

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. 63 Br. 3-4 Str. 143 - 266 Beograd, 2009.



IZDAVAČ:

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

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

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

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD:

Vojin Ivetić, Milovan Jovićin, Vera Katić, Sanja Kovačević-Aleksić, Zoran Kulišić, Zoran Rašić, Horea Šamanc, Radoljub Tadić, Jadranka Tijanić, Dragiša Trailović

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Jadranka Tijanić*

LEKTORI – LECTORS:

Sanja Vranić, za srpski jezik / for Serbian language
Danijela Gledić, za engleski jezik / for English language
Boško Bošković, za ruski jezik / for Russian language



GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

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

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:

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

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

Adresa časopisa:

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

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 63

BROJ 3 - 4

STRANA 143 - 266

Beograd 2009.

3-4

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 63 Br. 3 - 4 str. 143 - 266 Beograd, 2009.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Šamanc H., Milić N., Stojić V., Knežević D., Vujanac I., Dimitrijević B., Nišavić J., Radojičić Marina: Utvrđivanje prisustva antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV), virusa parainfluence 3 (PI3) i goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) u krvnom serumu junadi primenom indirektnе imunoenzimske probe
Establishing Presence of Antibodies Against Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Parainfluenza Virus 3 (PI3) and Bovine Herpesvirus 1 (BHV 1) in Blood Serum of Cattle Using Indirect Immunoenzyme Probe
Утверждение присутствия антител против говяжьего респираторного синциального вируса (ГРСВ), вируса параинфлюэнцы 3 (ПИ 3) и говяжьего герпесвируса 1 (ГГВ 1) в кровяном сыворотке телят применением косвенной иммуноэнзимной пробы 145
- Rogožarski D., Potkonjak A., Gagrčin M., Lako B., Plavšić B.: Izolacija i identifikacija *Brucella suis* biotip 2 iz punktata epididimisa nerasta obolelog od bruceloze
Isolation and Identification of *Brucella Suis* Biotype 2 from Epididymal Puncture Performed on a Boar Affected with Brucellosis
Изоляция и идентификация *Brucella suis* биотип 2 из пунктата эпидидимиса хряка заболевшего бруцеллёзом 153
- Vojinović Dragica, Žutić Jadranka, Stanojević S.: Seroprevalenca leptospiroze konja na beogradskom području u periodu od 1998. do 2008. godine
Seroprevalence of Leptospirosis in Horses in the Territory of Belgrade During the Period from 1998 to 2008
Серопревалентность лептоспироза лошадей на белградской территории в периоде от 1998 до 2008 года 163
- Šamanc H., Kirovski Danijela, Prodanović R., Vujanac I., Sladojević Ž.: Koncentracija proteina, bilirubina i glukoze u krvi krava sa dislokacijom sirišta na levo
Blood Concentration of Proteins, Bilirubin and Glucose in Cows with Left Displaced Abomasum
Концентрация протеинов, билирубина и глюкозы в коров с дислокацией сычуга влево 171
- Panousis Nikolaos: Dairy Calf Pneumonia: Effective Treatment Depends on Early and Accurate Diagnosis
Pneumonija kod teladi: efikasan tretman zavisi od rane i precizne dijagnoze
Пневмония у теляти: эффективное лечение зависит от раннего и точного диагноза 177

■ Rajić Savić Nataša: Promena populacije <i>S. enterica</i> serotip <i>Enteritidis</i> u eksperimentalno kontaminiranom mleku u zavisnosti od temperature i kiselosti Changes in Population of <i>S. Enterica</i> Serotype <i>Enteritidis</i> in Experimentally Contaminated Milk Depending on Temperature and Acidity Изменение популяции <i>S. enterica</i> серотип <i>Enteritidis</i> в экспериментально контаминированном молоке в зависимости от температуры и кислотности	189
--	-----

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

■ Baltić M. Ž., Kilibarda Nataša, Teodorović V., Dimitrijević Mirjana, Karabasil N., Dokmanović Marija: Potencijalne biološke opasnosti od značaja za HACCP planove u procesu obrade sveže ribe Potential Biological Hazard of Importance for Haccp Plans in Fresh Fish Processing Потенциальные биологические опасности важны для HACCP планя в процессе обработки свежей рыбы	201
■ Resanović Radmila, Rašić Z., Kureljušić B., Vučićević Ivana: Salmoneloza u živinarstvu u svetlu uvođenja vakcinacije Salmonellosis in Poultry Breeding in View of Introducing Vaccination Сальмонеллёз в птицеводстве в свете введению вакцинации	215
■ Vučinić Marijana: Obogaćivanje uslova života za domaće životinje na farmama, životinje u zoološkim vrtovima, kućne ljubimce i ogleadne životinje Environmental Enrichment in Farm, Zoo, Companion and Experimental Animals Обогащение условий жизни для домашних животных на фермах, животных в ЗОО-парках, домашних любимцев и опытных животных	227

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REVIEW – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

■ Vujanac I., Glišić V.: Puerperalna hemoglobinurija – <i>Haemoglobinuria puerperalis</i> Puerperal Haemoglobinuria – <i>Haemoglobinuria Puerperalis</i> Пуерперальная гемоглобинурия (<i>Haemoglobinuria puerperalis</i>)	237
■ Kureljušić B., Savić B., Prodanović R., Ćirović D.: Kutani fibrom kod srne (<i>Capreolus capreolus</i>) Cutaneous Fibroma in the Roe Deer (<i>Capreolus capreolus</i>) Кутанная фиброма у серны (<i>Capreolus capreolus</i>)	243
■ Aleksić Jelena, Kukolj V., Popović N.: Lajšmanioza psa – prikaz slučaja Leishmaniasis in Dogs – Case Study Лейшманиоз собаки – показ случая	251

DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE - ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	259
--	-----

UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS	263
---	-----

**UTVRĐIVANJE PRISUSTVA ANTITELA PROTIV GOVEĐEG
RESPIRATORNOG SINCICIJALNOG VIRUSA (BRSV), VIRUSA
PARAINFLUENCE 3 (PI3) I GOVEĐEG HERPESVIRUSA 1
(BHV 1) U KRVNOM SERUMU JUNADI PRIMENOM
INDIREKTNE IMUNOENZIMSKE PROBE***

***ESTABLISHING PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST BOVINE
RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (BRSV), PARAINFLUENZA VIRUS 3
(PI3) AND BOVINE HERPESVIRUS 1 (BHV 1) IN BLOOD SERUM OF
CATTLE USING INDIRECT IMMUNOENZYME PROBE***

**H. Šamanc, N. Milić, V. Stojić, D. Knežević, I. Vujanac, B. Dimitrijević,
J. Nišavić, Marina Radojčić****

Ukupno je ispitano 92 uzorka krvnog seruma junadi na prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa primenom indirektne imunoenzimske probe – iELISA. Kod 46, odnosno 50% uzoraka krvnog seruma ustanovljena su specifična antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV). Ispitivanjem 92 uzorka krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv virusa parainfluence 3 (PI 3) ustanovljeno je njihovo prisustvo kod 77, odnosno 83,69% uzoraka, a prisustvo antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) ustanovljeno je kod 19, odnosno 20,65% uzoraka.

Ključne reči: goveđi respiratorni sincicijalni virus, virus parainfluence 3, goveđi herpesvirus 1, iELISA

Uvod / Introduction

Goveđi herpesvirus 1 (BHV1), virus parainfluence 3 (PI3), goveđi respiratorni sincicijalni virus (BRSV) i virus goveđe virusne dijareje (BVDV) su

* Rad primljen za štampu 22. 12. 2008. godine

** Dr sci. med. vet. Horea Šamanc, red. profesor, dr sci. med. vet. Nenad Milić, red. profesor, dr sci. med. vet. Velibor Stojić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; Dejan Knežević, Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Beograd; mr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, Blagoje Dimitrijević, dr vet. med., dr sci. med. vet. Jakov Nišavić, asistent; dr sci. med. vet. Marina Radojčić, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

najčešći uzročnici respiratornih infekcija goveda koje se komplikuju infekcijama bakterijske etiologije što dovodi do pojave opsežnih bronhopneumonija (Mihajlović, 1987). Enzootska bronhopneumonija, koja se prvenstveno javlja kod mlađih kategorija (teladi i junadi u tovu), prouzrokuje značajne ekonomske gubitke u ovoj grani stočarske proizvodnje (Nardelli, 1999).

Goveđi respiratorni sincicijalni virus (BRSV) pripada rodu *Pneumovirus*, podfamiji *Paramyxovirinae* familije *Paramyxoviridae*. Navedeni virus poseduje molekul jednolančane RNK i ima nepravilan oblik viriona koji varira od skoro potpuno sferičnog do filamentoznog sa prečnikom od 150 do 300nm (Quinting, 2007). Infekcija izazvana goveđim respiratornim sincicijalnim virusom (BRSV) ustanovljena je kod svih starosnih kategorija goveda, ali se oboljenje najčešće pojavljuje kod junadi mlađe od 18 meseci i teladi u uzrastu od 10 dana do nekoliko meseci (Quinting, 2007). Goveđi respiratorni sincicijalni virus je, osim kod goveda, izolovan i kod ovaca i koza. U cilju dobijanja jasnije slike o značaju BRSV u etiopatogenezi respiratornog sindroma goveda, neophodno je da se za njegovu identifikaciju koriste i druge imunološke metode kao npr. metoda imunofluorescence, pored drugih seroloških i imunocitohemijskih testova (Quinting, 2007).

Virus parainfluence 3 pripada rodu *Respirovirus*, podfamiji *Paramyxovirinae* i familiji *Paramyxoviridae*. Virus poseduje molekul jednolančane RNK. Molekul nukleinske kiseline je smešten u nukleokapsidu ikosaedrične simetrije koga obavlja spoljašnji omotač virusa – peplos. Virus parainfluence 3 izaziva respiratorne infekcije goveda, ovaca, konja i ljudi. Primarni izvor infekcije virusom parainfluence 3 (PI3) su obbolele životinje koje putem sekreta iz respiratornog sistema prenose infekciju na zdrave, prijemčive jedinke. Obbolele životinje imaju povišenu telesnu temperaturu, dispneju, pojačano suzenje i serozni iscedak iz nosa. Pomenuti simptomi bolesti najčešće traju tri do četiri dana posle čega se infekcija završava prezdravljenjem i potpunim oporavkom obbolele jedinke. U nekim slučajevima dolazi do pojave komplikacija bakterijske etiologije koje se manifestuju u vidu teških bronhopneumonija sa letalnim ishodom. U cilju detekcije prisustva virusa PI3 u ispitivanom materijalu, u laboratorijskim uslovima, koriste se testovi hemaglutinacije, inhibicije hemaglutinacije, ELISA-test, test imunofluorescence i drugi (Vainionpää, 1994).

Goveđi herpesvirus 1 (BHV1) pripada rodu *Varicellovirus*, podfamiji *Alphaherpesvirinae* i familiji *Herpesviridae*. Virusi koji pripadaju familiji *Herpesviridae* su okruglastog oblika sa dvolančanim molekulom DNK koja se nalazi u kapsidu ikosaedrične simetrije sačinjenom od 162 kapsomere. Kapsomere su većinom građene u vidu izdužene heksagonalne prizme sa cilindričnom šupljinom u centralnom delu. Herpesvirusi imaju spoljašnji omotač (peplos). Infekcija goveda izazvana herpesvirusom 1 pojavljuje se u više kliničkih oblika kao što su infektivni bovini rinotraheitis, konjunktivitis i oboljenje genitalnih organa praćeno pojavom osipa i zapaljenjem sluznice vulve i vagine krava, odnosno balanopostitis kod bikova (Takiuchi, 2005). Posle preboljenja infektivnog rinotraheitisa i pustuloznog vulvovaginitisa goveda, herpesvirus se zadržava u organizmu i najčešće perzistira

u trigeminalnim ili sakralnim ganglijskim ćelijama, latentno prisutan, odnosno kao neproduktivna infekcija (Riegel, 1987).

Rezultati dobijeni u ispitivanjima prisustva infekcije goveda izazvane virusom BRSV na teritoriji Republike Srbije koji se odnose na izolaciju uzročnika iz respiratornog sistema goveda sa respiratornim sindromom i njegovu identifikaciju primenom metoda imunofluorescencije i virus-serum neutralizacije, kao i rezultati seroloških ispitivanja uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa BRSV, potvrđuju da pomenuti virus ima sve veći značaj u patogenezi respiratornih infekcija goveda u našoj zemlji. Iz navedenih razloga, vršena su ispitivanja uzoraka krvnog seruma goveda sa različitih lokacija na teritoriji Republike Srbije na prisustvo antitela kako protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV1) i virusa parainfluence 3 (PI3), tako i protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV). Ispitivanja su vršena primenom indirektnog imunoenzimskog testa – iELISA, kao veoma osetljive serološke metode radi brzog otkrivanja inficiranih jedinki, što je preduslov za uspešno sprovođenje mera imunoprofilakse navedenih virusnih infekcija goveda i drugih preventivnih mera vezanih za sprečavanje njihove pojave i širenja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Materijal / Materials

Uzorci krvnog seruma goveda / Samples of bovine blood serum

Uzorci krvnog seruma nevakcinisanih junadi prikupljeni su iz devet to-vilišta na teritoriji Republike Srbije.

Dijagnostički komercijalni kitovi za izvođenje imunoenzimske probe – iELISA / Diagnostic commercial kits for performing immunoenzyme probe – iELISA

Za izvođenje imunoenzimske probe – iELISA, korišćena su tri komercijalna dijagnostička antigenska kita proizvođača SVANOVA Biotech AB, Uppsala, Švedska:

1. Za ispitivanje uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV) – Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV-Ab) SVANOVIR (Article number 10-2500-02);

2. Za ispitivanje uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv virusa parainfluence tip 3 (PI 3) – Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (PIV3-Ab) SVANOVIR (Article number 10-2600-02);

3. Za ispitivanje uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) - Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR-Ab) SVANOVIR (Article number 10-2100-50);

Metode / Methods

Imunoenzimskom probom – iELISA, uz korišćenje tri dijagnostička komercijalna kita i po proceduri izvođenja propisanoj od strane proizvođača di-

jagnostičkih sredstava, vršeno je uporedno ispitivanje 92 uzorka krvnog seruma nevakcinisanih goveda (telad i junad) na prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV), virusa parainfluence 3 (PI 3) i goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Rezultati dobijeni ispitivanjem 92 uzorka krvnog seruma goveda indirektnom imunoenzimskom probom – iELISA, potvrdili su prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV) kod 46, odnosno 50% ispitanih uzoraka (slika 1). Kod sedam, odnosno 15,21% uzoraka od navedenih 46 ispitivanih uzoraka krvnog seruma goveda, dokazano je prisustvo antitela samo protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV).



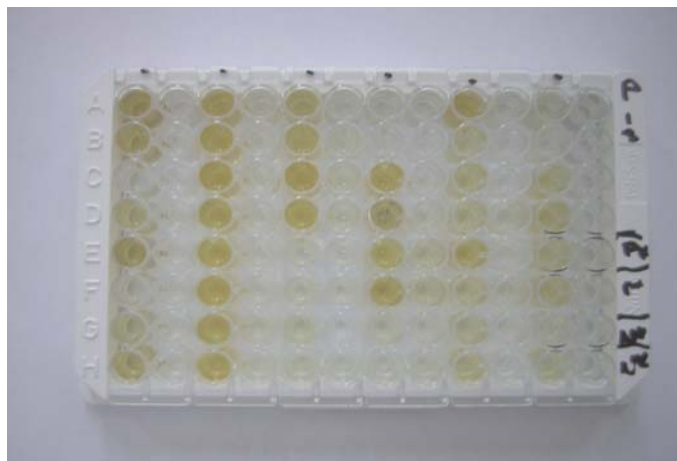
Slika 1. Uzorci krvnog seruma u kojima je ustanovljeno prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV) /

Figure 1. Blood serum samples in which the presence of antibodies against the bovine respiratory syncytial virus (BRSV) were established

Rezultati ispitivanja 92 uzorka krvnog seruma goveda primenom indirektne – iELISA, potvrdili su prisustvo antitela protiv virusa parainfluence 3 (PI 3) kod 77, odnosno 83,69% uzoraka (slika 2). Kod 40 ispitivanih uzoraka krvnog seruma ustanovljeno je prisustvo antitela protiv virusa parainfluence 3 i goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa, dok su kod 37, odnosno 48,05% uzoraka utvrđena antitela samo protiv virusa parainfluence 3 (PI 3).

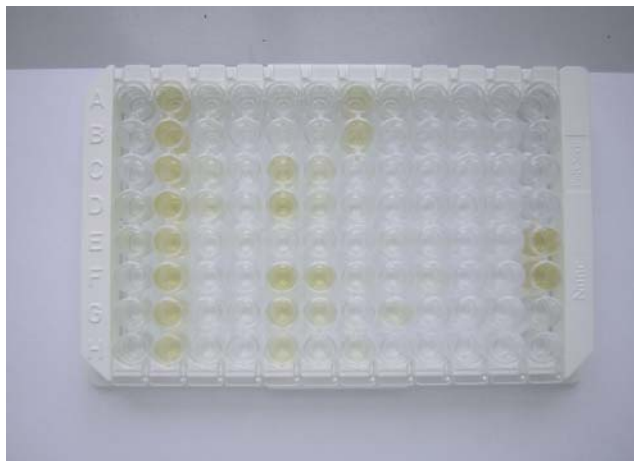
Ispitivanjem 92 uzorka krvnog seruma goveda napred navedenom metodom, ustanovljeno je prisustvo antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) kod 19 to jest 20,65% uzoraka (slika 3). Od navedenog broja uzoraka, kod 17

uzoraka, odnosno 89,47% pored antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) potvrđeno je i prisustvo antitela protiv virusa PI3 i BRSV-a. U jednom uzorku (5,2%) je ustanovljeno samo prisustvo specifičnih antitela protiv BHV 1, a u jednom prisustvo antitela protiv BHV 1 i PI3 virusa (5,2%).



Slika 2. Uzorci krvnog seruma u kojima je ustanovljeno prisustvo antitela protiv virusa parainfluence 3 (PI3) /

Figure 2. Blood serum samples in which the presence of antibodies against the parainfluenza virus 3 (PV 3) were established



Slika 3. Uzorci krvnog seruma u kojima je ustanovljeno prisustvo antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1) /

Figure 3. Blood serum samples in which the presence of antibodies against the bovine herpesvirus 1 (BHV 1) were established

Florent i saradnici (1986) su primenom imunoenzimske probe – ELISA, otkrili prisustvo antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa, virusa parainfluence 3, goveđeg herpesvirusa 1 i adenovirusa tip 3. Rezultati njihovih ispitivanja su pokazali da jednostavnost i brzina izvođenja imunoenzimske probe kao i njena osetljivost potvrđuju opravdanost njene šire primene za otkrivanje antitela protiv navedenih virusa u ispitivanim uzorcima krvnog seruma.

Graham i saradnici (1998) su korišćenjem komercijalnih dijagnostičkih kitova za izvođenje imunoenzimske probe – ELISA, ispitivali uzorke krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv virusa goveđe dijareje, goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa, virusa parainfluence 3 (PI 3) i goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1). Rezultati navedenih ispitivanja izvršenih na ukupno 564 uzorka krvnog seruma goveda, potvrdili su prisustvo antitela protiv virusa BVD kod 8,0% uzoraka, protiv virusa BRSV kod 19,0% uzoraka, dok su antitela protiv virusa PI3 registrovali kod 13,7% uzoraka, a antitela za virus BHV1 kod 7,4% uzoraka.

Obando i saradnici (1999) su vršili serološka ispitivanja goveda poreklom iz pet područja u Venecueli na prisustvo virusa goveđe dijareje, goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa i goveđeg herpesvirusa. Ukupno je ispitano 615 uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo antitela protiv navedenih uzročnika. Antitela protiv virusa BVD utvrđena su kod 36% uzoraka, a antitela protiv goveđeg herpesvirusa 1 kod 67% uzoraka, dok su antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa ustanovljena kod 85% uzoraka krvnog seruma ispitivanih goveda. Hazari i saradnici (2002) su takođe ispitivali seroprevalenciju infekcije goveda izazvane goveđim respiratornim sincicijalnim virusom. Ispitivanja su vršili primenom imunoenzimske probe – ELISA, na 499 uzoraka krvnog seruma goveda. Utvrđena je seroprevalenca infekcije virusom BRSV koja je iznosila oko 46,09%. Sausker i saradnici (2002) su primenom indirektno imunoenzimske probe – iELISA, otkrili antitela protiv virusa goveđe dijareje, goveđeg herpesvirusa 1 i goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa u uzorcima krvnog seruma bizona. Kod 125 (55,3%) uzoraka krvnog seruma od ukupno 226 ispitanih uzoraka, utvrdili su prisustvo antitela protiv virusa goveđe dijareje (BVDV), a kod 99 (43,8%) uzoraka protiv goveđeg herpesvirusa 1 (BHV 1), dok su kod 208 (92%) uzoraka seruma dokazali postojanje antitela protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV).

Zaključak / Conclusion

Dobijeni rezultati ispitivanja su pokazali da imunoenzimska proba – iELISA, može uspešno da se koristi kao brza, osetljiva i veoma specifična metoda za otkrivanje prisustva antitela u uzorcima krvnog seruma goveda protiv goveđeg respiratornog sincicijalnog virusa (BRSV), virusa parainfluence 3 (PI3) i goveđeg herpesvirusa 1 (BHV1). To potvrđuje opravdanost njene šire primene u serološkoj dijagnostici navedenih virusnih infekcija goveda. Velika raširenost ovih

infekcija u ispitivanim zapahtima ukazuje na značaj sprovođenja svih profilaktičkih mera za suzbijanje navedenih oboljenja, koja nanose velike štete proizvodnji tokom uzgoja ovih životinja.

Literatura / References

1. Florent G, de Marneffe C. Enzyme linked-immunosorbent assay used to monitor serum antibodies to bovine respiratory disease viruses. *Vet Microbiol* 1986; 11(4): 309-17.
2. Graham DA, McShane J, Mawhinney KA, McLaren IE, Adair BM, Merza M. Evaluation of a single dilution ELISA system for detection of seroconversion to bovine viral diarrhoea virus, bovine respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus: comparison with testing by virus neutralization and hemagglutination inhibition. *J Vet Diagn Invest* 1998; 10(1): 43-8.
3. Hazari S, Panda HK, Kar BC, Das BR. Comparative evaluation of indirect and sandwich ELISA for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in dairy cattle. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2002; 25(1): 59-68.
4. Mihajlović B. Rikecije i virusi, 1987.
5. Nardelli S, Marangon S, Dalla-Pozza M, Ponzoni A, Viel L, Brichese M. Bovine herpesvirus 1 (BHV 1) seroprevalence in the breeding cattle population of the Veneto region: Prospects for the implementation of a control programme, *J Vet Med* 1999; 46: 735-40.
6. Obando RC, Hidalgo M, Merze M, Montoya A, Klingeborn B, Moreno-Lopez J. Sero-prevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State). *Prev Vet Med* 1999; 41(4): 271-8.
7. Riegel CA, Ayers VK, Collins JK. Rapid, sensitive, competitive serologic enzyme – linked immunosorbent assay for detecting serum antibodies to bovine herpesvirus type 1. *J Clin Microbiol* 1987; 24:18-21.
8. Sausker EA, Dyer NW. Seroprevalence of OHV-2, BVDV, BHV-1, and BRSV in ranch-raised bison (*Bison bison*). *J Vet Diagn Invest* 2002; 14(1): 68-70.
9. Takiuchi E, Medici KC, Alfieri AF, Alfieri AA. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by semi – nested PCR in Brazilian cattle herds. *Res Vet Sci* 2005; 79: 85-8.
10. Vainionpää R, Hyypia T. Biology of parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 1994; 265-75.
11. Quinting B, Robert B, Letellier C, Boxum M, Kerkhofs P, Schynts F, Collard A. Development of a 1-step enzyme – linked immunosorbent assay for the rapid diagnosis of bovine respiratory syncytial virus in postmortem specimens. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19(3): 283-43.

ENGLISH

ESTABLISHING PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (BRSV), PARAINFLUENZA VIRUS 3 (PI3) AND BOVINE HERPESVIRUS 1 (BHV 1) IN BLOOD SERUM OF CATTLE USING INDIRECT IMMUNOENZYME PROBE

H. Šamanc, N. Milić, V. Stojić, D. Knežević, I. Vujanac, B. Dimitrijević, J. Nišavić, Marina Radojičić

A total of 92 samples of bovine blood serum were examined for the presence of antibodies against the bovine respiratory syncytial virus using indirect immunoenzyme probe – iELISA. Specific antibodies against the bovine respiratory syncytial virus (BRSV) were established in 46, or 50% blood serum samples. Investigations of the 92 blood serum samples of cattle for the presence of antibodies against the parainfluenza virus 3 (PI 3), revealed their presence in 77, or 83.69% of the samples, and the presence of antibodies against the bovine herpesvirus 1 (BHV 1) was established in 19, or 20.65% of the samples.

Key words: Bovine respiratory syncytial virus, parainfluenza virus 3, bovine herpesvirus 1, iELISA.

РУССКИЙ

УТВЕРЖДЕНИЕ ПРИСУТСТВИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ГОВЯЖЕГО РЕСПИРАТОРНОГО СИНЦИАЛЬНОГО ВИРУСА (ГРСВ), ВИРУСА ПАРАИНФЛЮЭНЦЫ 3 (ПИ 3) И ГОВЯЖЕГО ГЕРПЕСВИРУСА 1 (ГГВ 1) В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ ТЕЛЯТ ПРИМЕНЕНИЕМ КОСВЕННОЙ ИММУНОЭНЗИМНОЙ ПРОБЫ

Х. Шаманц, Н. Милич, В. Стоич, Д. Кнежевич, И. Вуянац, Б. Димитриевич, Й. Нишавич, Марина Радоичич

Совокупно испытано 92 образчика кровяного серума телят на присутствие антител против говяжьего респираторного синциального вируса применением косвенной иммуоэнзимной пробы – iELISA. У 46, то есть 50% образчиков кровяного серума установлены специфические антитела против говяжьего респираторного синциального вируса (ГРСВ). Испытанием 92 образчика кровяного серума крупного рогатого скота на присутствие антител против вируса параинфлюэнцы 3 (ПИ 3) установлено их присутствие у 77, то есть 83,69% образчиков, а присутствие антител против говяжьего герпесвируса 1 (ГГВ 1) установлено у 19, то есть 20,65% образчиков.

Ключевые слова: говяжий респираторный синциальный вирус, вирус параинфлюэнцы 3, говяжий герпесвирус 1, iELISA

IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA *BRUCELLA SUI*S BIOTIP 2 IZ PUNKTATA EPIDIDIMISA NERASTA OBOLELOG OD BRUCELOZE*

*ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BRUCELLA SUI*S BIOTYPE 2 FROM EPIDIDYMAL PUNCTURE PERFORMED ON A BOAR AFFECTED WITH BRUCELLOSIS

D. Rogožarski, A. Potkonjak, M. Gagrčin, B. Lako, B. Plavšić**

Uzročnik bruceloze kod svinja je Brucella suis. U okviru vrste Brucella suis, postoji pet biotipova, ali samo biotipovi 1, 2 i 3 dovode do infekcije svinja. Infekcija ljudi sa Brucella suis biotipom 2 retko se registruje. Bruceloza svinja je raširena širom sveta. Zapaženo je da incidencija infekcije sa Brucella suis biotip 2 u populaciji svinja zapadne Evrope, poslednjih godina, raste. Cilj rada je bio da se iz punktata epididimisa nerasta sumnjivog na brucelozu izoluje, identifikuje i tipizira uzročnik, primenom standardnih mikrobioloških metoda. Rezultati istraživanja ukazuju da se Brucella suis biotip 2 uspešno izoluje i identifikuje iz uzorka punktata epididimisa dobijenih od živih životinja, pa stoga punktata epididimisa predstavlja siguran, pouzdan i značajan uzorak, poreklom od žive životinje, za direktnu dijagnostiku bruceloze nerasta. Ovaj prvi izolat iz punktata epididimisa Brucella suis biotip 2, označen je kao K-1.

Ključne reči: Brucella suis biotip 2, bruceloza, punkcija epididimisa, izolacija i identifikacija, svinje

Uvod / Introduction

Uzročnik bruceloze kod svinja je *Brucella suis*. Nakon početne bakterijemije, razvijaju se hronične inflamatorne lezije u reproduktivnim organima krmača i nerasta, sa ne tako retkom trajnom lokalizacijom lezija u drugim tkivima. U

* Rad primljen za štampu 18. 03. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Dragan Rogožarski, Veterinarski specijalistički institut „Požarevac“, Požarevac; mr sci. med. vet. Aleksandar Potkonjak, dr sci. med. vet. Mladen Gagrčin, profesor, dr sci. med. vet. Branislav Lako, profesor, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; mr sci. med. vet. Budimir Plavšić, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije, Uprava za veterinu, Beograd

okviru vrste *Brucella suis*, postoji pet biotipova, ali samo biotipovi 1, 2 i 3 dovode do infekcije kod svinja. Oboljenja kod svinja izazvana biotipovima 1 i 3 su međusobno slična, dok se infekcija izazvana biotipom 2 razlikuje u zavisnosti od prisustva domaćina, ograničenu geografsku distribuciju i patologiju. Dok su biotipovi 1 i 3 označeni kao patogeni za čoveka sa mogućim razvojem teškog oboljenja, infekcija kod ljudi *Brucella suis* biotipom 2 retko se registruje (OIE, 2008).

Primarni domaćini za biotipove 1, 2 i 3 su svinje, ali su prijemčive i druge vrste posebno zečevi, psi, glodari, goveda, kao i čovek. Primarni domaćin biotipa 4 je irvas, ali su infekcije registrovane kod pasa i ljudi. *Brucella suis* biotip 5 inficira različite vrste glodara i miševa (Radojičić, 2004). Bruceloza kod svinja je raširena širom sveta. *Brucella suis* biotip 2 je prisutna u populaciji divljih svinja u zemljama centralne Evrope. Brglez i Batis 1981. ukazuju na prisustvo ove infekcije u Sloveniji, a godinu dana kasnije, Kormendy i Nagy, registruju je u Mađarskoj. Hubalek i saradnici, identifikuju infekciju kod svinja izazvanu *Brucella suis* biotipom 2 u Češkoj tek 2002 godine. Cvetnić i saradnici 2003. govore o inficiranosti divljih svinja *Brucella suis* biotipom 2 u Hrvatskoj (Cvetnić i sar., 2003; Cvetnić i sar., 2004). Gennero i saradnici ukazuju na to da je inficiranost svinja *Brucella suis* biotipom 2 u poslednjoj deceniji dokazana i u Belgiji, Francuskoj i Italiji, kao i da je u zemljama zapadne Evrope incidencija ove infekcije u porastu (Gennero i sar., 2006).

Dijagnostika infekcije kod svinja izazvane bakterijom *Brucella suis* zasniva se na primeni indirektnih testova (BAB, RVK i ELISA) za dokazivanje specifičnih antitela na antigene brucela vrsta, kao i izolacije, identifikacije i tipizacije uzročnika.

U literaturi se kao podesni uzorci za izolaciju i identifikaciju *Brucella suis* navode mandibularni, retrofaringealni i supramamarni limfni čvorovi. Preporučuje se i uzimanje sledećih uzoraka za dijagnostiku bruceloze svinja: delova placente, abortiranih fetusa, testisa nerasta nakon kastracije, sperme ili vaginalnih briseva (Alton i sar., 1988; Alton, 1990). Zbog mogućnosti izolacije *Brucella suis* u fazi bakterijemije, preporučuje se i uzorkovanje pune krvi u akutnom toku bolesti. Ponekad se uzročnik može izolovati i iz sinovijalne tečnosti patološki promenjenih zglobova ili apscesa. Terenski veterinar najčešće biva pozvan dan posle pobačaja kada su pobačeni plod ili posteljica već pojedeni ili zakopani. Uzorak krvi od nerasta u takvoj fazi najčešće ne sadrži *B. suis* jer je faza bakterijemije prošla, te se može koristiti samo za serološke testove. Isto je i sa krmačom kod koje rano uzorkovanje može serološki dati negativan rezultat. Izolovanje *B. suis* je praktično onemogućeno zbog nedostatka materijala. Iz tog razloga je razrađena metoda punkcije epididimisa. U nama dostupnoj literaturi, nismo uočili preporuke koje se odnose na uzorkovanje punktata epididimisa nerasta obolelih ili sumnjivih na infekciju sa *Brucella suis* kao biološkog materijala za dijagnostiku bruceloze kod živih životinja.

Na osnovu epidemioloških podataka, rezultata seroloških pregleda svinja sumnjivih na brucelozu i prisustva infekcije kod svinja sa *Brucella suis* u

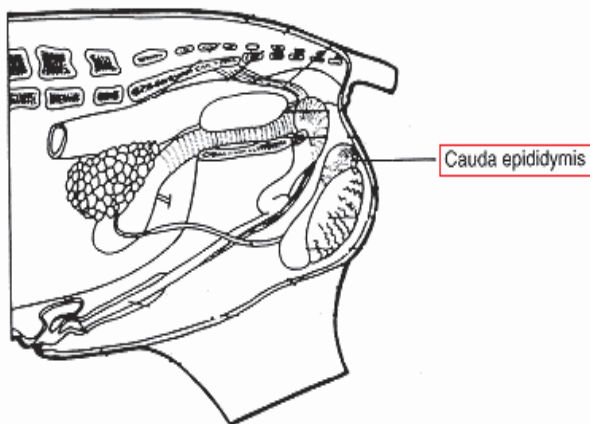
Srbiji utvrđeni su određeni ciljevi. Prvi među njima je izolacija, identifikacija i tipizacija uzročnika bruceloze svinja iz punktata epididimisa nerasta. Zatim sledi procena značaja punkcije epididimisa nerasta, kao nove metode uzorkovanja biološkog materijala za direktnu dijagnostiku bruceloze svinja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Uzorci krvi su dobijeni od jednog nerasta i dve krmače koje su pobacile dva dana ranije i koji su na osnovu opravdane sumnje na brucelozu dva puta podvrgnuti uzorkovanju krvi i istovremenoj punkciji epididimisa nerasta. Uzorkovanje je vršeno pre i tokom sprovođenja mera za suzbijanje i iskorenjivanje bruceloze u selu Kurjače u Braničevskom okrugu R Srbije. Biološki materijal za dijagnostiku inficiranosti nerasta bakterijom *Brucella suis* predstavlja punktati epididimisa ispunjeni spermom iz repnog dela epididimisa. Punktati su upakovani u ependorf epruvete od 2 ml, duboko zamrznute i sačuvane za pregled u laboratoriji trećeg stepena biosigurnosti.

Metoda punkcije epididimisa / *Method of epididymal puncture*

Nakon fiksiranja nerasta obavljena je ručna repozicija testisa u smislu hvatanja u distalnom delu i snažnog potiskivanja put dorzalno, u cilju uočavanja ispuščenja u proksimalnom delu, kranijalno, i izlaganja mesta punkcije (*cauda epididymis*). Preduzete su neophodne mere asepse i antiseptike (Shema 1, Fotografija 1). Punkcija je izvršena iglom promera 18 G (1,2 x 40 mm) do dubine 1 cm u tkivo. Aspiracija sadržaja je obavljena PVC špricom razmera 2-5 ml, u količini od 1



Shema 1. Prikaz antomskog položaja cauda epididymis /
Diagram 1. Anatomic position of cauda epididymis

do 2 ml punktata. Nakon punkcije ponovo su primenjene tehnike asepsse i antiseptse. U dobijenom punktatu ponekad se mogu uočiti primese krvi, koje ne ometaju izolaciju, identifikaciju i tipizaciju brucela vrsta.



Fotografija 1. Punkcija epididimisa nerasta /
Picture 1. Puncture of boar epididymis

Za serološke preglede su korišćeni BAB test, Rose Bengal test (RBT), spora aglutinacija - metoda po Wrightu i reakcija vezivanja komplementa (RVK).

U laboratoriji sa odgovarajućim stepenom biosigurnosti u Zagrebu uspešno je izvršen niz izolacija i identifikacija *B. suis* biotipa 2, te je u kasnijoj fazi ispitivanja po odobrenju Uprave za veterinu odnet materijal i izvršeno bakteriološko ispitivanje.

Rezultati / Results

Serološki pregled / Serological examination

Tri uzorka krvi koji su uzeti od nerasta i krmača posle pobačaja, a koji su bili pozitivni BAB i SAT testom upućeni su na RVK analizu ovlašćenim laboratorijama Veterinarskog instituta Beograd i Fakultetu veterinarske medicine, Beograd. Pozitivnim nalazom RVK potvrđena je bruceloza i preduzete su mere po Pravilniku.

