima potvrđeno je da strukturni analozi semiohemikalija ostvaruju pozitivan uticaj i na proizvodne rezultate i kvalitet mesa brojlera. Svoj terapijski i preventivni učinak na ponašanje domaćih životinja ostvaruju stabilizacijom emocionalnog stanja, relaksacijom i smirivanjem životinja koje su uznemirene ili mogu da postanu uznemirene usled delovanja stresora.

Ključne reči: feromoni, feromonoterapija, domaće životinje, poremećaj u ponašanju

Uvod / Introduction

Smatra se da je hemijski način komunikacije najstariji način razmene informacija među životinjama. Hemijske materije koje učestvuju u komunikaciji među životinjama zovu se semiohemikalije [1].

Semiohemikalije mogu grubo da se podele u dve klase. Prvoj klasi pripadaju alelohemikalije koje služe za komunikaciju među jedinkama različitih životinjskih vrsta. Potklase alelohemikalija su kairomoni (alelohemikalije koje služe grabljivicama za otkrivanje i raspoznavanje žrtve), alomoni (alelohemikalije koje

* Rad primljen za štampu 25. 4. 2007. godine

** Dr Marijana Vučinić, vanredni profesor, Katedra za zoohigijenu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

služe grabljivicama za privlačenje žrtve) i sinomoni (alelohemikalije od obostrane koristi za dve različite životinjske vrste među kojima se ostvaruje komunikacija). Drugoj klasi pripadaju hemijske materije koje služe za razmenu informacija među jedinkama iste vrste, a njihovu potklasu čine feromoni – intraspecifični hemijski signali [2].

Feromoni se definišu kao hemijske materije, koje se izlučuju iz organizma jedne jedinke i čiji miris oseti druga jedinka iste vrste, kod koje prouzrokuju specifičnu reakciju. Ova specifična reakcija može da bude ili ispoljavanje određenog oblika ponašanja („rilizer” feromoni) ili pokretanje određenog fiziološkog, uglavnom razvojnog procesa unutar organizma („prajmer” feromoni), menjanjem nivoa aktivnosti hormona.

Prema funkciji, feromoni se dele na polne, alarmne feromone, feromone straha, feromone koji služe za obeležavanje putanje kretanja, za obeležavanje teritorije, umirujuće, relaksirajuće feromone i slično [3]. Iz organizma sisara se izlučuju na različite načine: sebumom, urinom, estralnom sluzi, suzama, fecesom, pljuvačkom, mlekom, a pretpostavlja se i drugim putevima koji još uvek nisu otkriveni.

Uloga feromona kod domaćih životinja / *Pheromone role in domestic animal*

Kod domaćih životinja feromoni imaju značajnu ulogu u uspostavljanju stabilne socijalne hijerarhije unutar iste socijalne grupe i izbegavanja međusobnih sukoba među jedinkama koje pripadaju različitim socijalnim grupama. Feromoni služe za raspoznavanje zapata, stada, čopora, krda, socijalnog statusa drugih jedinki, starosti, pola i reproduktivnog statusa unutar iste socijalne grupe ili druge grupe životinja iste vrste. Prva socijalna veza uspostavlja se između majke i mladunčeta upravo posredstvom feromona koji služe za međusobno raspoznavanje. Prajmer feromoni sisara prouzrokuju hormonske promene koje utiču na pojavljivanje polnog žara kod ženki, modifikuju polni ciklus ženki, menjaju reproduktivne oblike ponašanja i reaktivnost jedinki suprotnog pola. Takođe, utiču i na uspešan razvoj ploda u toku graviditeta ženki [2, 4]. Alarmni feromoni imaju „upozoravajuću” funkciju. Služe da obaveste pripadnike iste socijalne grupe životinja o opasnosti u kojoj se našla životinja koja pripada toj grupi ili o njenom emocionalnom statusu, koji se odnosi uglavnom na strah. Feromoni za obeležavanje teritorije mogu da imaju privlačnu i odbojnu funkciju. Kada pas urinom obeležava teritoriju, poručuju drugim psima da mu se pridruže. Kada mačor obeležava teritoriju urinom, poručuje drugim mačorima da nisu poželjni na tom prostoru. Sopstveni feromoni deluju umirujuće na jedinku koja ih sekretuje po različitim površinama svoje teritorije i kod te jedinke, stabilizacijom emocionalnog statusa, stvaraju osećaj sigurnosti. Umirujuću funkciju na mladunce ostvaruju i feromoni ženki koji se izlučuju na površinu kože mlečne žlezde njihovih majki [3].

Senzorni organ za feromone je vomeronazalni, odnosno Jacobsonov organ, čija je funkcija efikasnija kod mlađih nego kod starijih životinja. Za bolji prijem i usmeravanje volatilnih molekula feromona iz vazduha do vomeronazalnog organa, životinje koriste Flehmenovu reakciju, koju karakterišu specifični pokreti gornje i donje usne i nozdrva. Za razliku od drugih mirisnih materija, feromoni prouzrokuju trenutnu promenu aktivnosti hipotalamusa i amigdala [5].

Upotreba feromona u veterinarskoj medicini /

Pheromone application in veterinary medicine

Do skora su se sintetski strukturni analozi feromona najviše primenjivali u dezinfekciji i to za praćenje veličine populacije štetnih insekata, za sprečavanje njihove reprodukcije, kao atraktanti u insekticidnim formulacijama i u druge svrhe. Pored toga, kod domaćih životinja strukturni analozi feromona upotrebljavaju se u reprodukciji. Za ranije ispoljavanje polnog žara kod nazimica koristi se feromon nerastova, androstenol. Feromoni se takođe primenjuju kod krava, krmača i ovaca za sinhronizaciju ovulacije [2, 4]. Međutim, danas se strukturni analozi feromona sve više koriste i u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju domaćih životinja [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Feromonoterapija / Pheromonotherapy

Feromonoterapija predstavlja upotrebu strukturnih sintetskih analoga feromona u terapiji već ispoljenih, odnosno aktuelnih (upotreba feromona u terapijske svrhe) ili potencijalnih (onih koji mogu da se ispolje) poremećaja u ponašanju domaćih životinja (upotreba feromona u preventivne svrhe). Većina poremećaja u ponašanju domaćih životinja prouzrokovana je neprijatnim telesnim i emocionalnim iskusstvima kao što su bol, strah, stres, dosada, patnja, konflikti i frustracije.

