

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 60 Br. 5 - 6 str. 267 - 434 Beograd, 2006.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Petričević M. S., Ilić Tamara, Dimitrijević Sanda: Aktuelni koncept kontrole kokcidioze pilića
Topical Concept of Coccidiosis Control in Chickens
Актуальный концепт контроля кокцидиоза цыплят 271

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI – ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ РАБОТЫ

- Šamanc H., Kirovski Danijela, Dimitrijević B., Vujanac I., Damnjanović Z., Polovina M.:
Procena energetskeg statusa krava u laktaciji određivanjem koncentracije organskih sastojaka mleka
Energy Status of Dairy Cows Determined by Biochemical Analysis of Organic Components of Milk
Оценка энергетического статуса коров в лактации определением концентрации органических компонентов молока 283
- Nišavić J. Milić N.: Ispitivanje hemadsorpcionih svojstava glikoproteinskih HN i F antigena spoljašnjeg omotača virusa Newcastle bolesti *in vitro*
Investigations of Hemadsorption Characteristics of Glycoprotein HN and F Antigens of Newcastle Disease Virus Envelope *In vitro*
Испытание хемадсорбционных свойств гликопротеиновых HN и F антигенов наружной оболочки вируса ньюкасла болезни, *in vitro* 299
- Šabanović M., Mutavelić T., Suljkanović A., Lazarević M.: Utjecaj aplikacije gonadorelina u puerperiju na reproduktivne parametre krava
Influence of Puerperal Gonadoreline Application on Reproductive Parametar Values in Cows
Влияние аппликации гонадорелина в пуэрперии на репродуктивные параметры коров 305

■ Prodanov Jasna, Došen R., Valčić M., Polaček V., Petrović T., Lazić S.: Ispitivanje uticaja kolostralnih antitela na razvoj patomorfoloških promena posle eksperimentalne infekcije prasadi virusom klasične kuge svinja Investigations of Influence of Colostral Antibodies on Development of Pathomorphological Changes Following Experimental Infection of Piglets with Classical Swine Plague Virus Испытание влияния колостральных антител на развитие патоморфологических изменений экспериментальной инфекции поросят вирусом классической чумы свиней	323
■ Živojinović S., Radojičić Sonja, Živojinović Milena, Kirćanski Jasmina: Ispitivanje rasprostranjenosti bruceloze pasa izazvane bakterijom <i>Brucella canis</i> na teritoriji opštine Požarevac Investigations of Spread of Canine Brucellosis Caused by <i>Brucella Canis</i> in Territory of Municipality of Požarevac Испытание распространённости бруцеллёза собак, вызванного с <i>Brucella canis</i> на территории общины Пожаревац	337
■ Obradović S., Vukašinović Marija, Šekler M., Rajković M., Kosanović Nada: Primena preparata na bazi zeolita u ishrani riba <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum) i njegov uticaj na morfometrijske karakteristike Adding Zeolite „Minazel-plus” in Feeding <i>Oncorhynchus Mykiss</i> (Walbaum) and Its Influence on Morphometrical Characteristics Применение zeolita „Миназель-плюс” в кормлении <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum) и его влияние на морфометрические характеристики	345
■ Obradović S., Vukašinović Marija, Šekler M., Rajković M., Kosanović Nada: Pобољшanje kvaliteta ribnjačke vode primenom prirodnih zeolita i dinamika adsorpcije hidroloških toksikanata Quality Improvement of Fishery Water Using Natural Zeolite and Dynamics of Adsorption of Hydrological Toxicants Улучшение качества рыбьей воды применением природных zeolitов и динамика адсорбции гидрологических токсикантов	357
STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ	
■ Pušić I., Đuričić Bosiljka, Lazić S., Došen R., Prodanov Jasna: Putevi prenošenja i širenja virusa Aujeszkijeve bolesti na mesojede Pathways for Transfer and Spreading of Aujeszkij's Disease to Carnivora Пути перенесения и расширения вируса Ауески болезни на мясоядные	369
■ Pavlović I., Kulišić Z., Đurđević S., Mišić Zorana, Momčilović Jana, Krstić D.: Uloga pasa u kontaminaciji urbane sredine uzročnicima parazitskih zoonoza Role of Dogs in Contamination of Urban Environment with Causes of Parasitic Zoonoses Роль собак в контаминации градостроительной среды возбудителями паразитарных зоонозов	377

■ Petrović T., Lazić S., Kapetanov M., Velhner Maja: Molekularna dijagnostika virusa avijarne influence Molecular Diagnostics of Avian Influenza Virus Молекулярная диагностика вируса авиарной инфлюэнцы	385
■ Stojiljković D., Aleksić Nevenka, Kulišić Z., Nikolovski-Stefanović Zorica, Mišić Zorana: Demodikoza pasa na teritoriji grada Niša Canine Demodicosis in Territory of City of Niš Демидоккоз собак на территории города Ниша	397

STRUČNI PRIKAZI – PROFESSIONAL REVIEWS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ ПРИКАЗЫ

■ Hadži-Milić M.: Dijagnostika prednjeg segmenta oka kod pasa i mačaka Diagnostics of Anterior Eye Segment in Cats and Dogs Диагностика переднего сегмента глаза у собак и кошек	407
■ Marković Maja, Palić Ksenija: Prirodni neprijatelji riba kao uzrok ekonomskih gubitaka na ribnjacima Natural Enemies of Fish as Cause of Economic Losses in Fish Ponds Естественные враги рыб как причина экономических убытков на прудах	417

VESTI VKS – NEWS VCS – ВЕСТИ ВКС	423
KALENDAR – CALENDER – КАЛЕНДАР	425
PRIKAZI KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ	427
DOKTORI, MAGISTRI I SPECIJALIZANTI – DOCTORS OF SCIENCE, MAGISTERS OF SCIENCE AND SPECIALISTS – ДОКТОРЫ, МАГИСТРЫ И СПЕЦИАЛИЗАНТЫ	429
DIPLOMIрани STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	431

AKTUELNI KONCEPT KONTROLE KOKCIDIOZE PILIĆA* *TOPICAL CONCEPT OF COCCIDIOSIS CONTROL IN CHICKENS*

S. M. Petričević, Tamara Ilić, Sanda Dimitrijević**

Kokcidioza je najznačajnije parazitsko oboljenje živine u savremenim sistemima uzgoja i iskorišćavanja njihovih proizvodnih potencijala. Najčešće prouzrokuje značajne ekonomske štete, bilo da je ispoljena u kliničkom ili supkliničkom obliku. Uporedo sa industrijalizacijom u živinarstvu, razvijale su se i mere kontrole kokcidioze, tako da je danas preventiva ovog oboljenja zasnovana na četiri osnovna principa: zoohigijena, genetika, primena antikokcidijalnih lekova i vakcinacija.