Bakteriološki pregled / Bacteriological examination

Uzorci punktata epididimisa nerasta su homogenizovani u stomaheru sa 5 ml sterilnog fiziološkog rastvora, a potom je 1 ml homogenata kultivisan na sledeće hranljive podloge: krvni agar, brucela agar i selektivna podloga po Farrellu. Kod primoizolacije, hranljive podloge su kultivisane u duplikatu i inkubirane su na 37° C u atmosferi sa 5-10 CO₂, kao i u standardnoj atmosferi, tokom 7 dana. Rast i morfologija kolonija praćene su dnevno (Alton, 1990; Corbel i sar., 1983).

Sumnjive kolonije na *Brucella suis* identifikovane su po standardnoj mikrobiološkoj proceduri koja uključuje izvođenje sledećih ispitivanja: morfologija kolonije, rast u prisustvu CO₂, produkcija H₂S, rast na podlogama sa dodatkom baznog fuksina i tionina, kao i aglutinaciju sa monospecifičnim antiserumima na A, M i R antigene brucela vrsta. Morfološke, kulturelne i biohemijske osobine izolata poređene su sa referentnim sojem *Brucella suis* sva tri biotipa kod svinja kao i *B. melitensis* i *B. abortus* (Tabela 1).

Nakon inkubiranja u standardnoj atmosferi, na zasejanim hranljivim podlogama, izrasle su glatke i sjajne kolonije boje meda (Fotografija 2).

Rast sumnjivih kolonija je uočen i na podlozi sa dodatkom tionina, dok rasta nije bilo na podlogama inkubiranim u atmosferi sa 5-10 CO₂, kao i na podlozi sa dodatkom baznog fuksina. Sumnjive kolonije nisu pokazale sposobnost produkcije H₂S. Izolat je aglutinirao sa monospecifičnim antiserumom na A-antigene,



Fotografija 2. Izrasle kolonije *Brucella suis* biotip 2 na selektivnoj podlozi po Farrell-u /
Picture 2. Grown colonies of *Brucella suis* biotype 2 on selective base according to Farrell

Tabela 1. Rezultati bakteriološke analize izolata iz epizootije bruceloze svinja (Kurjače, 2002) /
Table 1. Results of bacteriological analysis of isolates from swine brucellosis epizooty (Kurjače 2002)

Standardni sojevi / Standard strains		Rast na CO ₂ <i>Growth on CO₂</i>	Stvaranje H ₂ S / <i>Creating of H₂S</i>	Rast na bojama / <i>Growth on stains</i>						Aglutinacija sa serumima / <i>Agglutination with serums</i>			Identifikovana vrsta <i>Brucella</i> sp. / <i>Identified species of Brucella</i> sp.
Br. / No	Izdvojeni izolati / <i>Isolated isolates</i>			Thionin		Fuschin		A	M	R			
		10	20	40	10	20							
	<i>B. melitensis</i> 16M		-	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>B. melitensis</i>	
	<i>B. abortus</i> 544		+	-	-	-	+	+	+	-	-	<i>B. abortus</i>	
	<i>B. suis</i> 1330		+	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>B. suis</i> biotip 1 <i>B. suis</i> biotipe 1	
	<i>B. suis</i> Thomsen		-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>B. suis</i> biotip 2 <i>B. suis</i> biotipe 2	
	<i>B. suis</i> 686		-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>B. suis</i> biotip 3 <i>B. suis</i> biotipe 3	
1	VSI Poz.K-1		-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>B. suis</i> biotip 2 <i>B. suis</i> biotipe 2	
2	VSI Poz.K-1		-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>B. suis</i> biotip 2 <i>B. suis</i> biotipe 2	

dok nije aglutinirao sa monospecifičnim antiserumima na M i R antigene brucela vrsta (Tabela 1).

Iz dva uzorka punktata epididimisa nerasta sumnjivog na brucelozu uspešno je izolovana i identifikovana *Brucella suis* biotip 2. Ovaj izolat je označen kao K-1 (selo Kurjače) i to je prvi izolat *Brucella suis* biotip 2 iz punktata epididimisa nerasta obolelog od bruceloze.

Osim klasičnih metoda molekularnom tipizacijom izolata (MULTIPLEX PCR - *B. suis*) potvrđeno je da se radi o *Brucella suis* biotipu 2 u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu.

Izolacija i identifikacija *Brucella suis* biotip 2 na našem geografskom području je bila očekivana, što je u skladu sa dve godine starijim nalazom Katedre za zarazne bolesti životinja i pčela, Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu (Radojičić, 2004). I ovaj izolat je dobijen iz uzoraka materice krmače obolele od bruceloze sa Braničevskog područja opštine Veliko Gradište. Geografska distribucija i potvrda bruceloze svinja u najbližim zemljama okruženja ukazivali su na to da i kod nas postoji bruceloza koja se ipak retko dijagnostikuje. Značajani epizootički faktori su i postojanje prirodnih domaćina, puteva izlaganja prijemčive populacije domaćih svinja, kao i nedosledno sprovođenje nadzora i kontrole ove infekcije u našoj zemlji.

Diskusija i zaključak / Discussion and Conclusion

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je ova izolacija i identifikacija *Brucella suis* biotipa 2, kao uzročnika bruceloze svinja, potvrdila prethodno pozitivna serološka i bakteriološka ispitivanja prisustva specifičnih brucela vrsta u populaciji svinja na prostoru Braničevskog okruga Republike Srbije (Radojičić, 2005). U literaturi navedeni i preporučeni uzorci za izolaciju i identifikaciju *Brucella suis* su: slezina, vime, materica, testisi kao i mandibularni, retrofaringealni i supramamarni limfni čvorovi od uginule ili zaklane životinje. U slučaju pobačaja od živih životinja preporučuje se i uzimanje sledećih uzoraka: krv, delova placent, abortiranih fetusa, testisa nerasta nakon kastracije, sperme ili vaginalnih briseva u cilju izolacije (Alton i sar., 1988). U literaturi se nigde ne predlaže punktata epididimisa kao uzorak za izolaciju i identifikaciju *Brucella suis* biotip 2.

Rezultati istraživanja ukazuju da se *Brucella suis* biotip 2 uspešno izoluje i identifikuje iz uzorka punktata epididimisa dobijenih od živih životinja. Značajno je istaći da rast *Brucella suis* biotip 2 u *in vitro* uslovima nije kompromitovan rastom drugih vrsta bakterija na hranljivim podlogama bez selektivnog dodatka, što je moguće kada se za izolaciju i identifikaciju koriste drugi uzorci bioloških materijala od žive životinje (sperma itd.) koji su kontaminirani bakterijama.

Na osnovu rezultata ovog istraživanja, poznavanja patogeneze obojenja, lokalizacije uzročnika i patoloških promena, smatramo da punktata epididimisa predstavlja siguran, pouzdan i značajan uzorak, poreklom od obolele ili na

oboljenje sumnjive životinje, za izolaciju, identifikaciju i tipizaciju biotipova *Brucella suis*. Osim toga, smatramo da terenski veterinari, zbog jednostavnosti postupka, mogu uspešno koristiti punkciju epididimisa nerasta pored uzorkovanja krvi, kao pogodan način uzorkovanja biološkog materijala za direktnu dijagnostiku bruceloze nerasta.

Literatura / References

1. Alton GG. *Brucella suis*. In: Nielsen K, Duncan JR. Animal Brucellosis. Boca Raton, FLACRC Press Inc.1990: 411-23.
2. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA, Paris, France, 1988.
3. Corbel MJ, Gill KPW, Thomas EL. Methods for identification of *Brucella*, Ministry of agriculture, fisheries and food UK - Research Section diseases of Breeding Department Central Veterinary Laboratory Weybridge, 1983.
4. Cvetnić Z, Tončić J, Spicić S, Lojkić M, Terzić S, Jemersić L, Humski A, Ćurčić S, Mitak M, Habrun B, Brstilo M, Ocepek M, Krt B. Brucellosis in wild boar (*Sus scrofa*) in the Republic of Croatia. Vet Med Czech 2004; 49(4): 115-22.
5. Cvetnić Z, Mitak M, Ocepek M, Lojkić M, Terzić S, Jeremesić L, Humski A, Habrun B, Šoštarić B, Brstilo M, Krt B, Garin Bastuji B. Wild boars (*Sus scrofa*) as reservoirs of *Brucella suis* biovar 2 in Croatia. Acta Vet Hung 2003; 51(4): 465-73.
6. Gennero MS, Grattarola C, Bergagna S, Zoppi S, Barbaro A, Dondo A. Trend of *Brucella suis* infection in wild boar in Piedmont region (2002-2005). Epidémiol et santé anim 2006; 49: 59-62.
7. Radojičić S. Bruceloza – bolest životinja i potencijalna opasnost za zdravlje ljudi. Zbornik predavanja sa XXV seminara za inovacije znanja veterinara, 12. i 13. februar 2004, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija.
8. Radojičić S. Bruceloza – Epizootiološki i dijagnostički izazov. Zbornik kratkih sadržaja radova. 16. savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor, 08-10 septembar 2004.
9. Radojičić S. Bruceloza – Epizootiološki i dijagnostički izazov. Veterinarski glasnik 2005; 59(1-2): 79-87.
10. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. 6th Edition, OIE, Paris, France, 2008.

ENGLISH

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Brucella suis* BIOTYPE 2 FROM EPIDIDYMAL PUNCTURE PERFORMED ON A BOAR AFFECTED WITH BRUCELLOSIS

D. Rogožarski, A. Potkonjak, M. Gagrčin, B. Lako, B. Plavšić

The causal agent of swine brucellosis is *Brucella suis*. Within the scope of the kinds of *Brucella suis*, there are five biotypes, but only biotypes 1, 2 and 3 lead to swine infections. Human infections with *Brucella suis* biotype 2 are rarely registered. Swine brucellosis is widespread all over the world. It has been noted that the incidence of swine popula-

tion infected with *Brucella suis* in Western Europe has been increasing during the recent years. The goal of this project was to isolate, identify and typify the causal agent from epididymal puncture performed on a boar with conditions suspicious of brucellosis, using standard microbiological methods. The results of the research show that *Brucella suis* biotype 2 can be successfully isolated and identified from a sample obtained by means of epididymal puncture of live animals. Therefore, epididymal puncture gives us a certain, reliable and important sample derived from a live animal for a direct diagnostic of boar brucellosis. The above mentioned first isolate of *Brucella suis* biotype 2 epididymal puncture, has been marked as K-1.

Key words: *Brucella suis* biotype 2, brucellosis, epididymal puncture, isolation and identification, swine

РУССКИЙ

ИЗОЛЯЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ *BRUCELLA SUIIS* БИОТИП 2 ИЗ ПУНКТАТА ЭПИДИДИМИСА ХРЯКА ЗАБОЛЕВШЕГО БРУЦЕЛЛЁЗОМ

Д. Рогожарски, А. Потконяк, М. Гагрчин, Б. Лако, Б. Плавшич

Возбудитель бруцеллёза свиней *Brucella suis*. В рамках *Brucella suis*, существует пять биотипов, но только биотипы 1, 2 и 3 доводят до инфекции свиней. Инфекция людей с *Brucella suis* биотипом 2 редко регистрируется. Бруцеллёз свиней распространен по всему миру. Змечено, что инцидениця инфекции с *Brucella suis* биотип 2 в популяции свиней западной Европы, последних лет, растёт. Цель работы была, что из пунктата эпидидимиса хряка сомневательного на бруцеллёз изолируется, иднетифицируется и типизируется возбудитель, применением стандартных микробиологических методов. Результаты исследования указывают, что *Brucella suis* биотип 2 успешно изолируется и идентифицируется из образчиков пунктата эпидидимиса, полученных из живых животных, да оттого пунктат эпидидимиса представляет собой верный, надёжный и значительный образчик, происхождением от живого животного, для прямой диагностики бруцеллёза хряка. Этот первый изолят из пунктата эпидидимиса *Brucella suis* биотип 2, обозначен как K-1.

Ключевые слова: *Brucella suis* биотип 2, бруцеллёз, пункция эпидидимиса, изоляция и идентификация, свиньи

**SEROPREVALENCA LEPTOSPIROZE KONJA NA
BEOGRADSKOM PODRUČJU U PERIODU OD 1998.
DO 2008. GODINE***
*SEROPREVALENCE OF LEPTOSPIROSIS IN HORSES IN THE
TERRITORY OF BELGRADE DURING THE PERIOD
FROM 1998 TO 2008*

Dragica Vojinović, Jadranka Žutić, S. Stanojević**

Serološka ispitivanja leptospiroze konja obavljena su u periodu od 1998. do 2008. godine, na Beogradskom epizootiološkom području. Izvršen je serološki pregled 1701 uzoraka krvnog seruma konja iz privatnih i društvenih ergela, konjičkih klubova, hipodroma i sa individualnog sektora. Broj seropozitivnih konja iznosio je 107 (6,29%).

Najzastupljeniji serovarijeteti *Leptospira* vrste bili su: *Leptospira grippotyphosa* 42 (2,47%), *Leptospira icterohaemorrhagiae* 19 (1,12%), *Leptospira pomona* 17 (0,99%), *Leptospira canicola* 16 (0,94%), *Leptospira bataviae* 11 (0,65%) i *Leptospira australis* 2 (0,1%). Antitela protiv *Leptospira sejroe* nismo ustanovili ni u jednom pregledanom uzorku krvnog seruma konja. Titar specifičnih antitela krećao se od 1:100 do 1:10000. Najveći broj seruma imao je titar antitela 1:300, zatim 1:100 i 1:1000. Najmanji broj seruma imao je titar antitela 1:10000. Seropozitivni konji na leptospirozu ustanovljeni su samo u sporadičnim slučajevima, tako da većih epizootija na Beogradskom području nije bilo.

Ključne reči: leptospiroza, konji, antitela, zoonoza

Uvod / Introduction

Leptospiroza je zarazna bolest ljudi i životinja, izazvana različitim serovarijetetima spirohete *Leptospira* vrste. Oboljenje se ispoljava u akutnom, hroničnom ili obliku bez kliničkih simptoma. Hronične infekcije bez kliničkih simptoma karakterišu se prisustvom leptospira u bubrezima i u genitalnim organima

* Rad primljen za štampu 19. 02. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Dragica Vojinović, istraživač saradnik, mr sci. med. vet. Jadranka Žutić, istraživač saradnik, mr sci. med. vet. Slobodan Stanojević, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

životinja. Na taj način one postaju kliconoše i glavni izvor infekcije. Kod konja se bolest obično ispoljava u akutnom septikemičnom obliku. Sredina kontaminirana leptospirama i nehigijenski uslovi držanja konja predstavljaju glavni uzrok nastanka leptospiroze (Trailović i sar., 1998; Levett, 2001; Dmitrović, 2002; Stanojević i sar., 2003; Ašanin i sar., 2006).

Infekcije izazvane leptospirama kod konja na svetskom nivou zastupljene su od 2% do 70%. Ikterus i intersticijalni nefritis su najčešće promene u svim slučajevima leptospiroznih infekcija. Leptospirozne infekcije konja uvek su povezane sa periodičnom oftalmijom, slepilom, slabovidošću, abortusom i neonatalnom smrću. Abortusi kod kobila nastaju od 215 do 287 dana gestacije ili se rađa slabo vitalna ždrebac, pri čemu smrt nastupa za 10 dana i pored dodatno obezbeđene nege (Nešić, 1983; Ellis, O'Brien, 1988; Donahue, 1991; Verma i sar., 2005).

Bolest ima izrazito sezonski karakter s odgovarajućim hidrometeorološkim uslovima za širenje leptospiroze. Izvor infekcije su stajaće vode, muljeviti tereni, poplavljena područja koja su kontaminirana urinom glodara i drugih domaćih životinja prvenstveno svinja (Vojinović i Erski-Biljić, 2000; Dmitrović i sar., 2002).

U ovom radu smo želeli da prikazemo naše rezultate o prisustvu antitela na leptospire u populaciji konja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Ispitivanja uzoraka krvnog seruma konja na prisustvo specifičnih antitela protiv serovarijeteta leptospira vrste izvršena su u periodu od 1998. do 2008. godine na epizootiološkom području Beograda. U tom vremenskom periodu pregledali smo 1701 uzorak krvnog seruma konja. Sva ispitivanja izvršena su u Odeljenju za imunologiju Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije – Beograd.

Uzorke krvnog seruma konja pregledali smo metodom mikroskopske aglutinacije – MAT, sa sedam serovarijeteta leptospira vrste: *Leptospira pomona*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira bataviae*, *Leptospira sejroe* i *Leptospira australis*. Ispitivane serume razređivali smo sa fiziološkim rastvorom u odnosu 1:30 do 1:300000. Antigen leptospira pripreman je u Odeljenju za imunologiju NIVS, Beograd.

Uzorci krvnog seruma konja poticali su iz privatnih i društvenih ergela, konjičkih klubova, delom sa hipodroma i sa individualnog sektora.

Rezultati i diskusija / *Results and Discussion*

Od ukupno pregledanog broja uzoraka 1701 kod 107 (6,29%) ustanovljeno je prisustvo antitela na leptospire.

U tabeli 1. dati su rezultati naših ispitivanja po godinama.

Tabela 1. Broj pregledanih i broj pozitivnih uzoraka krvnog seruma konja na prisustvo antitela na leptospire u periodu od 1998. do 2008. godine /

Table 1. Number of examined and positive blood of horses to leptospirosis in the period 1998-2008.

Godine / Years	Pregledani krvni uzorci konja / Examined horse blood samples		
	pregledano / examined	pozitivno / positive	%
1998	76	2	2,63 %
1999	134	5	3,73 %
2000	158	9	5,69 %
2001	286	15	5,24 %
2002	153	12	7,84 %
2003	178	16	8,98 %
2004	384	24	6,25 %
2005	144	5	3,47 %
2006	58	3	5,17 %
2007	74	6	8,10 %
2008	56	10	17,86 %
Ukupno / Total	1701	107	6,29 %

Najzastupljeniji serovarijeteti leptospira vrste bili su: *Leptospira grippotyphosa* 42 (2,47%), *Leptospira icterohaemorrhagiae* 19 (1,12%), *Leptospira pomona* 17 (0,99%), *Leptospira canicola* 16 (0,94%), *Leptospira bataviae* 11 (0,65%) i *Leptospira australis* 2 (0,1%) što smo prikazali u tabeli 2.

Prisustvo antitela protiv *Leptospira sejroe* nismo ustanovili ni u jednom pregledanom uzorku. Visina titra se kretala od 1:100 do 1:10000. Kod najvećeg broja seruma titar antitela na leptospire bio je 1:300, zatim 1:100 i 1:1000.

S obzirom na to da je veliki broj uzoraka imao niske titre antitela možemo govoriti o hroničnom obliku leptospiroze ili o rezidualnim antitelima. Samo mali broj uzoraka imao je titar 1:10000. Većina stranih autora navodi da su *Leptospira pomona* i *Leptospira grippotyphosa* najčešći serovarijeteti zastupljeni u konja u Evropi i Severnoj Americi (Swart i sar., 1982; Halliwell i sar., 1985; Hodgins i sar., 1989; Donahue i sar., 1991; Verma i sar., 2005), što je potvrđeno i našim nalazom *Leptospira grippotyphosa* kao dominantnim serovarijetetom kod konja na našem području.

Sem kod konja, na našem epizotološkom području *Leptospira grippotyphosa* je najrasprostranjeniji serovarijetet i u goveda (Vojinović, 1998; Vojinović i Drezga, 1999), kao i u šest beogradskih opština koje obuhvataju područje ušća reke Save u Dunav (Žutić i sar., 2006).

Tabela 2. Broj pozitivnih uzoraka krvnog seruma konja na prisustvo specifičnih antitela za serovarijete *Leptospira* vrste /

Table 2. Number of seropositive horse blood samples to leptospirosis with serovars of *Leptospira*

Godina / Year	<i>L.</i> <i>pomona</i>	<i>L.</i> <i>ictero -</i> <i>haemor-</i> <i>rhagiae</i>	<i>L.</i> <i>grippoty-</i> <i>phosa</i>	<i>L.</i> <i>sejroe</i>	<i>L.</i> <i>canicola</i>	<i>L.</i> <i>bataviae</i>	<i>L.</i> <i>australis</i>
1998	-	1	-	-	1	-	-
1999	-	1	1	-	-	3	-
2000	-	2	4	-	2	1	-
2001	1	4	5	-	3	2	-
2002	-	3	3	-	3	3	-
2003	8	1	3	-	2	2	-
2004	4	5	9	-	5	-	1
2005	-	-	5	-	-	-	-
2006	-	1	2	-	-	-	-
2007	2	1	2	-	-	-	1
2008	2	-	8	-	-	-	-
Ukupno / Total	17	19	42	-	16	11	2

Na osnovu utvrđenih vrednosti prisustva antitela na leptospirozu, može se zaključiti da je reč o sporadičnim slučajevima leptospiroze, što je pre svega zavisilo od vremena kada su uzorci pregledani, konfiguracije terena, zoohigijenskih uslova držanja konja, načina ishrane, napajanja i kontakta sa drugim vrstama životinja. Leptospirozne infekcije su zastupljene u mnogim krajevima sveta i pričinjavaju velike materijalne i finansijske štete. Veliki broj različitih izvora zaraze, mnogobrojne kliconoše, kao i hronično inficirane životinje tzv. bubrežni sejači leptospira (izlučivanje leptospira urinom kod konja može trajati i do 210 dana) (Nešić, 1985), postojanje velikog broja serovarijeteta leptospira ima značajnu ulogu u širenju leptospiroze, a samim tim i teškoće u dijagnostici i suzbijanju iste. Ovako niskom procentu zastupljenosti infekcije doprineo je način držanja i eksploatacije konja, smanjen radijus kretanja konja i verovatno izostanak napajanja i napajanja kraj bara, kanala, reka i močvara.

Na osnovu dobijenih rezultata seroloških ispitivanja može se zaključiti da je epizootiološka situacija vezana za leptospirozu konja na Beogradskom području povoljna. Pri tome se ne sme zanemariti činjenica da je u ispitivanim uzorcima krvnog seruma konja ustanovljeno prisustvo specifičnih antitela protiv šest serovarijeteta leptospira vrste, osim protiv *Leptospira sejroe*, što ukazuje na značaj pravovremenog sprovođenja serološke dijagnostike ove zoonoze i odgovarajućih profilaktičkih mera.

Zaključak / Conclusion

1. U protekloj deceniji leptospiroza konja na Beogradskom epizootiološkom području bila je ustanovljena kod 6,29% pregledanih životinja. 107 od ukupno 1701 pregledanog krvnog seruma konja bilo je pozitivno na prisustvo specifičnih antitela za serovarijete leptospira.

2. Najveći broj ispitivanih krvnih uzoraka (42) bio je pozitivan na prisustvo specifičnih antitela protiv *Leptospira grippotyphosa*, dok je u ostalim uzorcima ustanovljeno prisustvo specifičnih antitela protiv *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira pomona*, *Leptospira canicola*, *Leptospira bataviae* i *Leptospira australis*.

3. U ispitivanim uzorcima krvnih seruma konja nije ustanovljeno prisustvo specifičnih antitela protiv *Leptospira sejroe*.

Literatura / References

1. Ašanin R, Krnjaić D, Milić N. Priručnik sa praktičnim vežbama iz mikrobiologije sa imunologijom, Beograd, izd. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, 189-92, 2006.
2. Dmitrović R. Zoonoze na području Beograda, izd. GZZZ Beograd, 102-12, 2002.
3. Dmitrović R, Obradović M, Nedić Lj, Đerković V, Antonijević B, Pavlović N, Babić-Dunić V, Peklar P, Trbojević R, Gligić A, Jermolenko G, Vojinović D, Radosavljević M. Zoonoze – zdravstveni problem na području Beograda 57-72. Dani Zavoda 2002 XIX, Stručna konferencija, Beograd, 2002.
4. Donahue JM, Smith BJ, Redmon KJ, Donahue JK. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. J Vet Diagn Invest 1991; 3: 48-151.
5. Ellis WA, O'Brien JJ. Leptospirosis in horses. In: Equine infectious diseases V: Proc. 5th, Jnt Conf, ed. Powell DG, 168-71. University Press of Kentucky, Lexington, KY, 1988.
6. Halliwell RE, Brim TA, Hines MT, Wolf D, White FH. Studies on equine Recurrent uveitis. II The role of infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona. Curr Eye Res 1985; 4: 1033-40.
7. Hodgins EC, Miller DA, Lozano F. Leptospira abortion in horses. J Vet Diagn Invest 1989; 1: 283-7.
8. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 296-326.
9. Nešić D. Rasprostranjenost leptospiroze kod konja. Vet. glasnik 1983; 37(2): 143-8.
10. Nešić D. Značaj spoljašnjih faktora u nastanku leptospiroze konja. Vet glasnik 1985; 39(7): 773-7.
11. Stanojević S, Žutić J, Vojinović D. Karakteristike biotopa leptospiroze šireg područja Beograda. V jugoslovenski epizootiološki dani sa međunarodnim učešćem, Subotica. Zbornik referata i kratkih sadržaja, 330-5, 2003.
12. Swart KS, Calvert K, Meney C. The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. Aust Vet J 1982; 59: 25-6.

13. Trailović DR, Jermolenko G, Đuričić B, Lazić S. Značaj važnijih infektivnih bolesti u kliničkoj patologiji i epizootologiji konja na području SR Jugoslavije. VII kongres veterinarara Jugoslavije, Beograd. Zbornik radova II, 493-504, 1998.
14. Verma A, Artiunshin S, Matsunaga J, Haake DA, Timoney JF. LruA and LruB. Novel Lipoproteins of Pathogenic *Leptospira interrogans*, Associated with Equine Recurrent Uveitis. Infect Immun 2005; 73(11): 7259-66.
15. Vojinović D. Leptospiroza domaćih životinja na beogradskom području u periodu od 1993 do 1997. godine. Zbornik radova VII kongres veterinarara Jugoslavije – Beograd (sa međunarodnim učešćem), 306, 1998.
16. Vojinović D, Drezga J. Leptospiroza goveda na beogradskom području – rezultati seroloških ispitivanja u periodu od 1994 do 1998. godine. 11. savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor. Zbornik radova i kratkih sažetaka, 144, 1999.
17. Vojinović D, Erski-Biljić M. Leptospiroza svinja na Beogradskom području – rezultati seroloških ispitivanja u periodu 1993-1999 godine. Vet glasnik 2000; 54(5-6): 207-11.
18. Žutić J, Stanojević S, Vojinović D. Leptospiroza goveda na područjima koji gravitiraju ušću reke Save u Dunav. VIII epizootološki dani sa međunarodnim učešćem, 15, 2006.

ENGLISH

SEROPREVALENCE OF LEPTOSPIROSIS IN HORSES IN THE TERRITORY OF BELGRADE DURING THE PERIOD FROM 1998 TO 2008

Dragica Vojinović, Jadranka Žutić, S. Stanojević

Serological investigations of leptospirosis in horses were carried out in the epizootic territory of Belgrade during the period from 1998 to 2008. Serological examinations were performed on 1701 blood serum samples of horses from private and socially-owned stables, riding clubs, hippodromes, and from the individual sector. The number of seropositive horses was 107 (6.29%).

The most represented serovarieties of the *Leptospira* species were: *Leptospira grippotyphosa* 42 (2.47%), *Leptospira icterohaemorrhagiae* 19 (1.12%), *Leptospira pomona* 16 (0.99%), *Leptospira canicola* 16 (0.94%), *Leptospira bataviae* 11 (0.65%), and *Leptospira australis* 2 (0.1%). Antibodies against *Leptospira sejroe* were not established in a single sample of the examined horse blood serums. The titer of specific antibodies ranged from 1:100 to 1:10000. The biggest number of serums had an antibody titer of 1:300, then 1:100, and 1:1000. The smallest number of serums had an antibody titer of 1:10000. Horses seropositive to leptospirosis were established only in sporadic cases, so that no major epizooties were established in the territory of Belgrade.

Key words: Leptospirosis, horses, antibodies, zoonosis.

РУССКИЙ

СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ЛЕПТОСПИРОЗА ЛОШАДЕЙ НА БЕЛГРАДСКОЙ ТЕРРИТОРИИ В ПЕРИОДЕ ОТ 1998 ДО 2008 ГОДА

Драгица Воинович, Ядранка Жутич, С. Станоевич

Серологические испытания лептоспироза лошадей сделаны в периоде от 1998 до 2008 года, на Белградской эпизоотологической территории. Совершен серологический осмотр 1701 образчика кровяного сыворотки лошадей из частных и общественных конных заводов, конных клубов, ипподромов и с индивидуального сектора. Число сероположительных лошадей составляло (в сумме) 107 (6,29%).

Наиболее представленные сероварианты *Leptospira* виды были суть: *Leptospira grippotyphosa* 42 (2,47%), *Leptospira icterohaemorrhagiae* 19 (1,12%), *Leptospira pomona* 16 (0,99%), *Leptospira canicola* 16 (0,94%), *Leptospira bataviae* 11 (0,65%) и *Leptospira australis* 2 (0,1%). Антитела против *Leptospira sejroe* мы не установили ни в одном осмотренном образчике кровяного сыворотки лошадей. Титр специфических антител двигался от 1:100 до 1: 10000. Наиболее большое число сыворотки имел титр антител 1:300, затем 1:100 и 1:1000. Наиболее маленькое число сыворотки имел титр антител 1:10000. Сероположительные лошади к лептоспирозу установлены только в спорадических случаях, так, что более больших эпизоотий на Белградской территории не было.

Ключевые слова: лептоспироз, лошади, антитела, зооноз

**KONCENTRACIJA PROTEINA, BILIRUBINA I GLUKOZE U
KRVI KRAVA SA DISLOKACIJOM SIRIŠTA NA LEVO***
*BLOOD CONCENTRATION OF PROTEINS, BILIRUBIN AND GLUCOSE
IN COWS WITH LEFT DISPLACED ABOMASUM*

H. Šamanc, Danijela Kirovski, R. Prodanović, I. Vujanac, Ž. Sladojević**

U krvi zdravih krava i onih obolelih od dislokacije sirišta na levo, ispitivana je koncentracija ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina i glukoze. Značajna odstupanja od fizioloških vrednosti kod krava sa dislokacijom sirišta ustanovljena su u proteinemiji ($x = 87,92$ g/l) i bilirubinemiji ($x = 10,29$ μ mol/l). Hiperproteinemija ukazuje na hemokoncentraciju u obolelih životinja, o čemu svedoči i značajno veća koncentracija albumina kod obolelih u odnosu na zdrave životinje ($x = 41,94 \pm 3,5$; $36,89 \pm 3,95$ g/L). Veće vrednosti glikemije u obolelih u odnosu na zdrave životinje ($x = 2,628$; $2,203$ mmol/l) mogu da ukažu na poremećenu funkciju B-ćelija endokrinog pankresa. Ovaj podatak može biti koristan pri postavljanju dijagnoze, ali ne manji značaj ima i pri proceni prognoze bolesti. Utvrđivanje funkcije jetre tokom bolesti treba da doprinese boljem poznavanju njene uloge u stepenu nastanka poremećaja zdravstvenog stanja kao i samom ishodu bolesti. Ovo je posebno značajno ako se ima u vidu da se dislokacija sirišta najčešće pojavljuje u ranoj fazi laktacije, kada inače postoji negativan bilans energije. Ovo stanje predisponira nastajanje zamašćenja jetre pa zbog toga dislokacija sirišta može još više da doprinese procesu zamašćenja jer bolesne životinje konzumiraju značajno manje količine hrane.

Ključne reči: krava, dislokacija sirišta, metabolički profil

* Rad primljen za štampu 27. 05. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Horea Šamanc, red. profesor, dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, docent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; Radiša Prodanović, dr vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; mr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; Željko Sladojević, doktorant, "Veterina sistem Sladojević" d.o.o., Gradiška, BiH, Republika Srpska

Uvod / Introduction

Dislokacija sirišta predstavlja promenu položaja ovog organa na levu ili desnu stranu trbušne duplje sa istovremenom dilatacijom, koja može biti različitog intenziteta. Najizraženija dilatacija je kod promene položaja na desnu stranu, pogotovo u slučajevima torzije dislociranog organa. Zastupljenost levostrane dislokacije sirišta, prema nalazima većine autora, kreće se od 80 do 90 procenata od ukupnog broja obolelih životinja. Dislokacija sirišta na desno se pojavljuje u manjem procentu, odnosno na svakih 8 do 10 slučajeva levostrane dislokacije dolazi jedan slučaj dislokacije na desno (Šamanc i Damnjanović, 1994; Van Widen, 2002).

Pri dislokaciji sirišta značajno se smanjuje pasaža hrane u tanka creva, što u svakom slučaju zavisi od stepena dislokacije sirišta. Ovi poremećaji u pasaži hrane prouzrokuju određene poremećaje u metabolizmu. Od promena u krvi veoma je važan nalaz hemokoncentracije, hipokalijemije i hipohloremije. I pored toga što se u literaturi navode izvesne razlike u nalazima pregleda krvi kod slučajeva levostrane i desnostrane dislokacije sirišta, smatra se da se ove razlike prvenstveno odnose na stepen poremećaja u pasaži sadržaja iz sirišta u creva. Svakako da su te promene najizraženije u slučajevima dislokacije sirišta na desno, pri kojima nastaje torzija i potpun prekid u pasaži sadržaja (Zadnik, 2003; Van Widen i sar., 2003).

Još nije dovoljno jasno koje su sve moguće posledice dislokacije sirišta, naročito u odnosu na funkciju nekih organa trbušne duplje. Vrednosti za koncentraciju ukupnog bilirubina i aktivnost serumske aminotransferaze (AST) su veće od fizioloških. Međutim, ova dva parametra značajna za procenu funkcionalnog stanja jetre, nisu u direktnoj korelaciji sa dislokacijom sirišta i ne mogu u potpunosti da se koriste pri dijagnostikovanju i proceni prognoze bolesti. U svakom slučaju, promene vrednosti ova dva parametra u krvi krava sa promenom položaja sirišta ukazuju na povezanost dislokacije sirišta sa zamašćenjem jetre i oštećenjem hepatocita (Zadnik, 2003).