Za feromonoterapiju se koriste uglavnom dve grupe feromona, a to su takozvani umirujuć feromoni i feromoni za obeležavanje teritorije.

U prvim danima posle porođaja, ženke sisara na površini kože mlečne žlezde luče umirujuće feromone. Na mladunce deluju relaksirajuće i njihova osnovna funkcija je stabilizacija emocionalnog statusa novorođenčadi. Na površini kože mladunaca izlučuju se feromoni na osnovu čijeg mirisa majka raspoznaje i prihvata svoje potomke. Prisustvo umirujućih feromona dokazano je kod svih ženki sisara. Vezivanjem za lipokaline (proteinski receptori u vomeronazalnom organu za feromone), feromoni prouzrokuju promene u aktivnosti limbusnog sistema. Stimulisanjem aktivnosti limbusnog sistema nastaju promene emocionalnog statusa u pravcu smanjivanja stanja uzbuđenosti jedinke koja je osetila njihov miris [7].

Sintetski analozi umirujućih feromona danas se primenjuju u različite preventivne svrhe. Poznato je da su domaće životinje u intenzivnim uslovima ga-

jenja izložene delovanju brojnih stresora (različiti stručni veterinarski i zootehnički zahvati, hvatanje, obuzdavanje, odvajanje od majki, pregrupisavanje, premeštanje iz jednog u drugi smeštajni objekat, strah od nepoznatih osoba, strah od dominantnih i agresivnih jedinki u grupi, neodgovarajući smeštajni uslovi, neodgovarajući mikroklimatski uslovi, transport i slično). Svi ovi stresori mogu da ometaju pravilan razvoj domaćih životinja i proizvodni ciklus u određenoj grani stočarstva. Da bi se smanjile negativne posledice stresora koriste se sintetski analozi umirujućih feromona u vidu sprejeva, koji se raspršuju direktno po smeštajnom prostoru, u vazduh smeštajnog prostora i po različitim horizontalnim i vertikalnim površinama sa kojima životinje dolaze u neposredan kontakt. Pri upotrebi feromona u zootehničke svrhe, treba imati na umu da feromoni nisu hormoni i da ne mogu da ubrzaju rast, niti da povećavaju prirast i druge proizvodne osobine domaćih životinja, već mogu samo da eliminišu ili umanje negativne posledice delovanja stresora. U zootehničke svrhe, feromoni se najviše primenjuju u govedarstvu i svinjarstvu. Primena „umirujućih“ feromona indikovana je i pri transportovanju i klanju domaćih životinja.

Na površini kože i dlake ličnog dela glave mačaka nalaze se facijalni feromoni. Kada se mačka „umiva“, molekuli ovih feromona se prenose na šape, a pri hodu i po svim površinama po kojima se mačka kreće. Pored toga, ovi feromoni se prenose i na druge površine i predmete kada mačka trlja glavu o njih. Osnovna funkcija facijalnih feromona je obeležavanje teritorije, odnosno ličnog prostora i uspostavljanje osećaja emocionalne stabilnosti i sigurnosti, koje se postiže verovatno razlikovanjem feromonima obeleženih i poznatih predmeta i osoba od neobeleženih i nepoznatih predmeta i osoba [7]. Upotreba sintetskog analoga facijalnog feromona mačaka pokazala se uspešnom u tretmanu patoloških oblika obeležavanja teritorije urinom ili destruktivnim grebanjem, u smanjenju anksioznosti u toku transportovanja, veterinarskog pregleda i promene smeštajnog ambijenta, kao što su pansioni, prihvatilišta, promena vlasnika i drugim situacijama u kojima dolazi do privremenog ili stalnog razdvajanja vlasnika od kućnog ljubimca [6, 9, 13, 14, 15, 16].

Umirujući feromoni pasa koriste se u terapiji patoloških oblika ponašanja (anksioznost, fobije, panične reakcije, separaciona anksioznost, opsesivno-kompulsivni poremećaji, destruktivni oblici ponašanja, akralni dermatitis, stereotipno lajanje, nekontrolisano uriniranje i defeciranje po domu vlasnika) i preventivi nepovoljnog delovanja stresora kao što su: poseta nepoznatih osoba, promena vlasnika, strah od buke, udomljavanje, odvajanje štenaca od kuje, transportovanje, veterinarski pregled i slično [10, 11, 12, 13, 17].