U preventivi kokcidioze hemioprofilaksa je najzastupljenija, kao veoma efikasna mera. Kod nas se najčešće primenjuju jonoforni antibiotici, amprolium, halofuginon i sulfonamidi. Međutim, primena lekova u kontroli kokcidioze ima kao posledicu i neke neželjene efekte, od kojih su najvažniji toksičnost, inkompatibilnost sa drugim lekovima ili hemijskim supstancijama, rezistencija kokcidija i prisustvo rezidua u tkivima živine. Značaj imunizacije živine radi zaštite od štetnih posledica koje izaziva ova protozooza, poznat je unazad nekoliko decenija. Primena vakcine protiv kokcidioze nalazi u svetu svoj praktični značaj tek u poslednjoj deceniji, kada je i pri Komisiji Evropske unije donet petogodišnji plan izučavanja kokcidioze i njene kontrole vakcinacijom. U našoj zemlji registrovane su za upotrebu u veterinarskoj medicini dve vakcine, čija praktična primena još uvek nije u potpunosti zaživela.

Svaka od navedenih mera kontrole podrazumeva i izvesne nedostatke. Moguće kombinacije metoda kontrole kokcidioze, pružaju efikasniju zaštitu.

Ključne reči: kokcidioza, živina, hemioprofilaksa, vakcine

* Rad primljen za štampu 27. 11. 2006. godine

** Dr Saša M. Petričević, Galenika a.d., Institut za istraživanja i razvoj, Beograd; dr Tamara Ilić, dr Sanda Dimitrijević, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

U savremenom žvinarstvu najveći značaj imaju parazitoze digestivnog trakta, posebno oboljenja protozoarne etiologije. Kao najznačajnija protozoa, izdvaja se kokcidioza, s obzirom na velike ekonomske štete izazvane uginućem, slabijim prirastom i negativnim uticajem na konverziju hrane, kao i visoke troškove lečenja i sprovođenja zoohigijenskih mera. Realne troškove, koje ova bolest prouzrokuje veoma je teško ekonomski tačno definisati, posebno kada se radi o supkliničkom toku, koji je često nedijagnostikovao, praćen lošim proizvodnim performansama, koje se pripisuju drugim uzrocima. Zbog gubitaka, koji su kod cecalne kokcidioze ponekad izrazito visoki (od 49 do 71%), dovodi se u pitanje i dalji tok proizvodnog procesa.

Danas, preventiva kokcidioze se zasniva na četiri principa: zoohigijenskim merama, genetici, selekciji, primeni antikokcidijalnih lekova i imunoprofilaksi [22, 26]. Zoohigijenske mere, genetika i selekcija predstavljaju osnov kontrole zdravstvenog stanja životinja, ali još jedan duži vremenski period ove mere neće moći da izađu iz okvira opštih profilaktičkih mera i da dobiju značajniju dimenziju, koju imaju hemioprofilaksa i imunoprofilaksa [20, 26, 27]. Najučestalija metoda terapije i preventive kokcidioze, i kod nas i u svetu, je primena lekova. Primena standardnog antikokcidijalnog programa je ograničena iz nekoliko opravdanih razloga: mogućnost razvoja potpune ili parcijalne rezistencije na primenjene lekove, potencijalni neželjeni efekti, usporen i veoma skup proces sinteze novih antikokcidijala i činjenica da neki antikokcidijali ostavljaju rezidue u živinskom mesu i jajima, što bitno umanjuje njihovu upotrebnu vrednost. Upravo zbog toga, jedina ozbiljna praktična alternativa primena antikokcidijala u kontroli kokcidioze jeste imunoprofilaksa, kao i opredeljivanje za druge vidove preventive.

Svaka od navedenih mera kontrole pokazuje i izvesne nedostatke. Moguće kombinacije metoda kontrole kokcidioze, pružaju efikasniju zaštitu.

Usavršavanjem tehnologije gajenja i uvođenjem delotvornije profilakse, štete su svedene u okvire tehnoloških normativa, a uginuća od cecalne kokcidioze su znatno smanjena.

Hemioprofilaksa kokcidioze / Hemophylaxis of coccidiosis

I. Antikokcidijalni lekovi / Anticoccidial drugs

Najčešći način preventive kokcidioze kod nas je korišćenje lekova, češće u hrani nego u vodi za piće. Prema načinu delovanja na razvojne oblike kokcidija, postoje dve klase lekova protiv ovih protozoa: kokcidiostatici – lekovi koji samo zaustavljaju ili inhibišu rast intracelularnih kokcidija i kokcidocidi – lekovi koji razaraju kokcidije u nekoj od faza njihovog endogenog razvoja. Najveći broj lekova koji su danas u upotrebi, su kokcidocidi. Kod naučnika i veterinaru u praksi postoji dosta zabune oko termina „kokcidiostatic“ i „kokcidocid“. Većina

antikokcidijala su kokcidiocidi, ili u početku kokcidiostatici, a zatim kokcidiocidi. Uvek, kada postoji nedoumica, najbolje je da se upotrebi termin antikokcidijal.

Sintetisanjem sulfonamida i otkrivanjem njihovog kokcidiostatskog efekta započela je efikasna kontrola kokcidioze [19]. Od tada do danas u profilaksi kokcidioze se koristilo mnogo hemijski sličnih jedinjenja, čija je primena imala za cilj da se adekvatno deluje na uzročnike oboljenja, a da pri tom ne dođe do ispoljavanja neželjenih efekata [2, 12, 23].

Najšire primenjivani lekovi za kontrolu kokcidioze pilića u SAD i Evropi su polietarski jonoformni antibiotici. Prvi predstavnik iz ove grupe je monensin, uveden u upotrebu 1971. godine. Polietarski jonoformi imaju kvantitativno-selektivnu aktivnost, koja se ogleda u aktivnom transportovanju alkalnih metalnih katjona kroz ćelijsku membranu. Ovakav mehanizam delovanja utiče da kokcidije tek posle više godina postaju tolerantne ili potpuno rezistentne na ovu grupu lekova. Prema jonoformima kokcidije razvijaju parcijalnu rezistenciju i to je osnovni razlog zašto je posle desetak godina njihove primene i relativno niske prevalencije kokcidioze, pojavljivanje ovog oboljenja zapaženo u značajnom procentu [8, 10, 26].