Imajući u vidu napred izneto smatrali smo da je opravdano da se ispituju najvažniji parametri metaboličkog profila kod životinja obolelih od dislokacije sirišta na levo. Pri tome, određivanje nekih parametara pokazatelja funkcionalnog stanja jetre bi bilo od velikog etiopatogenetskog i kliničkog značaja.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ovim ispitivanjima obuhvaćene su krave holštajn-frizijske rase kod kojih je dijagnostikovana promena položaja sirišta na levo. U ogled je uključeno deset obolelih i deset zdravih kontrolnih krava u istoj fazi proizvodno-reproduktivnog ciklusa. Pored praćenja kliničkog stanja kod krava uključenih u ogled uzimani su uzorci krvi punkcijom vene jugularis. U toku uzimanja krvi određivana je koncentracija glukoze komercijalnim test trakama (Precision-Xtra plus). Posle koagula-

cije i spontanog odvajanja krvnog seruma izvršeno je centrifugiranje, a dobijeni uzorci seruma odloženi u zamrzivač do ispitivanja. U uzorcima krvnog seruma ispitivane su koncentracije ukupnih proteina, albumina i ukupnog bilirubina. Koncentracije ovih biohemijskih sastojaka krvne plazme određivane su fotometrijskom metodom korišćenjem komercijalnih test paketa (Bio-Merieux).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Rezultati ispitivanja koncentracije ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina i glukoze u krvi zdravih i krava sa dislokacijom sirišta na levo prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Koncentracije ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina i glukoze u krvi zdravih krava i onih sa dislokacijom sirišta na levo /
Table 1. Blood concentration of total proteins, albumin, total bilirubin, and glucose in healthy and cows with left displaced abomasum

Statistički pokazatelji / Statistical indicator	Ukupni proteini / Total proteins (g/l)		Albumin / Albumin (g/l)		Ukupni bilirubin / Total bilirubin (μmol/l)		Glukoza / Glucose (mmol/l)	
	K	O	K	O	K	O	K	O
X	75,5	87,92**	36,89	41,94**	8,36	10,29	2,20	2,63*
SD	5,05	10,14	3,95	3,50	3,26	3,96	0,25	0,92
CV	6,68%	1,22%	10,72%	8,34%	38,97%	38,48%	2,5%	34,98%
SE	1,59	3,22	1,25	1,11	1,03	1,25	0,08	0,29
IV	69-82	71,9-108,1	32-44	39-51	6,16-16,01	5,78-19,01	1,76-2,6	2,01-3,1

Legenda: K – kontrolna, O – ogledna; *(p<0,05), **(p<0,01) /
Legend: K - control, O - experimental; *(p<0.05), **(p<0.01)

Iz prikazanih rezultata se vidi da kod krava obolelih od dislokacije sirišta na levo postoje značajna odstupanja od fizioloških vrednosti u koncentraciji ukupnih proteina, albumina i ukupnog bilirubina. Hiperproteinemija utvrđena kod krava obolelih od dislokacije sirišta na levo ukazuje na hemokoncentraciju, odnosno veći stepen dehidracije kod obolelih životinja. U prilog tome govore i rezultati ispitivanja koncentracije albumina. Analizom pojedinačnih podataka jasno se vidi da kod nekih životinja postoji visok stepen dehidracije, što verovatno zavisi od toka bolesti, odnosno od vremena koje je proteklo od nastanka dislokacije do postavljanja dijagnoze. Potpuno je ista situacija i sa koncentracijom ukupnog bilirubina u krvnom serumu. Međutim, dobijena prosečna vrednost kod obolelih krava nije značajno veća nego kod zdravih, ali visoka koncentracija u nekim slučajevima (30%) ukazuje na poremećaj funkcije jetre. Ovi nalazi su u skladu sa podacima do kojih su došli i drugi autori (Geishauser, 1995; Zadnik, 2003). Uloga jetre u nastanku bolesti nije razjašnjena. Međutim, u literaturi postoje podaci koji

ukazuju na to da u mnogim slučajevima poremećaj funkcije ovog organa može da bude od presudnog značaja u patogenezi i ishodu bolesti. Još uvek nije jasno da li poremećaj funkcije jetre nastaje uporedo sa promenom položaja sirišta, a kao posledica toga promene u metabolizmu masti, sa posledičnom masnom infiltracijom i degeneracijom ćelija jetre. S toga utvrđivanje funkcije jetre tokom bolesti treba da doprinese boljem poznavanju njene uloge u stepenu nastanka poremećaja zdravstvenog stanja kao i samom ishodu bolesti. Ovo je posebno značajno ako se ima u vidu to da se dislokacija sirišta najčešće pojavljuje u ranoj fazi laktacije kada inače postoji negativan bilans energije (LeBlanc i sar., 2005). Ovo stanje predisponira nastajanje zamašćenja jetre pa zbog toga dislokacija sirišta može još više da doprinese procesu zamašćenja imajući u vidu da bolesne životinje konzumiraju značajno manje količine hrane.

Koncentracija glukoze u krvi se kreće u opsegu fizioloških vrednosti kod zdravih i kod krava sa promenom položaja sirišta. Međutim, kod obolelih krava koncentracija glukoze je značajno veća nego kod zdravih životinja ($p < 0,05$). Na osnovu ovoga može se pretpostaviti da se u toku bolesti narušava funkcija pankreasa, naročito endokrinog pankreasa. Rezultati probe opterećenja glukozom potvrđuju ovo mišljenje (Šamanc i sar., 1989; Van Meirhaege, 1988). Ovi autori su utvrdili da se posle i.v. ubrizgavanja rastvora glukoze kod zdravih krava glikemija normalizuje dva časa nakon aplikovanja rastvora, dok je kod obolelih životinja potrebno duže od tri sata. Rezultati ukazuju na to da je odgovor B-ćelija pankreasa za lučenje insulina na nastalu hiperglikemiju, pri primeni probe opterećenja glukozom, smanjen u krava kod kojih postoji promena položaja sirišta u poređenju sa zdravim životinjama.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata ispitivanja nekih parametara u krvi krava u ranoj fazi laktacije, obolelih od dislokacije sirišta na levo mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Kod krava obolelih od dislokacije sirišta na levo značajna odstupanja od fizioloških vrednosti su utvrđena u koncentraciji ukupnih proteina i bilirubina.
2. Utvrđene veće vrednosti koncentracija ukupnih proteina i albumina u krvi obolelih krava ukazuju na hemokoncentraciju.
3. Veće vrednosti glikemije u obolelih u odnosu na zdrave životinje mogu da budu pokazatelji poremećene funkcije B-ćelija endokrinog pankreasa.

Literatura / References

1. LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. J Dairy Sci 2005; 88: 159-70.

2. Pravettoni D, Doli K, Hummel M, Cavallone E, Michela R, Belloli AG. Insulin resistance and abomasal motility disorders in cows detected by use of abomasoduodenal electromyography after surgical correction of left displaced abomasum. *Ani J Vet Res* 2004; 65: 1319-24.
3. Šamanc H, Stamatović S, Damjanović Z, Radaković N, Mandić L. Promene glikemije kod probe opterećenja glukozom u tek otejenih i od dislokacije sirišta u levo obolelih krava. *Veterinarski glasnik* 1989; 43(3-4): 265-70.
4. Šamanc H, Damjanović Z. Bolesti sirišta goveda: Veterinarski fakultet Univeziteta u Beogradu, 1994.
5. Van Widen SCL. Displacement of the abomasum in dairy cows – risk factors and preclinical alterations. Dissertation Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, 2002.
6. Van Widen SCL, Jorristma R, Müller KE, Noordhuizen JPTM. Feed intake, milk yield, and metabolic parameters prior to left displaced abomasum in dairy cows. *J Dairy Sci* 2003; 86: 1465-71.
7. Zadnik T. A comparative study of the hemato-biochemical parametrs between clinically healthy cows and cows with displacement of the abomasum. *Acta veterinaria* 2003; 53: 297-309.

ENGLISH

BLOOD CONCENTRATION OF PROTEINS, BILIRUBIN AND GLUCOSE IN COWS WITH LEFT DISPLACED ABOMASUM

H. Šamanc, Danijela Kirovski, R. Prodanović, I. Vujanac, Ž. Sladojević

The concentration of total proteins, albumin, total bilirubin, and glucose were examined in the blood of healthy cows and those with left displaced abomasum. Significant digressions from physiological values in cows with left displaced abomasum were established in proteinemia ($x = 87.92$ g/l) and in bilirubinemia ($x = 10.29$ μ mol/l). Hyperproteine-mia indicates chemoconcentration in the diseased animals, which is also indicated in significantly higher concentrations of albumin in the diseased in comparison with the healthy animals ($x = 41.94 - 3.5 : 36.89 - 3.95$ g/l). The higher values for glucemia in the diseased against the healthy animals ($x = 2.628 : 2.203$ mmol/l) could indicate disrupted function of B-cells of the endocrine pancreas. This data can come in useful in setting the diagnosis, but it also has no less importance in the determination of the prognosis for the disease. Determining the liver function during the disease should contribute to the better knowledge of its role in the degree of the occurrence of this health disorder, as well as the outcome of the disease itself. This is of particular importance having in mind that displaced abomasum most frequently occurs in the early stage of lactation, when a negative energy balance is already present. This state is conducive to the occurrence of fatty liver, and that is why displaced abomasum can contribute even further to the process of fat accumulation, having in mind that diseased animals consume significantly smaller quantities of feed.

Key words: cow, displaced abomasum, metabolic profile

КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТЕИНОВ, БИЛИРУБИНА И ГЛЮКОЗЫ В КОРОВ С ДИСЛОКАЦИЕЙ СЫЧУГА ВЛЕВО

Х. Шаманц, Даниела Кировски, Р. Проданович, И. Вуянац, Ж. Сладоевич

В крови здоровых и коров заболевших дислокацией сычуга влево испытана концентрация совокупных протеинов, альбуминов, совокупного билирубина и глюкозы. Значительные отступления от физиологических стоимостей у коров с дислокацией сычуга установлены в протеинемии ($x = 87,92$ г/л) и билирубинемии ($x = 10,29$ ммол/л). Гиперпротеинемия указывает на гемоконцентрацию в заболевших животных, о чём может свидетельствовать и значительно более большая концентрация альбуминов у заболевших в отношении здоровых животных ($x = 41,94 \pm 3,5 : 36,89 \pm 3,95$ г/л). Более большие стоимости гликемии в заболевших в отношении здоровых животных ($x = 2,628 : 2,203$ ммол/л) могут указать на нарушенную функцию В-клеток поджелудочной железы. Это данное может полезно послужить при поставлении диагноза, но так же не более маленькое значение имеет и при оценке прогноза болезни. Утверждение функции печени в течение болезни надо оказать содействие более хорошему познанию её роли в степени возникновения расстройства состояния здоровья словно и самом исходе болезни. Это отдельно значительно имея в виду, что дислокация сычуга чаще всего появляется в ранней фазе лактации, когда иначе существует отрицательный баланс энергии. Это состояние предрасполагает возникновение замасления печени и вследствие этого дислокация сычуга может ещё больше оказать содействие процессу замасления имея в виду, что больные животные потребляют значительно более маленькие количества корма.

Ключевые слова: корова, дислокация сычуга, метаболический профиль

**DAIRY CALF PNEUMONIA: EFFECTIVE TREATMENT
DEPENDS ON EARLY AND ACCURATE DIAGNOSIS******PNEUMONIJA KOD TELADI: EFIKASAN TRETMAN ZAVISI OD
RANE I PRECIZNE DIJAGNOZE*****Nikolaos Panousis****

*Dairy calf pneumonia is one of the most economically important diseases of calves. A delayed diagnosis could result endemic herd problem, prolonged use of antibiotics, high recurrence rate, pulmonary abscessation and ear infections. The key for effective control is the early detection of pneumonia and the accurate diagnosis of the etiologic factor. For the early detection, a respiratory disease score was assigned based on rectal temperature, character of nasal discharge, eye discharge or ear appearance, and presence of a cough. Each clinical sign has a point scale from 0 (normal) to 4 (severe). The respiratory disease score is the sum of points from the 4 categories of clinical signs, with increasing values representing progressive severity. The scoring system results in a minimum score of 0 and a maximum score of 12. Calves with score 5 or higher, having at least 2 clinical signs of respiratory disease, are considered sick and have to be treated. For the accurate diagnosis of the etiological agent the best tool in a live calf is bronchoalveolar lavage (BAL) fluid collection. Sampling of severely affected animals should be avoided. New acute cases are ideal. BAL is performed in sedated calves using a sterilized, flexible catheter with a 5-cc balloon cuff. The fresh BAL fluid sample is processed within 2 hours of collection or refrigerated until analysis. Part of the sample is used for microbiology and the remaining is submitted for cytology. BAL fluid that yields homogenous ($>10^6$ CFU/ml) bacterial or positive *Mycoplasma bovis* culture is considered abnormal. A disproportionate lowering of macrophages ($<61\%$) or elevation of neutrophils ($>39\%$) provides evidence of an inflammatory response with or without a positive*

* Rad primljen za štampu 19. 09. 2009. godine

** Nikolaos Panousis, DVM, PhD, Associate Professor, School of Veterinary Medicine, Clinic of Farm Animals, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

culture. The ideal antibiotic selection would be based on the antibiotic susceptibility pattern of lung pathogens after BAL fluid culture.

Key words: calves, respiratory scoring system, bronchoalveolar lavage

Introduction / Uvod

In literature, there is a plethora of papers concerning the etiology and pathogenesis of calf pneumonia. The scope of this article is to focus on methods that will allow early detection and accurate diagnosis of dairy calf pneumonia, which in turn will lead to more effective treatment.

Dairy calf pneumonia, either pre- or post-weaning, is considered as one of the most economically important diseases of calves due to death losses, debilitation and reduced performance of the animals, cost of treatment and labor. Although it is typically viewed as a post-weaning problem, its origin and the opportunity for a successful intervention is the pre-weaning period.

Risk Factors / Faktori rizika

As for most diseases of pre-weaned calves, failure of passive transfer of immunity (FPT) through colostrum is a major risk factor for pneumonia. Not only are FPT calves more susceptible to respiratory disease, but, even in the absence of disease, they shed pathogens at a higher rate than their immune peers. Environmental shedding can result in high aerosolized bacterial counts in calf barns and hutches, particularly post-weaning, when there is over-crowding, continuous animal occupancy, prolonged calf to calf contact (spatial and temporal density), poor ventilation (Radostits *et al.*, 2000; Callan and Garry, 2002), cold environment, high humidity and damp floor or bedding. Also, stress (arising from inadequate nutrition, water availability, medication and vaccinations allowance), concomitant poor health (due to diseases such as BVD and Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency) and sudden weather changes can increase the occurrence of dairy calf pneumonia. Other high risks for pneumonia population is transported calves, commingled calves from different sources and ages and unvaccinated animals. Calves fed non-pasteurized waste milk or colostrum from cows with *Mycoplasma bovis* mastitis will also be at high risk of exposure. With high exposure rates, calves made susceptible by the afore-mentioned risk factors will have endemic respiratory disease (McGuirk, 2005).

Diagnosis / Dijagnoza

Early diagnosis, which favours effective treatment, of dairy calf pneumonia will eliminate most herd problems. A delayed diagnosis could result in incomplete treatment and prolonged use of antibiotics, high recurrence rate, pulmonary abscessation (chronic condition) and high incidence of otitis cases. As a

result, the affected-uncured calves enter the weaning pens and could lead to endemic herd problem.

The keys for effective pneumonia control are the early detection (clinical diagnosis) and the accurate identification of the causative agents (with the implementation of ancillary tests).

1. Clinical diagnosis

The clinical signs of fever, nasal discharge, lacrimation, cough, increased respiratory rate, depression, reduced appetite, rough hair coat, weight loss and abnormal lung sounds rarely occur together, may be absent in early cases of pneumonia, are easily overlooked by caretakers, and require time and advanced knowledge to detect, even for clinicians (McGuirk, 2005). Farmer diagnosis of pneumonia fails to identify as many as 50% of affected calves and, when identified, is typically 4 to 5 days after onset (Virtala *et al.*, 1996; Quimby *et al.*, 2001). Better indicators in the very early stages of pneumonia are the prolonged time the calves spend in the buckets and the longer standing after drinking.

Since the criteria used in the field are poor predictors of disease, early diagnosis of dairy calf pneumonia is frequently missed, along with the opportunity to make effective treatment interventions or recognize important herd problems before significant losses are incurred.

A simple and practical respiratory scoring system for early detection of pneumonia in dairy calves individually has been validated (McGuirk *et al.*, 2007). At best, when implemented regularly twice weekly in pre-weaned calves kept in single pens, it has been the most effective tool in eliminating endemic pneumonia. At least, it should be performed at critical times, such as at the pneumonia onset in a farm or just before weaning. It is based on: 1. rectal temperature, 2. the character of nasal discharge, 3. eye or ear appearance, and 4. presence of a cough (McGuirk, 2005). As it is shown in Table 1 (Lago *et al.*, 2006), the respiratory disease score is the sum of points from the 4 categories of clinical signs, with increasing values representing progressive severity.

Eyes and ears are evaluated but only the highest value is entered into the score. For example, if the eye score is 1 and the ear score is 2, the ear score of 2 is entered. The scoring system results in a minimum score of 0 and a maximum score of 12. The total score determines the outcome. Calves with score 5 or higher have at least 2 clinical signs of respiratory disease, and thus are considered sick and have to be treated (McGuirk, 2005; Lago *et al.*, 2006).

2. Ancillary diagnostic tests

It is widely accepted that the most commonly isolated microorganisms in dairy calves respiratory disease complex are the following:

a. Bacteria: *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar* and the non-primary pathogens *Actinomyces pyogenes*.

b. Viruses: *Bovine respiratory syncytial virus* - BRSV (mainly), *Infectious bovine rhinotracheitis virus* - IBR, *Bovine virus diarrhea virus* - BVDV and *Parainfluenza-3 virus* -PI₃.

Many of them are normal flora of the upper respiratory tract (Watts *et al.*, 1994), but they introduce respiratory disease when they colonize the lower respiratory tract (trachea and lungs) (Divers, 2008).

Seroconversion to a specific viral respiratory pathogen has considerable drawbacks with time delays to obtain convalescent samples and concomitant seroconversion to infectious agents that have not caused the disease (Pringle, 1992).

The diagnostic techniques that could be applied to collect the appropriate samples in order to identify the microorganisms involved are: nasal swab, trans-tracheal wash and bronchoalveolar lavage (BAL) fluid collection. Trans-tracheal washing obtains samples from the lower respiratory tract bypassing the nasopharynx (Pringle, 1992), but is the most difficult to implement in the field as it requires surgical preparation of the ventral surface of the neck. Due to the more invasive nature it is less suitable for routine field investigations (Caldow, 2001). Nasal swab is easy to perform and particularly useful in detecting acute viral infections, such as IBR; it can also be an indirect indicator of pathogens in the lower respiratory tract (Pringle, 1992). The concern is that, as mentioned above, many of the isolated microorganisms are just normal commensals of the upper respiratory tract (Caldow, 2001). However, they can be successfully used for an antibiogram in group level (multiple cases). For the accurate diagnosis of the etiological agent in a live calf (either in field or in clinic), the best tool is the BAL fluid collection. It requires a little training, but is safe and efficient. Although it can be performed using fiberoptic endoscopes, more rudimentary equipment (commercially available catheters) can successfully be used (Pringle, 1992; Caldow, 2001; Jackson and Cockcroft, 2002).

Sampling of severely affected animals should be avoided, because of the added stress caused by the procedure. New acute cases, before any antibiotic allowance, are ideal. This technique is usually used when there has been an outbreak of pneumonia with high morbidity. In order to obtain an accurate profile of the etiological agent it is advisable to select up to five animals for sampling (Jackson and Cockcroft, 2002).

BAL is performed in sedated calves using a sterilized, flexible 10 French x 36 inch catheter with a 5-cc balloon cuff (Urinary catheters, Foley catheters, Mila International Inc., Medical Instrumentation for Animals, Florence KY, USA). Five to 10 minutes after administration of 0.1 mg/kg xylazine IM, the sedated calf is restrained and the nostrils are cleaned with a dry gauze sponge. The head and neck of the calf are extended to facilitate passage of the sterile BAL catheter by a person wearing surgical gloves. Prior to catheter introduction into the nostril, sterile saline is dripped into the catheter to lubricate the guide-wire stylette. The BAL catheter is introduced into the ventral meatus of the nose through

which it is advanced until it encounters resistance in the caudal pharynx. At that point, the restrainer pushes the poll of the calf's head ventrally while simultaneously elevating the ventral mandible and the catheter is advanced down the trachea during the inspiratory phase of the respiratory cycle (McGuirk and Peek, 2007).

Repeated coughing is induced with proper catheter placement. The catheter is rapidly advanced until resistance is met as it wedges in a cranial lung lobe bronchus. Failure to induce spontaneous coughing subsequent to passage beyond the pharynx usually implies passage into the esophagus. In the wedged position, the catheter is held firmly in place while the guide-wire stylette is removed. The balloon cuff is then inflated with 5 cc of air and 120 ml of sterile saline is infused using 60 ml syringes with a stopcock and catheter tipped adapter attached. Immediately after the 120 ml infusion, negative pressure is applied to aspirate fluid, a process that usually yields 10 to 40 ml of clear to mildly turbid, foamy fluid. The returned fluid sample is placed into a sterile 120 g specimen cup. A second 120 ml infusion is introduced and aspirated as described and the pooled fluid is sealed in the specimen cup and preserved in a cooler until it can be processed (McGuirk and Peek, 2007).

The fresh BAL fluid sample is processed within 2 hours of collection or refrigerated until it can be analyzed. A 5 ml aliquot of the pooled sample is used for bacteria cultures and identification of viral antigens. The remaining fluid is submitted for cytological interpretation, which is based on routine staining of cytospin and direct smear preparations (Jackson and Cockcroft, 2002). Organisms that have been found in association with disorders of the respiratory tract, alone or in combination, from BAL fluid samples of dairy cattle are *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* and *Salmonella dublin*, IBR, BRSV and PI₃ (Tegtmeier *et al.*, 1999; Kokotovic *et al.*, 2007). BAL fluid that yields homogenous ($>10^6$ CFU/ml) bacterial or positive *Mycoplasma bovis* culture is considered abnormal. Cells in BAL of the normal cattle are predominantly alveolar macrophages (Pringle, 1992). A disproportionate lowering of macrophages (<61%) or elevation of neutrophils (>39%) provides evidence of an inflammatory response with or without a positive culture (McGuirk and Peek, 2007).

Treatment / Tretman

Respiratory disease is treatable in calves that score 5 points or more using the Calf Respiratory Scoring System (Table 1). Calves with a score of 5 or more should be treated with an antibiotic protocol that provides 5-6 days of coverage. At the end of the 5-6 days treatment protocol, the calf is scored again. If the respiratory score is 3 or lower, the calf is considered cured and no further treatment is needed. If the calf is scored 4, it should be rechecked the following day. Persistence of score 4 warrants a second course of the antibiotic. Score 5 or higher should enter a second protocol (McGuirk, 2007).

Table 1. Scoring system for calf respiratory disease /
Tabela 1. Bodovni sistem za respiratornu bolest teladi

Clinical sign / Klinički znak	Points allocated for signs below / Bodovi za navedene znake			
	0	1	2	3
Rectal temperature / Rektalna temperatura (°C)	37.8 – 38.2	38.3 – 38.8	38.9 – 39.3	≥39.4
Cough / Kašalj	None / Bez	Induced single cough / Izazvano jedno nakašljavanje	Induced repeated or occasional spontaneous cough / Izazvan po- novljen ili povremeni spontani kašalj	Repeated spontaneous cough / Ponovljen spontani kašalj
Nasal discharge / Iscedak iz nosa	Normal serous / Normalno serozan	Small amount of unilateral, cloudy discharge / Mala količina unilateralnog zamućenog iscedka	Bilateral, cloudy or excessive mu- cus discharge / Obostrani, zamućen ili obilan mukozan iscedak	Copious bilateral, mucopurulent nasal discharge / Obilan obostran mukopurulentan nosni iscedak
Eye / Oko	Normal / Normalno	Small amount of ocular discharge / Mala količina očnog iscedka	Moderate amount of bilateral puru- lent ocular discharge / Umerena količina obostranog gnojnog očnog is- cedka	Heavy amount of bilateral purulent ocular discharge / Gust obostrani gnojni očni iscedak
Ear / Uho	Normal / Normalno	Ear flick or head shake / Treperenje ušiju i otresanje glave	Unilateral slight ear drop / Jednostrana klompavost uha	Head tilt or bilateral ear drop / Nagnuta glava ili obostrana klempa- vost ušiju

The response to treatment depends on early detection, correct choice of antibiotic, activity of drug at site of lesion, penetration of drug into exudate and route, dose and duration of therapy. The ideal antibiotic selection would be based on the antibiotic susceptibility pattern of lung pathogens preferably after BAL fluid culture (for individual cases and in group level) or alternatively, if BAL is difficult or impossible to perform, nasal swabs culture. In an individual calf, nasal swabs culture do not accurately predict BAL culture. The nasal swabs and BAL culture results are quite similar at group level, however (Allen *et al.*, 1991; Caldow, 2001).

From information that has gained culturing BAL fluid or nasal swabs collected from many farms with dairy calf pneumonia in Wisconsin USA, it is anticipated that the following antibiotics will be effective in calves with pneumonia that are diagnosed early (McGuirk, 2007):

- 1) Ceftiofur: 2.2 mg/kg IM, frequency: once per day for 5 days;
- 2) Oxytetracycline L.A. 200: there is resistance now for *P. multocida* and *M. haemolytica*. Dose: 20 mg/kg SC, frequency: once per day, every other day for 5 days (3 doses);
- 3) Florfenicol: 40 mg/kg SC, frequency: once every other day for 3 doses (6 day total course of treatment);
- 4) Tilmicosin: 10 mg/kg SC, frequency: once per day, every third day for 5 days (2 doses);
- 5) Tulathromycin: 2.5 mg/kg SC, frequency: once per day, every third day for 5 days (2 doses).

When *Mycoplasma bovis* is cultured from <17% of the nasal swab cultures, it is presumed that it is not the primary etiologic agent and antibiotic selection is based on susceptibility results from positive ($>10^6$ cfu/ml) BAL cultures and/or the susceptibility patterns of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* and *Histophilus somni* isolates from the nasal swabs (McGuirk, 2005). The composite nasal swab antibiotic susceptibility results from herds with concurrent dairy calf pneumonia and otitis in a 2005 survey are shown in Table 2.

Table 2. Antibiotic susceptibility of nasal swab bacterial isolates /
Tabela 2. Osetljivost na antibiotike bakterija izolovanih iz brisa nosa

Antibiotic / Antibiotik	Bacteria / Bakterije		
	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Histophilus somni</i>
Ampicillin/Amoxicillin	Sensitive / Osetljiva	Resistant / Rezistentna	Resistant / Rezistentna
Ceftiofur	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva
Florfenicol	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva
Spectinomycin	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva	Incomplete / Nepotpuna
Tetracycline	Resistant / Rezistentna	Resistant / Rezistentna	Incomplete / Nepotpuna
Trimethoprim sulfa	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva
Tilmicosin	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva	Sensitive / Osetljiva

Mycoplasma susceptibilities are not performed routinely in many laboratories. Field strain resistance is problematic leaving only the 3 fluoroquinolones (danofloxacin, enrofloxacin and marbofloxacin) with consistent efficacy (Francoz *et al.*, 2005; Thomas *et al.*, 2003). Tiamulin has demonstrated efficacy against most *M. bovis* field isolates (Thomas *et al.*, 2003; Hirose *et al.*, 2003). *M. bovis* is less susceptible to spiramycin, oxytetracycline, tetracycline, tylosin, lincomycin, florfenicol, gentamycin and spectinomycin (Loria *et al.*, 2003; Hirose *et al.*, 2003; Francoz *et al.*, 2005). Erythromycin and tilmicosin resistance to *M. bovis* has been found by some, while tylosin effectiveness has been noted by others (ter Laak *et al.*, 1993; Ayling *et al.*, 2000; Loria *et al.*, 2003; Francoz *et al.*, 2005).

Of course, it is important to notice that the appropriate treatment for respiratory diseases is subdivided in 2 major parts: the "etiologically" therapy (antibiotic allowance against bacteria) and the "supportive" therapy, which is very important to implement. The latter mainly consisted of (Divers, 2008):

1. Non-steroid anti-inflammatory drugs (preferably) or corticosteroids (once): to reduce fever, inflammation and pain and for their action against endotoxins (mainly is caused by *M. haemolytica* infection);
2. Fluids and electrolytes IV: to restore dehydration and to correct the electrolyte imbalances (respiratory alkalosis or acidosis);
3. Bronchodilators;
4. Mucolytics.

Furthermore, injection of vitamin E and selenium would be beneficial, for their antioxidant properties and boosting of immunity.

Finally, it is very important to remember the vital role ventilation plays for the respiratory disease complex of dairy calves. In any case, ventilation deficiencies should be corrected.

References / Literatura

1. Allen JW, Viel L, Bateman KG, Rosendal S, Shewen PE, and Physick-Sheard P. The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures. *Can J Vet Res* 1991; 55(4): 341-6.
2. Ayling RD, Baker SE, Nicholas RAJ, Peek ML, Simon AJ. Comparison of *in vitro* activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Vet Rec* 2000; 146(26): 745-7.
3. Caldow G. Bronchoalveolar lavage in the investigation of bovine respiratory disease. *In Practice* 2001 (Jan); 41-3.
4. Callan RJ, Garry FB. Biosecurity and bovine respiratory disease. *Vet Clin N Am - Food A* 2002; 18: 57-77.
5. Divers T. Respiratory diseases. In: *Diseases of dairy cattle*, 2nd edition, Divers T. and Peek S. (eds), Saunders Elsevier 2008: 79-129.

6. Francoz D, Fortin M, Fecteau G, Messier S. Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method. *Vet Microbiol* 2005; 105(1): 57-64.
7. Hirose K, Kobayashi H, Ito N, Kawasaki Y, Zako M, Kotani K, Ogawa H, Sato H. Isolation of *Mycoplasmas* from nasal swabs of calves affected with respiratory diseases and antimicrobial susceptibility of their isolates, *J Vet Med B* 2003; 50: 347-51.
8. Jackson P, Cockcroft P. Clinical examination of the respiratory system. In: *Clinical examination of farm animals*, Jackson P. and Cockcroft P. (eds), Blackwell Science Ltd 2002: 65-79.
9. Kokotovic B, Friis NF, Ahrens P. *Mycoplasma alkalescens* demonstrated in bronchoalveolar lavage of cattle in Denmark. *Acta Vet Scand* 2007; 49: 2.
10. Lago A, McGuirk SM, Bennett TB, Cook NB, Nordlund KV. Calf Respiratory Disease and Pen Microenvironments in Naturally Ventilated Calf Barns in Winter. *J Dairy Sci* 2006; 89: 4014-25.
11. Loria GR, Sammartino C, Nicholas RAJ, Ayling RD. *In vitro* susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res Vet Sci* 2003; 75(1): 3-7.
12. McGuirk SM. Otitis media in calves. In *Proc 23rd Am Coll Vet Intern Med*, Baltimore, MD, 2005: 228-30.
13. McGuirk SM. Sick calf protocols. University of Wisconsin – Madison, School of Veterinary Medicine, personal communication, 2007.
14. McGuirk SM, Peek SF. BAL Collection in Cows and Calves. University of Wisconsin – Madison, School of Veterinary Medicine, personal communication, 2007.
15. McGuirk SM, Peek SF, Nordlund KV. Respiratory scoring system to improve early detection. University of Wisconsin – Madison, School of Veterinary Medicine, personal communication, 2007.
16. Pringle JK. Ancillary testing for the ruminant respiratory system. *Vet Clin N Am - Food A*, 1992; 8(2): 243-56.
17. Quimby WF, Sowell BF, Bowman JGP, Branine ME, Hubbert ME, Sherwood HW. Application of feeding behavior to predict morbidity of newly received calves in a commercial feedlot. *Can J Anim Sci* 2001; 81: 315-20.
18. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Diseases of the respiratory system. In: *Veterinary Medicine*, 9th ed., W. B. Saunders, 2000: 1160-8.
19. Tegtmeier C, Uttenthal A, Friis NF, Jensen NE, Jensen HE. Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. *J Vet Med* 1999; 46:693-700.
20. Ter Laak EA, Noordergraaf JH, Verschure MH. Susceptibilities of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, and *Ureaplasma diversum* strains to antimicrobial agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(2): 317-21.
21. Thomas A, Nicolas C, Dizier I, Mainil J, Linden A. Antibiotic susceptibilities of recent isolates of *Mycoplasma bovis* in Belgium. *Vet Rec* 2003; 153(14): 428-31.
22. Virtala A-MK, Mechor GD, Grohn YT, Erb HN, Dubovi EJ. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J Am Vet Med A* 1996; 208: 2035-42.
23. Watts JL, Yancey RJ, Sarah JR, Salmon SA, Case CA. A 4-year survey of antimicrobial susceptibility trends for isolates from cattle with bovine respiratory disease in North America. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 725-31.

SRPSKI

**PNEUMONIJA KOD TELADI: EFIKASAN TRETMAN ZAVISI OD RANE I PRECIZNE
DIJAGNOZE**

N. Panousis

Pneumonija kod teladi je jedna od ekonomski najvažnijih bolesti goveda. Zakasnela dijagnoza mogla bi da izazove endemski problem kod stada, da rezultira u prolongiranoj upotrebi antibiotika, visokom stepenu ponovnog javljanja, pulmonarnim abscesima i infekcijama uha. Ključ za efikasnu kontrolu je rana detekcija pneumonije i precizna dijagnoza etiološkog faktora. U cilju ranog otkrivanja bolesti, određeno je bodovanje respiratorne bolesti na osnovu rektalne temperature, karaktera nazalnog iscedka, iscedka iz oka ili izgleda uha, kao i prisustva kašlja. Svaki klinički znak ima skalu bodova od 0 (normalno) do 4 (teško). Bodovanje respiratorne bolesti predstavlja zbir bodova za 4 kategorije kliničkih znakova, tako što povećane vrednosti predstavljaju progresivno ozbiljnije stanje. Bodovni sistem može dati minimalni rezultat od 0 bodova ili maksimalni rezultat od 12 bodova. Telad bodovana sa 5 ili više, kod kojih je prisutno najmanje dva klinička znaka respiratorne bolesti, smatraju se bolesnim i treba da dobiju terapiju. Najbolje sredstvo za preciznu dijagnozu etiološkog agensa kod živih taladi je sakupljanje tečnosti bronhoalveolarnom lavažom (BAL). Treba izbegavati uzimanje uzoraka od teško obolelih životinja. Idealni su novi akutni slučajevi. BAL se vrši kod sedirane teladi koristeći sterilizovan i fleksibilan kateter sa vazdušnim jastučetom od 5 kubnih centimetara. Sveži uzorak BAL tečnosti se obrađuje u roku od 2 sata od sakupljanja ili ostavlja u frižideru dok se ne pristupi analizi. Deo uzorka se koristi za mikrobiološka ispitivanja a ostatak za citološka ispitivanja. Rezultat se smatra abnormalnim kada BAL tečnost pokaže homogenu ($> 10^6$ CFU/ml) bakterijsku ili pozitivnu kulturu *Mycoplasma bovis*. Disproporcionalno smanjenje makrofaga ($< 61\%$) ili povećanje neutrofila ($> 39\%$) pruža dokaze o postojanju inflamatornog odgovora sa ili bez pozitivne kulture. Idealna antibiotska selekcija bila bi bazirana na antibiogramu za plućne patogene na osnovu kulture BAL tečnosti.

Ključne reči: telad, respiratorni bodovni sistem, bronhoalveolarna lavaža

РУССКИЙ

**ПНЕВМОНИЯ У ТЕЛЯТА: ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЗАВИСИТ ОТ
РАННЕГО И ТОЧНОГО ДИАГНОЗА**

N. Panousis

Пневмония у телята одна из экономически самых важных болезней крупного рогатого скота. Опоздавший диагноз мог бы вызвать эндемическую проблему у стад, являться результатом в пролонгированном употреблении антибиотиков, высокой степени повторного появления, пульмонарных абсцессов и ушных инфекциях. Ключ для эффективного контроля ранняя детекция пневмонии и точный диагноз этиологического фактора. С целью раннего открытия болезни, определен счёт очков респираторной болезни на основе ректальной температуры, характера назального экскрата, экскрата из глаза или вида уха, словно и присутствие кашля.

Каждый клинический знак имеет шкалу очков от 0 (нормально) до 4 (тяжело). Счёт очков респираторной болезни представляет собой сумму очков для 4 категорий клинических знаков, так, что увеличенные стоимости представляют собой прогрессивное более серьёзное состояние. Бальная система может дать минимальный результат от 0 баллов или максимальный результат от 12 баллов. Телята, считанные баллами с 5 или больше, у которых присутствующее меньше всего два клинических знака респираторной болезни, считаются больными и им надо получить терапию. Наилучшее средство для точного диагноза этиологического агента у живых телят накопление жидкости бронхоальвеолярной лаважой (БАЛ). Надо избегать принятие образчиков от тяжело заболевших животных. Идеальные новые острые случаи. БАЛ совершается у седиранных телят, пользуясь стерилизованным и флексибильным катетером с воздухоносным мешком от 5 кубических сантиметров. Свежий образчик БАЛ жидкости обрабатывается в течение от двух часов от накопления или оставляет в холодильнике пока не приступится анализу. Часть образчика пользуется для микробиологических испытаний. Результат считается ненормальным, когда БАЛ жидкость покажет гомогенную ($>10^6$ ЦФУ/мл) бактериальную или положительную культуру *Mycoplasma bovis*. Диспропорциональное уменьшение макрофагов ($<61\%$) или увеличение нейтрофилов ($>39\%$) оказывает доказательства о существовании воспалительного ответа с или без положительной культуры. Идеальная антибиотическая селекция была бы базирована на антибиотикограмме для лёгочных патогенов на основе культуры БАЛ жидкости.

Ключевые слова: телята, респираторная бальная система, бронхоальвеолярная лаважа

**PROMENA POPULACIJE *S. enterica* serotip *Enteritidis*
U EKSPERIMENTALNO KONTAMINIRANOM MLEKU
U ZAVISNOSTI OD TEMPERATURE I KISELOSTI***
*CHANGES IN POPULATION OF *S. enterica* serotype *Enteritidis*
IN EXPERIMENTALLY CONTAMINATED MILK DEPENDING ON
TEMPERATURE AND ACIDITY*

Nataša Rajić Savić**

Salmonele spadaju u najčešće uzročnike trovanja hranom, a mleko i proizvodi od mleka su namirnice preko kojih se one mogu preneti. Noviji podaci govore da je veoma mala doza salmonela infektivna – do 10^1 /g/ml hrane. Održivost salmonela u mleku zavisi od njegove kiselosti, temperature i dužine čuvanja.