Feromoni žirvine / *Pheromones in poultry*

U prothodne dve decenije za prevetivu neprijatnih emocionalnih iskustava kod domaćih životinja i u terapiji patoloških oblika ponašanja koristili su se uglavnom psihotropni lekovi. U novije vreme ih sve više potiskuje feromonotera-

pija. Do sada je potvrđena uspešna primena umirujućih feromona u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju svinja (PAP – Pig Appeasing Pheromone), konja (EAP - Equine Appeasing Pheromone), pasa (DAP - Dog Appeasing Pheromone) i mačaka (FFP - Feline Facial Pheromone). Kako navodi Pageat [11], smatra se da su feromoni prisutni i kod živine i da takođe poseduju umirujući efekat. Njihova primena indikovani je u svim stanjima u kojima se očekuje da stres može da bude uzrok pojavljivanju poremećaja u ponašanju živine i loših proizvodnih rezultata. Pretpostavlja se da feromone luči uropigialna žlezda kvočki koje su izlegle piliće. Poznato je da je proizvodnja živinskog mesa povezana sa mnogobrojnim stresorima koji mogu negativno da utiču na zdravstveno stanje, prirast i kvalitet mesa brojlera. Kada se strukturni analog sekreta uropigialne žlezde (MHUSA – Mother Hen Uropygial Secretion Analogue) raspršuje po objektu za tov brojlera postižu se znatno bolji proizvodni rezultati. Brojleri brže napreduju, prirast je veći, meso boljeg kvaliteta, a hematološki (odnos heterofila i limfocita) i biohemijski parametri (nivo aktivnosti kortikosterona) ne ukazuju na delovanje stresora u toku proizvodnog ciklusa, u poređenju sa kontrolnom grupom koja nije tretirana strukturnim analogom sekreta uropigialne žlezde [18].

Zaključak / Conclusion

Različiti stresori koji deluju na domaće životinje predstavljaju najveću grupu uzroka patoloških poremećaja u ponašanju. Poslednje dve decenije u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju domaćih životinja koristili su se uglavnom psihotropni lekovi. Njihovu upotrebu sve više potiskuje feromonoterapija. Feromonoterapija predstavlja primenu strukturnih analoga feromona u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju domaćih životinja. Na tržištu već postoje komercijalni preparati na bazi strukturnih analoga feromona, koji se uspešno primenjuju u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju konja, svinja, pasa i mačaka. Postoji pretpostavka da su feromoni prisutni i kod živine. Komercijalni preparati sa strukturnim analogima feromona doprinose stabilizovanju emocionalnog stanja, relaksaciji i smirivanju uznemirenih životinja usled delovanja akutnih ili hroničnih stresora. Za razliku od tretmana poremećaja u ponašanju domaćih životinja psihotropnim lekovima, feromonoterapija je prirodan, specifičan i pouzdan pristup rešavanju ovih problema.

Literatura / References

1. Dicke M., Sabelis M. W.: Functional Ecology, 2, 2, 131-139, 1988. - 2. Wyatt T. D.: Pheromones and Animal behaviour. Communication by smell and taste. Cambridge University Press, 2003. - 3. Vučinić Marijana: Ponašanje, dobrobit i zaštita životinja. VKS, Beograd, 388, 2004. - 4. Kohl J. V.: Human Nature Review 4, 81-86, 2004. - 5. Takami S.: Microsc. Res. Tech. 58, 228-250, 2002. - 6. Ogata N., Takeuchi Y.: J. Vet. Med. Sci. 63, 2, 157-161, 2001. - 7. Pageat P., Gaultier E.: Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract. 33, 2, 187-211, 2003. - 8. Sheppard G., Mills D. S.: Vet. Rec. 5, 152, 432-436, 2003. - 9. Gunn-Moore D.

A., Cameron M. E.: J. Fel. Med. Surg. 6, 133-138, 2004. - 10. Gaultier E. *et al.*: Vet. Rec. 156, 533-538, 2005. - 11. Pageat P.: J. Vet. Pharmacol. Therap. 29, 50-51, 2006. - 12. Estelles M. G., Mills D. S.: Vet. Rec., 143-148, 2006. - 13. Pageat P., Tessier Y.: Proceedings of the first International Conference on Veterinary Behavioural Medicine, Birmingham, 1997, 231, 1997. - 14. Gaultier E. *et al.*: Proceedings of the 32nd Congress of the International Society for Applied Ethology, Clermont-Ferrand, 1998, 198, 1998. - 15. Cerissa A. *et al.*: JAVMA 217, 8, 1154-1156, 2000. - 16. Mills D. S., Mills C. B.: Vet. Rec., 149, 197-199, 2001. - 17. Tod E.: Appl. Anim. Behav. Sci., 93, 295-308, 2005. - 18. Madec I. *et al.*: Poult. Sci. 85, 12, 2112-2116, 2006.

ENGLISH

PHEROMONE APPLICATION IN PREVENTION AND THERAPY OF DOMESTIC ANIMAL BEHAVIOURAL DISORDER

Marijana Vučinić

This review-type paper presents the latest knowledge on pheromone therapy. Pheromone therapy does not imply merely the use of structural analogues of pheromones in therapy, but also in the prevention of behavioural disorders in domestic animals. Their application is induced in all cases in which the effects of stressors are expected and their negative effect on the health condition, welfare and production results of domestic animals. Structural analogues of pheromones can successfully be applied in the prevention and therapy of behavioural disorders in horses, swine, dogs, and cats. Recent investigations have confirmed that structural analogues of semiochemicals exert a positive effect also on the production results and meat quality of broilers. They realize their therapeutic and preventive effect on the behaviour of domestic animals through the stabilization of the emotional state, relaxation, and calming the animals that are disturbed, or could become disturbed due to the effect of stressors.

Key words: pheromone, pheromone therapy, domestic animal, behavioural disorder

РУССКИЙ

УПОТРЕБЛЕНИЕ ФЕРОМОНА В ПРЕВЕНТИВЕ И ТЕРАПИИ НАРУШЕНИЯ В ПОВЕДЕНИИ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Марияна Вучинич

В работе обзорного характера вынесены более новые познания о феромонотерапии. Феромонотерапия не значит только употребление структурных аналогов феромона в терапии, уже и в превентиве нарушения и поведении домашних животных. Их применение индцировано во всех случаях в которых ожидается действие стрессоров и их отрицательное влияние на состояние здоровья, благосостояние и производственные результаты домашних животных. Структурные аналоги феромона могут успешно примениться в превентиве и терапии нарушения в поведении лошадей, свиней, собак и кошек. Более новыми исследованиями подт-

верждено, что структурные аналоги семиохимикалии осуществляют положительное влияние и напроизводственные результаты и качество мяса бройлеров. Своё терапевтическое и превентивное действие на поведение домашних животных осуществляют стабилизацией эмоционального состояния, релаксацией и успокоением животных, которые обеспокоены или могут стать беспокоенными вследствие действия стрессоров.