Najnovijoj generaciji antikokcidijala pripadaju jedinjenja benzen-triazinona (diklazuril i toltrazuril), koji se hemijski ne podudaraju sa drugim lekovima, što obezbeđuje dobru alternativu za dugoročniju primenu [18]. Diklazuril je u Evropi uveden u upotrebu 1992. godine i pokazao se kao najbezbedniji za upotrebu, sa karencom od nula dana [27].

II. Racionalna primena antikokcidijala / Rational implementation of anticoccidial drugs

Osnovu racionalne terapije kokcidioze čine brzo i precizno postavljena dijagnoza i pravovremeno upotrebljen odgovarajući lek. Najveću efikasnost svi lekovi ispoljavaju ukoliko se primene već prvog dana infekcije, odnosno najkasnije dva do tri dana posle infekcije. Lek treba da se primeni u odgovarajućoj dozi, na odgovarajući način i u određenom vremenskom periodu. U terapiji se inicijalno poštuje pravilo primene udarne doze leka. Prvog dana terapije primenjuje se dvostruka terapijska doza, čime se povećava uspeh terapije.

Dalji tok terapije podrazumeva primenu propisane doze leka. Dužina tretmana zavisi od: vrsta kokcidija koje su prouzrokovale oboljenje i njihove osetljivosti, od vrste i karakteristika primenjenog farmaceutskog sredstva i stanja organizma domaćina. Terapija kokcidioze traje do prestanka ispoljavanja kliničkih simptoma i još dva dodatna dana. Ako se terapija sprovodi preparatima iz grupe sulfonamida ona traje tri dana, zatim sledi dva do tri dana pauze i opet tri dana terapije. Kontinualni petodnevni tretman se ređe primenjuje. Ukoliko se tokom prva tri dana terapije ne ustanovi poboljšanje kliničkog stanja, treba da se prekine terapija i nastavi lekom iz druge farmakološke grupe. Iako se tokom infekcije smanjuje konzumacija vode (nasuprot ranijem mišljenju da ona raste) najdelotvornije je da se terapija sprovodi putem vode za piće [23, 29].

Pored specifične terapije antikokcidijalnim lekovima preporučuje se potporna terapija vitiminima i mineralima. Posebna pažnja se obraća na vitamin A, koji pomaže regeneraciju tkiva, odnosno vitamine K i C, koji imaju pozitivne efekte na krvarenje i vaskularizaciju [1].

Svojim parazitizmom kokcidije u crevu pilića izazivaju opsežnu destrukciju sluznice i podsluznice, čime se stvaraju povoljni uslovi za naseljavanje i razmnožavanje različitih mikroorganizama (na primer, klostridija), koji mogu da komplikuju stanje. Primena antibiotika radi sprečavanja komplikacija, nije uobičajena prilikom terapije kokcidioze, ali se, po potrebi, ovi preparati mogu da uključe. Ukoliko se u terapiji koriste sulfonamidi, zbog širine njihovog spektra dejstva ovaj „dodatni tretman” nije uvek neophodan [6].

III. Neželjena dejstva antikokcidijala /

Undesired effects of anticoccidial drugs

Najčešći neželjeni efekti antikokcidijala su toksičnost, inkompatibilnost sa drugim lekovima ili hemijskim supstancijama i rezistencija.

Upotreba lekova uvek je povezana i sa izraženim problemom toksičnosti, i to u određenoj dozi, vremenu korišćenja ili za određenu vrstu živine. Prvi simptomi trovanja su porast konverzije hrane i depresija rasta, a javljaju se već u dozama koje su veće 1,5 puta za aprinocid, halofuginon i salinomycin; 1 do 2 puta za monenzin; 2 puta za lasalocid i 2,5 puta za nikarbazin, od preporučenih [2]. Dužina korišćenja, kao faktor toksičnosti, izražena je kod sulfonamida, posebno u terapijskim dozama. Terapija koja traje duže od dve nedelje vodi u toksičnost, zbog pojave pojačane acetilizacije u jetri i kristalizacije u urinarnom traktu [21]. Toksičnost vezana za osetljivost vrste ispoljava se pri upotrebi jonoformnih antibiotika kod ćurića, a posebno kod misirčića. Toksičnost sulfonamida je više izražena kod pilića, nego kod ćurića i misirčića [24].

Slučajevi inkompatibilnosti, odnosno nepodnošljivosti kombinacije lekova, poseban su problem koji se javlja pri medikaciji živine. Kontinualna primena antikokcidijala u tovu ili odgoju živine je faktor koji se (upravo zbog mogućnosti inkompatibiliteta), uvek mora da uzme u obzir kod korišćenja lekova iz drugih grupa, u smislu programske primene (profilaksa) ili terapije. Problem inkompatibilnosti posebno je izražen kada su u pitanju jonoformni antibiotici, a kao primer najčešće se navodi odnos jonoform-tiamulin. Tiamulin ometa metabolizam i izlučivanje jonoformi i time povećava njihovu toksičnost, koja se u tim slučajevima ispoljava već u preporučenim profilaktičkim dozama. Vremenom je utvrđeno da je interakcija tiamulina sa različitim jonoformima različito ispoljena. Inkompatibilan je sa salinomycinom, monenzinom i narazinom, a kompatibilan sa lasalocidom i semduramicinom. Stavovi o njegovoj kompatibilnosti sa maduramicinom su oprečni, iako se kombinacija ova dva leka preporučuje kao kompatibilna (maduramicin u dozi od 5 ppm u hrani je kompatibilan sa tiamulinom u dozi od 125 do 250 ppm u vodi za piće, tokom tri do pet dana) [13].

Efikasnost hemo-profilakse je ograničena pojavom rezistencije kokcidija na primenjene lekove. Razvoju rezistencije doprinosi i činjenica da se živina mora kontinualno da tretira kokcidiostaticima. Dovoljno je da samo nekoliko sporozoita izbegne dejstvo preventivne primene leka, jer tada započinje aseksualni ciklus endogenog razvoja parazita, koji kulminira razvojem nekoliko hiljada rezistentnih parazita. Supstancija sa kokcidiocidnim delovanjem, deluje na kasnije stadijume šizogonije i pouzdanije suzbija razvoj brze rezistencije. Sa izuzetkom jonoformnih antikokcidijala, protiv kojih je do sada zapažena samo parcijalna rezistencija, prema svim ostalim raspoloživim lekovima moguć je razvoj totalne rezistencije.