Cilj ovoga rada je bio da se ispita preživljavanje salmonela u mleku u zavisnosti od promene ukupnog broja bakterija, pH vrednosti i temperature.

*Po 0,1 ml 24-časovne bujonske kulture *S. Enteritidis* je inokulirano u sirovo zbirno mleko (10^4 cfu/ml) i u pasterizovano mleko iz prometa (10^2 cfu/ml). Ispitivana mleka su čuvana na sobnoj i na temperaturi od 7°C. Na početku ispitivanja, nakon 24, 48 i 72 sata, te nakon 7, 14 i 21 dana su iz ispitivanih mleka pravljena decimalna razređenja. Nakon inkubacije, vršeno je utvrđivanje broja *S. Enteritidis* (Rambach agar) i ukupnog broja bakterija (podloga za ukupan broj bakterija), množenjem broja izraslih kolonija i odgovarajućeg razređenja, i meren je pH mleka.*

*Redukcija *S. Enteritidis* bila je veća na sobnoj temperaturi, jer je pH vrednost brže opadala. Najniži pH pri kome je *S. Enteritidis* izolovana iz eksperimentalno kontaminiranog mleka bio je 3,88. Rezultati ispitivanja pokazuju da salmonele mogu da se prilagode biohemijskim procesima tokom mlečnokiselinske fermentacije mekih sireva.*

* Rad primljen za štampu 20. 04. 2009. godine

** Nataša Rajić Savić, dr vet. med., Dijagnostička laboratorija, PKB Korporacija, Padinska Skela

Salmonele iz eksperimentalno kontaminiranog pasterizovanog mleka na obe temperature čuvanja nisu izolovane nakon sedam dana ispitivanja.

Ključne reči: salmonele, mleko, pH, temperatura, dužina čuvanja

Uvod / Introduction

Salmonele su najčešći uzročnici trovanja hranom, a mleko i mlečni proizvodi su namirnice iz kojih su bile izolovane u slučajevima alimentarnih epidemija (The Community Summary Report, 2005). U mleku se mogu naći kao posledica kontaminacije fekalijama poreklom od kliconoša ili glodara. Izolovane su iz proizvoda od nekuvanog, termiziranog ili pasterizovanog mleka, a do kontaminacije može doći na početku, u toku proizvodnje ili u gotovom proizvodu (Alterkruse i sar., 1998; The Community Summary Report, 2005).

Novija istraživanja govore da je infektivna doza salmonela mala – do 10^1 /g/ml hrane. Namirnice koje su bogate belančevinama i mastima štite salmonele tokom prolaska kroz želudac, tako da i mali broj unetih živih ćelija može dovesti do brze pojave bolesti (Alterkruse i sar., 1998; Reed, 1993).

Najčešći serološki tip koji se javljao kao uzročnik alimentarnog obojenja kod ljudi navodi se *Salmonella enterica* serotip *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) (MMWR Surveillance Summaries, 2000; The Community Summary Report, 2005; The EFSA Journal, 2006; Bager i sar., 1997; Nagy i sar., 1997; Gonzalez-Hevia i sar., 1996).

Salmonele su mezofilni mikroorganizmi, ali se mogu umnožavati na temperaturi u rasponu 8 - 45°C. One mogu da se umnožavaju i pri nepovoljnijim temperaturnim uslovima ako je sastav sredine povoljan u pogledu sadržaja proteina i ugljenih hidrata (Reed, 1993). Minimalna temperatura pri kojoj su se salmonele umnožavale je 1,1 - 12,3°C, pri čemu se snižavanjem temperature generacijsko vreme produžavalo (Tsai i Ingham, 1997; Holliday i Beuchat, 2003).

Organske kiseline koje se stvaraju tokom fermentacije mleka dovode do propadanja salmonela (El-Gazzar i Marth, 1992). Najniži pH postignut dodavanjem mlečne kiseline pri kome su se salmonele razmnožavale je 4,40 (El-Gazzar i Marth, 1992; Dorsa i sar., 1998).

Na preživljavanje salmonela u kiselim uslovima utiče brzina snižavanja pH. Nagla promena kiselosti dovodi do brzog propadanja salmonela, naročito ako deluju i drugi stresni faktori. Postepeno snižavanje kiselosti može da dovede do aktiviranja adaptibilnih mehanizama, pri čemu ovakvi sojevi pokazuju veću otpornost i prema drugim stresogenima, naročito pri nižim temperaturama (Tsai i Ingham, 1997; Dickson i Kunduru, 1995).

Cilj rada je bio da se ispita održivost salmonela u mleku u zavisnosti od promene ukupnog broja bakterija, promene pH vrednosti i temperature čuvanja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Mleko / *Milk*

Za eksperimentalnu kontaminaciju korišćeno je sirovo mleko iz sabirnog bazena i pasterizovano mleko iz prometa. Sirovo mleko je sadržavalo 11,52% ukupne suve materije i 3,90 % masti. Ukupan broj bakterija u sirovom mleku je bio $5,26 \times 10^6$ cfu/ml, a pH vrednost mleka je bila 6,38. Pasterizovano mleko upotrebljeno u eksperimentu sadržavalo je 2,80 % mlečne masti i 11,16 % suve materije. Ukupan broj mikroorganizama iznosio je $1,98 \times 10^5$ cfu/ml, pH vrednost je bila 6,59.

Mikroorganizam / *Microorganism*

Ispitivana je *Salmonella Enteritidis* koja je u slučaju alimentarne epidemije jedne porodice izolovana na Katedri za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu iz mekog belog sira. Mikroorganizam je umnožavan 24 sata u hranljivom bujonu.

Eksperimentalna kontaminacija mleka / *Experimental contamination of milk*

U 100 ml sirovog mleka i 100 ml pasterizovanog mleka je preneto po 0,1 ml bujonske kulture *Salmonella Enteritidis* stare 24 sata. U eksperimentalno kontaminiranom mleku čuvanom na 7°C i na sobnoj temperaturi je posle 24, 48 i 72 sata, te 7, 14 i 21 dan određivan broj salmonela, ukupan broj mikroorganizama i meren je pH mleka.

Određivanje ukupnog broja bakterija u sirovom i pasterizovanom mleku / *Determining total number of bacteria in raw and pasteurized milk*

Ukupan broj bakterija je određivan zasejavanjem decimalnih razređenja eksperimentalno kontaminiranog mleka u podlogu za ukupan broj bakterija. Zasejane podloge su inkubirane 72 časa pri 30 °C.

Određivanje broja *Salmonella Enteritidis* / *Determining number of Salmonella enteritidis*

Broj *Salmonella Enteritidis* je određen zasejavanjem 0,1 ml decimalnih razblaženja mleka na površinu Rambach agara (Merck). Zasejane podloge su inkubirane 24 sata na 37°C. Po završenoj inkubaciji izbrojane su izrasle karakteristične roze kolonije i dobijena vrednost pomnožena je sa razblaženjem.

Određivanje pH mleka / *Determining milk pH*

Određivanje pH mleka je rađeno uranjanjem sonde pH metra (Kranj-Iskra, MA 5735) u mleko i očitavanjem vrednosti sa tačnošću $\pm 0,1$.

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Rezultati ispitivanja eksperimentalno kontaminiranog sirovog mleka čuvanog na temperaturi od 7°C i na sobnoj temperaturi /

Results of investigations of experimentally contaminated raw milk maintained at a temperature of 7°C and at room temperature

Rezultati promene broja *Salmonella Enteritidis* u eksperimentalno kontaminiranom sirovom mleku čuvanom na 7°C prikazani su u tabeli 1.1.

Tabela 1.1. Promena broja *Salmonellae Enteritidis*, ukupnog broja mikroorganizama i pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranom sirovom mleku čuvanom na 7°C
Table 1.1. Changes in number of *Salmonella enteritidis*, total number of microorganisms and pH in experimentally contaminated raw milk maintained at 7°C

Vreme / Time	<i>S. Enteritidis</i> cfu/ml	Ukupan broj bakterija / Total number of bacteria cfu/ml	pH
0 h	7×10^4	$4,18 \times 10^6$	6,74
24 h	$2,28 \times 10^5$	$3,25 \times 10^9$	6,63
48 h	$4,70 \times 10^5$	$7,845 \times 10^7$	6,69
72 h	$8,40 \times 10^4$	$3,055 \times 10^9$	6,65
7 d	8×10^5	$2,99 \times 10^9$	6,00
14 d	$8,30 \times 10^4$	$3,20 \times 10^8$	6,46
21 d	5×10^4	$9,75 \times 10^9$	5,99

U sirovom mleku čuvanom na temperaturi od 7°C, nakon 24 sata broj *S. Enteritidis* se uvećao tri puta, beležeći blag porast i tokom 72 sata uz malu promenu pH vrednosti. Nakon 72 sata broj *S. Enteritidis* se redukuje na vrednost približnu inokulumu uz dalje sniženje pH. Sedmog dana broj salmonela se uvećao deset puta, dok se pH vrednost snizila za 0,65. Četrnaestog i dvadeset prvog dana broj *S. Enteritidis* se smanjuje i približava vrednosti postignutoj trećeg dana ispitivanja, uz pad ukupnog broja mikroorganizama i pomeranja pH vrednosti ka baznom.

Tokom ispitivanja nema velikih oscilacija pH. Na kraju ispitivanja pH je niži za 0,75 u odnosu na početnu vrednost, a broj salmonela se do kraja zadržava na visokoj vrednosti. Nakon 48 sati i nakon četrnaest dana eksperimenta za-beleženo je pomeranje pH vrednosti ka baznom, nastalo kao posledica proteo-litičke aktivnosti psihrofilne flore u mleku.

Rezultati promene broja *Salmonella Enteritidis* tokom čuvanja sirovog mleka na sobnoj temperaturi prikazani su u tabeli 1.2.

Na sobnoj temperaturi, tokom prva 24 sata, broj salmonela neznatno opada, da bi posle 48 sati broj *S. Enteritidis* iznosio više od milion cfu/ml, uz značajno snižavanje pH mleka. Trećeg dana se broj *S. Enteritidis* smanjuje na

4×10^5 cfu/ml uz dalji blag pad pH vrednosti mleka. Sedmog dana ispitivanja broj *S. Enteritidis* se smanjuje na 1,80 cfu/ml, uz neznatno sniženje pH. Četrnaestog dana preživelo je samo 400 ćelija *S. Enteritidis*, uz pad ukupnog broja bakterija za jednu potenciju. Dvadeset prvog dana je utvrđeno deset *S. Enteritidis* cfu/ml mleka i sniženje pH na vrednost 3,88. Broj salmonela je stagnirao ili se neznatno smanjivao pri najvećem ukupnom broju bakterija u mleku.

Tabela 1.2. Promena broja *Salmonellae Enteritidis*, ukupnog broja mikroorganizama i pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranom sirovom mleku čuvanom na sobnoj temperaturi

Table 1.2. Changes in number of *Salmonella enteritidis*, total number of microorganisms and pH in experimentally contaminated raw milk maintained at room temperature

Vreme / Time	<i>S. Enteritidis</i> cfu/ml	Ukupan broj bakterija / Total number of bacteria cfu/ml	pH
0 h	$9,30 \times 10^4$	$4,18 \times 10^6$	6,74
24 h	$7,90 \times 10^4$	$2,73 \times 10^9$	6,47
48 h	2×10^5	$2,925 \times 10^8$	4,36
72 h	4×10^5	$2,99 \times 10^8$	4,29
7 d	$1,80 \times 10^4$	$1,495 \times 10^9$	4,15
14 d	4×10^1	$1,42 \times 10^8$	4,41
21 d	1×10^1	$5,50 \times 10^7$	3,88

Salmonele u mleku čuvanom na temperaturi od 7°C preživljavaju u velikom broju tokom dužeg vremena čuvanja (El-Gazzar i Marth, 1992; Modi i sar., 2001). Prvog dana je broj *S. Enteritidis* bio nešto veći u odnosu na početnu vrednost, ali je ukupan broj mikroorganizama značajno veći kod sirovog mleka. Velika promena pH vrednosti je zapažena nakon prvog dana u sirovom mleku. S obzirom na to da je u mleku tada bilo dovoljno hranljivih materija, *S. Enteritidis* je mogla da se prilagodi novonastalim uslovima i adaptira na mlečnu kiselinu koja se stvorila (Leyer i Johnson., 1992; Tiwari i sar., 2004; Shen i sar., 2007). Nakon 48 sati u sirovom mleku dolazi do naglog umnožavanja salmonela uz pad ukupnog broja mikroorganizama, a zapaža se porast pH vrednosti usled nakupljanja supstanci baznog karaktera, nastalih kao posledica metabolizma psihrofilne flore sirovog mleka (Shen i sar., 2007).

Prema Leyer i sar. (1992) spor pad pH vrednosti je ključni faktor za selekciju kiseloadaptivnih sojeva, što omogućava dug opstanak i održavanje *S. Enteritidis* u sirovom mleku. Isti autori su utvrdili da se različiti serološki tipovi salmonela održavaju dva meseca u sirevima sa mlečnokiselinskim zrenjem čuvanim na temperaturi od 5°C. Ovo potvrđuju i nalazi Shena i saradnika (2007) kojima se pokazalo da su kiseloadaptirani sojevi salmonela u punomasnom mleku sa

mlečnokiselinskom fermentacijom značajno brojniji kada je ono čuvano na 10°C nego na 37°C.

Na temperaturi od 7°C kod sirovog mleka populacija *S. Enteritidis* se održala u velikom broju do kraja ispitivanja. Ne zapaža se ni velika promena pH vrednosti, jer se na ovoj temperaturi razmnožavaju pretežno laktoza negativni mikroorganizmi.

Nakon 24 sata čuvanja mleka na sobnoj temperaturi, broj *S. Enteritidis* se u pasterizovanom mleku naglo povećao, dok je u sirovom mleku opao. Nakon 48 sati broj *S. Enteritidis* se redukovao u pasterizovanom mleku, ali je u sirovom mleku došlo do njegovog porasta. Tada je uočen i nagli pad pH vrednosti sirovog mleka. Ukupan broj mikroorganizama je u oba mleka u porastu do kraja eksperimenta, a pH vrednost u stalnom padu. Sedmog dana je iz pasterizovanog mleka izolovana *S. Enteritidis*, a dvadeset prvog i iz sirovog mleka. *S. Enteritidis* je, do kraja eksperimenta, preživela samo u sirovom mleku. Opadanje broja *S. Enteritidis* je bilo veće u eksperimentalno kontaminiranom sirovom mleku na sobnoj temperaturi nego na 7°C. Prema Holliday i Beuchat (2003) održivost salmonela u proizvodima od mleka zavisi od vrste proizvoda i temperature čuvanja. Salmonela brže propadaju na sobnoj temperaturi nego na temperaturi od 4,4 ili 10°C.

Prema našim rezultatima, broj salmonela u sirovom mleku na sobnoj temperaturi je nakon 21 dana drastično smanjen u odnosu na početnu vrednost, ali je krajnja vrednost od 10 cfu/ml mleka zabeležena kao infektivna doza u nekim alimentarnim epidemijama (Alterkruse i sar., 1998; Reed 1993).

Rezultati ispitivanja eksperimentalno kontaminiranog pasterizovanog mleka čuvanog na temperaturi od 7°C i sobnoj temperaturi /

Results of investigations of experimentally contaminated pasteurized milk maintained at a temperature of 7°C and at room temperature

Budući da pasterizovano mleko sadrži manji broj mikroorganizama, eksperimentalna kontaminacija je rađena sa manjim inokulumom. Rezultati promene populacije *Salmonellae Enteritidis* i ukupnog broja mikroorganizama u odnosu na vreme, temperaturu čuvanja i kiselost prikazani su u tabeli 2.1. i 2.2.

Na temperaturi od 7°C nakon prvog dana dolazi do blagog uvećanja broja *S. Enteritidis* i pomeranja pH vrednosti ka baznoj i manji porast populacije ukupnog broja bakterija. Nakon 48 sati broj *S. Enteritidis* postiže vrednost inokuluma, pri čemu nije bilo promene ukupnog broja mikroorganizama kao ni pH vrednosti. Trećeg dana populacija *S. Enteritidis* se povećala za dve potencije uz neznatan pad pH vrednosti, a nakon sedam dana one se nisu mogle utvrditi u mleku.

Na sobnoj temperaturi nakon 24 sata broj *S. Enteritidis* se uvećao za tri potencije, a pH vrednost naglo je opala. Drugog dana broj *S. Enteritidis* se smanjio, a pH vrednost neznatno opala. Trećeg dana je došlo do smanjenja broja *S. Enteritidis*, ali se one zadržavaju na istoj potenciji uz pad pH za 0,06.

Tabella 2.1. Promena populacije *Salmonellae Enteritidis*, ukupnog broja mikroorganizama i pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranom pasterizovanom mleku čuvanom na 7°C

Table 2.1. Changes in *Salmonella enteritidis* population, total number of microorganisms and pH in experimentally contaminated pasteurized milk maintained at 7°C

Vreme / Time	<i>S. Enteritidis</i> cfu/ml	Ukupan broj mikroorganizama / Total number of microorganisms (cfu/ml)	pH
0 h	2×10^2	$1,98 \times 10^5$	6,59
24 h	$2,80 \times 10^2$	$6,4 \times 10^5$	6,61
48 h	2×10^2	$6,60 \times 10^5$	6,61
72 h	$1,40 \times 10^4$	$4,44 \times 10^7$	6,58
7 d	–	$2,40 \times 10^8$	5,84

Tabela 2.2. Promena populacije *Salmonellae Enteritidis*, ukupnog broja mikroorganizama i pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranom pasterizovanom mleku čuvanom na sobnoj temperaturi /

Table 2.2. Changes in *Salmonella enteritidis* population, total number of microorganisms and pH in experimentally contaminated pasteurized milk maintained at room temperature

Vreme / Time	<i>S. Enteritidis</i> (cfu/ml)	Ukupan broj mikroorganizama / Total number of microorganisms (cfu/ml)	pH
0 h	2×10^2	$1,98 \times 10^5$	6,59
24 h	2×10^5	$1,48 \times 10^7$	4,64
48 h	9×10^4	$2,34 \times 10^7$	4,61
72 h	$3,20 \times 10^4$	$1,69 \times 10^8$	4,55
7 d	–	$1,02 \times 10^9$	4,60

S obzirom na to da se zbog male veličine inokuluma (2×10^2 cfu/ml) *S. Enteritidis* nije mogla izolovati iz pasterizovanog mleka na obe temperature čuvanja, vreme ispitivanja smo skratili na sedam dana.

U pasterizovanom mleku broj *S. Enteritidis* se održavao na početnoj vrednosti, a trećeg dana se populacija naglo uvećala. Nije bilo značajnog uvećanja ukupnog broja mikroorganizama, jer je najveći deo mezofila uništen pasterizacijom. Sedmog dana ispitivanja iz pasterizovanog mleka nije izolovana *S. Enteritidis*. U pasterizovanom mleku je bio manji sadržaj masti koja ima zaštitno delovanje i zato je *S. Enteritidis* duže preživljavala u sirovom nego u pasterizovanom mleku.

Na dužinu preživljavanja imala je uticaj i veličina inokuluma koji je kod pasterizovanog mleka manji (Alterkruse i sar. 1998; Reed, 1993).

Holliday i Beuchat (2003) i Modi i sar. (2001) su iz sirovog i pasterizovanog mleka, eksperimentalno kontaminiranog sa *S. Enteritidis* inokulumom

10^4 cfu/ml i čuvanog na temperaturi od 8°C izolovali salmonelu nakon 99 dana u koncentraciji 10^3 cfu/ml.

Najniža pH vrednost pri kojoj je *S. Enteritidis* izolovana iz eksperimentalno kontaminiranog sirovog mleka bila je 3,84, nakon tri nedelje ispitivanja. Ashenafi (1993) navodi da se u mleku nije moglo utvrditi prisustvo salmonele nakon 60 sati, a pH vrednost je iznosila 3,70; El-Gazzar i Marth (1992) i Dorsa i sar. (1998) su utvrdili da je najniža pH vrednost pri kojoj se moglo utvrditi prisustvo salmonele bila 4,40.

Holliday i Beuchat (2003) navode da je najniži pH pri kome su potvrđene salmonele bio 3,66, a da je vreme opstanka bilo značajno duže u proizvodima sa većim procentom mlečne masti i manjim sadržajem vode. Tiwari i sar. (2004) navode da je do uginjavanja salmonela došlo tek pri pH 3.30 u mleku koje je čuvano na temperaturi od 45°C . Beuchat i sar. (2006) navode da salmonele koje se nalaze u malom inokulumu, u kiseloj sredini pH vrednosti 2,83 - 3,49 ne mogu opstati tokom 15 dana na sobnoj temperaturi.

Zaključak / Conclusion

S. Enteritidis se u sirovom mleku umnožavala i održavala 21 dan na 7°C i na sobnoj temperaturi u broju koji je znatno veći od minimalne infektivne doze. Izolovanje *S. Enteritidis* iz eksperimentalno kontaminiranog mleka posle 21 dana pri pH 3,88 pokazuje da ona može da se prilagodi biohemijskim procesima koji se dešavaju tokom mlečnokiselinske fermentacije.

Održivost salmonela u pasterizovanom mleku je bila kraća nego u sirovom, ali su one preživele nedelju dana, što ukazuje na to da meki sirevi proizvedeni od kuvanog mleka kod kojih je došlo do naknadne kontaminacije mogu predstavljati opasnost za zdravlje ljudi.

Literatura / References

1. Altekruse FS, Babagaleh BT, Mowbray JC, Bean NH, Potter ME. Cheese-Associated Outbreaks of Human Illness in the United States, 1973. to 1992: Sanitary Manufacturing Practices Protect Consumer. Journal of Food Protection 1998; 61(10): 1405-7.
2. Bachmann HP Spahr. The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheese made from raw milk. J Dairy Sci 1995; 78(3): 476-83.
3. Bailey SJ, Reagan JO, Cox NA, Thomson JE. Comparison of Aerobic and Anaerobic Incubation Conditions for Optimal Recovery of *Salmonella*. J Food Prot 1984; 47(8): 615-7.
4. Bautista DA, Chen J, Barbut S, Griffiths MW. Use of an Autobioluminescent *Salmonella Hadar* to monitor the Effect of Acid and Temperature Treatments on Cell Survival and Viability on Lactic Acid- Treated Poultry Carcasses. J Food Prot 1998; 61(11): 1439-45.
5. Beuchat RL. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. J Food Prot 1995; (59)2: 204-16.

6. Beuchat LR, Ryu JH, Adler BB, Harrison MD. Death of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in shelf-stable, dairy-based, pourable salad dressings. *J Food Prot* 2006; 69(4): 801-14.
7. Boor JK. Pathogenic microorganisms of concern to the dairy. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 1997; 17(11): 714-7.
8. Bunčić O, Katić V. Prisustvo *Salmonella* u namirnicama, higijenski problemi i mere zaštite. *Veterinarski Glasnik* 1994; 48(3-4): 321-7.
9. D'Aoust JY. Effective Enrichment- Plating Conditionss for Detection of *Salmonella* in Foods. *J Food Prot* 1984; 47(8): 588-90.
10. D'Aoust JY, Sewell A. A Jean Limited Sensitivity of Short (6h) Selective Enrichment for Detection of Foodborne *Salmonellae*. *J Food Prot* 1990; 53(7): 562-5.
11. Cooke MV, Miles RJ, Price RG, Richardson AC. A Novel Chromogenic Ester Agar Medium for Detection of *Salmonellae*. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65(2): 807-12.
12. DeLamo-Castellví S, Roig-Sagués AX, López-Pedemonte T, Hernández-Herrero MM, Guamis B, Capellas M. Response of Two *Salmonella enterica* Strains Inoculated in Model Cheese Treated with High Hydrostatic Pressure. *J Dairy Sci* 2007; 90: 99-109.
13. Dickson SJ, Kunduru MR. Resistance of Acid-Adapted *Salmonellae* to Organic Acid Rinses on Beef. *J Food Prot* 1995; 58(9): 973-6.
14. Donnelly CW. Concerns of microbiological pathogens in association with dairy products. *J Dairy Sci* 1990; 73(6): 1651-61.
15. Dorsa JW, Cutter CN, Siragusa GR. Long-Term Bacterial Profile of Refrigerated Ground Beef Made from Carcass Tissue, Experimentaly Contaminated with Pathogens and Spoilage Bacteria after Hot Water, Alkaline, or Organic Acid Washes Lactic Acid- Treated Poultry Carcasses. *J Food Prot* 1998; 61(12): 1615-22.
16. Doyle PM. A New Generation of Foodborne Pathogenes. *Dairy, Food and Enviromental Sanitation* 1992; 12(8): 490-3.
17. El-Gazzar EF, Marth EH. Dairy foods – *Salmonellae*, *Salmonellosis* and Dairy Foods: A Review. *J Dairy Sci* 1992; 75(9): 22327-43.
18. Ellajosyuola RK, Doores S, Mills EW, Wilson RA, Anantheswaran RC, Knabel SJ. Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in Lebanon Bologna by Interaction of Fermentation pH, Heating Temperature, and Time Lactic Acid - Treated Poultry Carcasses. *J Food Prot* 1998; 61(2): 152-7.
19. Freydiere AM, Gille Y. Detection of salmonellae by using Rambach agar and by a C8 esterase spot test. *J Clin Microbiol* 1991; 29(10): 2357-9.
20. Foster JW. *Salmonella* acid shock proteins are required for the adaptive acid tolerance response. *J Bacteriol* 1991; 173(21): 6896-902.
21. Holliday SL, Beuchat LR. Viability of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in yellow fat spreads as affected by storage temperature. *J Food Prot* 2003; Apr. 66(4): 549-58.
22. Joosten HM, van Dijck WG, van der Velde F. Evaluation of motility enrichment on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) and automated conductance in combination with Rambach agar for *Salmonella* detection in environmental samples of a milk powder factory. *Int J Food Microbiol* 1994; 22(2-3): 201-6.
23. Kuhn H, Wonde B, Rabsch W, Reissbrodt R. Evaluation of Rambach agar for detection of *Salmonella* subspecies I to VI. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(2): 749-51.

24. Leyer GJ, Johnson EA. Acid adaptation promotes survival of *Salmonella* spp. in cheese. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58(6): 2075-80.
25. Maipa V, Papadopoulou C, Pappas C, Dimitriou D, Voutsinas L, Malatou H. Survival of *Salmonella enteritidis* during the manufacture of feta cheese made of pasteurized ewe's milk. *Zentralbl Mikrobiol* 1993; 148(1): 66-73.
26. Mattick KL, Phillips LE, Jørgensen F, Lappin-Scott HM, Humphrey TJ. Filament formation by *Salmonella* spp. inoculated into liquid food matrices at refrigeration temperatures, and growth patterns when warmed. *J Food Prot* 2003; Feb. 66(2): 215-9.
27. Modi R, Hirvi Y, Hill A, Griffiths MW. Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *J Food Prot* 2001; Jul. 64(7): 927-33.
28. Reed GH. Safe food handling of potentially hazardous foods (PHF) - A checklist. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 1993; 13: 208-9.
29. Shen HW, Yu RC, Chou CC. Acid adaptation affects the viability of *Salmonella typhimurium* during the lactic fermentation of skim milk and product storage. *Int J Food Microbiol* 2007; 20; 114(3): 380-5. Epub 10.
30. Tiwari RP, Sachdeva N, Hoondal GS, Grewal JS. Adaptive acid tolerance response in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Salmonella enterica* serovar Typhi. *J Basic Microbiol* 2004; 44(2): 137-46.
31. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal* 2006; 94.
32. The EFSA Journal Review of the Community Summary Report on Zoonoses. 2006; 403: 1-62
33. Tsai, Ingham SC. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. In Acidic Condiments. *J Food Prot* 1997; 60(7): 751-5.
34. Weber A, Warchowitz R. The detection of salmonellas using Rambach agar. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1994; 107(2): 43-4.

ENGLISH

**CHANGES IN POPULATION OF *S. enterica* serotype *Enteritidis* IN
EXPERIMENTALLY CONTAMINATED MILK DEPENDING ON TEMPERATURE
AND ACIDITY**

Nataša Rajić Savić

Salmonella bacteria are among the most frequent causes of food poisoning, and milk and milk products are food items through which these bacteria can be transmitted. More recent data indicate that the infective dose of *Salmonella* is very small – up to 10^1 /g/ml food. The preservation of *Salmonella* in milk depends on the acidity, temperature and the duration of storage.

The objective of the work was to examine the survival of *Salmonella* in milk depending on the changes of the total number of bacteria, pH and temperature.

In the study, 0.1 ml of 24-hour bouillon culture of *S. enteritidis* was inoculated in raw collective milk (10^4 cfu/ml) and in marketed pasteurized milk (10^2 cfu/ml) each. The ex-

aminated milk samples were maintained at room temperature and at a temperature of 7°C. At the beginning of the examinations, after 24h, 48h, 72h, after 7, 14 and 21 days, decimal solutions were made from the milk, and, following incubation, the number of *S. enteritidis* was determined (Rambach agar), the total number of bacteria (base for total number of bacteria) by multiplying the number of grown colonies and the corresponding solution, and the milk pH was measured.

There was a bigger reduction of *S. enteritidis* at room temperature because the pH value dropped more swiftly. The lowest pH at which *S. enteritidis* was isolated from experimentally contaminated milk was 3.88. The results of the examinations show that *Salmonella* can adapt to biochemical processes during milk acid fermentation of soft cheeses.

No *Salmonella* bacteria were isolated from experimentally contaminated pasteurized milk at both maintenance temperatures after seven days of investigations.

Key words: *Salmonella*, milk, pH, temperature, duration of storage

РУССКИЙ

ИЗМЕНЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ *S. enterica* СЕРОТИП *Enteritidis* В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО КОНТАМИНИРОВАННОМ МОЛОКЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ И КИСЛОТНОСТИ

Наташа Раич Савич

Сальмонеллы относятся к самым частым возбудителям отравления кормом, а молоко и продукты из молока пищевые продукты через которые они могут перенести. Более новые данные говорят, что инфекционная доза сальмонелл очень маленькая - до 10^1 /г/мл корма. Поддержание сальмонелл в молоке зависит от кислотности, температуры и длины хранения.

Цель работы была испытать переживание сальмонелл в молоке в зависимости от изменения совокупного числа бактерий, pH и температуры.

По 0,1 мл 24 часовой культуры бульона. *S. Enteritidis* инокулировано в сырое цельное молоко (10^4 цфу/мл) и пастеризованное молоко из оборота (10^2 цфу/мл). Испытанные молока хранены при комнатной и при температуре от 7°C. В начале испытания, после 24ч, 48ч, 72 ч, после 7, 14 и 21 дня из испытанных мокок деланы десятичные разрежения, и, после инкубации, утверждено число *S. Enteritidis* (Рамбах агар), совокупное число бактерий (среда для совокупного числа бактерий) умножением числа выросших колоний и отвечающего разрежения, и измерения pH молока.

Редукция *S. Enteritidis* была более большая при комнатной температуре ибо pH стоимость быстрее опадала. Наиболее низкая pH при которой *S. Enteritidis* изолирована из экспериментально контаминированного молока была 3,88. Результаты испытания показывают, что сальмонеллы могут приспособиться биохимическим процессам в течение молочно кислотной ферментации творогов.

Сальмонеллы из экспериментально контаминированного пастеризованного молока при обеих температурах хранения не изолированы после семи дней испытания.

Ключевые слова: сальмонеллы, молоко, pH, температура, длина хранения

**POTENCIJALNE BIOLOŠKE OPASNOSTI OD ZNAČAJA ZA
HACCP PLANOVE U PROCESU OBRADJE SVEŽE RIBE***
*POTENTIAL BIOLOGICAL HAZARD OF IMPORTANCE FOR HACCP
PLANS IN FRESH FISH PROCESSING*

**M. Ž. Baltić, Nataša Kilibarda, V. Teodorović, Mirjana Dimitrijević,
N. Karabasil, Marija Dokmanović****

Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) sistem je naučno zasnovan sistem, fokusiran na prevenciju problema koji se mogu pojaviti u proizvodnji hrane i učiniti je nebezbednom za potrošača. Da bi se HACCP sistem uspešno razvio i implementirao, neophodno je primeniti preduslovne programe, kao što su GMP (Good Manufacturing Practices – Dobra proizvodna praksa), GHP (Good Hygienic Practices – Dobra higijenska praksa). Jedan od preliminarnih koraka pri razvoju HACCP plana je analiza opasnosti, koja se odvija u dva stadijuma – prvi je identifikacija opasnosti, a tokom drugog se procenjuje stepen identifikovane opasnosti i odlučuje da li će biti uključena u HACCP plan. Po definiciji, HACCP sistemom su obuhvaćeni svi tipovi potencijalnih opasnosti: biološki, fizički i hemijski, bilo da su povezani sa hranom ili potiču iz okoline ili grešaka tokom proizvodnog procesa. U procesu obrade sveže ribe, moguće značajne biološke opasnosti koje se mogu pojaviti i prouzrokovati oboljenja kod ljudi su: paraziti (Trematodae, Nematodae, Cestodae), bakterije (Salmonella, E. coli, Vibrio parahemolyticus, Vibrio vulnificus, Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum, Staphylococcus aureus), virusi (Norwalk virus, Enterovirusi, Hepatitis A, Rotavirus) i biotoksini.

Ključne reči: HACCP, biološke opasnosti, riba

* Rad primljen za štampu 20. 03. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Milan Ž. Baltić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; mr sci. med. vet. Nataša Kilibarda, Veterinarski specijalistički institut Subotica; dr sci. med. vet. Vlado Teodorović, redovni profesor, dr sci. med. vet. Mirjana Dimitrijević, docent, dr sci. med. vet. Neđeljko Karabasil, docent, dr vet. med. Marija Dokmanović, student doktorskih studija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Uvod / Introduction

Glavni cilj subjekata koji se bave proizvodnjom, preradom i prometom hrane, kao i nacionalnih nadležnih organa koji kontrolišu njihov rad, jeste dalje unapređenje bezbednosti hrane u cilju zaštite zdravlja potrošača. U današnje vreme to se uspešno postiže primenom HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) sistema u proizvodnji, preradi i prometu hrane. HACCP sistemom se identifikuju, karakterišu i kontrolišu zdravstvene opasnosti koje imaju poseban značaj, odnosno predstavljaju naročito visok rizik za bezbednost hrane. Njegove glavne karakteristike su naučna zasnovanost, preventivno delovanje, korišćenje ocene rizika kao alat, sistematičnost, dokumentovanost i proverljivost. HACCP sistem je fokusiran na „predviđanje“ mogućih problema koji bi mogli uticati na bezbednost hrane, kao i utvrđivanje mera za prevenciju njihovog nastajanja. Da bi sistem HACCP mogao da se razvije i da funkcioniše na pravi način u datom subjektu koji se bavi hranom, prethodno je neophodno da budu potpuno razvijeni i primenjeni preduslovni programi: dobre proizvođačke prakse (GMP) i dobre higijenske prakse (GHP). GMP/GHP i HACCP čine nerazdvojne i komplementarne delove jedne celine - upravljanja bezbednošću hrane ((HACCP) System and Guidelines for its Application, 2003). Sistem upravljanja bezbednošću (baziran na GMP/GHP i HACCP) i sistem upravljanja kvalitetom procesa/proizvoda (na primer, baziran na standardima serije ISO 9000) predstavljaju integralne delove globalne strategije potpunog upravljanja kvalitetom ("Total Quality Management"; TQM). Glavni cilj HACCP plana je da se identifikuju potencijalne opasnosti, oceni na kojim mestima proizvodnog procesa one ugrožavaju bezbednost hrane, kao i na kojim mestima je tu opasnost moguće kontrolisati (značajno smanjiti ili eliminisati). Stoga se HACCP plan fokusira na kritične kontrolne tačke na kojima se najvažnija mikrobiološka, hemijska i/ili fizička kontaminacija hrane sprečava ili u potpunosti ili se bar ne dozvoljava da prekorači nivo koji je utvrđen kao prihvatljiv. Za razvoj HACCP plana neophodno je „učiniti“ pet koraka i pridržavati se sedam principa. Prvi od tih principa je analiza opasnosti (HACCP System and Guidelines for its Application, 2003; General Principles of Food Hygiene, 2003).

Analiza opasnosti / Hazard analysis

Analiza opasnosti uključuje dva glavna elementa: identifikaciju opasnosti i njihovu karakterizaciju (HACCP System and Guidelines for its Application, 2003).

Identifikacija opasnosti. HACCP tim treba da identifikuje i precizno navede sve opasnosti za koje se osnovano očekuje da mogu biti povezane sa proizvodom kao posledica direktne ili indirektne kontaminacije na bilo kojoj tački datog proizvodnog procesa. Prema svojoj prirodi, opasnosti mogu biti biološke, hemijske i fizičke.