Ключевые слова: феромоны, феромонотерапия, домашние животные, нарушения в поведении

UDARI IZ VAZDUHA NA POSTROJENJA ZA OBOGAĆIVANJE URANIJUMA KAO POTENCIJALNI IZVORI RADIOEKOLOŠKE OPASNOSTI*

AIR STRIKES ON URANIUM ENRICHMENT PLANTS AS POTENTIAL SOURCES OF RADIOECOLOGICAL DANGER

D. Živanov**

Po međunarodnom Ugovoru o neširenju nuklearnog oružja (Non Proliferation Treaty-NPT) zemljama potpisnicama se ne zabranjuje da obavljaju obogaćivanje uranijuma u mirnodopske svrhe. Međutim, ukoliko postoji opravdana sumnja da se obogaćivanje uranijuma obavlja radi proizvodnje nuklearnog oružja onda to svakako izaziva veliku zabrinutost. U tom slučaju međunarodna zajednica može da vrši pritisak na određenu državu ako oceni da ta država ne želi da prekine sa aktivnostima usmerenim ka pravljenju sopstvenog nuklearnog oružja. Pritisak međunarodne zajednice može da se pojača na istu sve dok se njeno političko rukovodstvo ne natera da preispita i prekine sve aktivnosti koje su usmerene u pravcu proizvodnje nuklearnog oružja. Taj pritisak može da bude politički, ekonomski i u krajnjem slučaju – vojni. Kao gest dobre volje, država na koju se vrši pritisak može da prestane sa obogaćivanjem uranijuma. Na taj način ona pokazuje da konačno odustaje od namere da proizvede nuklearno oružje. Međutim, kada je u pitanju vojni pritisak tj. vojni udari (na primer iz vazduha) na nuklearna postrojenja za obogaćivanje uranijuma, tu svakako postoji rizik oslobađanja radioaktivnosti u životnu sredinu. S toga je i cilj ovog rada da ukaže upravo na ovu činjenicu. Primena vojne sile u takvim slučajevima dovodi do dodatnog radijacionog opterećenja životne sredine pa bi takav način rešavanja konflikata u međunarodnoj zajednici trebalo da se prevaziđe.

Ključne reči: uranijum, postrojenja, obogaćivanje, udari, opasnost, radioekologija

* Rad primljen za štampu 24. 5. 2007. godine

** Dr Dragan Živanov, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Ukupno devet zemalja poseduje nuklearno oružje, a Sporazum o neširenju nuklearnog oružja iz 1968. godine do sada je potpisalo 183 države članice svetske organizacije (OUN). Izrael (zvanično nikada nije potvrdio da ima nuklearno oružje), Indija i Pakistan nisu potpisali ovaj sporazum. Severna Koreja je istupila iz njega 2003. godine, a u oktobru 2006. godine izvela je i svoju prvu probu nuklearnog oružja (podzemna). Južnoafrička Republika je demontirala svoje nuklearne bojeve glave, Libija je diplomatskim putem sprečena da proizvede svoje nuklearno oružje, a Irak je sprečen vojnim putem. Zemlje potpisnice Sporazuma o neširenju nuklearnog oružja obavezale su se da ga neće izvoziti a one koje ga nemaju obavezale su se da odustanu od njegovog pravljenja. Prvih pet nuklearnih sila (SAD, Rusija, Francuska, V. Britanija i Kina) obavezale su se da smanje svoj nuklearni arsenal i da pomažu razvoj civilne nuklearne tehnologije. Sporazum o neširenju nuklearnog oružja je dopunjen i Ugovorom o zabrani izvođenja nuklearnih proba kao i Protokolom kojim se povećavaju ovlašćenja Međunarodne agencije za atomsku energiju (IAEA) u kontroli poštovanja Sporazuma. Kontrola podrazumeva i nenajavljene inspekcije nuklearnih postrojenja a Međunarodna agencija za atomsku energiju o tome izveštava Savet bezbednosti UN koji ima na raspolaganju različite preventivne pa i represivne mehanizme da spreči ili bar uspori širenje nuklearnog oružja. Dakle, u slučaju nuklearnih zemalja koje su izvan Sporazuma (primer Severna Koreja), sloboda ponašanja velikih sila i Saveta bezbednosti UN je još veća, pošto ih ne sputava nikakav dokument. To, između ostalog, podrazumeva razne vrste sankcija – ekonomske, diplomatske i vojne (Glava 7 Povelje UN dozvoljava i međunarodnu vojnu akciju). Bombardovanjem (raketiranjem) nuklearnih postrojenja za obogaćivanje uranijuma iz vazduha postoji rizik nekontrolisanog oslobađanja radioaktivnosti odnosno radioaktivne kontaminacije životne sredine. Ovakvi vojni udari jesu potencijalni uzroci nuklearnog rata i nuklearnih akcidenata. Meta napada su dakle nuklearna postrojenja koja služe za obogaćivanje uranijuma koji bi kasnije poslužio kao nuklearni eksploziv. Tako, obogaćeni uranijum sadrži u sebi više od 90 posto uranijuma-235. Drugi fisioni nuklearni eksploziv plutonijum (239, 241) proizvodi se veštački u nuklearnom reaktoru bombardovanjem uranijuma-238 neutronima. Pod dejstvom sporih neutrona uranijum-238 prelazi u neptunijum koji beta zračenjem prelazi u plutonijum-239. Spori neutroni izazivaju fisiju plutonijuma. Zbog toga je plutonijum pogodan kao fisioni nuklearni eksploziv [1], naročito njegovi izotopi Pu-239 i Pu-241 (Pu-239 kao fisioni nuklearni eksploziv sa maksimalnim sadržajem Pu-240 do 10 %) Za jednu atomsku bombu jačine 20 kilotona dovoljno je na primer 4,7 kilograma Pu-239.