Protozoe prema lekovima koji su za njih toksični, reaguju razvojem progresivne tolerancije. Ovaj vid tolerancije je zasnovan na mutaciji i stvaranju rezistentnih sojeva, najčešće kao posledica korišćenja antikokcidijala u suboptimalnoj dozi, tokom dužeg perioda [8, 21, 26]. Stvaranje rezistentnih sojeva kokcidija može da usledi već posle sedam pasaža, a često se javlja i ukrštena rezistencija, uglavnom između bliskih grupa jedinjenja. Otpornost na lekove je genetski fenomen i jednom uspostavljena, kod izvesnih linija kokcidija potrajaće više godina ili će nestati pod uticajem selekcije i genetske izmene, koji deluju na taj način što vraćaju osetljivost u populaciju [10].

Strategija profilakse kokcidioze primenom lekova podrazumeva, pored pravilne upotrebe – doziranja, zamenu korišćenog leka drugim posle završenog jednog, ređe više proizvodnih ciklusa („switching” ili rotacioni program), odnosno tokom jednog proizvodnog ciklusa živine u razmaku od jedne do tri nedelje („shuttle” program). Primena „switching” programa uobičajena je u slučajevima brojerskog tova, jer kratak proizvodni ciklus (5-7 nedelja) ne zahteva promenu korišćenog leka. Zamena korišćenog leka se obavlja narednim proizvodnim ciklusom (turnusom). Međutim, tokom odgoja podmlatka nosilja (priplodnih i/ili komercijalnih jaja), koji traje znatno duže (17-22 nedelje), stvaraju se povoljni uslovi za razvoj rezistencije kokcidija na korišćeni lek i izbijanje klinički manifestovanog oboljenja, što uslovljava potrebu zamene antikokcidijala u toku samog proizvodnog ciklusa, što i jeste osnova „shuttle” programa. Zamena leka izvodi se najčešće posle isteka 6-8 nedelja njegovog korišćenja [26].

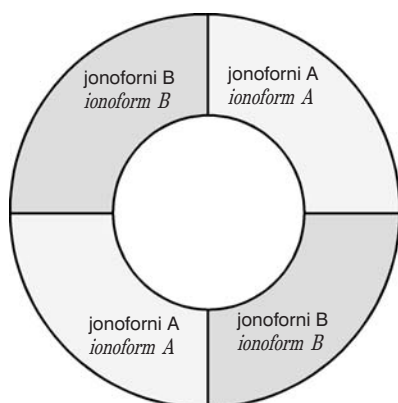
Lekovi koji se smenjuju bilo u „shuttle” ili „switching” programu treba da imaju sopstvene mehanizme delovanja, odnosno da pripadaju različitim hemijskim, tj. farmakološkim grupama lekova. Najčešće su u programe uključene smene jonoformni antibiotici sa nekim drugim antikokcidijalima, kao što su, na primer, diklazuril, halofuginon ili amprolijum. Mogućnosti kombinacija su veoma velike i praktično su ograničene izborom antikokcidijala na tržištu, a zatim i rezistencijom prisutnih sojeva kokcidija.

Programska primena antikokcidijala je moguća u više prihvatljivih modela smene, gde je, osim lekova, moguće i uključivanje vakcine.

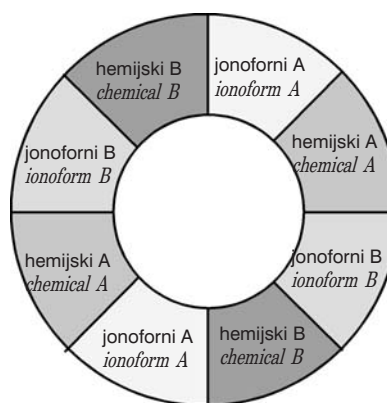
Model 1 programa kontrole je na prvi pogled kontradiktoran, jer podrazumeva smenu unutar jedne grupe – jonoformnih antibiotika. Međutim, smena je

moгуća, jer iako je mehanizam delovanja isti, ciljni joni nisu isti za sve lekove iz ove grupe, tako da će grupi A pripadati takozvani monovalentni jonofori (izražena aktivnost prema jednovalentnim jonima: Na, K, Rb, Cs i Li): maduramicin, monenzin, narazin ili salinomycin, dok će drugoj, tj. grupi B pripadati lasalocid, kao takozvani dvovalentni jonofor (izražena aktivnost i prema dvovalentnim jonima: Ba, Ca i Mg). Broj uzastopnih ciklusa jonofora iz grupe A ne treba da bude veći od tri, odnosno dva za lekove iz grupe B (shema 1).

Drugi model je naočigled logičniji i šire prihvaćen kod nas, a podrazumeva smenu jonofornih i takozvanih hemijskih antikokcidijala. Naime, ciklus jonofora iz grupe A (jednovalentni), sledi hemijski iz grupe A, zatim jonofor iz grupe B (dvovalentni) i hemijski iz grupe B. Ovde treba da se ima u vidu da hemijski antikokcidijali nisu podeljeni u dve različite grupe, već je na ovom mestu prikazana podela radi ukazivanja na primenu lekova iz različitih hemijskih grupa (na primer, hemijski A je diklazuril, dok je hemijski B nikarbazin). Trajanje uzastopnih ciklusa pojedinih lekova ne treba da bude duže od tri za jonofore iz grupe A, dva za jonofore grupe B, odnosno jedan za hemijske antikokcidijale. Model može da traje, npr. dva ovakva ciklusa, pri čemu je poželjno da se u sledećem ciklusu koriste lekovi iz drugih hemijskih grupa [31] (shema 2).



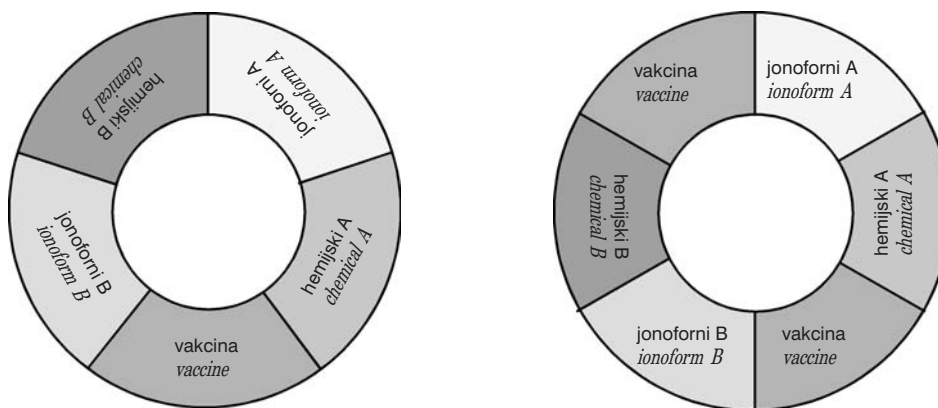
Model 1: jonoforni – jonoforni /
Model 1: ionoform – ionoform
Shema 1. Model 1 programa kontrole
kokcidioze /
Schematic presentation 1. Model 1 of
coccidiosis control programme