Karakterizacija opasnosti. HACCP tim treba da razmotri svaku identifikovanu opasnost da bi odredio koje su opasnosti od posebnog značaja i čija priroda je takva da je njihova eliminacija ili redukcija na prihvatljiv nivo od suštinske važnosti za proizvodnju bezbedne hrane. Pored toga, kad god je moguće, treba uključiti:

- utvrđivanje kategorije rizika od prisustva date opasnosti, kroz ocenu verovatnoće pojave te opasnosti i težine njenih štetnih efekata na zdravlje;
- kvalitativnu i/ili kvantitativnu procenu stvarne prisutnosti datih opasnosti u proizvodu i
- razmatranje:
 - uslova za preživljavanje ili razmnožavanje datih bioloških opasnosti (na primer, patogenih mikroorganizama) u proizvodu;
 - sposobnosti stvaranja i uslova za produkciju toksina od strane datih bioloških opasnosti u proizvodu;
 - izvora i puteva dospevanja identifikovanih hemijskih opasnosti u proizvod;
 - izvora i puteva dospevanja identifikovanih fizičkih opasnosti u proizvod i
 - okolnosti pod kojima dolazi do kontaminacije proizvoda datim opasnostima (Guidance on Regulatory Assessment of HACCP, 1998; HACCP System and Guidelines for its Application, 2003).

Nakon toga, HACCP tim mora da razmotri koje kontrolne mere su raspoložive za eliminaciju ili bar smanjivanje datih opasnosti u proizvodnji, kao i da li, kako i na kom procesnom koraku se te mere mogu primeniti. Pri tome, važno je razumeti da je nekad neophodno primeniti nekoliko kontrolnih mera za kontrolu jedne opasnosti. S druge strane, nekad se više opasnosti može kontrolisati jednom (istom) kontrolnom merom (Guidance on Regulatory Assessment of HACCP, 1998).

Potencijalne biološke opasnosti kod sveže ribe / *Potential biological hazard in fresh fish*

Biološke opasnosti su organizmi ili agensi biološkog porekla čije prisustvo može da uslovi proizvod (hranu) nepodesnom ili opasnom za konzumaciju. Oni su često povezani sa sirovinama od kojih se proizvod priprema. Međutim, biološke opasnosti mogu dospeti u proizvod i u toku procesa njegove obrade i prerade: iz sredine u kojoj se radi sa hranom, iz sastojaka koji se dodaju u proizvod ili od ljudi uključenih u te procese. Biološke opasnosti, kada je u pitanju sveža riba, uključuju: parazite, mikroorganizme (bakterije, viruse) i toksine (Code of Hygienic Practice for Meat, 2005).

Opasnosti vezane za ribu mogu se podeliti u dve grupe. U prvoj grupi su opasnosti koje nastaju pre i u toku ulova ribe, a u drugoj one koje nastaju posle

ulova i u toku obrade ribe. Primeri za ovaj način razvrstanih opasnosti (hazarda) dati su u tabeli 1 (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003).

Tabela 1. *Biološke opasnosti pre, u toku i posle ulova ribe /*
Table 1. Biological hazard before, during and after catching of fish

Opasnosti pre i u toku ulova / <i>Hazards before and during catching</i>		Opasnosti posle ulova i u toku obrade / <i>Hazards after catching and during processing</i>	
Paraziti / <i>Parasites</i>	Paraziti od značaja za javno zdravlje ljudi: Trematode, Nematode, Cestode / <i>Parasites of importance for public health of humans: Trematodae, Nematodae, Cestodae</i>		
Patogene bakterije / <i>Pathogenic bacteria</i>	<i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio vulnificus</i>	Patogene bakterije / <i>Pathogenic bacteria</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Entero virusi / <i>Enteroviruses</i>	<i>Norwalk virus</i>	Entero virusi / <i>Enteroviruses</i>	<i>Hepatitis A</i> , <i>Rotovirus</i>
Biotoksini / <i>Biotoxins</i>	Biotoksini, Scombrotoksin / <i>Biotoxins, Scombrotoksin</i>	Biotoksini / <i>Biotoxins</i>	Scombrotoksin, Staph. enterotoxin, Botulinum toxin

Paraziti / Parasites

Paraziti koji potiču od namirnica, kao i paraziti riba, u sve većoj meri su predmet interesovanja naučnih i stručnih krugova a i potrošača širom sveta. Da je to tako, govori i podatak da je u SAD-u (Orlandi i sar., 2002) do 1990. godine izučavano svega 13 vrsta parazita koji potiču od namirnica i koji mogu da izazovu oboljenja ljudi, da bi se u 2002. godini taj broj povećao na 107 vrsta parazita. Od ovih 107 vrsta njih 69 vezano je za meso riba i za ostale plodove voda. Paraziti riba i plodova voda se često vezuju za određeno geografsko područje što je posledica adaptacije parazita na specifičnog domaćina i posebne uslove sredine (Baltić i sar., 2005). Sve veća potražnja tržišta za mesom ribe dovela je do povećanja proizvodnje ribe u akvakulturi i njenog prometa u svetu. Međutim, izvesno je da je međunarodni promet ribom pomerio barijere vezane za adaptaciju parazita na određenog domaćina i uslove sredine i da prisustvo parazita sve češće ne može se vezati za jedno ograničeno geografsko područje. Povećanje međunarodnog prometa mesa ribe je jedan od činilaca koji povećavaju kontakt potrošača sa parazitima riba. Međunarodna putovanja (poslovna, turistička) kao i migracije stanovništva su takođe jedan od načina povećane izloženosti potrošača parazitima riba. Parazitarne infekcije ljudi sve češće su uslovljene promenama u navikama u potrošnji hrane. To se naročito odnosi na poklonike instiktoterapije koji konzumiraju sirove (sveže) i nekuvane namirnice (Baltić, 1991). Tako se zaobilaze postupci

(toplotna obrada) čiji je cilj smanjenje i preveniranje infekcija ljudi patogenima, a naročito njihovim cističnim oblicima koji dugo preživljavaju u hrani. Za parazitarne infekcije ljudi specifično je i da često ostaju nedijagnostikovane zbog toga što su simptomi bolesti nespecifični. Parazitarne infekcije kod potrošača koji se prvi put susreću sa nekim parazitom (neimunizovani, nesenzibilisani) mogu izazvati ozbiljne zdravstvene smetnje. Takođe su naročito opasne za imunodeficitarne osobe (Orlandi i sar. 2002; Baltić i sar., 1997).

Paraziti koji mogu da izazovu oboljenja ljudi, a prenose se preko ribe, najviše se klasifikuju kao helminti ili parazitski crvi. Pripadaju klasama nematoda, cestoda i trematoda. Riba može da sadrži i protozoe, ali nije zabeleženo da one mogu da se prenesu na ljude. Paraziti imaju kompleksan životni ciklus koji uključuje jednog ili više međudomaćina i uopšteno se može reći da ljudi oboljevaju zbog toga što jedu sirovu ribu, nedovoljno obrađenu ili neadekvatno toplotno obrađenu ribu, gde nije došlo do inaktivacije parazita. Zamrzavanjem pri -20°C i nižim temperaturama za sedam dana ili pri -35°C za oko 24 sati se ubijaju (inaktivišu) paraziti pa se takva riba posle odmrzavanja može praktično jesti sirova. Postupci soljenja i salamurenja mogu umanjiti opasnost od parazita ako su ti postupci dovoljno dugi. Međutim, ovim postupcima se paraziti ne eliminišu, a samim tim ni opasnost po zdravlje ljudi. Metoda prosvetljavanja, u cilju utvrđivanja parazita, kao i uklanjanje potrbušina (muskulature) i fizičko odstranjivanje parazita mogu umanjiti opasnost, ali ne i eliminisati u potpunosti (Deng i sar., 1997; Fayer, 1996; Jackson i sar., 1981).

Nematode / Nematodae

Širom sveta su poznate brojne vrste nematoda kod riba. Za neke vrste nematoda ribe su i sekundarni prelazni domaćin. Najpoznatije među nematodama su: *Anisakis spp.*, *Capillaria spp.*, *Gnathostoma spp.* i *Pseudoteranova spp.* koje se mogu naći u jetri, potrbušinama i mesu morskih riba. Primer oboljenja ljudi uzrokovanog nematodama je anisakijaza, uzrokovana nematodom *Anisakis simplex*, čiji se infektivni oblik inače inaktivise zagrevanjem (60°C za jedan minut) ili zamrzavanjem (-20°C za 24 sata), pod uslovom da se ove temperature postignu u svim delovima ribe (Baltić i sar., 1997; Kaferstein, 2000; Slifko i sar., 2000; Teresa M. Alidiciana i sar., 2008; Weir Erica, 2005).

Cestode / Cestodae

Cestode su pantljičare. Vrsta koja se najčešće vezuje za ribu je *Dibothriocephalus latus*. Ovaj parazit je široko rasprostranjen, a međudomaćin mu može biti i rečna i morska riba. Slično kao i kod ostalih parazitnih oboljenja, oboljenja kod ljudi izazvana cestodama nastaju posle konzumacije sirove ribe, odnosno neprerađene ribe. Kao i kod nematoda, zamrzavanjem, odnosno toplot-

nom obradom, i ovaj parazit se inaktivira (Skerikova i sar., 2006; Muller, 2002; Chai i sar., 2005; Torres i sar., 2004).

Trematode / Trematodae

Trematode (pljosnati crvi) su najčešći uzrok oboljenja ljudi zbog parazita koji se prenose ribom. U svetu su ovo endemije koje se javljaju u oko 20 zemalja. U najznačajnije uzročnike oboljenja ljudi, prema proceni učestalosti oboljenja ubrajaju se rodovi *Clonorchis* i *Ophisthorchis* (metilji jetre), *Paragonimus* (metilj pluća), a takođe i manje česti *Heterophyes* i *Echinochasmus* (metilj creva). Najvažniji krajnji domaćin ovih trematoda je čovek ali i drugi sisari. Rečna riba je sekundarni prelazni domaćin životnog ciklusa rodova *Clonorchis* i *Ophisthorchis*, a rečni rakovi roda *Paragonimus*. Oboljenja ljudi nastaju kao posledica konzumiranja sveže ribe, nedovoljno toplotno obrađene ribe ili neodgovarajućeg drugog načina obrade ribe koja sadrži infektivne oblike ovih parazita. Zamrzavanje ribe pri -20°C za sedam dana ili pri -35°C za 24 sata inaktivira infektivne oblike ovih parazita (Chai, 2005; Hong, 2003; Yeh, 2001).

Bakterije / Bacteria

Nivo konatminacije ribe u vreme ulova zavisi od okoline i bakterioškog statusa vode iz koje se riba izlovljava. Brojni su činioci koji utiču na mikrofloru riba, a najznačajniji su temperatura vode, blizina ribolovnog područja (ribnjaka) naseljenom mestu, količina i kvalitet hrane za ribu, kao i postupak izlova. Jestivo mišićno tkivo ribe je prirodno sterilno u momentu izlova, a bakterije su prisutne na koži, škrgama i u digestivnom traktu. Dve su osnovne grupe bakterija opasne za zdravlje ljudi kojima se može kontaminirati riba od momenta ulova. Jednu čine bakterije koje su prirodno ili indirektno prisutne u vodenoj sredini i označavaju se kao specifična (svojstvena ribi) mikroflora a posledica su kontaminacije vode otpadom. Primer ove grupe bakterija koje mogu da budu zdravstvena opasnost su *Aeromonas hydrophyla*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* i *Listeria monocytogenes*. Bakterije koje nisu specifične (nisu svojstvene ribi) a opasne su za zdravlje ljudi uključuju *Enterobacteriaceae* kao što su to *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, i *Escherichia coli*. Ostale vrste koje mogu da budu opasne za zdravlje ljudi i koje se retko izoluju iz riba su *Edwardsiella tarda*, *Pleisomonas shigelloides* i *Yersinia enterocolitica*. *Staphylococcus aureus* može takođe da se pojavi i može da proizvede termorezistentni toksin (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003; Karbasil i sar., 2005; Dimitrijević, 2007; Karabasil i sar., 2002).

Vibrio vrste se uglavnom susreću u zalivima i priobalju a njihova brojnost zavisi od dubine vode i nivoa plime i oseke. One su češće u toplim vodama i mogu se naći tokom letnjih meseci. *Vibrio* vrste su takođe i prirodni kontaminant u

"bočatnim" vodama u tropskim predelima i mogu se naći u ribama koje se tu gaje u akvakulturi.

Opasnost od *Vibrio spp.* prisutnih u ribi može da se kontroliše toplotnom obradom i preveniranjem unakrsne kontaminacije gotovih proizvoda (proizvoda pripremljenih za jelo). Opasnost po zdravlje ljudi može takođe da se umanjuje brzim hlađenjem posle ulova, što smanjuje mogućnost razmnožavanja ovih bakterija. Neke vrste *Vibrio parahaemolyticus* mogu biti patogene za ljude (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003; Karbasil i sar., 2005).

Specifične patogene bakterije, kada su prisutne u svežoj ribi, često se nalaze u sasvim malom broju i ako je proizvod adekvatno termički obrađen pre upotrebe (jela), opasnost po zdravlje ljudi nije velika. U toku skladištenja (hlađenja ribe) "domaće" bakterije koje izazivaju kvar ribe umnožavaju se brže od "domaćih" patogenih bakterija tako da se riba pokvari pre nego što postane toksična pa je kao takvu (pokvarenu) potrošač odbacuje (ne prihvata). Opasnost od patogenih bakterija može da se kontroliše zadovoljavajućom toplotnom obradom koja uništava bakterije, držanjem riba na niskim temperaturama i sprečavanjem post procesne unakrsne kontaminacije (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003; Karbasil i sar., 2005).

Kontaminacija virusima / Contamination with viruses

Mekušci koji se izlovljavaju u priobalnim područjima koja su kontaminirana humanim ili animalnim fecesom mogu da sadrže viruse patogene za čoveka. Enterični virusi koji mogu da se nađu u plodovima mora, a koji mogu da izazovu oboljenja ljudi su: *Hepatitis A virus*, *calcivirusi*, *astrovirusi* i *Norwalk virus*. Svi oni se prenose fekalno-oralnim ciklusom i najčešće su virusni gastroenteritisi vezani za konzumaciju mekušaca, uglavnom sirovih školjki (Romalde i sar., 2002; Hewitt, 2004; Lopman i sar., 2004).

Uopšteno, virusi su specifična vrsta organizama koja ne raste i ne razmnožava se u hrani ili van ćelije domaćina. Nema pouzdanog načina koji bi ukazao na prisustvo virusa u vodama iz kojih se izlovljavaju mekušci. Njih je teško detektovati jer se primenjuju relativno složene metode za njihovu identifikaciju (Romalde i sar., 2002; Hewitt, 2004).

Učestalost virusnih gastroenteritisa može se smanjiti sprečavanjem zagađenja vode neprečišćenim otpadnim vodama, monitoringom mekušaca i vode u kojoj se gaje pre izlova. Čišćenje (oslobađanje) mekušaca od virusa je alternativna strategija koja zahteva duži vremenski period i taj period je znatno duži nego kada je u pitanju čišćenje od bakterija. Toplotnom obradom (85- 90°C za 1,5 minut) mogu se uništiti virusi u mekušcima (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003; Griffin i sar., 2003).

Biotoksini / Biotoxins

Brojni biotoksini su značajni kada se govori o ribi kao namirnici. Registrovano je oko 400 vrsta otrovnih riba, a supstance koje ih čine toksičnim u ovom slučaju su nazvane biotoksinima. Otrovi su ponekad ograničeni na određeni period u godini. Kod nekih riba toksin je prisutan u krvi i nazvan je ihtiohemotoksin. Otrovnu krv imaju jegulje iz Jadranskog mora, jegulje murine i zmijuljica (pokač). Kod drugih vrsta toksin je raspoređen u različitim tkivima (meso, unutrašnji organi, koža) i uobičajeno se označava kao ihtiosarkotoksin. Neke ribe (murina) imaju otrovan ugriz, otrovne bodlje (morski pauk, škarpina) i otrovnu kožu (čikov). U našim vodama mrena u vreme mresta (maj- avgust) ima otrovnu ikru (otrov termostabilan) (Code of Hygienic Practice for Fish and Fishery Products, 2003; Keiichi i sar., 1998).

Generalno, ovi toksini su najčešće termostabilni i najpouzdanija kontrolna mera koja sprečava ovu opasnost je dobro poznavanje vrsta riba (Keiichi i sar., 1998).

Ciguatoxin / Ciguatoxin

Ciguatoxin je toksin vredan pažnje, jer može da se nađe u različitim vrstama karnivornih riba nastanjenih u plitkim vodama blizu tropskih ili subtropskih koralnih grebena. Izvor ovog toksina su dinoflagelati i preko 400 vrsta tropskih riba mogu biti nosioci ovog toksina. Toksin je termostabilan. O ovom toksinu se još uvek ne zna mnogo i samo kontrolne mere koje uključuje poznavanje vrsta i porekla ribe mogu da spreče da se ove vrste riba nađu u prometu (Pearn, 1997; Keiichi i sar., 1998).

PSD/ DSP/ NSP/ ASP toksini / PSD/DSP/NSP/ASP toxins

Paralitički toksin mekušaca (*paralytic shellfish poison – PSP*), dijareični toksin mekušaca (*diarethic shell fish poison – DSP*), neurotoksični toksin mekušaca (*neurotoxic shell fish poison – NSP*) i amnestični toksin kompleks mekušaca (*amnesic shellfish poison complex – ASP*) su proizvodi fitoplanktona. Nakupljaju se u školjkama koje filtriraju fitoplankton iz vode, a mogu da se koncentrišu kod nekih riba i rakova. Toksini cijanobakterija takođe mogu da uzrokuju trovanje ljudi, a dele se u tri osnovne grupe: hepatotoksini (mikrocistin, cilindrospemospin), neurotoksini (saxitoksin) i endotoksini (lipopolisaharidi). Među ovim toksinima najviše pažnje se posvećuje mikrocistinu zbog njegove hepatotoksičnosti i kancerogenosti. Generalno ovi toksini se ne inaktiviraju zagrevanjem, te je najbolja zaštita zdravlja ljudi – dobro poznavanje vrsta i porekla ribe i plodova voda (Jun Chen i sar., 1997; Megalhaes i sar., 2003; Keiichi i sar., 1998).

Tetrodotoxin / Tetrodotoxin

Ribe iz familije *Tetrarctidae* koje mogu da deponuju ovaj toksin koji je bio uzročnik trovanja, od kojih nekoliko čak i sa letalnim ishodom. Toksin se najčešće nalazi u jetri, ikri i crevima, a ređe u mišićnom tkivu (mesu). Za razliku od ostalih biotoksina vezanih za ribu koji se nakupljaju u živoj ribi i ostalim plodovima voda, alge ne stvaraju ovaj toksin. Mehanizam nastanka ovog toksina nije sasvim razjašnjen, međutim sve češće ima indicija koje uključuju i aktivnosti simbiotskih bakterija (Keiichi i sar., 1998; Lopman i sar., 2004).

Scombrototoxin / Scombrototoxin

Skombroidne intoksikacije, poznate kao i trovanja histaminom, rezultat su konzumiranja ribe koja nije adekvatno ohlađena posle izlova. Enterobakterije se uzimaju kao osnovni inicijatori stvaranja skombrotoksina, jer mogu da pokrenu stvaranje značajne količine histamina i drugih biogenih amina u mesu riba koja nije ohlađena posle ulova. Osnovne kritične vrste su tzv. skombroidne vrste kao što su tuna, skuša, bonito, ali i ostale vrste riba kao što su npr. familije *Clupeidae*. Intoksikacija je retko fatalna i simptomi su umereno izraženi. Brzo hlađenje posle ulova i visoki higijenski standardi u toku obrade ribe sprečavaju stvaranje toksina. Toksin se ne inaktivira uobičajenim postupcima toplotne obrade. Treba naglasiti da riba može da sadrži toksične nivoe histamina, a da pri tom nema ni jednog karakterističnog znaka kvara, uočljivog senzornim analizama (Ozogul i sar., 2002; Dalfgaard, 2006).

Zaključak / Conclusion

U razvoju HACCP plana, u sklopu principa analize opasnosti, za svaku opasnost je neophodno izvršiti ocenu rizika. Glavni cilj je da se stvori jasna slika o tome koje od identifikovanih opasnosti najviše ugrožavaju bezbednost datog proizvoda. U zavisnosti od rezultata, glavni napor i resursi treba da se usmere na što uspešniju prevenciju tih najvažnijih problema, jer oni predstavljaju najveće rizike po bezbednost tog proizvoda. Rizik predstavlja funkciju verovatnoće dešavanja štetnih efekata te opasnosti po zdravlje potrošača i ozbiljnosti/težine tog efekta. Utvrđivanje kategorije svakog rizika je rezultat karakterizacije rizika, pri čemu je - kvantitativno (numerički izražen rizik) i/ili kvalitativno (opisno izražen rizik) - procenjena veličina (kategorija) svakog razmatranog rizika. Na kraju, rizici se mogu međusobno upoređivati (rangirati) na bazi njihovih utvrđenih kategorija, te biti procenjeni kao kategorije rizika koje su neprihvatljivo visoke.

Važno je razumeti da neuspešna analiza opasnosti onemogućava pravilan razvoj drugih principa HACCP, pošto su oni utemeljeni na pouzdanoj analizi opasnosti. Razlozi za nezadovoljavajuću/neuspešnu analizu opasnosti mogu da budu sledeći:

- Nisu svi procesni koraci ili relevantne informacije u vezi sa proizvodnjom razmotreni, često zato što je dijagram toka procesa nekompletan ili netačan;
- Prati se samo opšti model za razvoj HACCP, bez razmatranja specifičnosti subjekta koji se bavi obradom ribe u vezi dobavljača, sirovina, higijenskih procedura ili procesa proizvodnje;
- Nisu razmotrene sve biološke opasnosti ili stanja hrane koja mogu da se pojave u nekom ili svakom procesnom koraku;
- Manje važne opasnosti, odnosno one za koje postoji mala verovatnoća pojavljivanja ili čije su posledice po potrošača relativno male, stavljene su u prvi plan da bi se kontrolisale, dok su značajne opasnosti zanemarene.

Literatura / References

1. Alidiciana TM, Kennedy MW. Anisakis Simplex: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clinical Microbiology* 2008; 21(2): 360-79.
2. Baltić M, Kilibarda N, Teodorović V, Dimitrijević M, Karabasil N. Paraziti riba i zdravlje ljudi. III međunarodna konferencija «Ribarstvo», Zbornik predavanja, Poljoprivredni fakultet, Beograd 2005; 155-60.
3. Baltić M, Teodorović V, 1997, Higijena mesa riba rakova i školjki, Veterinarski fakultet, Beograd 1- 247.
4. Baltić M. Paraziti Anisakis spp. u ribi i njihov higijenski značaj. *Hrana i ishrana* 1991; 32(3): 163-5.
5. Chai J-Y, Murrel KD, Lybery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. *Int J Parasitol* 2005; 35: 1233-54.
6. Chen J, Xie P, Zhang D, Lei H. In situ studies on distributin patterns and dynamics of microcystins in a biomanipulation fish – bighead carp (*Aristichthys nobilis*). *Environmental Pollution* 2007; 147: 150-7.
7. Code of Hygienic Practice for Meat CAC/RCP 2005; 58.
8. Code of Practice for Fish and Fishery Products CAC/ RCP 2005; 52:2.
9. Dalgaard P, Madsen HL, Samieean N, Emborg J. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone belone*) – effects of modified atmosphere packing and previous frozen storage. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 80-95.
10. Deng MQ, Cliver DO, Mariam TW. Immunomagnetic capture PCR to detect viable *Cryptosporidium parvum* oocysts from environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 3134-8.
11. Dimitrijević M. Ispitivanje puteva kontaminacije i preživljavanje različitih sojeva *Listeria monocytogenes* u dimljenom mesu riba. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2007; 1-131.
12. Fayer R, Nerad T. Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 1431-43.
13. Griffin DW, Donaldson KA, Paul JH, Rose JB. Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 129-43.
14. Guidance on Regulatory Assessment of HACCP. FAO/WHO 1998.

15. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System and Guidelines for its Application. Codex Alimentarius Commission; Annex to CAC/RCP 2003; 1-1969: 4.
16. Hewitt J, Greening Gail E. Survival and persistence of norovirus, hepatitis A virus, and feline calicivirus in marinated mussels. *J Food Prot*, ISSN 0362-028X CODEN JFPRDR 2004; 67(8): 1743-50.
17. Hong ST, Miliotis MD, Bier JW. Clonorchis sinensis. *International Handbook of Foodborne Pathogens*. New York: Marcel Dekker 2003; 581-92.
18. Jackson GJ, Bier JW, Payne WL, McClure FD. Recovery of parasitic nematodes from fish by digestion or elution. *Appl Environ Microbiol* 1981; 41: 912-4.
19. Kaferstein FK. Diseases caused by foodborne parasites: The scope of the problem. *Acta Parasitologica* 2000; 45(3): 146.
20. Karabasil N, Ašanin R, Baltić M, Teodorović V, Dimitrijević M. Isolation of motile *Aeromonas* spp. from fish and their cytotoxic effects on vero cells cultures. *Acta Vet* 2002; 52(1): 3-10.
21. Karabasil N, Dimitrijević M, Teodorović V, Kilibarda N. Najčešće bakterijske kontaminacije mesa riba. III međunarodna konferencija "Ribarstvo", Zbornik predavanja. Poljoprivredni fakultet, Beograd 2005; 161-6.
22. Keiichi M, Tyler JC, Paxtron JR, Eschmeyer WN. ed. *Encyclopedia of Fishes*. San Diego: Academic Press. 1998; 230-1.
23. Lopman BA, Vennema H, Kohli E, Pothier P, Sanches A, Negredo A. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004; 363: 682-8.
24. Magalhaes VF, Marinho MM, Domingos P, Oliveira AC, Costa SM, Azavedo LO, Azavedo SMFO. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). *Toxicon* 2003; 42: 289-95.
25. Muller R. *Worms and Human Disease*. Second edition. Wallingford: CABI Publishing 2002.
26. Orlandi PA, Bier JW, Jackson GJ. Parasites and the food supply, *Food technology* 2002; 56(4): 72-81.
27. Ozogul F, Taylor DA, Quantick P, Ozogul Y. Biogenic amines formation in atlantic herring (*Clupea herngus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int J Food Sci Technol* 2002; 37: 515-22.
28. Pearn JH. Chronic Fatigue Syndrome: shronic ciguatera poisoning as a differential diagnosis. *Med J Australia* 1997; 166-9.
29. Recommended International Code of Practice: General Principles of Food Hygiene. Codey Alimentarius Commission; CAC/ RCP 2003; 1-1969: 4.
30. Romalde JL, Area E, Sanches G, Ribao C, Torrado I, Abad X, Pinto RM, Barja JL, Bosch A. Prevalence of enterovirus and hepatitis A virus in bivalve molluscs from Galicia (NW Spain): inadequacy of the EU standards of microbiological quality. *Int J Food Microbiol* 2002; 76(1-2): 169.
31. Skerikova Andrea, Brabec J, Kuchta R, Jiminez JA, Garcia HH, Sholz Z. Is the human -infecting *Diphyllbothrium pacificum* a valid species or just a south american population of the holarctic fish broad tape worm, *D. latum*?. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 75(2): 307-10.
32. Slifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite zoonoses associated with water and food, *Intl J Parasitol* 2000; 12-13: 1379-93.

33. Torres P, Cuevas C, Tang M, Barra M, Franjola R, Navarrete N, Motefusco A, Otth L, Wilson G, Puga S, Figueroa L, Cerda O. Introduced and native fishes as infection foci of *Diphyllbothrium* spp. in humans and dogs from two localities at Lake Panguipulli in Southern Chile. *Comp Parasitol* 2004; 71: 111-7.
34. Weir Erica. Sushi, Nematodes and Alcerbies. *Canadian Medical Association* 2005; 172(3): 1-3.
35. Yeh TC, Lin PR, Chen ER, Shaio MF. Current status of human parasitic infections in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2001; 34: 155-60.

ENGLISH

POTENTIAL BIOLOGICAL HAZARD OF IMPORTANCE FOR HACCP PLANS IN FRESH FISH PROCESSING

M. Ž. Baltić, Nataša Kilibarda, V. Teodorović, Mirjana Dimitrijević, N. Karabasil, Marija Dokmanović

The Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system is scientifically based and focused on problem prevention in order to assure the produced food products are safe to consume. Prerequisite programs such as GMP (Good Manufacturing Practices), GHP (Good Hygienic Practices) are an essential foundation for the development and implementation of successful HACCP plans. One of the preliminary tasks in the development of HACCP plan is to conduct a hazard analysis. The process of conducting a hazard analysis involves two stages. The first is hazard identification and the second stage is the HACCP team decision which potential hazards must be addressed in the HACCP plan. By definition, the HACCP concept covers all types of potential food safety hazards: biological, chemical and physical, whether they are naturally occurring in the food, contributed by the environment or generated by a mistake in the manufacturing process. In raw fish processing, potential significant biological hazards which are reasonably likely to cause illness of humans are parasites (*Trematodae*, *Nematodae*, *Cestodae*), bacteria (*Salmonella*, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*), viruses (*Norwalk virus*, *Enteroviruses*, *Hepatitis A*, *Rotavirus*) and bio-toxins. Upon completion of hazard analysis, any measure(s) that are used to control the hazard(s) should be described.

Key words: HACCP, biological hazards, fish

РУССКИЙ

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОПАСНОСТИ ВАЖНЫ ДЛЯ HACCP ПЛАНЫ В ПРОЦЕССЕ ОБРАБОТКИ СВЕЖЕЙ РЫБЫ

М. Ж. Балтич, Наташа Килибарда, В. Теодорович, Миряна Димитриевич, Н. Карабасил, Мария Докванович

Hazard Analysis and Critical Control Point (*HACCP*) система научно обоснованная система, фокусирующая на превенцию проблем, которые могут появиться в производстве корма и сделать его небезопасным для потребителя. Чтобы *HACCP* система успешно развилась и помачилась, необходимо применить предварительные условные программы, как GMP (Good Manufacturing Practices - Хорошая производственная практика), GHP (Good Manufacturing Practices - гигиеническая практика). Один из прелиминарных шагов при развитии *HACCP* плана анализ опасности, развиваемый в двух стадиях - первая идентификация опасности, а в течение второй оценивается важность идентифицированной опасности и решается будет ли включена в *HACCP* план. По определению, *HACCP* системой охвачены все типы потенциальных опасностей: биологические, физические и химические, что ни было связаны с кормом, или происходят из окрестности или ошибок в течение производственного процесса. В процессе обработки рыбы, возможные значительные биологические опасности, которые могут появиться и вызвать заболевания у людей суть: паразиты (*Trematodae*, *Nemtodae*, *Cestodae*), бактерии (*Salmonella*, *E. coli*, *Vibrio parahemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*), вирусы (*Norvall* вирус, Энтеро вирусы, Гепатит А, Ротавирус) и биотоксины.

Ключевые слова: *HACCP*, биологические случаи, рыба

**SALMONELOZA U ŽIVINARSTVU U SVETLU UVOĐENJA
VAKCINACIJE******SALMONELLOSIS IN POULTRY BREEDING IN VIEW OF
INTRODUCING VACCINATION*****Radmila Resanović, Z. Rašić, B. Kureljušić, Ivana Vučičević****

Sa povećanim zahtevima potrošača za bezbednim žvinskim proizvodima, efikasna kontrola patogenih mikroorganizama koji izazivaju oboljenja kod ljudi, postaje glavni izazov u savremenoj žvinskoj proizvodnji. Žvinsko meso, jaja i proizvodi od njih predstavljaju glavni izvor salmoneloze kod ljudi koja nastaje usled konzumiranja kontaminirane hrane. Bilo koji serotip Salmonella spp. koji nije striktno vezan za domaćina sposoban je da kod ljudi izazove gastrointestinalne poremećaje različitog stepena. Međutim, po navodima Svetske zdravstvene organizacije (WHO) Salmonella enterica serotip enteritidis je vodeći uzročnik salmoneloze kod ljudi tokom prethodnih 10 godina. Jedna od profilaktičkih mera je i pristupanje vakcinaciji živine protiv salmoneloze.

U Srbiji je registrovano nekoliko vakcina protiv salmoneloze kod živine, različitih proizvođača. Da bi ove vakcine ušle u širu primenu u našoj zemlji, neophodno je da proizvođači u primarnoj žvinskoj proizvodnji budu upoznati sa mehanizmima delovanja tih vakcina, efektima koji se postižu njihovom primenom, ekonomskom isplativošću i mogućnošću monitoringa u skladu sa postojećom zakonskom regulativom. Svakako, vakcinaciju ne treba shvatiti kao jedini metod u profilaksi salmoneloze, već kao jedan od veoma važnih metoda u nizu biosigurnosnih i drugih mera koje bi trebalo primenjivati na farmama živine za uspešno suzbijanje salmoneloznih infekcija.

Ključne reči: Salmonella spp., imunitet, vakcinacija, živina

* Rad primljen za štampu 05. 03. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Radmila Resanović, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; dr sci. med. vet. Zoran Rašić, naučni saradnik, Veterinarski specijalistički institut, Jagodina; Branislav Kureljušić, dr vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; mr sci. med. vet. Ivana Vučičević, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Sektor za ruralni razvoj, Beograd

Uvod / Introduction

Sa povećanim zahtevima potrošača za bezbednim živinskim proizvodima, efikasna kontrola patogenih mikroorganizama koji izazivaju oboljenja kod ljudi, postaje glavni izazov u savremenoj živinarskoj proizvodnji. Živinsko meso, jaja i proizvodi od njih predstavljaju glavni izvor salmoneloze kod ljudi koja nastaje usled konzumiranja kontaminirane hrane. Bilo koji serotip *Salmonella spp.* koji nije striktno vezan za domaćina sposoban je da kod ljudi izazove gastrointestinalne poremećaje različitog stepena. Međutim, po navodima Svetske zdravstvene organizacije (WHO) *Salmonella enterica* serotip *enteritidis* je vodeći uzročnik salmoneloze ljudi tokom prethodnih 10 godina (Wray i Wray, 2000).

Izveštaji evropske organizacije (European Food Safety Authority - EFSA) koja prati kretanje salmoneloznih infekcija širom sveta govore u prilog činjenici da naša zemlja nije uključena u sistem izveštavanja koji pokazuje pojavu i kretanje ove bolesti na našoj teritoriji.

Salmoneloza živine je povezana ne samo sa direktnom infekcijom u lancu ishrane već i sa problemom upotrebe antibiotika u živinarstvu, što dovodi do otvaranja novog problema, a to je razvoj i nastanak rezistencije *Salmonella spp.* prema nekim antimikrobnim lekovima.

Živina i svinje su najveći rezervoari salmonela u prirodi i najčešći izvor infekcije za ljude. Ljudi koji su preboleli salmoneloznu infekciju šire salmonelu fecesom i do 3 meseca nakon prestanka kliničkih simptoma bolesti.

Zbog globalnog problema salmoneloze ljudi i rezistencije salmonela, neophodno je da se patogeneza salmoneloznih infekcija kod živine i drugih domaćih životinja u potpunosti razjasni, kao i da se osmisli sistem mera koje će se preduzimati u cilju eradikacije ili barem smanjenja broja inficiranih jata, kako na globalnom tako i na lokalnom nivou.

Salmoneloza živine / *Salmonellosis in poultry*

Salmonella spp. kod živine izazivaju lokalnu ili infekciju sistemskog karaktera, ali mogu izazvati i hroničnu asimptomatsku infekciju. Ove infekcije dovode do značajnih kako direktnih tako i indirektnih ekonomskih gubitaka u industrijskom živinarstvu i predstavljaju opasnost po zdravlje ljudi. U živinarstvu, tifus živine (uzročnik *S. gallinarum*), beli proliv pilića (pullorum disease, uzročnik *S. pullorum*), paratifus (uzročnik *S. enteritidis* i *S. typhimurium*) i arizoonoza (uzročnik *S. arizonae*) i dalje izazivaju ekonomske gubitke u svim delovima sveta sa razvijenom intenzivnom živinarskom proizvodnjom, ali i u područjima gde je čest ekstenzivni način držanja (free range). Pored ekonomskih gubitaka koji su svakako veoma važni u svakoj industriji pa tako i u živinarskoj, veoma veliki i neprocenjivi značaj se pridaje salmoneloznim infekcijama kod živine kao zoonozi, tj. potencijalnom izvoru infekcije za ljude (Zhang-Barber i sar., 1999).