Velike nuklearne sile svakako nisu zainteresovane za proširenje kruga zemalja koje bi posedovale nuklearno oružje zbog sopstvene bezbednosti. To se posebno odnosi na one zemlje unutar kojih, po njihovoj oceni, mogu da nastanu velike političke napetosti a samim tim i rizici po bezbednost okolnih zemalja ili

šireg regiona. Takođe se odnosi i na one zemlje za koje sumnjaju da podržavaju aktivnosti u vezi sa međunarodnim terorizmom odnosno organizovanim kriminalom (krađa obogaćenog uranijuma iz nuklearnih postrojenja i sl). SAD sumnjaju da Iran, između ostalog, finansijski pomaže radikalne islamiste iz libanskog Hezbolaha u nastojanju da postane vodeća sila na Bliskom Istoku. Dodatnu zabrinutost velikih nuklearnih sila (u prvom redu SAD) izazvali su i zahtevi šest arapskih zemalja da obavljaju obogaćivanje uranijuma u mirnodopske svrhe za svoje energetske potrebe Međunarodnoj agenciji za atomsku energiju (IAEA). Zahteve su podneli Alžir, Maroko, Tunis, Egipat, Saudijska Arabija i Ujedinjeni Arapski Emirati. Zbog toga je razvoj nuklearne industrije posebno u takvim zemljama pod stalnom lupom, naročito kada je u pitanju obogaćivanje uranijuma i u mirnodopske svrhe [7]. Još u toku 2004. godine SAD su optužile Iran da je prekršio Sporazum o neširenju nuklearne energije tako što obogaćuje uranijum za vojne svrhe i tražile su od Međunarodne agencije za atomsku energiju (IAEA) da postave to pitanje pred Savet bezbednosti UN kako bi režimu u Teheranu eventualno bile uvedene međunarodne sankcije. Colin Powell, tadašnji državni sekretar SAD, nije isključivao ni vojnu opciju kao krajnje sredstvo prisile da određena zemlja (Iran) prestane sa obogaćivanjem uranijuma. SAD sumnjaju da Iran, između ostalog, obogaćuje uranijum radi razvoja nuklearnog oružja [8]. Iran gradi i reaktor na tešku vodu koji bi mogao da proizvodi obogaćeni uranijum. Tako obogaćeni uranijum mogao bi da se koristi i za nuklearnu bombu. Kao alternativu za prekid programa obogaćivanja uranijuma Evropska unija nudi snabdevanje civilnom nuklearnom tehnologijom uključujući i nuklearne reaktore na laku vodu, ili da se uran obogaćuje u Rusiji, a ne u Iranu. S obzirom da Iran ne odustaje od razvoja svog nuklearnog programa, Savet bezbednosti OUN je krajem 2006. godine jednoglasno izglasao Rezoluciju (broj 1737) o uvođenju sankcija protiv te zemlje. Rezolucijom se, između ostalog, traži da Iran obustavi sva istraživanja vezana za proces obogaćivanja uranijuma (ponovna prerada i reaktori na tešku vodu, kao i sistem balističkih raketa). SAD posebno očekuju od Rusije, Kine i Japana da stave tačku na poslove sa Iranom i kreditiranje njegove ekonomije. Određeni problemi postoje i sa Severnom Korejom. Ova zemlja je u međuvremenu proizvela i testirala nuklearno oružje uprkos protivljenju šire međunarodne zajednice, posebno zemalja članica nuklearnog kluba. Da su nuklearna postrojenja bila mete napada vojnih udara iz vazduha u prošlosti nije nepoznata činjenica. Tako su 1981. godine Izraelski vojni avioni bombardovali nuklearni reaktor u Iraku (Osirak) u izgradnji. Najnoviji događaji i previranja u raznim delovima sveta mogu, dakle, da utiču na to da i postrojenja u kojima se obogaćuje uranijum budu mete vojnih udara ako velike nuklearne sile posumnjaju da neka zemlja želi da proizvede nuklearno oružje. Takve akcije mogu biti preduzete i bez saglasnosti šire međunarodne zajednice (Saveta bezbednosti UN) ako nuklearna sila proceni da joj pretila opasnost po nacionalnu bezbednost. Ove akcije, po pravilu, otvaraju nove probleme i opasnosti u međunarodnoj zajednici, pa samim tim i radioekološke. Bombardovanjem nuklearnih postrojenja (reaktora) u kojima se vrši obogaćivanje