Model 2: jonoforni – hemijski /
Model 1: ionoform – chemical
Shema 1. Model 1 programa kontrole
kokcidioze /
Schematic presentation 2. Model 2 of
coccidiosis control programme

Model 3 i 4 podrazumevaju kombinaciju primene lekova i vakcine. Posebna pažnja treba da se usmeri na činjenicu da je ovakva kombinacija moguća i daje dobre rezultate, jer se u živinarniku obavlja repopulacija rezistentnih sojeva vakcinalnim, tj. osetljivim, te je efikasnost ovih modela velika. Uzastopni

ciklusi primene lekova su isti kao u prethodno pomenutim modelima, dok se vakcina koristi u najviše dva uzastopna ciklusa [5] (shema 3).



Shema 3. Model 3 i 4: jonoformi – hemijski – vakcina
Schematic presentation 3. Model 3 and 4: ionoform - chemical - vaccine

Važno je da se naglasi da je izrada programa prema nekom od modela, kao i konkretan izbor pojedinog leka uslovljen, osim prethodno pomenutim uslovima, i procenom u svakom konkretnom slučaju.

Pored korišćenja različitih programa primene lekova, neophodno je strategiju borbe protiv rezistencije kokcidija proširiti i stalnim monitoringom jata i testiranjem osetljivosti terenskih sojeva kokcidija [27].

Antikokcidijalni lekovi mogu da pokažu i druge vidove neželjenih dejstava, kao što su fetotoksičnost i genotoksičnost [9].

Imunoprofilaksa kokcidioze / Immunoprophylaxis of coccidiosis

Trend proizvodnje zdrave hrane neminovno nameće novi pristup u strategiji borbe sa kokcidiozom, koji se zasniva na iskorišćavanju prirodnih odbrambenih snaga organizma, tj. na imunoprofilaksi. Istraživanja o mogućnosti imunoprofilakse kokcidioze započela su radom Johnsona [16], koji je prvi dokazao da se tokom infekcije pilića izazvane kokcidijama razvija specifičan imunitet. Međutim, prva komercijalna vakcina – Coccivac TM (Sterwin Laboratories Inc.) pojavila se na američkom tržištu tek 1952. godine.

Imunitet protiv kokcidioze veoma je kompleksan i zavisi od velikog broja činilaca. Jedino žive kokcidije su sposobne da domaćina podstaknu na stvaranje adekvatne imunske zaštite. Kokcidije iz roda *Eimeria*, koje su glavni prouzrokovatori kliničkog i supkliničkog oboljenja kod kokošaka, poseduju različit imunogeni potencijal. Najveći stepen imunogenosti ispoljavaju vrste *E. maxima* i *E. brunetti*. *E. acervulina*, *E. mitis* i *E. praecox* su srednje imunogene, a najpato-

genije vrste - *E. necatrix* i *E. tenella* su i najslabije imunogene vrste kokcidija kokošaka [10]. Unakrsni imunitet između vrsta ne postoji. Između pojedinih sojeva i linija kokcidija postoje značajne antigene varijacije, a najočigledniji primer je uzročnik *E. maxima* [11]. Dokazano je da je zaštitni imunski odgovor domaćina na infekciju kokcidijama dominantno celularne prirode [15, 17, 25], ali da značajnu ulogu u imunitetu protiv kokcidioze imaju i serumska antitela, koja se stvaraju tokom infektivnog perioda [7].

Ponovljena primena vakcine obezbeđuje kontrolu, ali ne i iskorenjivanje kokcidioze, jer se solidan imunitet jata (izražen kroz potpunu supresiju proizvodnje oocista), obično ne postiže u praktičnim uslovima. S obzirom na karakteristike razvoja imuniteta kod pilića, vakcinacija protiv kokcidioze se dominantno sprovodi kod roditeljskog podmlatka pilića ili podmlatka komercijalnih nosilja, a veoma retko kod ćurića [14].

Na svetskom tržištu trenutno se nalaze navedene vakcine protiv kokcidioze kokošaka i ćuraka:

VIRULENTNE VAKCINE / VIRULENT VACCINES:

1. **Coccivac D** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. praecox* i *E. tenella*;

2. **Coccivac B** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* i *E. tenella*;

Vakcina Coccivac se aplikuje putem hrane i vode za piće, u sprej-kabini i individualno - okularnom metodom, jednodnevnim pilićima.

3. **Immucox I** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix* i *E. tenella*;

4. **Immucox II** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix* i *E. tenella*;

5. **Immucox T1** – sadrži oociste *E. meleagriditis* i *E. adenoides*.

Vakcina Immucox se aplikuje putem jestivog gela, u periodu između 3 i 14 dana uzrasta.

AVIRULENTNE VAKCINE / AVIRULENT VACCINES:

1. **Paracox** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. praecox* i *E. tenella*;

2. **Paracox 5** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* i *E. tenella*;

Vakcina Paracox se aplikuje putem hrane i vode za piće, u periodu između 5-9 dana uzrasta.

3. **Livacox T** – sadrži oociste *E. acervulina*, *E. maxima* i *E. tenella*;

4. **Livacox D** – sadrži oociste *E. acervulina* i *E. tenella*.

Vakcina Livacox se aplikuje putem vode za piće, u periodu između 7 i 10 dana uzrasta.