Tokom nekoliko prethodnih decenija, antibiotici u hrani i kompetitivna ekskluzija su bili predominantni načini za kontrolu bolesti. Donošenjem zakonskih regulativa o zabrani upotrebe antibiotika kako u svrhu promotera rasta, tako i iz preventivnih i terapijskih razloga, razvijanje vakcina za zaštitu od virulentnih sojeva patogenih mikroorganizama je zauzelo visoko mesto na lestvici kako istraživačkih tako i proizvodnih institucija koje se bave ovom problematikom (Lillehoj i sar., 2007).

Pored unapređenja zoohigijenskih, tehnoloških uslova i menadžmenta u proizvodnji i rastućih problema sa rezistencijom na antibiotike čija je upotreba ograničena samo u terapijske svrhe i to samo u pojedinim zemljama EU, vakcinacija postaje prihvatljiv metod u primeni mera za sprečavanje pojave i širenja salmoneloze u jatima živine. Godinama unazad inaktivisane vakcine se koriste sa različitim efikasnošću. U poslednjih nekoliko godina broj živih atenuiranih vakcina je sve veći, pojavljuju se nove vakcine i one postaju dostupne na tržištu. Nove vakcine bi trebalo da ispune određene kriterijume kao što su efikasnost, bezbednost i kompatibilnost sa postojećim sistemom monitoringa pre nego što se nađu u svakodnevnoj primeni (Zhang-Barber i sar., 1999).

Da bi se moglo diskutovati o primeni vakcinacije živine protiv salmoneloze moraju se poznavati sve relevantne činjenice koje utiču na pojavu, tok i ishod salmoneloznih infekcija, od karakteristika samog uzročnika, patogeneze, imunskog odgovora domaćina, karakteristika vakcinalnih sojeva salmonela, efekta vakcine na živinu, ljude, okolinu, kao i mnogi drugi relevantni činioci.

O *Salmonella* spp. / About *Salmonella* spp.

Salmonella spp. su gram negativni, fakultativno anaerobni, asporogeni i akapsularni fakultativno intracelularni patogeni iz familije *Enterobacteriaceae*, sa preko 2500 serotipova. Rod *Salmonella* spp. je prema najnovijoj nomenklaturi podeljen na dve vrste (species): *S. enterica* i *S. bongori*. *S. bongori* sadrži 10 serotipova, dok je *S. enterica* podeljena u 6 podvrsta (subspecies): *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* i *indica*. Ovakva podela je napravljena na osnovu njihovih biohemijskih karakteristika. Većina salmonela je genetski veoma slična i serotipovi se uglavnom razlikuju po somatskom O antigenu lipopolisaharidne prirode (LPS - lipopolisaharid) koji je termostabilan i flagelarnim antigenima, proteinske prirode koji su termolabilni. Neki serotipovi su na određenom području godinama predominantni u određenim zemljama (Wray i Wray, 2000; Saif, 2003; Zhang-Barber i sar., 1999).

Patogeneza i imunski odgovor / Pathogenesis and immune response

Patogeneza salmoneloznih infekcija je veoma slična bez obzira na to o kojoj se vrsti salmonela radi. Osnovna strategija virulencije zajednička za sve vrste roda *Salmonella* je da veoma brzo kolonizuju intestinalnu mukozu, invadiraju

laminu propriju mukoze i limfne tvorevine kod ptica (GALT – gut associated lymphoid tissue). Odatle se patogeni raznose putem limfe do limfatičnih tvorevina kod ptica, gde makrofagi kao prva linija odbrane treba da ih spreče u daljem širenju. Ukoliko ovaj mehanizam imunskog sistema domaćina efikasno spreči njihovo dalje širenje infekcija ostaje lokalizovana u samom crevu i GALT-u. Ukoliko lokalna odbrana nije u stanju da infekciju zadrži na nivou digestivnog trakta tj. ako makrofagi ne uspeju da savladaју uzročnika, infekcija se širi dalje, kroz slezinu i jetru, i može nastati sistemska infekcija.

Tokom sistemske infekcije patogeni se šire od GALT-a eferentnim limfnim sudovima do *ductus thoracicus*, a zatim u *vena cava* i sistemsku cirkulaciju. Kapilarni sistem jetre i slezine sa tkivnim makrofagima predstavlja efikasni sistem za eliminaciju *Salmonella*, zbog čega su ovi organi obično uvećani tokom sistemske infekcije. Da li će infekcija biti lokalizovana ili sistemska zavisi prevažno od odbrambenih sposobnosti domaćina, tj. njegovog imunskog statusa i od virulentnosti samog uzročnika, što znači da je infekcija uslovljena obostrano, bakterijskim karakteristikama i karakteristikama samog domaćina, uključujući virulentnost soja salmonele i sposobnost domaćina da pruži adekvatni inflamatorni i imunski odgovor i samim tim uništi patogene.

Gastrointestinalni trakt domaćina je sredina koja ne pogoduje salmonelama. Prva barijera na koju tu nailaze je stepen kiselosti koji vlada u želucu. Pasaža kroz ovako nepristupačnu sredinu je omogućena ekspresijom brojnih gena čiji produkti utiču na pH homeostazu digestivnog trakta. Žučne soli takođe sadrže baktericidne komponente koje se uključuju u odbranu organizma od kolonizacije bakterija u tankim crevima. Zato se smatra da svega 5-10% unetih bakterija uspe da naseli GALT. Ne sme se zaboraviti još jedan od vrlo važnih faktora koji ometaju kolonizaciju *Salmonella spp.* u digestivnom traktu, a to je svakako saprofitska intestinalna flora, uz očuvanu crevnu peristaltiku. Stepene infekcije će svakako zavisiti od virulencije soja *Salmonella spp.*, puta infekcije, urođene i stečene otpornosti (imunskog statusa) domaćina i ambijentalnih faktora.

Zbog sposobnosti izbegavanja odbrambenih mehanizama imunskog sistema domaćina, uključujući otpornost na fagocitne ćelije, komplement, specifična antitela, ćelijski imunitet i možda druge komponente imunskog sistema o kojima se za sada ne zna mnogo, bakterije roda *Salmonella* pripadaju grupi uspešnih patogena.

Odbrambeni mehanizmi domaćina se bore svim raspoloživim sredstvima protiv *Salmonella spp.* – humoralnim, celularnim i lokalnim imunskim odgovorom od strane crevne sluznice, uključivanjem citokina i drugih nespecifičnih mehanizama borbe protiv salmoneloze (Lax i sar., 1995; Wray i Wray, 2000; Withanage i sar., 2005).

Nastanak infekcije zavisi u velikoj meri i od genetske predispozicije i stresnih faktora. Genetski faktori igraju veoma značajnu ulogu kada se razmatra relacija salmonela – potencijalni domaćin. Dokazano je da su hibridi koji se koriste

za proizvodnju konzumnih jaja mnogo osetljiviji na infekciju salmonelama od teških hibrida. Stresni faktori kao što su imunosupresivne virusne infekcije, mitarenje, transport, promena ili nedostatak hrane, mikotoksini u hrani, dovode do supresije imunskog odgovora stvarajući povoljne uslove za infekciju salmonelama (Wray i Wray, 2000).

Vakcine i vakcinacija živine / *Vaccines and vaccination of poultry*

U skladu sa preporukama Evropske komisije za primenu programa mera za suzbijanje salmoneloze, vakcinacija je uvršćena u grupu specifičnih metoda u kontekstu celokupnih mera kontrolnog programa suzbijanja salmoneloznih infekcija kod živine. Vakcine protiv *Salmonella spp.* živine su dizajnirane ranih 90-ih godina XX veka. U programu za kontrolu salmonela u živnarskoj industriji primarni cilj upotrebe vakcina protiv salmonela je porast otpornosti domaćina na *Salmonella spp.*, a sve u cilju prevencije prenošenja salmonela na ljude (*S. enteritidis* i *S. typhimurium*) preko živinskih proizvoda – mesa i jaja. Poslednjih godina znatno raste interesovanje za vakcinaciju protiv salmonela, pogotovo protiv onih serotipova koji su odgovorni za nastanak salmoneloze kod ljudi. U upotrebi su inaktivisane i atenuirane (žive) vakcine i one koje se proizvode hemijskom mutagenezom ili metaboličkom "drift" mutacijom zbog opšte prihvaćenog principa uzajamnog prepoznavanja (Direktiva 2001/82/EC).

Kada se govori o vakcinama i vakcinaciji protiv salmonela pre svega se misli na upotrebu vakcina kod roditeljskih pilića (lakah i teških hibrida) i komercijalnih nosilja. Vakcinacija ćuraka protiv salmonela nije dozvoljena u EU, dok se vakcinacija brojlera sprovodi izuzetno retko. Vakcinacija živine protiv salmoneloze je deo kompleksnog programa kontrole protiv salmonela u živinarstvu i ima za cilj smanjenje kolonizacije salmonela u crevima, smanjeno izlučivanje salmonela putem fecesa i preko ljuske jajeta, kao i smanjenje kolonizacije salmonela u reproduktivnom traktu živine (Wray i Wray, 2000).

Opšte je prihvaćeno mišljenje da žive atenuirane vakcine daju bolju zaštitu od inaktivisanih vakcina, verovatno iz razloga što žive vakcine stimulišu razvoj i celularnog i humoralnog imunskog odgovora. Ali, kao i uvek ne smemo zaboraviti da stepen infekcije kako je to već bilo naglašeno zavisi pre svega od soja salmonele, puta unošenja, infektivne doze, vrste i uzrasta domaćina i svih indirektnih relevantnih faktora. Salmonela iz takvih vakcina ne sme biti prenosiva sa vakcinisanih na nevakcinisane piliće i druge životinjske vrste, mora biti avirulentna za piliće, ljude i druge životinjske vrste (Wray i Wray, 2000; Saif, 2003).

Vakcinacija inaktivisanim ili atenuiranim vakcinama se preporučuje radi smanjenja prijemčivosti živine za infekciju. Vakcinacija živim atenuiranim vakcinama, obično dovodi do stvaranja jačeg i dužeg protektivnog imunskog odgovora kod živine, u odnosu na inaktivisane, verovatno zbog negativnog efekta na antigene tokom pripreme inaktivisane vakcine i zato što žive vakcine perzis-

tentno prezentuju relevantne antigene imunskom sistemu domaćina. Inaktivisane vakcine ne izazivaju potpuni celularni odgovor imunskog sistema domaćina. Ipak, i inaktivisane i atenuirane vakcine doprinose značajnoj zaštiti protiv salmonela, mada ni jedna ni druga vrsta vakcine ne obezbeđuje neprobojnu barijeru protiv infekcije (Saif, 2003).

Svi stresni faktori, uključujući deficitarnu ishranu, nedostatak vode, prekomernu ili nedovoljnu količinu toplote i vlage, amonijak, konkurentne infekcije i mnoge druge faktore mogu da kompromituju efekte vakcinacije. Kao i kompetitivno isključivanje i vakcinacija se koristi kao komponenta sveobuhvatnog programa smanjenja rizika u proizvodnoj praksi.

Idealna vakcina protiv salmoneloze bi morala da ispuni nekoliko zahteva:

- da pruži visok stepen zaštite protiv sistemske i lokalne (intestinalne) infekcije;
- da bude bezbedna za živinu, ljude, druge životinjske vrste i okolinu;
- ne bi smela da ima uticaj na prirast živine;
- treba da dovede do nastanka protektivnog imuniteta na različite serotipove salmonela;
- vakcinalni sojevi salmonela ne bi trebalo da budu rezistentni na antibiotike;
- trebalo bi da bude jednostavna za aplikaciju i identifikaciju;
- ne bi smelo da bude interferencije sa detekcionim metodama salmonela vrsta i
- morala bi da doprinese dobrobiti životinja (dobro zdravlje rezultira dobrobiti životinja).

Mrtve vakcine mogu biti inaktivisane formalinom, acetonom, glutaraldehidom ili toplotom a kao adjuvans se koriste ulje, aluminijum hidroksid ili druge imunostimulativne supstance koje nespecifično stimulišu imunski odgovor. Uopšte, mrtve vakcine dovode do nastanka lošijeg i nekonzistentnog imunskog odgovora (Saif, 2003; Timms i sar., 1999; Gast i sar., 1992).

Uspostavljena je negativna korelacija između virulentnosti vakcine za piliće i dužine ekskrecije salmonela putem fecesa. Invazivniji sojevi podstiču u istoj meri i celularni i humoralni imunski odgovor, jer je kolonizacija u digestivnom traktu znatno brža u odnosu na manje invazivne sojeve (Wray i Wray, 2000).

Obe vakcine, atenuirana i inaktivisana, redukuju procenat kontaminiranih jaja.

Posle vakcinacije neophodno je da prođe više dana da bi se razvio protektivni imunitet. Ovaj odloženi efekat može da se prevaziđe upotrebom živih sojeva. Žive atenuirane vakcine mogu zaštititi od infekcije sasvim mlade i još imuno nekompetentne piliće i piliće koji imaju maternalna antitela, zahvaljujući brzom kolonizaciji u digestivnom traktu koja se ponaša poput mehanizma kompetitivne ekskluzije. Ovo bi moglo da znači da odgovarajući živi atenuirani soj može

da štiti od infekcije prilikom valjenja u toku prvih dana života (Zhang-Barber i sar., 1999; Meenakshi i sar., 1999; Barrow i Lovell, 1991).

Neophodno je da žive atenuirane vakcine perzistiraju u tkivu dosta dugo da bi indukovale protektivni imunski odgovor, ali bi trebalo da budu avirulentne i na kraju izlučene iz organizma vakcinisanih ptica (Barrow i Lovell, 1991; Cooper i sar., 1992).

Oralna vakcinacija nosilja živim avirulentnim sojem Δ *cya Dcrp S. Typhimurium* X3985 indukuje odličnu zaštitu protiv kolonizacije creva, invazije visceralnih organa i kolonizacije reproduktivnog trakta salmonelama. Pored toga, sprečava se kontaminacija jaja, odnosno infekcija pilića salmonelama. Zaštitni imunitet traje 11 meseci posle vakcinacije. Pored toga, vakcinacija *S. Typhimurium* prevenira prodiranje *S. Typhimurium* ili *S. Enteritidis* u jaja bez negativnih efekata na nosivost. Ovo je jedan od prvih dokaza koji ukazuju na to da avirulentne žive vakcine mogu indukovati nastanak dugotrajnog zaštitnog imuniteta kod nosilja (Hassan i Curtiss, 1997).

U eksperimentalnim uslovima ispitane subjedinične vakcine, sastavljene od proteina spoljne membrane salmonela sa adjuvansima ukomponovanim u lipidne imunostimulirajuće komplekse su takođe efikasne u borbi protiv *S. enteritidis* kod pilića. Površinski antigeni *S. enteritidis* igraju značajnu ulogu u interakciji domaćin – patogen i tako predstavljaju potencijalne komponente za razvoj subjediničnih vakcina (Meenakshi i sar., 1999; Ochoa i sar., 2007; Wyszynska i sar., 2004).

Postoji mogućnost upotrebe i rekombinantnih vakcina koje bi mogle predstavljati interesantan prilaz u vakcinaciji ptica, pri čemu je u bakterijama roda *Salmonella* ugrađen gen *Campylobacter jejuni* (*cjaA*), pa tako vakcinisane jedinke stiču zaštitu i protiv *Campylobacter* infekcije. Ovo su vakcine koje se još ne nalaze u komercijalnoj prodaji (Meenakshi i sar., 1999; Ochoa i sar., 2007).

Kao potencijalna mogućnost ističe se i profilaktična aplikacija limfokina poreklom od imunizovanih pilića neimunizovanim pilićima kako bi se zaštitili od infekcije *S. enteritidis*. Ovaj efekat verovatno nastaje kao posledica stimulatornog dejstva limfokina na proces fagocitoze tj. na heterofilne granulocite (McGruder i sar., 1995).

Propisi / Regulations

Propisi EU koji uređuju ovu oblast imaju za cilj da mogućnost javljanja infekcije kod komercijalnih nosilja i roditeljskih jata salmonelama umanje, a samim tim smanje i incidencu zaražavanja ljudi salmonelama. Mnoge zemlje EU su donele i donose i dodatnu, lokalnu, regulativu u oblasti suzbijanja salmoneloznih infekcija u živinarstvu i smanjenja ekonomskih šteta, proizvodnje bezbednije hrane i dobrobiti životinja.

Evropska komisija je usvojila mnoge regulative koje imaju za cilj kontrolu salmoneloznih infekcija kod živine i proizvodnju jaja slobodnih od salmonele. EU je još 1992. godine donela Direktivu EC/92/117 sa ciljem minimiziranja salmoneloznih infekcija kod nosilja i roditeljskih jata. Nakon ove regulative iz 1992. godine sledi donošenje niza regulativa i direktiva od strane EU koje se odnose na higijenu hrane, kontrolu proizvoda životinjskog porekla, kontrolu zoonoza, monitoring salmoneloznih infekcija itd., a sve u cilju smanjenja rizika od salmoneloznih infekcija životinja i ljudi.

Zaključak / Conclusion

U Srbiji je registrovano nekoliko vakcina protiv salmoneloze živine, različitih proizvođača. Da bi ove vakcine ušle u širu primenu u našoj zemlji, neophodno je da proizvođači u primarnoj živinarskoj proizvodnji budu upoznati sa mehanizmima delovanja tih vakcina, efektima koji se postižu njihovom primenom, ekonomskom isplativošću i mogućnošću monitoringa u skladu sa postojećom zakonskom regulativom. Svakako, vakcinaciju ne treba shvatiti kao jedini metod u profilaksi salmoneloze, već kao jedan od veoma važnih metoda u nizu biosigurnosnih i drugih mera koje bi trebalo primenjivati na farmama živine za uspešno suzbijanje salmoneloznih infekcija.

Za razumevanje mehanizama imunskog odgovora protiv *Salmonella* spp. potrebno je još mnogo istraživanja na polju razvoja vakcina i bakterijskih imunogena, jer su naša saznanja u ovoj oblasti još uvek nedovoljna. Na osnovu dosadašnjih naučnih iskustava i onih iz dugogodišnje prakse, primena ovih vakcina se svakako mora uklopiti u sistem kontrole i prevencije salmoneloze živine.

Primena atenuiranih ili inaktivisanih vakcina u našim uslovima dala bi značajan doprinos suzbijanju salmoneloznih infekcija živine. S obzirom na to da su u našoj zemlji registrovane i atenuirane i inaktivisane vakcine, primenjivati jednu ili drugu, ili eventualno kombinovati primenu obe vakcine, pitanje je koje traži poznavanje kompletne situacije na jednoj farmi i širem epizootiološkom području.

Imajući u vidu da žive atenuirane vakcine stimulišu nastanak protektivnog imuniteta slično kao i kod prirodne infekcije, zatim da na osnovu preporuka proizvođača i eksperimentalnih istraživanja nema rizika od širenja vakcinalnog soja na nevakcinisano jato, kao i da je vakcinalni soj genetski stabilan i nema rizika od reverzije virulencije, možda bi prednost trebalo dati upravo ovim vakcinama. No, ovo važi samo za farme koje se strogo pridržavaju biosigurnosnih, zoohigijenskih i zootehnoloških normativa za dati vid proizvodnje i datu provenijenciju, uz veoma dobar menadžment. U suprotnom kombinacija žive atenuirane i mrtve inaktivisane vakcine bi svakako bila model za vakcinalni program protiv salmoneloze.

Živa atenuirana vakcina se aplikuje parenteralno i štiti od pojave sistemskog oboljenja protiv domaćin specifičnih serotipova. Idealni put aplikacije vakcine je oralni put preko vode za piće ili sprejom, dok parenteralna aplikacija obezbeđuje maksimum zaštite. Vakcina mora biti avirulentna za piliće.

Pored toga, vakcinacija bi takođe morala biti usklađena sa odgovarajućim programom monitoringa salmoneloze koji je baziran na bakteriološkim i serološkim ispitivanjima. Pre svega, postavlja se pitanje kako razlikovati infektivni titar od vakcinalnog titra. Trebalo bi koristiti vakcine koje omogućavaju razlikovanje vakcinalnog od infektivnog titra i na taj način eliminisati probleme vezane za kasniju serološku dijagnostiku salmoneloze. Kako ovo nije uvek moguće potrebna je i neophodna promena nacionalne zakonske regulative u ovoj oblasti, a to je usklađivanje programa monitoringa sa postojećim programom vakcinacije na datom epizootiološkom području.

Upotreba vakcina protiv salmonele mora interferirati sa:

- Metodama dijagnostikovanja
- Drugim kontrolnim merama

PCR metoda je svakako metoda izbora za diferenciranje vakcinalnog od terenskog soja, jer daje obilje informacija o genomu salmonele.

Inaktivisane vakcine ne interferiraju sa bakteriološkim aspektom kontrole salmonela.

Produkcija cirkulišućih antitela nakon aplikovanja žive atenuirane vakcine može da interferira sa rezultatima seroloških ispitivanja. Za sada se na tržištu uglavnom nalaze tipovi inaktivisanih vakcina koji dovode do stimulacije produkcije cirkulišućih i salmonela specifičnih IgG antitela koji u potpunosti interferiraju sa dosadašnjim serološkim metodama dijagnostike. Do sada nije napravljen serološki test sistem sposoban da razlikuje titar antitela indukovan vakcinom protiv salmonela i titar antitela indukovan infekcijom. Takođe, treba napomenuti da živina vakcinisana protiv *S. enteritidis* pri kontroli aglutinacionim testom na *S. gallinarum/pullorum* može dati lažno pozitivnu reakciju.

Strategija vakcinacije živim sojevima *S. gallinarum* (nema flagela) kombinovana sa serološkim metodama baziranim na flagelarnom proteinu omogućava diferencijaciju između vakcinisanih i inficiranih jata. Za druge žive vakcine ovaj pristup ne može biti primenjen.

Korist od primene vakcinacije kao dela kontrolnog programa suzbijanja salmoneloznih infekcija živine zavisi od: cilja kontrolnog programa (redukcija ili eradikacija), tipa živine, faze proizvodnje, učestalosti pojavljivanja *Salmonella* spp. na određenom području, detekcionih metoda i opšteg cost benefita.

Literatura / References

1. Barrow PA, Lovell MA. Experimental infection of egg laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *Avian Pathol* 1991; 20: 335-48.
2. Cooper GL, Venables LM, Nicholas RAJ, Cullen GA, Hormaeche CE. Vaccination of chickens with chicken-derived *Salmonella enteritidis* phage type 4 aro A live oral salmonella vaccines. *Vaccine* 1992; 10: 247-54.
3. Gast RK, Stone HD, Holt PS, Beard CW. Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterin for protecting chickens against *Salmonella enteritidis*. *Avian Dis* 1992; 36: 992-9.
4. Hassan JO, Curtiss R. Efficacy of a live avirulent *Salmonella typhimurium* vaccine in preventing colonization and invasion of laying hens by *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis*. *Avian Dis* 1997; 41 (4): 783-91.
5. Lax AJ, Barrow PA, Jones PW, Wallis TS. Current perspectives in salmonellosis. *Br Vet J* 1995; 151: 351.
6. Lillehoj HS, Kim CH, Keeler CLJr, Zhang S. Immunogenomic approaches to study host immunity to enteric pathogens. *Poult Sci* 2007; 86(7): 1491-500.
7. McGruder ED, Kogut MH, Corrier DE, DeLoach JR, Hargis BM. Comparison of prophylactic and therapeutic efficacy of *Salmonella enteritidis*-immune lymphokines against *Salmonella enteritidis* organ invasion in neonatal leghorn chicks. *Avian Dis* 1995; 39: 21-7.
8. Meenakshi M, Bakshi CS, Butchaiah G, Bansal MP, Siddiqui MZ, Singh VP. Adjuvanted outer membrane protein vaccine protects poultry against infection with *Salmonella enteritidis*. *Vet Res Commun* 1999; 23: 81-90.
9. Ochoa J, Irache JM, Tamayo I, Walz A, DeVecchio VG, Gamazo C. Protective immunity of biodegradable nanoparticle-based vaccine against an experimental challenge with *Salmonella enteritidis* in mice. *Vaccine* 2007; 25(22): 4410-9.
10. Saif MJ. Diseases of poultry. 11th Edition, Iowa State Press, 2003.
11. Timms LM, Marshall RN, Breslin MF. Laboratory assessment of protection given by an experimental *Salmonella enteritidis* PT4 inactivated, adjuvant vaccine. *Vet Rec* 1990; 127: 611-4.
12. Withanage GSK, Wigley P, Kaiser P, Mastroeni P, Brooks H, Powers C, Beal R, Barrow P, Maskell D, McConnell I. Cytokine and chemokine responses associated with clearance of a primary *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection in the chicken and in protective immunity to rechallenge. *Infect Immun* 2005; 73(8): 5173-82.
13. Wray C, Wray A. *Salmonella* in domestic animals. CABI Publishing, 2000.
14. Wyszynska A, Raczko A, Lis M, Krynicka EKJ. Oral immunization of chickens with avirulent *Salmonella* vaccine strain carrying C. Jejuni 72Dz/92 cjaA gene elicits specific humoral immune response associated with protection against challenge with wild-type *Campylobacter*. *Vaccine* 2004; 22: 1379-89.
15. Zhang-Barber L, Turner AK, Barrows PA. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine* 1999; 17: 2538-45.

ENGLISH

**SALMONELLOSIS IN POULTRY BREEDING IN VIEW OF INTRODUCING
VACCINATION**

Radmila Resanović, Z. Rašić, B. Kureljušić, Ivana Vučićević

With the increased demand of consumers for safe poultry products, efficient control of pathogenic microorganisms that cause diseases in humans is becoming the chief challenge in contemporary poultry production. Poultry meat, eggs and related products present the main source of salmonellosis in humans that occurs as a result of the consumption of contaminated food. Any serotype of *Salmonella spp.* that is not strictly linked to the host is capable of causing gastrointestinal disorders of various degrees in humans. However, according to the World Health Organization (WHO), *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* has been the leading cause of salmonellosis in humans over the past 10 years. One of the available prophylactic measures is resorting to the vaccination of poultry against salmonellosis.

Several vaccines against poultry salmonellosis, produced by different manufacturers, have been registered in Serbia. In order for these vaccines to become widely used in our country, it is necessary that the factors in primary poultry production are acquainted with the mechanisms of action of these vaccines, the effects achieved by their implementation, the economic feasibility, and the possibilities for monitoring in keeping with the valid legal regulations. Certainly, vaccination should not be taken as the only method in the prophylaxis of salmonellosis, but as one of the very important methods in a series of biosafety and other measures that should be applied on poultry farms for the successful curbing of salmonellosis infections.

Key words: *Salmonella spp.*, immunity, vaccination, poultry

РУССКИЙ

САЛЬМОНЕЛЛЁЗ В ПТИЦЕВОДСТВЕ В СВЕТЕ ВВЕДЕНИЯ ВАКЦИНАЦИИ

Радмила Ресанович, З. Рашич, Б. Курелюшич, Ивана Вучичевич

С увеличенными требованиями потребителей для безопасных продуктов домашних птиц эффективный контроль патогенных микроорганизмов, вызывающие заболевания у людей, становится главным вызов в современном животноводческом производстве. Мясо домашних птиц, яйца и продукты из них представляют собой главный источник для сальмонеллёза людей, становящийся вследствие потребления контаминированного корма. Какой-либо серотип *Salmonella spp.*, который не пунктуально связан для хозяина способный у людей вызвать гастроинтестинальные расстройства различной степени. Между тем по доводам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) *Salmonella enterica* серотип *enteritidis* ведущий возбудитель сальмонеллёза людей в течение предыдущих 10 лет. Одна из профилактических мер вступление вакцинации домашних птиц против сальмонеллёза.

В Сербии зарегистрировано несколько вакцин против сальмонеллёза домашних птиц, различных производителей. Чтобы эти вакцины вошли в более

широкое применение в нашей стране, необходимо, что производители в первичном птицеводческом производстве будут ознакомлены с механизмами действия этих вакцин, эффектами, достигаемые их применением, экономической окупаемостью и возможностью мониторинга в соответствии с сущей законной регулятивой. Всячески, вакцинацию не надо понять как единственный метод в профилактике сальмонеллёза, но как один из очень важных методов в ряде биопредохранительных и других мер, которые было надо применять на фермах домашних птиц для успешного преодоления сальмонеллёзных инфекций.

Ключевые слова: *Salmonella spp.*, иммунитет, вакцинация, домашняя птица

**OBOGAĆIVANJE USLOVA ŽIVOTA ZA DOMAĆE ŽIVOTINJE
NA FARMAMA, ŽIVOTINJE U ZOOLOŠKIM VRTOVIMA,
KUĆNE LJUBIMCE I OGLEDNE ŽIVOTINJE***
*ENVIRONMENTAL ENRICHMENT IN FARM, ZOO, COMPANION
AND EXPERIMENTAL ANIMALS*

Marijana Vučinić**

U radu je iznet značaj obogaćivanja uslova života za domaće životinje na farmama, životinje u zooškim vrtovima, kućne ljubimce i ogledne životinje. Data je definicija obogaćivanja uslova života i opisane su različite strategije ovog zahvata. Obogaćivanje uslova života predstavlja jednostavan i efikasan način sprečavanja dosade i poremećaja ponašanja kao i efikasnu meru poboljšanja dobrobiti životinja. Za obogaćivanje uslova života mogu se koristiti različiti predmeti i materijali. Njihova upotreba zahteva poznavanje bioloških karakteristika vrste životinja kod kojih se primenjuje obogaćivanje uslova života, poznavanje njihovih potreba, staništa i sposobnosti, vrste predmeta i materijala koji će se koristiti u programu obogaćivanja uslova života, sveshodnost primene određenih predmeta i materijala u procesu obogaćivanja sa aspekta sposobnosti da motivišu, odnosno stimulišu životinje na ispoljavanje prirodnih oblika ponašanja i stepen njihove pouzdanosti i sigurnosti, odnosno potencijalni rizik primene određenih predmeta i materijala za životinje. Programi modifikacije uslova života obično obuhvataju dva oblika obogaćivanja, a to su strukturno i bihevioralno obogaćivanje. Obogaćivanje uslova života poseduje mnoge oblike kao što su fizičko, senzorno (auditorno i olfaktorno), hranidbeno, manipulativno i socijalno obogaćivanje uslova života.

Ključne reči: uslovi života, obogaćivanje, životinje, zatočeništvo

* Rad primljen za štampu 08. 06. 2009. godine

** Dr sci. med. vet. Marijana Vučinić, profesor, Katedra za zoohigijenu, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Uvod / Introduction

Domaće životinje smeštene u zatvorenim objektima, odnosno intenzivnim, farmskim sistemima iskorišćavanja, životinje u zoološkim vrtovima, kućni ljubimci i ogledne životinje sklone su poremećajima u ponašanju usled nemogućnosti zadovoljavanja nagona ispoljavanjem prirodnih oblika ponašanja. Geneza nastanka ovih poremećaja leži u visokoj motivisanosti na ispoljavanje urođenih oblika ponašanja, sa jedne strane, i ograničene slobode kretanja i nedostatka bihevioralnog materijala za zadovoljavanje osnovnih životnih potreba (hrana, mesto za odmor, prostirka, kompatibilna socijalna grupa, supstrat za istraživanje i sl.), sa druge strane. Ovakvi uslovi dovode životinje u stanje dugotrajne frustracije, čije su posledice poremećaji ponašanja (Vučinić, 2008a; 2008b). Postoje različiti načini tretmana poremećaja ponašanja, a to su: promene načina života, bihevioralna modifikacija, medikamentozna terapija i obogaćivanje uslova života. Pored toga što predstavlja efikasan korektivan i terapijski zahvat pri ispoljavanju poremećaja ponašanja, obogaćivanje smeštajnih uslova ili uslova života kod životinja čija je sloboda kretanja ograničena i kontrolisana, predstavlja i najbolju meru sprečavanja nastanka bihevioralnih anomalija jer prevenira i dosadu – emocionalno stanje prisutno u nestimulativnom životnom okruženju (Wemelsfelder, 2005).

Ovaj rad objašnjava značaj i ciljeve obogaćivanja uslova života, daje klasifikaciju najčešćih oblika obogaćivanja i način procene rizika od obogaćivanja uslova života za dobrobit životinja.

Definicija obogaćivanja uslova života /

Definition of environmental enrichment

Pod obogaćivanjem uslova života za životinje o kojima brine čovek (domaće životinje, kućni ljubimci, divlje životinje u zatočeništvu, ogledne životinje) podrazumeva se obezbeđivanje ključnih stimulusa, koji pokreću ispoljavanje urođenih, po rangu prioriteta bitnih oblika ponašanja životinja, na čije su ispoljavanje životinje uvek visoko motivisane (Jodie i sar., 2005; Swaisgood, 2007), a koji se ne mogu ispoljiti u nestimulativnim uslovima života u zatvorenim objektima za smeštaj životinja. Nemogućnost njihovog ispoljavanja zove se bihevioralni deficit i ako je veći od 15% ukupnog bihevioralnog repertoara, postaje uzrok patoloških oblika ponašanja životinja, koji narušavaju ne samo dobrobit životinja kod kojih su se ispoljili, već i drugih životinja i čoveka, vlasnika, radnika, odgajivača i drugih osoba koje dolaze ili mogu doći u kontakt sa životinjama (Vučinić, 2008a; 2008b). Nagoni kod životinja su genetski determinisani i motivacija da se ispolje oblici ponašanja kojima se zadovoljavaju ovi nagoni ne može da se suzbije. Zato je čovek dužan da životinjama o kojima brine omogući takve smeštajne uslove u kojima će moći da ispolje oblike ponašanja kojima zadovoljavaju nagone. U suprotnom, kod visoko motivisanih životinja na zadovoljavanje određenih nagona, ispo-

ljavanjem odgovarajućih oblika ponašanja, razvije se frustracije, koje su jedan od uzroka nastanka patoloških oblika ponašanja. Zato obogaćivanje uslova života znači omogućavanje životinjama da ispolje prirodne oblike ponašanja od značaja za njihov emocionalni status, fizičko i mentalno zdravlje, a time i za njihovu dobrobit (Tarou i Bashaw, 2007).

Ciljevi obogaćivanja uslova života /

Objectives of environmental enrichment

Obogaćivanje smestajnog prostora ima više ciljeva, a to su:

- povećanje mogućnosti ispoljavanja fizioloških oblika ponašanja,
- davanje više mogućnosti životinjama za ispoljavanje visokoprioritetnih oblika ponašanja karakterističnih za vrstu,
- preveniranje nastanka i ispoljavanja patoloških oblika ponašanja u tipu kompulsivnih poremećaja kao što su oralne, lokomotorne, vokalne, halucinozene stereotipije i stereotipije u tipu patoloških higijenskih oblika ponašanja,
- podsticanje životinja na korišćenje većeg dela ili čak cele površine smestajnog prostora,
- podsticanje životinja na istraživačke oblike ponašanja i savlađivanje bihevioralnih strategija upoznavanja sa novim i nepoznatim okolnostima i
- emocionalna stabilizacija i relaksacija životinja.

Osnovni cilj obogaćivanja uslova života je stimulisanje životinje na ispoljavanje urođenih oblika ponašanja, na sticanje novih veština i na potiskivanje osećaja dosade u nestimulativnom životnom okruženju (Jodie i sar., 2005).

Pre nego što se pristupi obogaćivanju uslova života za životinje o kojima čovek brine u smestajnim sistemima u kojima im je ograničena sloboda kretanja, potrebno je razmotriti:

- da li planirani program obogaćivanja uslova života predstavlja rizik za životinje ili ljude koji privremeno ili stalno borave u istom prostoru u kojem borave i životinje,
- koje su koristi za životinju od obogaćivanja uslova života i
- da li je sam plan i proces obogaćivanja uslova života jednostavan ili komplikovan za sprovođenje.

Oblici obogaćivanja uslova života /

Forms of environmental enrichment

Postoje dva osnovna oblika obogaćivanja uslova života. To su:

- obogaćivanje smestajnog prostora i
- bihevioralno obogaćivanje, odnosno obogaćivanje oblika ponašanja.

Pod obogaćivanjem smeštajnog prostora podrazumeva se umetanje predmeta, materijala i stimulusa abiotičke ili biotičke prirode, koji podstiču životinju na ispoljavanje fizioloških oblika ponašanja karakterističnih za vrstu na prirodnim staništima i racionalnije iskorišćavanje smeštajnog prostora u odnosu na njegove horizontalne i vertikalne dimenzije. Sam proces obogaćivanja smeštajnog prostora je kompleksne prirode i sastoji se od sledećih elemenata: definisanja cilja koji se želi postići obogaćivanjem, planiranja, sprovođenja samog obogaćivanja, praćenja posledica obogaćivanja, ocenjivanja posledica obogaćivanja, odnosno ocenjivanja postignutog cilja i preporuka za dalje unapređenje smeštajnih uslova (Mellen i MacPhee, 2001).