uranijuma može da dođe do oslobađanja radioaktivnosti i radioaktivne kontaminacije životne sredine u neposrednoj blizini mete napada ali i šire. To će zavisi od više činilaca, u prvom redu od obima razaranja, meteoroloških uslova, karakteristika reljefa i drugih mnogobrojnih parametara značajnih za procenu ugroženosti teritorije, stanovništva i životne sredine od oslobođene radioaktivnosti. Do bombardovanja (raketiranja) nuklearnih postrojenja (nuklearnih reaktora) može, između ostalog, da dođe i u toku njihove izgradnje. U tom slučaju ne može da se govori o postojanju radioekološke opasnosti po životnu sredinu, osim ako je bombardovanje izvedeno nuklearnim oružjem ili je upotrebljena municija od osiromašenog uranijuma tj. radioaktivnog otpada [3]. Međutim, rizik može postojati ako se u neposrednoj blizini mete napada nalaze i druga nuklearna postrojenja (u pogonu). Ako bi greškom ljudskog ili tehničkog faktora bombe ili rakete pogodile i takve mete, to bi svakako bio još veći rizik od radioaktivne kontaminacije životne sredine: ljudi, vode, hrane, vazduha i zemljišta [4]. U okolini ali i mnogo šire, u zavisnosti i od meteoroloških uslova. Ugroženost zdravlja ljudi sigurno bi bila veća ako je gustina naseljenosti stanovništva veća na teritoriji zahvaćenoj radioaktivnom kontaminacijom. Problem postaje još ozbiljniji kada dođe do transgraničnog prenosa radioaktivne kontaminacije iz jedne zemlje u drugu preko vazduha, padavina ili vodenim tokovima. (S tim u vezi značajno je jačati sistem za rano upozoravanje o nailasku radioaktivne opasnosti sa transgraničnim prenosom [5], nezavisno od toga da li određena zemlja razvija ili ne razvija svoju nuklearnu tehnologiju).

Zaključak / Conclusion

Bombardovanjem (raketiranjem) nuklearnih postrojenja za obogaćivanje uranijuma dodatno se uvećavaju rizici radioekološkog zagađenja životne sredine koji i bez gore navedenog nastaju širom sveta [2]. Oslobođena radioaktivnost stvara vrlo ozbiljne i teško rešive probleme kako na neposrednoj teritoriji gde se nalazi meta napada tako i šire. Ovo posebno dolazi do izražaja ako bi se prilikom bombardovanja ili raketiranja koristilo nuklearno oružje [1] ili municija od osiromašenog uranijuma, tj. radioaktivnog otpada [4, 6]. Eventualna upotreba nuklearnog oružja za ove svrhe nije nemoguća, iz prostog razloga što se od upotrebe nuklearnog oružja niko još nije odrekao [5]. Time bi izvori radioekološke opasnosti još više dobili na „kvalitetu”.

Literatura / References

1. Jović R.: Protivnuklearna i protivradijaciona zaštita, Privredapublik, Beograd, 1987. - 2. Radioactive Heaven and Earth-A Report of the IPPN International Commission To Investigate The Health and Environmental research, The Apex Press, New York, Zed Books, London, 1991. - 3. Rajković M.: Osiromašeni uranijum, VIZ, Beograd, 2001. - 4. Marković S, Spaić R.: Radijacija i zdravlje, Društvo za biomedicinsko inženjerstvo i medicinsku fiziku, Beograd, 2001. - 5. Živanov D.: Radijacioni faktor u savremenim ratovima i akci-

dentima u miru, FCO, Beograd, 2001. - 6. Antić D., Vujić J.: Environmental Recovery of Yugoslavia, Vinča Institute of nuclear sciences, Belgrade, 2002. - 7. IAEA: World Nuclear Fuel Facilities, Internet, 2004. - 8. Albright D., Hinderstain C.: The Iranian Gas Centrifuge Uranium Enrichment Plant at Natanz: Drawing from Commercial Satellite Images, The Institute for Science and International Security, 2003.

ENGLISH

AIR STRIKES ON URANIUM ENRICHMENT PLANTS AS POTENTIAL SOURCES OF RADIOECOLOGICAL DANGER

D. Živanov

According to the Non Proliferation Treaty (NPT), the signatory countries are not forbidden to perform uranium enrichment for peaceful purposes. However, if there is a justified doubt that the uranium enrichment is performed with the aim to produce nuclear weapons, this certainly causes great concern. In this case, the international community can apply pressure to a certain country if it determines that the country does not want to cease activities of making its own nuclear weapons. The international community pressure on the country can be intensified until its political leadership is not made to question and cease all activities of producing nuclear weapons. This pressure can be political, economic, and as a last resort-military. As a gesture of goodwill the country can stop the uranium enrichment process. In this way, the country shows that it finally gives up the intention to produce nuclear weapons. However, when military pressure is applied, i.e. military strikes (air strikes for example) on nuclear plants used for uranium enrichment, this certainly creates a risk of releasing radioactivity into the environment. That is why the aim of this paper is to signal this very fact. Using military force in these cases leads to additional radioactive contamination of the environment, so this way of solving conflicts should be avoided within the international community.

Key words: Air strikes, uranium enrichment plants, radioecology, danger

РУССКИЙ

УДАРЫ ИЗ ВОЗДУХА НА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ УРАНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ РАДИОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ

Д. Живанов

По международному Договору о нерасширении ядерного оружия (Нон пролиферационный Трактат - НПТ) странам давшим свою подпись не запрещается совершать обогащение урана в целях, относящихся к мирному времени. Между тем, поскольку существует оправданное сомнение, что обогащение урана совершается с целью производства ядерного оружия тогда это во всяком случае вызывает большую озабоченность. В этом случае международное объединение может совершить давление на определённое государство, если оценит, что это государство не желает прекратить с активностями направленным к делания собственного ядер-

ного оружия. Давление международного объединения может быть усиленное на тот же самое всё пока его политическое руководство не принудится переиспытать и прекратить все активноти, направленные в направлении производства ядерного оружия. Это давление может быть политическое, экономическое и в крайнем случае - военное. Как жест хорошего удовольствия, государство на которое совершается давление может перестать с обогащением урана. Таким образом оно показывает, что окончательно отказывается от намерения произвести ядерное оружие. Между тем, когда вопрос военное давление т.е. военные удары (например из воздуха) на ядерные оборудования для обогащения урана, тут во всяком случае существует риск освобождения радиоактивности в жизненную среду. Оттого и цель этой работы указать именно на этот факт. Применение военной силы в таких случаях приводит до дополнительного радиационного напряжения жизненной среды и хотя бы такой способ решения конфликтов в международном объединении нужно было превзойти.