Virulentne vrste vakcina sadrže mešavinu prirodnih sojeva *Eimeria*. Broj oocista u dozi ovih vakcina obezbeđuje da se stvori zadovoljavajući imunitet, bez ispoljavanja patogenih efekata. Atenuisane vakcine sadrže mešavinu oocista slabo virulentnih ili avirulentnih sojeva kokcidija. Zbog uskog specijes – specifičnog imuniteta, koji je karakterističan za *Eimeria* spp., u vakcine je neophodno uvrstiti sve vrste protiv kojih se želi da obezbedi imunitet. Vakcine koje se koriste za zaštitu podmlatka pilića roditeljskih jata i jata komercijalnih nosilja (na primer, Paracox), zbog dužine trajanja uzgojnog perioda treba da sadrže sve vrste kokcidija, koje su značajne za patologiju kokcidioze. Vakcine za brojlerske piliće (na primer, Paracox 5) ne moraju da sadrže sve vrste kokcidija, zbog toga što se neke ne javljaju ili se javljaju izuzetno retko kod tako mladih pilića (*E. brunetti*, *E. necatrix*), slabo su patogene (*E. praecox*) ili ne uzrokuju značajnije lezije u digestivnom traktu (*E. praecox*, *E. mitis*). Izučavanje i praćenje populacije kokcidija prisutnih u živinarstvu neophodno je da bi se utvrdile prisutne vrste, ali i sa aspekta utvrđivanja antigenog diverziteta. Poznato je da su različiti sojevi iste *Eimeria* vrste antigeno različiti i ne potenciraju stvaranje odgovarajućeg imunog odgovora. Zbog toga neke vakcine (na primer, Paracox) sadrže dva soja jedne vrste kokcidije – *E. maxima* [4].

Uzrast u kome će pilići biti vakcinisani protiv kokcidioze od velikog je praktičnog značaja. Za stvaranje imuniteta protiv kokcidioze, neophodno je da prođe jedan reproduktivni ciklus kokcidija, ali je za stvaranje solidnog imuniteta neophodna reinfekcija oocistama vakcinalnog soja [3], koje pilići izlučuju od 6. do 9. dana posle vakcinacije i obavljanje još najmanje jednog reproduktivnog ciklusa kokcidija („reciklaža“). Zato je veoma bitno da se za vreme vakcinacije (pre nego što se obavi „krug reciklaže“) ne preseljavaju pilića, niti proširuje prostor u kome su naseljeni. Takođe, iz praktičnih razloga potrebe i mogućnosti „reciklaže“, ne vakcinišu se pilići koji se gaje u kavezima ili na žičanim podovima, već samo na dubokoj prostirci.

Za vreme stvaranja imuniteta neophodno je da se primenom zoonigijenskih mera minimizira mogućnost infekcije „divljim“ sojevima kokcidija, kako se ne bi izgubio smisao vakcinacije. Pošto incidencija pojavljivanja kokcidioze kod pilića raste počevši od treće nedelje njihovog života, vakcinaciju je najbolje obaviti tokom prve nedelje života pilića. Iako imuni sistem pilića tokom prvih dana života nije dovoljno izgrađen, vakcinacija pilića u inkubatorskim stanicama se pokazala kao veoma uspešna [28].

Postoji veliki broj istraživanja koja potvrđuju povoljnost primene vakcine u borbi protiv kokcidioze. Williams [29] kod brojlerskih pilića (Cobb hibrid) vakcinisanih Paracox vakcinom, nakon završetka tova koji je trajao 54 dana, utvrđuje 10,4 posto veću prosečnu telesnu masu, 7,2 posto manju konverziju hrane i 44,4 posto niži mortalitet, nego kod nevakcinisane kontrolne grupe pilića (tretirane nikarbazinom kao antikokcidijalom). Williams i sar [30] nalaze da ne postoje značajne razlike u ceni ishrane, broju uginuća i postotku odbačenih trupova, između vakcinisanih pilića i pilića pod hemioterapeutskom kontrolom, u

tovu koji je trajao od 46 do 53 dana. Razlika se ogledala u tome što je kod pilića pod hemioterapeutskim tretmanom konverzija hrane bila niža, dok je kod vakcinisanih pilića bila niža smrtnost.

Vakcinacija brojlera protiv kokcidioze, s obzirom na kratak period gajenja, još uvek nije u potpunosti zaživela, mada su proizvedene komercijalne vakcine sa ovom namenom (Paracox 5 - Shering Plough). Naime, telesna masa vakcinisanih pilića u tovu do 42 dana je nešto manja od kontrolnih (koji nisu vakcinisani), a putem hrane su dobijali neki antikokcidijal radi preventive kokcidioze. Zbog toga se, za sada, uglavnom primenjuje vakcina kod pilića u produženom tovu (do 2,3 kg telesne mase). Takođe, treba da se ima u vidu trend proizvodnje zdrave hrane, koji metoda imunoprofilakse kokcidioze u potpunosti obezbeđuje, nasuprot hemioprofilaksi [30].

U svetu, danas se potencira korišćenje živih atenuisanih vakcina, koje sadrže prerano sazrele sojeve kokcidija, u odnosu na virulentne vakcine [5]. Takođe, obavljaju se intenzivna istraživanja u pogledu stvaranja odgovarajućih rekombinantnih vakcina, kao i na polju izučavanja zaštite pilića maternalnim antitelima. Iako je ova pasivna imunizacija putem maternalnih antitela još uvek u domenu laboratorijskih istraživanja, pridaje joj se sve veći značaj. Zato se dalji razvoj ove oblasti i zasniva na pretpostavci da postoji mogućnost rane zaštite potomstva (praktično od prvog dana života) i činjenici da se imunizovanjem jedne jedinke roditelja, štiti i do 150 pilića [25]. Anti-idiotipske vakcine neosporno otvaraju nove mogućnosti u imunoprofilaksi kokcidioze, ali su još uvek preskupe i dešava se da nisu dovoljno imunogene. Ovaj tip imunizacione strategije bi ubudućnosti mogao biti iskorišćen za savladavanje izvesnih genetičkih prepreka, čije bi eliminisanje bilo od velikog značaja za ostvarivanje drugih vakcinacionih programa.

Literatura / References

1. Allen C. Patricia i sar: Dietary modulation of avian coccidiosis. *International journal for Parasitology*, 28, 1131-1140, 1998.
2. Braunius W. W.: Coccidiosis control: current status concerning preventive and therapeutic possibilities. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 119, 16, 463-465, 1994.
3. Chapman H. D., Cherry T. E.: Eye spray vaccination: infectivity and development of immunity to *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella*. *Journal of Applied Poultry Research*, 6, 274-278, 1997.
4. Chapman H. D.: Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. *Worlds Poultry Science Journal*, 56, 1, 7-20, 2000.
5. Chapman H. D. i sar: Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. *International journal for Parasitology*, 32, 617-629, 2002.
6. Coombs G. H., Muller S.: Recent advances in the search for new anti-coccidial drugs. *International journal for Parasitology*, 32, 497-508, 2002.
7. Crane M. C. i sar: Passive protection of chickens against *Eimeria tenella* infection by monoclonal antibody. *Infection and Immunology*, 56, 4, 972-976, 1998.
8. Dimitrijević Sanda: Kokcidioza živine i načini preveniranja. *Živinarstvo*, 32, 4-5, 99-101, 1997.
9. Dimitrijević Sanda, Savovski K., Dimitrijević B.: Genotoxicity of anticoccidial agent salinomycin. *Acta Veterinaria*, 48, 245-254, 1998.
10. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara: Najvažniji aspekti imunogenosti *Eimeria spp.* *Veterinarski glasnik*, 57, 7-8, 505-508, 2003.
11. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara: Biohemijske i imu-