Pod bihevioralnim obogaćivanjem uslova života, odnosno obogaćivanjem oblika ponašanja, podrazumeva se umetanje u životni prostor takvih predmeta koji životinje pokreću na istraživačke oblike ponašanja, razmišljanje, sticanje novih saznanja, savlađivanje i ispoljavanje novih veština, odnosno stečenih oblika ponašanja (Meehan i Mench, 2007; Puppe i sar., 2007; Manteuffel i sar., 2009; Mendl i sar., 2009). Postiže se sprovođenjem instrumentalnog (operantnog) procesa učenja nagrađivanjem (Manteuffel i sar., 2009). Životinji se omogućava da ispituje predmete umetnute u životni prostor, da njima manipuliše i uspostavlja takav način kontrole nad njima koji joj obezbeđuju direktan kontakt sa određenim supstratom, odnosno materijalom od vitalnog značaja ili koji kod životinje dovodi do osećaja prijetnosti i zadovoljstva (Matheson i sar., 2008), a kontakt sa takvim materijalom životinja shvata kao nagradu. Zato je životinja motivisana da što pre i što bolje savlada redosled aktivnosti koji joj omogućava da dođe u kontakt sa takvim materijalom (Meehan i Mench, 2007). Podjednako dobro se primenjuje kod svih upotrebnih kategorija životinja, kako kod životinja u zooškim vrtovima, tako i kod domaćih životinja na farmama. (Carlstead i Shepherdson, 2000; Dudink i sar., 2006). Posebnu korist predstavlja operantno učenje životinja na tretman medikamentima i određene zootehničke zahvate, čime se izbegavaju grubo postupci hvatanja i obuzdavanja životinja.

Obogaćivanje uslova života može se klasifikovati i na sledeći način:

1. *Fizičko obogaćivanje* – podrazumeva umetanje različitih materijala i predmeta u smeštajni prostor životinja kao što su bazeni ili posude sa vodom za kupanje i hlađenje životinja, blato za kaljužanje, ljuljaške, penjalice, grebalice, kotrljaljke, glodalice (Jordan i sar., 2004), materijal za riškanje, prostirka (Tuytens, 2005), pesak za čišćenje perja ptica, tuševi i prskalice za hlađenje, četke za češanje i slično.

2. *Senzorno obogaćivanje* – podrazumeva umetanje u životni prostor različitih olfaktornih (sintetski analozi umirujućih feromona koji emocionalno stabilizuju i relaksiraju životinje, biljna ulja koja takođe deluju umirujuće i relaksirajuće na životinje, začinsko bilje čiji mirisi emocionalno stabilizuju i relaksiraju životinje i sl. (Vučinić, 2007a; 2007b), auditornih (ambijentalni audio snimci, audio snimci oglašavanja jedinki iste vrste ili relaksirajuća pozadinska muzika), taktilnih (npr. četke ili panjevi za češanje kojima životinje same prilaze), vizuelnih stimulusa

(uzdignute platforme za posmatranje, ogledalo koje kod životinja stvara osećaj prisustva jedinke iste vrste) i ukusa (dodaci hrani koji poboljšavaju ukus i miris, sirupi i sl.).

3. *Manipulativno obogaćivanje* – podrazumeva umetanje predmeta u smeštajni prostor koji životinje stimulišu na istraživačke oblike ponašanja i savladavanje novih veština (materijal za riškanje, materijal ili predmeti za glodanje, žvakanje, komadanje, čeprkanje, nepoznati predmeti kojima životinja manipuliše na različite načine i otkriva njihovu svrsishodnost).

4. *Hranidbeno obogaćivanje* – podrazumeva primenu takvih režima ishrane koji maksimalno stimulišu životinje na ispoljavanje sve tri faze ovog oblika ponašanja, a to su apetitivna faza (istraživačka faza), konzumatorna (izvršna faza) i faza smirivanja (završna faza). Pri ovoj vrsti obogaćivanja životinja se motiviše na pronalaženje izvora hrane korišćenjem svih svojih veština, a može se primeniti i nasumični način ishrane, kada se životinja hrani u različitim periodima dana ili se hrani iz takozvanih "puzzle" hranilica.

5. *Socijalno obogaćivanje* – podrazumeva mogućnost ostvarivanja direktnog socijalnog kontakta sa životinjama iste vrste ili životinjama kompatibilnih vrsta.

6. *Operantno kondicioniranje* – podrazumeva učenje životinje kako da stupi u interakciju sa svojim odgajivačima, hraniocima, zootehničkim radnicima, veterinarima i drugim osobljem ili na kraju i sa samim vlasnicima i to korišćenjem metoda nagrađivanja u cilju motivisanja na saradnju pri izvođenju zootehničkih zahvata ili manjih kliničkih ispitivanja, odnosno pregleda i tretmana.

Da bi se postiglo efikasno obogaćivanje uslova života neophodno je poznavati biološke i bihevioralne osobine životinjske vrste u čijem se smeštajnom prostoru sprovodi obogaćivanje.

Procena rizika pri obogaćivanju uslova života /

Risk assessment in environmental enrichment

Pre nego što se sprovede postupak obogaćivanja smeštajnog prostora neophodno je proceniti da li postoji rizik od samog načina obogaćivanja i to razmatranjem sledećih činilaca (Baer, 1998): 1) Da li predmeti za strukturno obogaćivanje mogu da ometaju slobodu kretanja životinje ili mogu da "zarobe" životinju? 2) Da li predmeti za obogaćivanje mogu da ozlede ili čak i da ubiju životinju? 3) Na koji način životinje mogu da se povrede u kontaktu sa predmetima i materijalom za obogaćivanje uslova života? 4) Da li životinja može da padne sa predmeta koji se koriste za strukturno obogaćivanje smeštajnih uslova? 5) Da li životinja može da pojede materijal ili delove materijala za obogaćivanje i da li to predstavlja opasnost po zdravlje? 6) Da li su materijali koji se koriste u procesu obogaćivanja smeštajnog prostora toksični za životinje? 7) Da li predmeti i materijali za obogaćivanje mogu da prouzrokuju gušenje, odnosno davljenje životinja? 8) Mogu li, ukoliko su progutani, da prouzrokuju začepljenje jednjaka ili creva? 9)

Da li predmeti za obogaćivanje mogu da izdrže ako se životinja na njih popne, odnosno da li pretil opasnost od njihovog lomljenja i deformisanja? 10) Da li su pri sprovođenju socijalnog obogaćivanja pojedine životinje ugrožene dovođenjem u podređeni položaj u hijerarhijskom statusu ili pretil opasnost od povređivanja pri uspostavljanju hijerarhijskog poretka? 11) Da li hranidbeno obogaćivanje može da prouzrokuje nepravilnosti u ishrani da dovede do mršavljenja ili gojenja životinja? 12) Da li je pri obogaćivanju smeštajnog prostora životinjama ostavljeno dovoljno prostora da izbegnu opasnosti?; 13) Da li će životinje lako da se prilagode na nove predmete i materijale i da li postoji mogućnost da način obogaćivanja kod njih prouzrokuje patološke oblike ponašanja kao što je agresivnost? 14) Da li postoji opasnost od manifestacija alergijskih reakcija na nove predmete i materijale koji se koriste u programu obogaćivanja? 15) Da li će obogaćivanje uslova života, u periodu prilagođavanja prouzrokovati stres kod životinja? 16) Da li će obogaćivanje prouzrokovati hiperaktivnost životinja i sprečiti ih da iskoriste vreme za odmor predviđeno fiziološkim bihevioralnim repertoarom, odnosno diurnalnim i cirkadijalnim ritmom?

Nepravilno hranidbeno obogaćivanje može da prouzrokuje gojaznost kod životinja, oštećenje zuba ili pothranjenost. Nova hraniva kod ungulate mogu biti uzrok kolika, rumenitisa ili metaboličke acidoze. Ako se za obogaćivanje smeštajnog prostora koriste biljke, tada se mora voditi računa da ne budu toksične već svrsishodne, odnosno da posluže za ishranu bršćenjem, za skrivanje životinje od direktne sunčeve svetlosti ili očiju posetilaca ili za penjanje. Ako su sadnice namenjene bršćenju, tada se ne smeju tretirati herbicidima i veštačkim đubrivima. Sa njih se mora uklanjati feces životinja i treba da se spreči sletanje ptica. Pri socijalnom obogaćivanju uslova života i grupnoj ishrani ili napasanju potrebno je voditi računa o mogućnosti pojave agresivnosti i međusobnog povređivanja životinja. Ako se u procesu hranidbenog obogaćivanja u ishrani omnivora i karnivora koriste trupla zaklanih ili uginulih životinja, tada se u ishrani ne smeju koristiti životinje eutanazirane hemijskim sredstvima kao ni životinje čiji je uzrok uginuća nepoznat. Ako se u ishrani grabljivica u zooškim vrtovima koriste žive životinje, koje mogu da se brane, tada mogu da se tolerišu samo superfcijalne povrede koje životinje, koje oponašaju plen nanose grabljivicama pri odbrani. Za pojedine vrste životinja određeni začini mogu biti vrlo toksični, i pri korišćenju u ishrani kao aditivi za korekciju ukusa i mirisa hrane i pri korišćenju za olfaktorno obogaćivanje smeštajnog prostora.

Pri strukturnom obogaćivanju uslova života, predmeti koji se koriste, mogu dovesti do oštećenja rogova, papaka, kopita i šapa životinja, o čemu treba posebno voditi računa. Ako se predmeti za strukturno obogaćivanje ne postave ili ne fiksiraju pravilno, mogu da padnu na životinje i da ih povrede ili čak i ubiju. Pored toga, ako nisu pravilno raspoređeni, mogu ometati ulaženje životinje u prostor za skrivanje. Ako se u postupku obogaćivanja uslova života koriste izvori vode, kao što su bazeni, kontejneri sa vodom, akvarijumi, kaljuge sa blatom ili drugi slični izvori, tada se mora voditi računa da ne pretil opasnost od davljenja živ-

otinja. Pored toga, takav materijal se mora održavati higijenski ispravnim kako ne bi postao izvor zaraznih i infektivnih bolesti za životinje.

Za olfaktorno obogaćivanje mogu se koristiti sintetski analozi umirujućih feromona koji emocionalno stabilizuju i relaksiraju životinje (Vučinić, 2007a; 2007b), ali i prirodni mirisi iz urina i fecesa životinja. Nepravilno primenjeni, mirisi mogu da budu uzrok agresivnosti, ako potiču od dominantnih životinja, jer podređene životinje motivišu na borbu za određeni socijalni status na hijerarhijskoj lestvici. Ako se feces koristi kao prirodni izvor mirisa za olfaktorno obogaćivanje uslova života, tada je neophodno da potiče od životinja koje ne boluju od parazitoza, što važi i za kožu, vunu, dlaku, krzno, perje kao izvor prirodnih mirisa. Mnogi od ovih materijala mogu da se podvrgnu sterilizaciji u autoklavu pre nego što se upotrebe za olfaktorno obogaćivanje uslova života. Ako se za olfaktorno obogaćivanje koriste koncentrovani mirisi u vidu parfema i uljanih koncentrata, treba imati u vidu da ih određene životinje i osobe ne tolerišu, tako da se savetuje njihova primena samo na otvorenom prostoru (ispusti) ili u dobro provetranim prostorijama.

Auditorno obogaćivanje takođe se mora sprovoditi pažljivo. Životinje mogu da dožive zvučne stimuluse kao vrlo neprijatne i odbojne, što će ih motivisati na njihovo izbegavanje i udaljavanje od mesta izvora zvučnih stimulusa. Šta više, mogu da deluju i stresogeno, a posebno u slučaju kada se za auditorno obogaćivanje uslova života kod životinja u zooškim vrtovima koriste, po dužini emitovanja i jačini, neadekvatni snimci oglašavanja predatorskih vrsta. Oni neće prouzrokovati stres ako se životinjama kojima se ovi snimci puštaju obezbedi dovoljno prostora za skrivanje. U tom slučaju će ih snimci oglašavanja predatora stimulisati na istraživačke oblike ponašanja.

Zaključak / Conclusion

Obogaćivanje uslova života za životinje o kojima brine čovek podrazumeva obezbeđivanje ključnih stimulusa, koji pokreću ispoljavanje urođenih, po rangu prioriteta bitnih oblika ponašanja životinja, na čije su ispoljavanje životinje uvek visoko motivisane. U strogo kontrolisanim uslovima života, u kojima je sloboda kretanja životinjama u manjem ili većem stepenu uskraćena, kao što im je uskraćena i sloboda izbora supstrata za zadovoljavanje prirodnih potreba, česti su poremećaji ponašanja, koji narušavaju dobrobit samih životinja, a pojedini i bezbednost čoveka. Zato različiti oblici obogaćivanja uslova života (strukturno, senzorno, hranidbeno, manipulativno, socijalno obogaćivanje) predstavljaju jednostavan i efikasan način preveniranja i tretmana poremećaja ponašanja životinja.

Literatura / References

1. Baer JF. A veterinary perspective of potential risk factors in environmental enrichment. In: Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M, editors. Second Nature: Environ-

- mental enrichment for captive animals. Smithsonian Institution Press, 1998: 277-301.
2. Carlstead K, Shepherdson DJ. Alleviating stress in zoo animals with environmental enrichment. In: Moberg GP, Mench JA, editors. The Biology of Animal Stress. CAB1 Publishing, Oxon, NY, USA, 2000: 337-54.
3. Dudink S, Simonse H, Marks I, de Jonge FH, Spruijt BM. Announcing the arrival of enrichment increases play behaviour and reduces weaning-stress-induced behaviours of piglets directly after weaning. Applied Animal Behaviour Science 2006; 101: 86-101.
4. Jodie A, Kulpa-Eddy JA, Taylor S, Adams KM. USDA perspective on environmental enrichment for animals. ILAR J 2005; 46(2): 83-94.
5. Jordan D, Varga A, Kermauner A, Gorjanc G, Štuhec I. The influence of environmental enrichment with different kind of wood on some behavioural and fattening traits of rabbits housed in individual wire cages. Acta agriculturae slovenica, 2004; Supplement 1: 73-9.
6. Manteuffel G, Langbein J, Puppe B. Increasing farm animal welfare by positively motivated instrumental behaviour. Applied Animal Behaviour Science 2009; 118: 191-8.
7. Matheson SM, Asher L, Bateson M. Larger, enriched cages are associated with 'optimistic' response biases in captive European starlings (*Sturnus vulgaris*). Applied Animal Behaviour Science 2008; 109: 374-83.
8. Meehan CL, Mench JA. The challenge of challenge: can problem solving opportunities enhance animal welfare? Applied Animal Behaviour Science 2007; 102: 246-61.
9. Mellen J, MacPhee MS. Philosophy of environmental enrichment: past, present, and future. Zoo Biology 2001; 20: 211-26.
10. Mendl M, Burman OHP, Parker RMA, Paul ES. Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. Applied Animal Behaviour Science 2009; 118: 161-81.
11. Puppe B, Ernst K, Schon PC, Manteuffel G. Cognitive enrichment affects behavioural reactivity in domestic pigs. Applied Animal Behaviour Science 2007; 105: 75-86.
12. Tuytens FAM. The importance of straw for pig and cattle welfare: A review. Applied Animal Behaviour Science 2005; 92: 261-82.
13. Swaisgood R. Enrichment and well-being for zoo animals. In: Beckoff M, editor. Encyclopedia of human-animal relationships. Greenwood press, 2007; 4:1349-57.
14. Tarou RL, Bashaw MJ. 2007. Maximizing the effects of environmental enrichment: suggestions from the experimental analysis of behaviour. Applied Animal Behaviour Science 2007; 102: 189-204.
15. Vučinić M. Feromonoterapija u poremećajima ponašanja kućnih ljubimaca. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2007a; 7(2): 196-203.
16. Vučinić M. Upotreba feromona u preventivi i terapiji poremećaja u ponašanju domaćih životinja. Veterinarski glasnik 2007b; 61(1-2): 115-21.
17. Vučinić M. Klinička psihopatologija kod farmških životinja. Zbornik predavanja XXIX Seminara za inovacije znanja veterinarima, 14. februar 2008, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine 2008a: 41-64.
18. Vučinić M. Patologija ponašanja pasa i mačaka. Zbornik radova 10. regionalnog savećtovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Kragujevac, 1-5. septembar 2008, Clinica veterinaria 2008b: 151-65.

19. Wemelsfelder F. Animal boredom: Understanding the tedium of confined life. In: McMillan FD, editor. Mental health and well-being in animals. Wiley-Blackwell, 2005: 79-91.

ENGLISH

ENVIRONMENTAL ENRICHMENT IN FARM, ZOO, COMPANION AND EXPERIMENTAL ANIMALS

Marijana Vučinić

The paper deals with environmental enrichment for domestic animals at farms, animals in zoos, experimental animals and pet animals. Also, the paper defines and describes different strategies of environmental enrichment. Environmental enrichment is a simple and effective mean of prevention of boredom, behavioural disorders as well as an effective mean of improving animal welfare in farm, zoo, companion and experimental animals. Different items and materials may be used for environmental enrichment. They need to be evaluated for use by taking into account the following: the species of an animal, its needs, habits and capabilities, the type of an enrichment device, the device's ability to stimulate the animal's interest and the safety of the device. Enrichment programmes should always include two forms of enrichment: behavioural enrichment and environmental enrichment. Enrichment comes in many forms such as structural or physical enrichment, sensory enrichment (auditory and olfactory stimulation), dietary enrichment, manipulatable enrichment and social enrichment.

Key words: environmental enrichment, animal, captivity

РУССКИЙ

ОБОГАЩЕНИЕ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ НА ФЕРМАХ, ЖИВОТНЫХ В ЗОО-ПАРКАХ, ДОМАШНИХ ЛЮБИМЦЕВ И ОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Марияна Вучинич

В работе вынесено значение обогащения условий жизни для домашних животных на фермах, животных в зоопарках домашних любимцев и опытных животных. Дана дефиниция обогащения условий жизни и описаны различные стратегии этого охвата. Обогащение условий жизни представляет собой простой и эффективный способ предупреждения скуки и нарушения поведения словно и эффективную меру улучшения благосостояния животных. Для обогащения условий жизни могут пользоваться различные предметы и материалы. Их употребление требует познание биологических характеристик вида животного у которых применяется обогащение условий жизни, познание их нужд, приютов и способностей, вида предмета и материала, которые будут пользоваться в программе обогащения условий жизни, целесообразность применения определённых предметов и материалов в процессе обогащения в аспекте способности мотивировать, то есть стимулировать животные на

проявление природных форм поведения и степень их надёжности и безопасности, то есть потенциальный риск применения определённых предметов и материалов для животных. Программы модификации условий жизни обычно охватывают две формы обогащения, а это именно структурное и бихевиоральное обогащение. Обогащение условий жизни имеет в собственности многие формы как физическое, сенсорное (аудиторное и ольфакторное), кормовое, манипулятивное и социальное обогащение условий жизни.

Ключевые слова: условия жизни, обогащение, животные, ссылка

**PUERPERALNA HEMOGLOBINURIJA
HAEMOGLOBINURIA PUERPERALIS******PUERPERAL HAEMOGLOBINURIA
HAEMOGLOBINURIA PUERPERALIS*****I. Vujanac, V. Glišić****

Puerperalna hemoglobinurija je sporadično oboljenje krava koje se pojavljuje do četvrte nedelje posle teljenja, a manifestuje se hemoglobinurijom i hemolitičkom anemijom.

Na privatnoj mini-farmi goveda na osnovu anamnestičkih podataka i rezultata kliničkog pregleda postavljena je dijagnoza – Haemoglobinuria puerperalis, potvrđena rezultatima laboratorijskog ispitivanja uzorka krvi. U toku bolesti je došlo do razvoja karakterističnih simptoma – jasno uočljivo bledilo vidljivih sluznica, blago izražen ikterus ruba kože kapaka i hemoglobinurija. S obzirom na veoma izraženu oligocitemičnu hipohromnu anemiju, terapija je bila usmerena prema primarnoj bolesti i primenjena je transfuzija krvi.

Ključne reči: krava, hemoglobinurija, anemija, transfuzija krvi

Uvod / Introduction

Puerperalna ili postpartalna hemoglobinurija je oboljenje koje se pojavljuje kod visoko produktivnih krava, najčešće do četvrte nedelje posle teljenja. Usled masovne hemolize eritrocita, ova bolest se manifestuje hemoglobinurijom i hemolitičkom anemijom. Pojavljuje se sporadično u stajskom načinu držanja i često na područjima na kojima je relativno nizak sadržaj fosfora u hranivima. U etiologiji oboljenja učestvuju više činilaca, pri čemu, hipofosfatemija na početku laktacije dovodi do smanjenja stabilnosti membrane eritrocita, što se smatra glavnim uzrokom hemolize. Pored toga, dodatni činilac koji povećava fragilnost membrane eritrocita je smanjeno snabdevanje ćelija energijom u uslovima negativnog bilansa energije, kao što je slučaj na početku laktacije. Biljke bogate saponinima (kupusnjače i leptirnjače) u malim količinama u obrocima krava mogu da dovedu do lize oštećene membrane eritrocita.

* Rad primljen za štampu 18. 05. 2009. godine

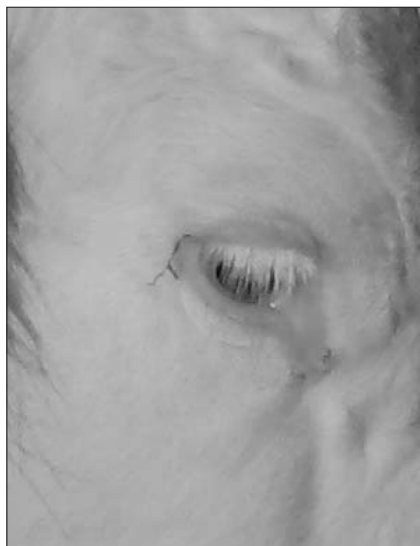
** Mr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, Katedra za bolesti papkara, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; Vladan Glišić, dr vet. med., Veterinarska stanica, Mladenovac

Klinički prikaz slučaja puerperalne – postpartalne hemoglobinurije kod krava *Clinical presentation of case of puerperal-postpartal haemoglobinuria in cows*

Junica rase domaće šareno goveče u tipu simentalca otelila se 06. 12. 2008. godine. Po teljenju je imala zadržanu posteljicu (*retentio secundinum*), koja je manuelno uklonjena drugog dana nakon teljenja. Posteljica je bila veoma tanka i lako se kidala. Posle teljenja životinja je imala dobar apetit, preživala je i normalno balegala.

Mesec dana nakon teljenja (06. 01. 2009), vlasnik je u popodnevnom časovima primetio da krava slabije jede, ne preživa i da joj je levi bok ("leva gladna jama") izbočen. Izmerena rektalna telesna temperatura bila je u fiziološkim okvirima ($T=38,8^{\circ}\text{C}$). Vlasnik je na osnovu sopstvenog iskustva zaključio da se radi o nadamu buraga i dao je kravi na usta 150 grama pekarskog kvasca i 100 grama bikarbonate sode (NaHCO_3) rastvorenih u 1 litru mlake surutke. Prema rečima vlasnika, izbočenje levog boka je nestalo za nekoliko časova, a krava je počela bolje da jede i preživa hranu. U narednih nekoliko dana apetit obolele životinje bio je sve slabiji i preživanje sve ređe. Petog dana od datog lekovitog napoja životinja je prestala da uzima hranu, preživa i slabije balega.

Osnovni obrok za životinje u staji sastojao se od livadskog sena, sena lucerke, sena stočnog graška, osušenih stabljika kukuruza i peletiranih rezanaca šećerne repe. Koncentrovani deo obroka sastojao se od stočnog brašna, prekrupe kukuruza i ovsa, bez vitaminsko-mineralnog dodatka.



Slika 1. Bledilo konjunktiva i blago izražen ikterus ruba kože kapaka /
Figure 1. Pale conjunctive and slightly expressed ichtherus on eyelid skin edge

Na dan pregleda obolele životinje ustanovljena je povišena telesna temperatura koja je varirala od $39,8$ do 41°C . Puls je bio ubrzan ($120/\text{min}$.), teško opipljiv (filiforman). Broj respiratornih pokreta je bio u fiziološkim granicama ($27/\text{min}$). Motorička aktivnost predželudaca je bila smanjena, na svega četiri slabe i nepotpune kontrakcije u 5 minuta. Vidljive sluznice su bile blede do porculanski bele boje i blago ikterične što se videlo i na koži ruba kapaka (slika 1). Auskultacijom srca ustanovljena je tahikardija (preko $120/\text{min}$), pri čemu se čuo funkcionalni sistolični šum. Auskultacijom pluća ustanovljeno je blago produbljeno vezikularno disanje. Perkusiono polje jetre nije bilo povećano. Spoljašnjim pregledom bubrega palpacijom-presijom

nije ustanovljena bolnost. Izmet je bio suv, formiran tamnozelene-mrke boje. Rektalnim pregledom ustanovljen je meteorizam creva. Na levom bubregu nisu ustanovljene promene u obliku, veličini i konzistenciji. Mokraća uzeta kateterom je bila tamnocrvene-smeđe boje (boje kafe) i veoma je lako penila tokom uriniranja (slika 2). Mleko nije bilo promenjeno. Iz repne vene uzeta je krv za laboratorijsko ispitivanje. Krv je bila vodenasta, svetloružičaste boje.



Slika 2. Mokraća obolele krave (hemoglobinurija) /
Figure 2. Urine of diseased cow (haemoglobinuria)

Od ostalih opštih simptoma poremećaja zdravlja bili su prisutni somnolentnost, inapetencija i slabost telesne muskulature. Kretanje obolele životinje bilo je nesigurno, što se manifestovalo zanošenjem zadnjeg dela tela. Stav zadnjih nogu je bio nepravilan.

Na osnovu anamnestičkih podataka, kliničke slike i pregleda mokraće postavljena je klinička dijagnoza – *Haemoglobinuria puerperalis*, potvrđena rezultatima laboratorijskog ispitivanja uzorka krvi.

Na osnovu postavljene dijagnoze, oboleloj životinji u venu jugularis aplikovana je infuzija desetopostotne glukoze u količini od 2,5 l u koju je dodato 20 ml C vitamina i 15 ml kompleksa B-vitamina. Intramuskularno su aplikovani antibiotici (22.000 IU/kg penicilina i 5 grama streptomcina) i 25 ml AD₃E vitamina. Supkutano je aplikovan preparat Kalfoset u dozi od 30 ml. Izvršena je korekcija ishrane, pri čemu je isključeno davanje peleta šećerne repe i sena stočnog graška, a u koncentrovani deo obroka je dodat vitaminsko-mineralni premiks Pre-foskal.

Drugog dana opšte zdravstveno stanje životinje je bilo bolje. Imala je bolji apetit i preživela je. Motorička aktivnost predželudaca bila je nešto niža od donje fiziološke granice (5 do 6 kontrakcija u 5 minuta). Puls povišen 105/minuti.

Telesna temperatura je bila visoka (40,0 do 40,7°C). Auskultacijom srca ustanovljena je tahikardija, ali bez prisustva sistoličnog šuma. Mokraća je i dalje bila tamnocrvenkasto-smeđe boje. Ponovljena je infuzija desetopostotne glukoze (2,0 L) u koju je dodato 30 ml Katosala i 20 ml vitamina C. Intramuskularno su aplikovani antibiotici. Peroralno je dat natrijum kiseli fosfat (NaH_2PO_4) rastvoren u 0,7 l mlake vode, u količini od 30 do 40 grama, dvokratno. Natrijum kiseli fosfat je davan i naredna četiri dana.

Trećeg dana svi parametri trijasa su bili u fiziološkim okvirima, sem telesne temperature koja je bila povišena – 40,4°C. Na osnovu laboratorijskih rezultata crvene krvne slike obolele životinje ustanovljena je izrazita anemija (tabela 1).

Tabela 1. Crvena krvna slika obolele životinje /
Table 1. Red blood count of the diseased animal

Osnovni klinički hematološki parametri / <i>Basic clinical haematological parameters</i>	Rezultati analize / <i>Analysis results</i>	Referentne vrednosti / <i>Referent values</i>
Broj eritrocita / <i>Number of erythrocytes</i>	1,74 x 10 ¹² /l	5,0 - 10,0 x 10 ¹² /l
Koncentracija hemoglobina / <i>Haemoglobin concentration</i>	28 g/l	80 - 150 g/l
Hematokritska vrednost / <i>Hematocrit value</i>	9,6 %	24,0 - 46,0 %

S obzirom na veoma izraženu oligocitemičnu hipohromnu anemiju u nastavku lečenja primenjena je transfuzija krvi. Od zdrave krave u staji iz vene jugularis uzeta je krv u zapremini od 1.350 ml pomoću transfuzionog seta (sterilna boca zapremine 2 litra i infuzioni set po Hauptneru). U bocu je dodat sterilni 3,8 procentni rastvor natrijum-citrata u količini od 150 ml. Odnos natrijum-citrata kao antikoagulansa i krvi prilikom transfuzije treba da bude 1:9. Tokom uzimanja krvi od davaoca, boca treba da bude u posudi u koju je dodata mlaka voda temperature od 37 do 39 °C. Oboleloj životinji intravenski je prvo dato 50 ml krvi, sa ciljem da se ispita da li postoji inkompatibilnost između krvnih grupa davaoca i primaoca. Nakon dvadeset minuta, pošto nije došlo do posttransfuzione hemolitičke reakcije (uznemirenosti, tremora i znojenja) nastavljena je transfuzija krvi (slika 3). Pored transfuzije krvi, ponovljena je i terapija od prethodnog dana.

Četvrtog dana telesna temperatura je bila i dalje povišena – 39,8 °C. Mokraća je bila bledoružičaste boje. Pored redovne antibiotske terapije i infuzije, parenteralno je aplikovan preparat kortikosteroida (Artrivet forte) u količini od 20 mililitara. Već u popodnevnom časovima telesna temperatura životinje se normalizovala i iznosila je 39,0 °C.

Petog i šestog dana zdravstveno stanje životinje se u potpunosti stabilizovalo. Šestog dana intenzitet hemoglobinurije se postepeno smanjivao, mo-



Slika 3. *Primena transfuzije krvi /*
Figure 3. Administering blood transfusion

kraća je bila sve prozirnija svetložuto-ružičaste boje. Sprovedena je antibiotska terapija i intravenozno je ponovljena infuzija glukoze sa preparatom Katosal.

Zdravstveno stanje krave desetog dana od pojave prvih kliničkih simptoma bolesti se normalizovalo. Parametri trijasa su bili u fiziološkim granicama. Mokraća je bila svetložućkaste boje.



Slika 4. *Izlečena krava mesec dana nakon tretmana /*
Figure 4. Cured cow one month following treatment

Zaključak / Conclusion

Puerperalna hemoglobinurija je sporadično oboljenje krava koje se manifestuje hemoglobinurijom i hemolitičkom anemijom. U etiologiji učestvuju više činilaca, pri čemu, hipofosfatemija, negativan bilans energije i prisustvo biljaka bogatih saponinima u ishrani, naročito na početku laktacije, predstavljaju glavne činioce u nastanku oboljenja. Kliničkim pregledom i laboratorijskim nalazom crvene krvne slike ustanovljene su patognomonične promene. Terapija je bila usmerena prema primarnoj bolesti koja je dovela do hemoglobinurije, izrazite anemije i blažeg oblika žutice. Značaj ovog našeg slučaja je upravo u skretanju pažnje terenskim veterinarima na ovo retko i gotovo zaboravljeno oboljenje.

Literatura / References

1. Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG. Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle. Second edition published by Blackwell Publishing, 2004.

2. Howard LJ, Smith AR. Current veterinary therapy. W.B. Saunders Company, 1999.
3. Karsai F, Voros K. Állatorvosi belgyógyászat II kötet. Primavet, Budapest, 2003.
4. Radostits OM, Clive CG, Hinchcliff KW, Peter D. Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Saunders Elsewhere, 2006.
5. Rosenberger G. Clinical Examination of Cattle. Blackwell Science Ltd., 1995.
6. Stamatović S, Jovanović M. Bolesti papkara – I Bolesti goveda. Savez veterinara i veterinarskih tehničara 1978 Jugoslavije - odbor za izdavačku delatnost, 1980.
7. Vujić B, Marković R, Bošković V, Perić Ž. Razmatranje etiološkog kompleksa hemoglobinurije goveda. Vet Glasnik 1978; 11: 953-60.

ENGLISH

PUERPERAL HAEMOGLOBINURIA – HAEMOGLOBINURIA PUERPERALIS

I. Vujanac, V. Glišić

Puerperal haemoglobinuria is a sporadic disease that appears in cows before the fourth week after calving and is manifested as haemoglobinuria and haemolytic anaemia.

Haemoglobinuria puerperalis was diagnosed at a private mini cattle farm on the grounds of anamnestic data and the results of clinical examinations, and it was confirmed with the results of laboratory examinations of blood samples. In the course of the disease, characteristic symptoms developed, there was clearly visible paleness of the mucosa, slightly expressed ichthus of the eyelid ridge skin, and haemoglobinuria. Having in mind the very expressed oligocytemic hypochromic anaemia, therapy was directed at the primary disease and a blood transfusion was administered.

Key words: cow, haemoglobinuria, anaemia, blood transfusion

РУССКИЙ

ПУЕРПЕРАЛЬНАЯ ГЕМОГЛОБИНУРИЯ (HAEMOGLOBINURIA PUERPERALIS)

И. Вуянац, В. Глишич

Пуерперальная гемоглобинурия – спорадическое заболевание коров, появляемое до четвертой недели после теления, а манифестируется гемоглобинурией и гемолитической анемией.

На частной мини ферме крупного рогатого скота на основе анамнестических данных и результатов клинического осмотра поставлен диагноз – *Haemoglobinuria puerperalis*, подтвержден результатами лабораторного испытания образчиков крови. В течение болезни пришло до развития характерных симптомов, ясно заметна бледность видимых слизистых оболочек, хорошо выражен иктерус рубца кожи век и гемоглобинурия. Имея в виду очень выраженную олигоцитемичную гипохромную анемию, терапия была направлена к первичной болезни и применена трансфузия крови.

Ключевые слова: корова, гемоглобинурия, анемия, трансфузия крови

KUTANI FIBROM KOD SRNE (*Capreolus capreolus*)* *CUTANEOUS FIBROMA IN THE ROE DEER (Capreolus capreolus)*

B. Kureljušić, B. Savić, R. Prodanović, D. Ćirović**

Fibromi predstavljaju veoma česte neoplazme kože kod različitih vrsta divljači iz porodice Cervidae. Kod pojedinih vrsta divljači iz ove porodice, dokazana je virusna etiologija neoplazmi kože, pri čemu se najčešće dijagnostikuju: fibromi, osifikujući fibromi, fibrosarkomi, multipla neurofibromatoza, fibropapilomi i papilomi.

Dijagnostikovani tumor kod srne se histološki odlikovao polimorfizmom fibroblasta što nije slučaj kod domaćih životinja. Ovaj nalaz se može smatrati kao karakteristika fibroma za životinje iz porodice Cervidae.

Solitarni fibromi ili multipli fibromi (fibromatoza) ne predstavljaju značajan uzrok uginuća kod jelenske divljači, međutim izazivaju zabrinutost kod lovaca koji su u direktnom kontaktu sa njima. Iako fibromi ne dovode do kvara mesa jelenske divljači, estetski izazivaju odbojnost i nerado korišćenje mesa odstreljene divljači.

Ključne reči: fibrom, srna, morfološke promene

Uvod / Introduction

Fibromi predstavljaju veoma česte neoplazme kože kod različitih vrsta divljači iz porodice Cervidae. Kod pojedinih vrsta divljači iz ove porodice, dokazana je virusna etiologija neoplazmi kože, pri čemu se najčešće dijagnostikuju: fibromi, osifikujući fibromi, fibrosarkomi, multipla neurofibromatoza, fibropapilomi i papilomi. Fibromi se najčešće javljaju kod životinja mlađih od dve godine. Međutim, opisani su i sporadični slučajevi kod starijih životinja. Prema nekim ispitivanjima, postoji i polna predispozicija za nastanak ove neoplazme, pri čemu je dokazana veća predispozicija životinja muškog pola. Fibromi retko metastaziraju, mada su opisani sporadični slučajevi, pri čemu nije sa sigurnošću dokazano da li

* Rad primljen za štampu 30. 06. 2009. godine

** Branislav Kureljušić, dr vet. med., istraživač pripravnik, mr sci. med. vet. Božidar Savić, istraživač saradnik, Radiša Prodanović, dr vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; mr sci. Duško Ćirović, asistent, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

je u pitanju prava metastaza ćelija tumora ili metastaza virusa koji na drugom mestu u organizmu dovodi do istovetnih promena (Sundberg i Nielsen, 1981).