Ключевые слова: уран, оборудования, обогащение, удары, опасность, радио-экология

**Erski-Biljić Milanka, Biljić-Erski A.:
„PČELINJI POLEN I PERGA”**

Edicija: APITERAPIJA, knjiga III, Beograd, 2005. god.

U okviru edicije Apiterapija pred nama se nalazi četvrta knjiga pod naslovom: **Pčelinji polen i perga**. Posle izlaska prve tri knjige u ovoj ediciji: **PROPILIS i MATIČNI MLEČ – kraljevski gel** i **PČELINJI VOSAK**, autori su se okrenuli pčelinjem polenu i pergi i priredili prvu publikaciju ove vrste na našem govornom području. I ne samo na njemu, s obzirom da se u svetskim okvirima nalazi veći broj naučnih radova o polenu, ali nikada nije bilo neko delo koje daje sveobuhvatan prikaz polena i perge kao u delu ovih autora.

Prvi autor ovog dela je kao i kod ranijih knjiga iz ove edicije dr Milanka Erski-Biljić, a koautor je A. Biljić-Erski. Knjiga sadrži 335 stranica, a materija je ra-poređena u osam poglavlja, sa predgovorom, uvodom, bibliografijom i prikazom recenzija.

Prvo poglavlje nosi naziv **Poreklo i prikupljanje polena i perge**. U njemu je kroz pet podnasalova dat celovit prikaz o poreklu i značaju polena i perge, ulozi pčela u prenošenju polena i o sakupljanju polena i perge.

U drugom poglavlju knjige – **Karakteristike polena i pegre / opšta svojstva polena i perge**, čitaoci se upoznaju sa karakteristikama polena i perge. Podaci navedeni ovde izuzetno su retko bili publikovani kod nas i do sada mnoge nepoznate informacije sada prvi put nalaze svoj put do čitalaca. U nastavku poglavlja autori nas upoznaju sa sastavom i svojstvima polena i pegre, fizičkim i hemijskim sastavom polena. Konačno, čitaoci saznaju o antimikrobnim svojstvima polena i njegovim antioksidativnim aktivnostima koji čine suštinu njegove sve šire primene u svetu.

Treće poglavlje nosi naslov **Efekti i dejstvo pčelinjeg polena** i ono čini logičan nastavak prethodnog poglavlja. U njemu se nastavlja priča o fiziološkom efektu polena i perge a zatim produbljuje delom o farmakološkim svojstvima polena i perge. U ovom poglavlju se obrađuju i opšti efekti i dejstva polena, njen imonomodulatorski efekat i kliničko dejstvo na organizam.

Četvrto poglavlje nosi naslov **Upotreba polena i upotreba perge**. Kao i u prethodnim knjigama ove edicije autori u ovom poglavlju studiozno navode primenu polena i pegre u medicini, stomatologiji, veterini i kozmetologiji uz obilje praktičnih recepata. U isto vreme ovde je dat prikaz značaja polena kao hrane, njegov uticaj na kvalitet meda i monitoring zagađenja polena.

Peto poglavlje – **Procena kvaliteta pčelinjeg polena** upoznaje čitaoca sa načinom čuvanja, skladištenja i nabavke polena, kontaminantima i načinom kontaminacije polena i načinom kontrole njegovog kvaliteta.

U sledećem poglavlju – **Indikacije i kontraindikacije pčelinjeg polena i perge i metode terapijske primene polena i perge** sve ove stavke su obrađene na detaljan, studiozan i nadasve jasan način, što će u mnogome čitaocu približiti značaj ovih pčelinjih produkata.

Sedmo poglavlje nosi naslov **Doziranje i preparati, komercijalni proizvodi na bazi polena i perge** logičan je nastavak prethodnog poglavlja i u njemu se navodi mogućnost primene polena i perge i preparata sačinjenih na njihovoj bazi.

Završno poglavlje pod naslovom: **Terapijska primena pčelinjeg polena** obrađuje široku terapijsku i aplikativnu lepezu upotrebe polena.

Knjiga je potkrepljena izuzetno bogatom bibliografijom a na kraju knjige je dat pregled recenzija i završne misli autora.

Gledana u celini knjiga na veoma koncizan i jasan način, ali zasnovan na nadasve naučno stručno osnovi, daje objašnjenje šta je polen i perga, principe njihovog delovanja i praktičnu primenu. Ovim pristupom knjiga je prilagođena širokom rasponu čitalaca od pčelara, naučnih radnika i praktičara iz oblasti medicine, veterine, stomatologije i kozmetologije do običnih čitalaca željnih saznanja o ovoj nama malo poznatom pčelinjem proizvodu

Dr Ivan Pavlović, viši naučni saradnik
Naučni institut za veterinarstvo Srbije

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2007. GODINE

Stevanović T. Nikola

Rođen 2. 8. 1978. u Kraljevu
Diplomirao 26. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Kraljevo
Olge Milutinović 14/14

Andrić P. Branko

Rođen 18. 12. 1974. u Prijepolju
Diplomirao 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kraljevačka 84

Rakić V. Dragan

Rođen 16. 10. 1977. u Požegi
Diplomirao 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Skerlićeva 28

Savić Z. Ivana

Rođena 9. 6. 1979. u Nišu
Diplomirala 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Pirot
Ćirila i Metodija 27

Medić M. Aleksandar

Rođen 25. 8. 1979. u Prijedoru
Diplomirao 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Prijedor,
R. Srpska BiH
Aerodromska 869

Ilić M. Saša

Rođen 11. 5. 1979. u Banja Luci
Diplomirao 21. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Palmira Toljatija 18