nološke karakteristike kokcidijalnih antigena. 17. savetovanje veterinara Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 223-224, Zlatibor 7.-10. septembar, 2005. - 12. Foltz S. D. i sar: Anticoccidial evaluation of halofuginone, lasalocid, maduramicin, monensin and salinomycin. *Veterinary Parasitology*, 28, 1-2, 1-9, 1988. - 13. Fowler N. G.: *Anticoccidial compendium*. Janssen Animal Health, Belgium, 1995. - 14. Gančić M., Petričević S. M.: Savremeni pogledi na važnija oboljenja ćuraka. *Živinarstvo*, 6, 132-139, 1998. - 15. Ilić Tamara, Knežević Milijana, Dimitrijević Sanda, Nešić V., Aleksić-Kovačević Sanja: Study of the distribution of CD3-T lymphocytes in caeca of chickens experimentally infected with *Eimeria tenella*, *Acta Vet.*, 53, 5-6, 385-391, 2003. - 16. Johnson W. T.: Immunity or resistance of the chicken to coccidial infection. *Ore. Agr. Exper. Sta. Bull.* 230, 1927. - 17. Lillehoj H. S.: Coccidia: a review of recent advances on immunity and vaccine development. *Avian Pathology*, 22, 3-31, 1993. - 18. Mathis G. F. i sar: Coccidiosis control by administering toltrazuril in the drinking water for a 2-day period. *Veterinary Parasitology*, 121, 1-9, 2004. - 19. Pellerdy L.: Coccidia and coccidiosis. *Academia Kiado*, Budapest, 1974. - 20. Pinard-van der Laan M. H. i sar: Comparison of outbreed lines of chicken for resistance to experimental infection with coccidiosis (*Eimeria tenella*). *Poultry Science*, 62, 2, 175-178, 1998. - 21. Petričević S. M.: Gotovi lekovi za živinu sa osnovama medikacije. Veterinarska stanica, Kruševac, 1998. - 22. Petričević S. M. i sar: Kritički osvrt na aktuelne preventivne mere protiv kokcidioze živine. *Nauka u žvinarstvu*, 3, 3-4, 479-490, 1998. - 23. Petričević S. M., Kaluđerović V.: Peroral medication of poultry, Abstracts - VII Macedonian Poultry Days, 10.-13. May, Ohrid, Macedonia, 72-73, 2000. - 24. Sakar D.: Upotreba i toksičnost jonoformnih antibiotika. *Praxis veterinaria*, 39, 195-207, 1991. - 25. Shirley M. W.: Coccidiosis research - COST effective. *Parasitology Today*, 11, 3, 479-499, 1995. - 26. Trees A. J.: Coccidiosis. U F.T.W. Jordan i M. Pattison (ed.): *Poultry Diseases*, W.B. Saunders Co., London-Tokyo, 261-276, 1996. - 27. Verkommen M. H.: Strategies for coccidiosis control. *Poultry International*, 11, 42-52, 1994. - 28. Vermeulen A. N. i sar: Control of coccidiosis in chickens by vaccination. *Veterinary Parasitology*, 100, 13-20, 2001. - 29. Williams R. B.: Safety of the anticoccidial vaccine "Paracox" in broiler chickens isolated from extraneous coccidial infection. *Veterinary Research Communications*, 18, 3, 189-198, 1994. - 30. Williams R. B.: A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *International Journal of Parasitology*, 29, 8, 1209-1229, 1999. - 31. Williams R. B., Gobbi L.: Comparison of an attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial drug programme in commercial broiler chickens in Italy. *Avian Pathology*, 31, 253-256, 2002.

ENGLISH

TOPICAL CONCEPT OF COCCIDIOSIS CONTROL IN CHICKENS

S. M. Petricevic, Tamara Ilic, Sanda Dimitrijevic

Coccidiosis is the most significant parasitic disease in poultry in contemporary systems of breeding and utilization of their production potentials. It usually inflicts substantial economic damage, regardless of whether it is exhibited in the clinical or subclinical form. In parallel with the industrialization in poultry breeding, measures for the control of coccidiosis have developed in parallel, so that the prevention of this disease today is founded on four basic principles: zoohygiene, genetics, the implementation of anticoccidial drugs, and vaccination.

Hemoprophyllaxis is the most represented in the prevention of coccidiosis, as a very efficient measure. In Serbia, ionoform antibiotics, amprolium, halofuginone and sulfonamides, are most often used. However, the application of medicines in coccidiosis con-

trol has as a consequence also certain undesired effects, of which the most important are toxicity, incompatibility with other drugs or chemical substances, coccidia resistance, and the presence of residue in poultry tissue. The significance of the immunization of poultry with the objective of their protection from the harmful consequences caused by this protozooz is has been known for several decades now. The implementation of a vaccine against coccidiosis has established its practical importance in the world only in the past decade, when the European Union Commission adopted a five-year plan for studies of coccidiosis and its control through vaccination. In our country, two vaccines have been registered for use in veterinary medicine, and their practical implementation has still not quite become regular practice.

Each of the listed control measures also implies certain faults, however. More efficient protection can be provided by possible combinations of the coccidiosis control methods.

Key words: Coccidiosis, poultry, hemoprophylaxis, vaccines

РУССКИЙ

АКТУАЛЬНЫЙ КОНЦЕПТ КОНТРОЛЯ КОКЦИДИОЗА ЦЫПЛЯТ

С. М. Петричевич, Тамара Илич, Санда Димитриевиц

Кокцидиоз - наиболее значительное паразитарное заболевание домашних птиц в современных системах разведения и использования их производственных потенциалов. Обычно причиняет значительные экономические ущербы, хотя проявлен в клинической или подклинической форме. Наряду с индустриализацией в птицеводстве, развивались и меры контроля кокцидиоза, так, что в настоящее время превентива этого заболевания основана на четыре хороших принципа: зоогигиене, генетике, применении антикокцидиальных лекарств и вакцинации.