Najčešća lokalizacija fibroma je u predelu oko očiju, usana, vrata i na medijalnoj strani prednjih ekstremiteta. Makroskopski, obično su loptastog oblika, čvrste konzistencije i dijametra do 1 cm, mada su u literaturi opisani i fibromi većih dimenzija. Javljaju se kao solitarni ili multipli, tako da njihov broj može varirati od 1 do čak 226. Multipla pojava fibroma se u literaturi označava kao fibromatoza. Veliki fibromi mogu imati glatku površinu ili mogu biti ulcerisani i često pendulirajući. Najčešće, nisu lokalno invazivni i mogu se hirurški ukloniti. Površina preseka je čvrsta, mlečno bele boje, a prekriva je zadebljali epidermis koji u zavisnosti od lokalizacije na telu životinje može biti manje ili više pigmentovan.

Histološki, fibromi se odlikuju prisustvom zvezdastih ili vretenastih fibroblasta koji proizvode proteine ekstracelularnog matriksa, pri čemu se mitotske figure ne uočavaju (Sundberg i Nielsen, 1981; Sundberg i sar., 1985).

Značaj ove neoplazme za zdravlje životinja počiva, pre svega, na njenom mehaničkom uticaju, pa ukoliko se nalazi u blizini oka može da dovede do slepila, a lokalizacija oko usana otežava ili onemogućava uzimanje hrane te dolazi do posledične inanicije i uginuća. U slučaju kada je fibrom većih dimenzija prisutan na ekstremitetima, može dovesti do otežanog kretanja pa životinja postaje lak plen za predatore.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

U ovom radu je makroskopski i histopatološki ispitan tumor poreklom od ustreljene srne koji je dostavljen Odeljenju za patološku morfologiju, Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije radi patomorfološkog ispitivanja. Tumor je bio lociran u predelu dorzokaudalne strane vrata i dostavljen zajedno sa glaveno-vratnim regionom životinje. Uzorci tkiva tumora za histopatološki pregled su fiksirani u 10% puferizovanom formalinu, procesovani standardnim postupkom i uklopljeni u parafinske blokove. Parafinski isecci tumora debljine oko 5 μ m bojeni su hematoxilin-eozin (HE) metodom.

Rezultati i diskusija / *Results and Discussion*

Makroskopskim pregledom glave, usne duplje, nosnih šupljina, oka, mozga, farinksa, larinksa i traheje srne nisu ustanovljene patomorfološke promene, dok se na koži dorzalne strane vrata u predelu njegove kaudalne trećine uočavao tumorozni proliferat loptastog oblika veličine oko 12 x 7 cm koji je svojom dužom osom bio pričvršćen za vrat srne (slika 1). Osim na vratu, česta lokalizacija fibroma je u predelu oko očiju, usana i na medijalnoj strani prednjih ekstremiteta, pri čemu nema objašnjenja zašto su ovo predilekciona mesta ove neoplazme (Sundberg i sar., 1981). S obzirom na to da su do sada opisani fibromi najčešće

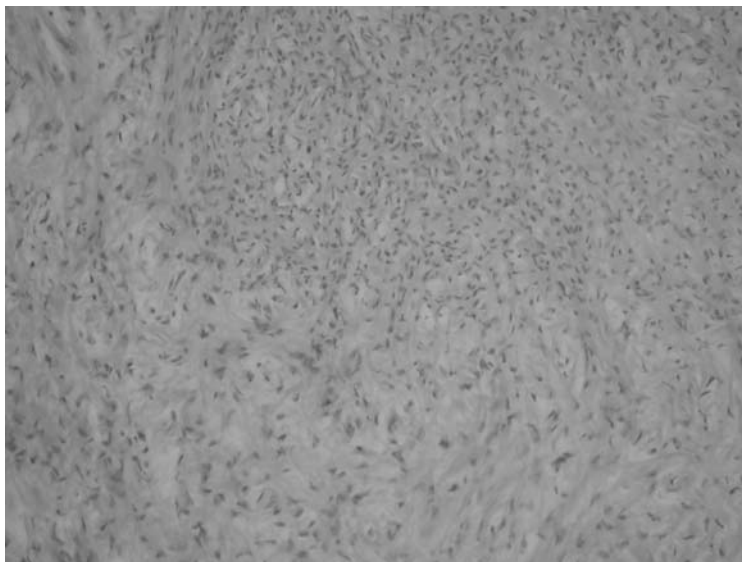
dimenzija do 1 cm, moglo bi se reći da je dijagnostikovana neoplazma relativno velika, mada su opisani slučajevi gde se dijametar fibroma kretao i do čak 25 cm (Sundberg i sar., 1981). Neoplazma je prominirala iznad površine kože, nalazila se odmah ispod kože čvrsto fiksirana u subkutisu i nije bila vezana za muskulaturu. Razlog ovome je verovatno njena subkutana lokalizacija (Baumgartner, 2007). Na površini tumora se uočava koža koja je mestimično ulcerisana sa tanjim ili debljim krustoznim naslagama. Ovakav nalaz se često opisuje i to naročito kada su u pitanju veliki fibromi koji su često i pendulirajući (Sundberg i sar., 1981). Tumor je čvrste konzistencije, a na preseku je mlečno bele boje i jasno ograničen od okolnog tkiva, bez znakova lokalne tkivne reakcije, odnosno znakova invazivnosti tumora (slika 2). Retko se opisuju metastaze ovog tumora, mada u ovom slučaju nije bilo mogućnosti da se to ustanovi, pošto su patoanatomskim pregledom obuhvaćeni samo glava i vrat životinje koji su dostavljeni na ispitivanje. Koller i Olson (1971) navode mogućnost metastatskog prenošenja kožne fibromatoze u pluća i objašnjavaju histološku sličnost između kožne i plućne neoplazme, mada ne isključuju mogućnost da se samo radi o prenošenju virusa iz familije *Papillomaviridae* koji u plućima podstiče razvoj istovetnih promena kao i na koži. Do sličnih nalaza došli su i Moreno-Lopez i sar. (1986) što ukazuje na to da kožna fibromatoza potencijalno može biti i malignog karaktera. Virusna etiologija ove neoplazme je potvrđena, pri čemu su bile uspešne i ekperimentalne infekcije jelenske divljači prečišćenim ekstraktima fibroma koji je aplikovan intradermalno ili subkutano zdravim jedinkama (O'Banion i Sundberg, 1987; Sundberg i sar., 1985).



Slika 1. Fibrom loptastog oblika lociran u predelu dorzokaudalne strane vrata
Figure 1. Ball-shaped fibroma located in the area of the dorsocausal side of the neck



Slika 2. Fibrom je na preseku mlečno bele boje i jasno ograničen od okolnog tkiva
Figure 2. The fibroma section is milky white in colour and clearly delineated from the surrounding tissue



Slika 3. Fibrom – Izražen polimorfizam fibroblasta. Jedra fibroblasta su hiperhromatična i polimorfna, a mitoze se ne uočavaju, HE, X200
Figure 3. Fibroma – Expressed fibroblast polymorphism. Fibroblast nuclei are hyperchromatic and polymorphic, and no mitoses are observed. HE, X200

Histološkim pregledom isečaka fibroma bojenih HE metodom uočavaju se vezivnotkivne ćelije, kolagena vlakna i krvni sudovi. Tumorska masa zahvata dermis i subkutis i nije inkapsulisana. Naročito je izražen polimorfizam vezivnotkivnih ćelija – fibroblasta, pri čemu se uočavaju različiti oblici ovih ćelija – zvezdasti, uglasti i vretenasti koji su uklopljeni u proteinskom matriksu fibrilarnih proteina. Jedra fibroblasta su hiperhromatična, polimorfna, a mitoze se ne uočavaju (slika 3). U pojedinim isečcima koji su uzeti sa periferije tumora dominiraju ćelije nad stromom, što odgovara histološkom izgledu *fibroma molle*. Međutim u isečcima uzetim iz središta tumora dominira stroma tumora nad ćelijama, što histološki odgovara izgledu *fibroma durum*. Ovakav nalaz je u skladu sa nalazom i drugih autora (Koller i Olson, 1971; Shope i sar., 1958). Na pojedinim mestima pri mikroskopskom pregledu tumora uočava se sluzna degeneracija tumorskog tkiva, pa u tim područjima tumor ima karakteristike *myxofibroma*. Epitel kože iznad ispitnog tumora je delimično pigmentovan i atrofičan usled pritiska tumorske mase. U literaturi se međutim navodi zadebljanje epitela usled umnožavanja ćelija *stratum spinosum* (Shope i sar., 1958; Sundberg i sar., 1985).

U prikazanom slučaju, histološki izgled tumora odstupa od uobičajenih opisa ovih neoplazmi kod domaćih životinja (Knežević i Jovanović, 2008; Meuten, 2002), pre svega zbog polimorfizma zastupljenih fibroblasta, tako da se može smatrati nalazom karakterističnim kod životinja iz porodice *Cervidae*.

Zaključak / Conclusion

Dijagnostikovani tumor kod srne se histološki odlikovao polimorfizmom fibroblasta što nije slučaj kod domaćih životinja. Ovaj nalaz se može smatrati karakteristikom fibroma za životinje iz porodice *Cervidae*.

Solitarni fibromi ili multipli fibromi (fibromatoza) ne predstavljaju značajan uzrok uginuća kod jelenske divljači, međutim izazivaju zabrinutost kod lovaca koji su u direktnom kontaktu sa njima. Iako fibromi ne dovode do kvara mesa jelenske divljači, estetski izazivaju odbojnost i nerado korišćenje mesa odstreljene divljači.

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENT:

Autori su posebno zahvalni Blagojević Goranu koji je dostavio materijal radi ispitivanja

Literatura / References

1. Baumgärtner W. Pathohistologie für die Tiermedizin. 1st edition, Enke Ferdinand, 2007.
2. Knežević M, Jovanović M. Opšta patologija. Drugo izdanje, Makarije, Beograd 2008.
3. Koller LD, Olson C. Pulmonary fibroblastomas in a deer with cutaneous fibromatosis. *Cancer Res* 1971; 31: 1373-5.
4. Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th edition, Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, Ames, Iowa 2002.

5. Moreno-Lopez J, Morner T, Pettersson U. Papillomavirus DNA associated with pulmonary fibromatosis in European elks. J Virol 1986; 57(3): 1173-6.
6. O'Banion MK, Sundberg JP. Papillomavirus genomes in experimentally induced fibromas in white-tailed deer. Am J Vet Res 1987; 48(10): 1453-5.
7. Shope RE, Mangold R, MacNamara LG, Dumbell KR. An infectious cutaneous fibroma of the virginia white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). J Exp Med 1958; 108: 51-4.
8. Sundberg JP, Chiodini RJ, Nielsen SW. Transmission of white-tailed deer cutaneous fibroma. Am J Vet Res 1985; 46(5): 1150-4.
9. Sundberg JP, Hill DL, Williams ES, Nielsen SW. Light and electron microscopic comparisons of cutaneous fibromas in white-tailed and mule deer. Am J Vet Res 1985; 46(10): 2200-6.
10. Sundberg JP, Nielsen SW. Deer fibroma: A Review. Can Vet J 1981; 22: 385-8.

ENGLISH

CUTANEOUS FIBROMA IN THE ROE DEER (*Capreolus capreolus*)

B. Kureljušić, B. Savić, R. Prodanović, D. Čirović

Fibromas present very frequent skin neoplasms in different species of wild game of the family *Cervidae*. Viral etiology of skin neoplasms was proven in certain species of wild game from this family, with the most frequent diagnoses being: fibromas, ossifying fibromas, fibrosarcomas, multiple neurofibromatosis, fibropapillomas, and papillomas.

The diagnosed tumor in the roe deer had the histological characteristics of a polymorphous fibroblast, which is not the case with domestic animals. This finding can be considered as a characteristic of fibromas in animals of the family *Cervidae*.

Solitary fibroma or multiple fibroma (fibromatosis) does not present a significant cause of deer deaths, but they cause concern among hunters who are in direct contact with them. Although fibromas do not lead to spoilage of game meat, they are esthetically repellent and people are reluctant to consume meat of such game.

Key words: fibroma, roe deer, morphological changes

РУССКИЙ

КОЖАННАЯ ФИБРОМА У СЕРНЫ (*Capreolus capreolus*)

Б. Курелюшич, Б. Савич, Р. Проданович, Д. Чирович

Фибромы представляют собой очень частые неоплазмы кожи у различных видов дичи из семейства *Cervidae*. У некоторых видов дичи из этого семейства, доказана вирусная этиология неоплазмы, кожи, при чём чаще всего диагностируются: фибромы, окостеняющие фибромы, фибросаркомы, многосторонний нейрофиброматоз, фибропапилломы и папилломы.

Диагностицированная опухоль у серны гистологически отличалась полиморфизмом фибробластов, что не случай у домашних животных. Эти результаты могут считаться как характеристика фибромы для животных из семейства *Cervidae*.

Одинокие фибромы или многосторонние фибромы (фиброматоз) не представляет собой значительную причину околени у оленей дичи, однако вызывают озабоченность у охотников, которые в прямом контакте с ними. Хотя фибромы не приводят до порчи мяса оленей дичи, эстетически вызывают надменность и неохотное пользование мяса отстреленной дичи.

Ключевые слова: фиброма, серна, морфологические изменения

LAJŠMANIOZA PSA – PRIKAZ SLUČAJA*
LEISHMANIASIS IN DOGS – CASE STUDY

Jelena Aleksić, V. Kukolj, N. Popović**

U radu je prikazan slučaj lajšmanioze psa, uveženog u starosti od 2,5 meseca iz Francuske.

Kliničkim pregledom ustanovljeno je loše opšte zdravstveno stanje, izražena kaheksija, atrofija temporalne muskulature, otežano kretanje, kao i abnormalno dugački i kruti nokti. Takođe je zapažena hiperkeratoza nosnog ogledala i šapa. Histološkim pregledom isečka promejenih delova kože dobijenog biopsijom ustanovljene su inflamatorne promene u području dermisa, praćene infiltracijom makrofaga i manjeg broja limfocita, plazmocita i neutrofilnih granulocita u području oko lojnih žlezda i dlačnih folikula. Ustanovljene promene odgovaraju superficijalnom dermatitisu. U vezivnom tkivu dermisa primećuje se edem praćen delimičnom degeneracijom vezivnotkivnih vlakana. U mononuklearnim ćelijama ustanovljen je manji broj intracelularnih parazitskih oblika. U isečcima obojenim Gimza metodom u citoplazmi makrofaga smeštenih u dermisu, ali i ekstracelularno, uočava se manji broj ovalnih amastigota sa okruglim tamnocrvenim jedrima.

Na osnovu kliničke slike i mikroskopskog nalaza ustanovljeno je da je pas oboleo od lajšmanioze.

Ključne reči: pas, lajšmanioza

Uvod / Introduction

Lajšmanioza je parazitsko oboljenje životinja i ljudi izazvano flagelarnim protozoama iz roda *Leishmania*, koje ubodom prenose inficirane ženke flebotomina (Slappendel i Ferrer, 1998). Većinu vrsta *Leishmania* uzrokuju zoonoze. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije inficirano je 12 miliona ljudi (WHO, www.who.int/inf-fs/en/fact116.html, 2003), a godišnje od visceralnog oblika lajšmanioze umre 57.000 ljudi (Reithinger i Davies, 2002). Oboljenje je ras-

* Rad primljen za štampu 27. 04. 2009. godine

** Mr sci. med. vet. Jelena Aleksić, asistent, mr sci. med. vet. Vladimir Kukolj, asistent pripravnika, dr sci. med. vet. Nikola Popović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

prostranjeno u celom svetu, a posebno u mediteranskim oblastima kao što su južna Francuska, Portugal, Španija, Grčka i Italija.

Lajšmanioza je sporo progresivno oboljenje, hroničnog karaktera, sa inkubacionim periodom od 3 meseca do 7 godina. U 90% slučajeva kod inficiranih pasa prisutne su i visceralne i kutane lezije (Slappendel i Ferrer, 1998). Tipični visceralni oblik uključuje povišenu temperaturu, koja može biti intermitentna, anemiju, limfadenopatiju, hepatosplenomegaliju, letargiju, smanjenje fizičke izdržljivosti, gubitak telesne mase i smanjen apetit. U kliničkoj slici mogu da se jave i dijareja, melena, povraćanje, onihogrifoza, poliurija, polidipsija, disfunkcija jetre, hromost (usled poliartritisa ili miozitisa), ascites i hronični kolitis (McConkey i sar., 2002, Ferrer, 1999, Slappendel i Ferrer, 1998, Ferrer i sar., 1988). Kod nekih pasa uočljiva je izrazita atrofija temporalne muskulature (www.cvm.okstate.edu/instruction/kocan/vpar5333/5333iig.htm).

Tipične kutane lezije javljaju se kod 89% inficiranih pasa u formi lokalizovane ili generalizovane nepruritične alopecije sa ili bez ulceracija. Pored ovoga lajšmanioza se ispoljava i kao ekfoliativni dermatitis, koji se posebno zapaža oko očiju, na licu, ušima i šapama (Ferrer i sar., 1988).

Histopatološki nalaz kože obuhvata umerenu akantozu i hiperkeratozu sa stvaranjem krustoznih promena i ulceracija u epidermisu. U dermisu su prisutne inflamatorne promene različitog stepena. Od inflamatornih lezija kože najčešće se javljaju granulomatozni perifolikulitis, intersticijalni dermatitis, površinski i duboki perivaskularni dermatitis, nodularni dermatitis, lobularni panikulitis, gnojni folikulitis i intraepidermalni pustularni dermatitis (Koutinas i sar., 1992), a prema novijim istraživanjima i papularni dermatitis (Ordeix i sar., 2005). U histološkoj slici dominira nalaz perivaskularnog infiltrata sastavljenog od makrofaga sa svetlom granulisanom ili penušavom citoplazmom, kao i nalaz manjeg broja limfocita i plazma ćelija (Scott i sar., 2001). Neutrofili su retki, ali mogu biti prisutni u vidu malih skupina. Neutrofili, limfociti i plazma ćelije su mnogo češće zastupljene u ulcerisanim lezijama (Ferrer i sar., 1988). Intenzivna perivaskularna inflamacija može biti orijentisana nodularno oko lojnih žlezda i dlačnih folikula (Gross i sar., 2005). Ovakve promene u koži najčešće nastaju kao posledica imunskog odgovora na prisustvo *Leishmania sp.* (Ordeix i sar., 2005; Papadogiannakis i sar., 2005; Brachelente i sar., 2005; Prats i Ferrer, 1995).

Najjednostavnije i najčešće primenjivane metode dijagnostike bazirane su na dokazivanju *Leishmania spp.* (amastigota) u aspiratu limfnog čvora ili kostne srži ili, histopatološki, u obojenim preparatima kostne srži, limfnih čvorova, slezine, kože ili drugih organa i tkiva (skeletni mišići, periferni nervi, intersticijum bubrega i sinovijalne membrane) (Bowman i sar., 2003; McConkey i sar., 2002; Gardiner i sar., 1998). Ipak, neki autori ističu da odsustvo amastigota ne može potpuno da isključi oboljenje, jer se oni nalaze u citoplazmi makrofaga u 60% slučajeva kada se radi o uzorku kostne srži, 30% u slučaju uzorka limfnih čvorova i oko 50% slučajeva u kožnim lezijama, s tim da ulcerisane lezije sadrže manji broj ovih razvojnih oblika (Lindsay i sar., 2002; Gross i sar., 2005).

Prikaz slučaja / Case review

Na Kliniku za male životinje Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu doveden je pas rase engleski poenter, muškog pola, starosti devet godina, koji je kao štene uvežen iz Francuske. Prilikom kliničkog pregleda konstatovano je loše opšte zdravstveno stanje, izrazita kaheksija, atrofija temporalne muskulature, hiperkeratoza nosnog ogledala i šapa (slika 1), nedostatak dlačnog pokrivača i promene na koži ekstremiteta, kao i abnormalno dugački i krti nokti (*onychogryphosis*) (slika 2). Takođe je zapaženo i otežano kretanje. Prema anamnestičkim podacima, promene kod psa ispoljile su se pre godinu dana.

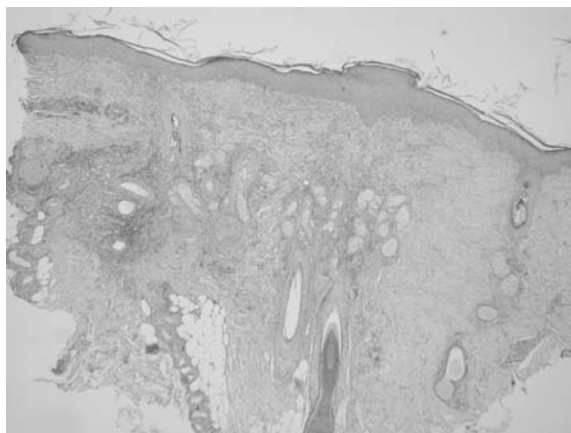


Slika 1. *Atrofija temporalne muskulature i heperkeratoza kože nosnog ogledala /*
Figure 1. Atrophy of temporal musculature and hyperkeratosis of nose tip skin



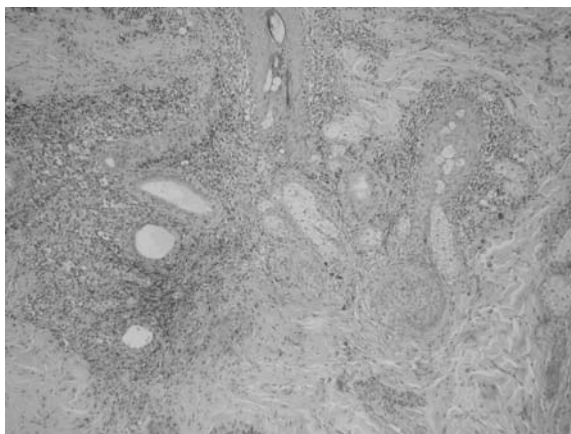
Slika 2. *Abnormalno dugački nokti i promene na koži ekstremiteta /*
Figure 2. Abnormally long nails and changes on the skin of the extremities

Histološkim pregledom isečka kože dobijenog biopsijom uočene su inflamatorne promene u području dermisa, praćene infiltracijom makrofaga i manjeg broja limfocita, plazmocita i neutrofilnih granulocita u području oko lojnih žlezda i dlačnih folikula. Pored promena koje odgovaraju superficijalnom dermatitisu, ustanovljeno je zadebljanje epidermisa, koji je zahvaćen lamelarnom hiperkeratozom (slika 3 i 4). U vezivnom tkivu dermisa primećuje se edem praćen delimičnom degeneracijom vezivnotkivnih vlakana. U mononuklearnim ćelijama us-



Slika 3. Koža psa, lamelarna hiperkeratoza i superficijalni dermatitis, Hematoksilin-eozin, 40X /

Figure 3. Dog skin, lamellar hyperkeratosis and superficial dermatitis, Haematoxylin-eosin, 40X



Slika 4. Koža psa, nagomilavanje makrofaga, limfocita i plazmocita oko lojnih žlezda i dlačnih folikula u dermisu, Hematoksilin-eozin, 100X /

Figure 4. Dog skin, accumulation of macrophages, lymphocytes and plasmocytes around sebaceous glands and hair follicles in dermis, Haematoxylin-eosin, 100X

tanovljen je manji broj intracelularnih parazitskih oblika. U isečcima obojenim Gimza metodom u citoplazmi makrofaga smeštenih u dermisu, ali i ekstracelularno, uočava se manji broj ovalnih amastigota sa okruglim tamnocrvenim jedrima.

Diskusija / Discussion

Klinički znaci konstatovani pregledom psa ukazuju na razvoj i kutane i visceralne forme lajšmanioze. Gubitak telesne mase, atrofija temporalne muskulature, hiperkeratoza nosnog ogledala i šapa, dermatitis na ekstremitetima, kao i abnormalno dugački i krti nokti (*onychogryphosis*) odgovaraju nalazu koji opisuju i drugi autori (Slappendel i Ferrer, 1998; Ferrer i sar., 1988). Hromosti i artritis mogu se dovesti u vezu sa deponovanjem imunih kompleksa u zglobovima (McConkey i sar., 2002).

Činjenica da pas nakon uvoza iz Francuske u uzrastu od 2,5 meseca nije napuštao teritoriju Srbije navodi na zaključak da je inficiran još kao štene, budući da Srbija nije endemsko područje kada je ovo oboljenje u pitanju. Prikazani slučaj ukazuje na to da je inkubacija iznosila oko 7,5 godina što prevazilazi dužinu inkubacije koja je opisana u literaturi (Slappendel i Ferrer, 1998).

Histološkim pregledom kože ustanovljene su promene koje odgovaraju superficijalnom dermatitisu, praćenom infiltracijom makrofaga, limfocita, plazmocita i neutrofilnih granulocita oko lojnih žlezda i dlačnih folikula, kao i zadebljanjem epidermisa sa hiperkeratozom. Superficijalni dermatitis, sa promenama oko lojnih žlezda i hiperkeratozom pojedini autori opisuju kao lezije karakteristične za infekciju lajšmaniom (Gross i sar., 2005; Scott i sar., 2001; Koutinas i sar., 1992; Koutinas i sar., 1992; Ferrer i sar., 1988). Opisane histološke promene u koži dovode se u vezu sa ćelijskim, ali i humoralnim imunskim odgovorom na infekciju lajšmaniom kod pasa (Ordeix i sar., 2005; Papadogiannakis i sar., 2005; Brachelente i sar., 2005; Prats i Ferrer, 1995).

Odsustvo amastigota u citoplazmi makrofaga kože i drugih organa ne može potpuno da isključi oboljenje, jer su ovi razvojni oblici parazita vidljivi u 60% slučajeva kada se radi o uzorku kostne srži, 30% u slučaju uzorka limfnih čvorova i oko 50% slučajeva u kožnim lezijama, pri čemu kožne lezije sa razvijenom ulceracijom sadrže mali broj razvojnih oblika ovog parazita (Lindsay i sar., 2002; Gross i sar., 2005).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu kliničkog pregleda i patohistološke dijagnoze utvrđena je lajšmanioza kod psa, rase engleski poenter. Činjenica da pas nakon uvoza iz Francuske u uzrastu od 2,5 meseca nije napuštao teritoriju Srbije navodi na zaključak da je inficiran još kao štene, budući da Srbija nije endemsko područje kada je ovo oboljenje u pitanju.

Literatura / References

1. Bowman DD, Lynn RC, Eberhard ML, Alcatraz A. Georgi's parasitology for veterinarians, Saunders, Philadelphia, 2003.
2. Brachelente C, Müller N, Doherr G, Sattler U, Welle M. Cutaneous leishmaniasis in naturally infected dogs is associated with a T helper-2-biased immune response. *Vet Pathol* 2005; 42: 166-75.
3. Ferrer L, Rabanal R, Fondevila D, Ramos JA, Domingo M. Skin lesions in canine leishmaniosis. *J Small Anim Pract* 1988; 29(6): 381-8.
4. Ferrer LM. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: Killick-kendrick R, editor. *Canine Leishmaniasis: An update. Proceedings of the International Canine Leishmania Forum* Barcelona, Spain 1999; 6-10.
5. Gardiner CH, Fayer R, Dubey JP. An atlas of protozoan parasites in animal tissues, 2nd edition. Armed forces institute of Pathology, Washington DC. 1998.
6. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. *Skin diseases of the dog and cat-clinical and histopathological diagnosis*, 2nd edition. Blackwell Science Ltd, Iowa, USA; 2005.
7. Koutinas AF, Scott DW, Kantos V, Lekkas S. Skin lesions in canine leishmaniasis (Kala-Azar): a clinical and histopathological study on 22 spontaneous cases in Greece. *Vet Dermatol* 1992; 3(3): 121-30.
8. Lindsay DS, Zajac AM, Barr SC. Leishmaniasis in american foxhounds: an emerging zoonosis. *Compend Cont Educ Pract Vet* 2002; 24: 304-12.
9. McConkey SE, López A, Shaw D, Calder J. Leishmanial polyarthritis in a dog. *Canine Vet J* 2002; 43: 607-9.
10. Ordeix L, Solano-Gallego L, Fondevila D, Ferrer L, Fondati A. Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses - case report. *Vet Dermatol* 2005; 16: 187-91.
11. Papadogiannakis EI, Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Vlemmas J, Lekkas S, Karameris A, Fytianou A. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 104: 227-37.
12. Prats N, Ferrer L. A possible mechanism in the pathogenesis of cutaneous lesions in canine leishmaniasis. *Vet Rec* 1995; 137(4): 103-4.
13. Reithinger R, Davies CR. Canine leishmaniasis: novel strategies for control. *Trends Parasitol* 2002; 18(7): 289-90.
14. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. *Muller & Kirk's small animal dermatology*, 6th edition. WB Saunders company, Philadelphia, 2001.
15. Slappendel RJ, Ferrer L. Leishmaniasis. In: Greene CE: *Infectious diseases of the dog and cat*. WB Saunders Co, Philadelphia, 1998; 450-8.
16. WHO, www.who.int/inf-fs/en/fact116.html, 2003.
17. www.cvm.okstate.edu/instruction/kocan/vpar5333/5333iig.htm.

ENGLISH

LEISHMANIASIS IN DOGS – CASE STUDY

Jelena Aleksić, V. Kukolj, N. Popović

The paper presents a case of leishmaniasis in a 2.5-month-old dog imported from France.

The clinical examination established a generally poor state of health, expressed cachexia, atrophy of the temporal musculature, weakness of movement, as well as abnormally long and brittle nails. There was also hyperkeratosis of the nose tip and paws. A histological examination of biopsy sections of the altered skin parts showed inflammatory changes in the area of the dermis, together with infiltration of macrophages and a smaller number of lymphocytes, plasmocytes and neutrophil granulocytes in the area around the sebaceous glands and hair follicles. The determined changes correspond to superficial dermatitis. Edema followed by partial degeneration of connective-tissue fibers is observed in connective tissue. A smaller number of intracellular parasitic forms was established in mononuclear cells. A smaller number of oval amastigotes with round dark red nucleis were observed in sections stained using the Gimza method in the cytoplasm of macrophages located in the dermis, but also extracellularly.

It was concluded that the dog was diseased with leishmaniasis on the grounds of the clinical picture and the microscopic findings.

Key words: dog, leishmaniasis

РУССКИЙ

ЛЕЙШМАНИОЗ СОБАКИ – ПОКАЗ СЛУЧАЯ

Елена Алексич, В. Куколь, Н. Попович

В работе показан случай лейшманиоза собаки, введённой в старости от 2,5 месяца из Франции.

Клиническим осмотром установлено плохое состояние здоровья, выраженная кахексия, атрофия темпоральной мускулатуры, затруднённое движение, словно и ненормально длинные и ломкие ногти. Также замечен гиперкератоз носового зеркала и лап. Гистологическим осмотром вырезки изменённых частей кожи, полученной биопсией, установленные инфламаторные изменения в области дермиса, слежены инфильтрацией макрофагов и более маленького числа лимфоцитов, плазмоцитов и нейтрофильных гранулоцитов в области около сальных желёз и волосатых фолликулов. Установленные изменения отвечают суперфициальному дерматиту. В соединительной ткани дермиса замечается отёк, частичной дегенерацией соединительно-тканевых волокон. В монядерных клетках установлено более маленькое число внутрицеллюлярных паразитарных форм. В вырезках, окрашенных Гимза методом в цитоплазме макрофагов, помещенных в дермисе, но и экстрацеллюлярно, замечается более маленькое число овальных амастиготов с круглыми тёмно красными ядрами.

На основе клинической картины и микроскопических результатов установлено, что собака заболела лейшманиозом.

Ключевые слова: собака, лейшманиоз

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2009. GODINE

Milosavljević B. Nina

Rođena 09. 04. 1980. u Smed. Palanci
Diplomirala 30. 03. 2009. godine
Stalno mesto boravka Velika Plana
Ustanička 50

Blagojević Z. Goran

Rođen 07. 07. 1981. u Bijeljini,
R. Srpska, BiH
Diplomirao 30. 03. 2009. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Neznanih junka 32

Trajković P. Ivan

Rođen 02. 11. 1979. u Pirotu
Diplomirao 08. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Pirot
Takovska 9/3

Turi L. Lajoš

Rođen 22. 07. 1976. u Beogradu
Diplomirao 13. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Jermenovci
Maršala Tita bb

Dašić N. Nenad

Rođen 11. 08. 1981. u Rijeci,
R. Hrvatska
Diplomirao 14. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Krfska 44

Petković D. Marko

Rođen 02. 10. 1980. u Jagodini
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Jagodina
Crnovrška R1/23

Matković D. Dragica

Rođena 24. 07. 1979. u Smederevu
Diplomirala 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Smederevo
Nušićeva 5/50

Vulin P. Vladimir

Rođen 16. 05. 1980. u Bihaću,
R. BiH
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka
Kuljani bb

Stanojević R. Stevan

Rođen 10. 08. 1981. u Požarevcu
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Požarevac
Novosadska 4

Stojanović S. Slobodan

Rođen 08. 12. 1981. u Smed. Palanci
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Smed. Palanka
Cerovac

Radosavljević D. Milan

Rođen 18. 04. 1980. u Novom Pazaru
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Kraljevo
Jurice Ribara 11, Beranovac

Kovačević D. Novak

Rođen 26. 07. 1980. u Osijeku,
R. Hrvatska
Diplomirao 15. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Boka
Milana Zečara 23

Drobnjak M. Darko

Rođen 27. 12. 1982. u Užicu
Diplomirao 24. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Požega
Glumač 204

Dizdarević Z. Saša

Rođen 02. 02. 1979. u Nojsu,
Nemačka
Diplomirao 24. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka V. Šiljegovac bb

Trifković S. Duško

Rođen 16. 11. 1980. u Bijeljini,
R. Srpska
Diplomirao 24. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
D. Čađavica

Lončarević M. Danijel

Rođen 12. 11. 1983. u Sisku,
R. Hrvatska
Diplomirao 24. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka
Sremska Mitrovica
16. divizije 22/3

Rakić Ž. Nebojša

Rođen 11. 09. 1978. u Kruševcu
Diplomirao 24. 04. 2009. godine

Stalno mesto boravka Bačina
I maj 54

Kašikić Đ. Igor

Rođen 29. 05. 1979. u
Banatskom Brestovcu
Diplomirao 29. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka
Banatski Brestovac
Moše Pijade 82

Bošković Z. Bojan

Rođen 19. 05. 1982. u Puli,
R. Hrvatska
Diplomirao 29. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Karađorđeva 13A, Ostružnica

Marić Đ. Dragan

Rođen 20. 11. 1980. u Livnu,
R. BiH
Diplomirao 29. 04. 2009. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kajmakčalanska 39a

Erić R. Miroslav

Rođen 14. 01. 1981. u Šapcu
Diplomirao 20. 05. 2009. godine
Stalno mesto boravka
Mačvanski Metković, Glušci,
Kralja Petra 189

Petrović T. Milan

Rođen 27. 02. 1982. u Valjevu
Diplomirao 21. 05. 2009. godine
Stalno mesto boravka Mladenovac
Kosmajaska 25

Janković D. Marko

Rođen 24. 10. 1980. u Zemunu
Diplomirao 27. 05. 2009. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Pariske komune 37

Pavlović M. Ksenija

Rođena 21. 12. 1983. u Beogradu
Diplomirala 27. 05. 2009. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Višegradska 3

Radoman P. Dragan

Rođen 13. 12. 1977. u Kraljevu
Diplomirao 27. 05. 2009. godine

Stalno mesto boravka Kraljevo
Vojvode Stepe 11

Veljković V. Milan

Rođen 25. 05. 1982. u Aleksincu
Diplomirao 27. 05. 2009. godine
Stalno mesto boravka Sokobanja
Vojvode Putnika bb

UPUTSTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RUKOPISA

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

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

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

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

OPŠTA UPUTSTVA

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

NASLOVNA STRANA

Na posebnoj prvoj stranici treba napisati sledeće:

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

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

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

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

KRATAK SADRŽAJ

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

PISANJE TEKSTA

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

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

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

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

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

POGLAVLJA RADA

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

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

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

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

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

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

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

Primeri:

1. Članak u časopisu:

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

2. Knjige i druge monografije:

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

3. Poglavlja u knjizi:

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

4. Rad ili abstrakt u Zborniku radova:

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

NAPOMENA

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

ADRESA ČASOPISA

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