Radosavljević M. Vojkan

Rođen 28. 3. 1979. u Jagodini
Diplomirao 21. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Jagodina
Kneginje Milice 12/8

Puđa R. Dragan

Rođen 31. 7. 1976. u Bačkoj Palanci
Diplomirao 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bačka Palanka
Marije Bursać 75

Mičić J. Svetlana

Rođena 27. 1. 1977. u Maloj Ivanči
Diplomirala 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Trešnja, Rajla
Avalska 15

Stanković A. Snežana

Rođena 29. 4. 1980. u Beogradu
Diplomirala 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ljermontova 8

Lekić A. Ivanka

Rođena 11. 7. 1976. u Beogradu
Diplomirala 22. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ratnih vojnih invalida 23/24

Gajić M. Aleksandar

Rođen 20. 3. 1978. u Pančevu
Diplomirao 22. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Pančevo
Vojvođanski bulevar 46/34

Jocković D. Slobodan

Rođen 10. 8. 1981. u Šapcu
Diplomirao 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Dublje
Kneza Miloša 16

Branković N. Damir

Rođen 12. 11. 1981. u Srem. Mitrovici
Diplomirao 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Šid
Vuka Karadžića 31

Babin S. Suzana

Rođena 15. 11. 1975. u Pančevu
Diplomirala 21. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Pančevo
Isidore Sekulić 9/29

Torbica Ž. Mašana

Rođena 3. 10. 1980. u Subotici
Diplomirala 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Subotica
Pazinska 17

Tadić R. Milan

Rođen 28. 02. 1980. u Valjevu
Diplomirao 20. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Valjevo
Prva proleterska 57

Životić Lj. Jelena

Rođena 4. 7. 1976. u Požarevcu
Diplomirala 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Požarevac
Tađačka čaršija 6/2

Stojić D. Dejan

Rođen 19. 11. 1976. u Kruševcu
Diplomirao 20. 3. 2007.
Stalno mesto boravka Kruševac
II dalmatinske prol. brigade 21/34

Stojanović J. Roberto

Rođen 17. 9. 1974. u Čupriji
Diplomirao 19. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Despotovac
D. S. Lazarevića 5

Višić M. Budimir

Rođen 8. 8. 1963. u Valjevu
Diplomirao 16. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka Valjevo
Kosmajka 2

Aleksić Z. Aleksandra

Rođena 3. 3. 1980 u Beogradu
Diplomirala 22. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Crnotravska 1a

Petković P. Igor

Rođen 27. 1. 1980 u Pirotu
Diplomirao 16. 2. 2007. godine
Stalno mesto boravka Pirot
Predraga Boškovića 10

Grujić N. Vladimir

Rođen 27. 3. 1975. u Beogradu
Diplomirao 28. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Majke Jevrosime 21

Gatić M. Željko

Rođen 3. 12. 1973. u Bogatiću
Diplomirao 31. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Klenje
Drinska 48

Jeličić D. Tijana

Rođena 16. 4. 1978. u Beogradu
Diplomirala 30. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka N. Beograd
Nehruova 131/30

Petrin D. Saša

Rođen 7. 6. 1980. u Novom Sadu
Diplomirao 31. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Franje Kluza 38

Mihajlović V. Marko

Rođen 1. 11. 1979. u Smederevu
Diplomirao 30. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Smederevo
Karađorđeva 37/17

Nikolić J. Maja

Rođena 28. 10. 1980. u Beogradu
Diplomirala 28. 05. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Marijane Gregoran 15/1

Noskov M. Tanja

Rođena 20. 7. 1980. u Pančevu
Diplomirala 16. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bul. Arsenija Čarnojevića 128/I

Arnaut D. Nikola

Rođen 22. 5. 1981. u Kninu
Diplomirao 16. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Batajnica
Braće Smiljanića 68

Tomić M. Irena

Rođena 3. 10. 1980. u Beogradu
Diplomirala 16. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ustanička 63/82

Kabanica S. Žaklina

Rođena 10. 8. 1975. u Užicu
Diplomirala 21. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Požega
Ive Andrića 16

Zekić Ž. Miloš

Rođen 14. 10. 1981. u Bijeljini
Diplomirao 16. 5. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
selo Popovi

Pešterac V. Ivan

Rođen 24. 1. 1978. u Sarajevu
Diplomirao 27. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Aleksandrovac
Kruševačka 12/7

Lazović V. Ratko

Rođen 25. 6. 1976. u Užicu
Diplomirao 26. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Čajetina
I Zlatiborske čete b.b.

Matić L. Goran

Rođen 1. 8. 1976. u Loznici
Diplomirao 19. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Novi Sad
Braće Dronjak 6

Pantić D. Goran

Rođen 22. 2. 1980. u Kragujevcu
Diplomirao 25. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Kragujevac
Zrenjaninska 5

Vukadinović D. Darko

Rođen 24. 1. 1978. u Arandjelovcu
Diplomirao 26. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Belosavci
Belosavci, Topola

Marton F. Robert

Rođen 7. 1. 1979. u Subotici
Diplomirao 27. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bajmok
Zagrebačka 12

Dražić Z. Mirjana

Rođena 20. 4. 1980. u Beogradu
Diplomirao 26. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka Krnjača
III Grge Andrijanovića 6

Dmitrović Ž. Marija

Rođena 10. 3. 1980 u G. Mllanovcu
Diplomirala 19. 4. 2007. godine
Stalno mesto boravka G. Milanovac
Natalije Carević 136

Marković A. Željko

Rođen 20. 11. 1978. u N. Varoši
Diplomirao 23. 3. 2007. godine
Stalno mesto boravka N. Varoš
Svetog Save 2/4