В превентиве кокцидиоза химиопрофилактика наиболее представленная, как очень эффективная мера. У нас чаще всего применяются йонофорные антибиотики, ампролиум, халофугинон и сульфонамиды. Между тем, применение лекарств в контроле кокцидиоза имеет для последствия и некоторые нежелательные эффекты, из которых самые важные токсичность, инсовестимость с другими лекарствами или химическими супстанциями, сопротивление кокцидий и присутствие остатков в тканях домашних птиц. Значение иммунизации домашних птиц с целью охраны от вредных последствий, вызывающее эта протозоа, известно несколько десятилетий тому назад. Применение вакцины против кокцидиоза находит в мире своё практическое значение лишь в заднем десятилетии, когда при Комиссии Европейской Унии принят пятилетний план изучения кокцидиоза и его контроля вакцинацией. В нашей стране зарегистрированы для употребления в ветеринарной медицине две вакцины, чьё практическое применение всё ещё не полностью ожило.

Каждая из приведённых мер контроля подразумевает и известные недостатки. Возможные комбинации методов контроля кокцидиоза, оказывают более эффективную охрану.

Ключевые слова: кокцидиоз, домашняя птица, химиопрофилактика, вакцины

**PROCENA ENERGETSKOG STATUSA KRAVA U LAKTACIJI
ODREĐIVANJEM KONCENTRACIJE ORGANSKIH
SASTOJAKA MLEKA***

***ENERGY STATUS OF DAIRY COWS DETERMINED BY
BIOCHEMICAL ANALYSIS OF ORGANIC COMPONENTS OF MILK***

**H. Šamanc, Danijela Kirovski, B. Dimitrijević, I. Vujanac,
Z. Damnjanović, M. Polovina****

Validni pokazatelji energetskeg statusa krava su telesna kondicija, parametri metaboličkog profila, hormonalni status i organski sastojci mleka. Do sada korišćeni dijagnostički postupci su našli ograničenu primenu u svakodnevnoj praksi kako zbog svoje nedovoljne pouzdanosti (ocenjivanje telesne kondicije) ili neekonomičnosti (metabolički profil i hormonalni status krava). Energetski status krava holštajn-frizijske rase sa četiri farme procenjen je na osnovu koncentracije ureje, proteina i masti u mleku. Ispitivana su 62 uzorka mleka uzeta tokom jutarnje muže (11 sa farme A, 16 sa farme B, 15 sa farme C i 20 sa farme D). Sve krave su bile u prvoj fazi laktacije i hranjene obrocima preporučenim za tu kategoriju životinja. Prosečna koncentracija masti u svim uzorcima mleka bila je 23 ± 13 g/l, prosečna koncentracija proteina 29 ± 3 g/l, dok je prosečna koncentracija ureje bila $4,6 \pm 1,3$ mmol/l. Samo na osnovu vrednosti za koncentraciju masti u mleku mogao bi da se donese zaključak o sindromu snižene mlečne masti. Pored ovoga, grafički su prikazani odnosi koncentracije ureje i proteina, kao i koncentracije proteina i masti u pojedinačnim uzorcima mleka. Ovakva analiza je dala detaljniju sliku energetskeg stanja ispitivanih krava. Utvrđeno je da kod krava na farmi A postoji deficit energije i proteina, a kod krava na farmama B i C deficit energije uz relativni suficit proteina. Kod krava na farmi D je utvrđen deficit energije uz podjednak broj krava koje se nalaze u stanju deficita odnosno relativnog suficita proteina. Na osnovu dobijenih rezultata mogu da se daju prepo-

* Rad primljen za štampu 12. 12. 2006. godine

** Dr Horea Šamanc, red. profesor, dr Danijela Kirovski, docent, Blagoje Dimitrijević, asistent, mr Ivan Vujanac, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Zoran Damnjanović, NIC-Co.AGRAR, doo. Banatski Brestovac; mr Mladen Polovina, Veterinarska stanica, PKB korporacija

ruke za korekciju obroka i poboljšanje zdravstvenog stanja krava. U nedovoljno jasnim slučajevima, ovi parametri su određeni i u uzorcima večernje muže, odnosno u uzorcima mleka i jutarnje i večernje muže. Iz dobijenih rezultata proističe da je određivanje koncentracije ureje, masti i proteina u mleku pouzdan pokazatelj energetskog statusa krava, racionalan i finansijski prihvatljiv za svakog proizvođača, bez obzira da li se primenjuje na mini ili velikim farmama goveda.

Ključne reči: visoko mlečne krave, energetski status, sastojci mleka

Uvod / Introduction

Period rane laktacije kod krava prati negativan bilans energije (NEB – negative energy balance). To je stanje kada je unošenje energije u organizam manje od njegovih potreba. U prvim nedeljama laktacije prosečno nedostaje 28,9 MJ NEL. Metabolička ravnoteža, odnosno ravnoteža između unete energije i energije koja je potrebna kravi za proizvodnju mleka, uspostavlja se tek između šeste i desete nedelje laktacije. Do tog perioda manjak energije se nadoknađuje mobilizacijom telesnih rezervi, najpre rezervi glikogena, zatim masti, a onda i proteina. Najizraženija je, ipak, mobilizacija deponovanih masti koje predstavljaju najznačajniji izvor energije neophodan da bi se u prvoj fazi laktacije potpuno ispoljio genetski potencijal životinje za proizvodnju mleka. U uslovima negativnog bilansa energije pojačavaju se procesi koji dovode do lipolize, a smanjuju oni koji dovode do lipogeneze u masnom tkivu. Takođe se povećava korišćenje lipida kao glavnog izvora energije [12].

Proces lipomobilizacije, koji najčešće počinje dva do dvanaest dana posle teljenja, može da počne i 5 do 7 dana pre teljenja, bez obzira što se krave tada nalaze još uvek u pozitivnom bilansu energije, odnosno stanju kada je unošenje energije veće od potreba organizma. U uslovima visoke proizvodnje se dešava da krave pred kraj graviditeta unose značajno veću količinu hranljivih materija nego što su njihove stvarne potrebe. Zbog toga često nastaje gojaznost naročito junica u visokom graviditetu. Utvrđeno je da upravo kod krava koje su pred teljenje bile izrazito gojazne (ocena telesne kondicije veća od 4,0) proces lipomobilizacije počinje pre teljenja ili, ukoliko počne posle teljenja, znatno je pojačan. Prerana ili pojačana lipomobilizacija u ovom periodu je gotovo uvek povezana sa pojavljivanjem masne distrofije jetre, jer hepatociti nisu u stanju da na pravilan način „prerađuju“ sve dospеле masne kiseline i da odstrane stvorene trigliceride. Smatra se fiziološkim ukoliko je zastupljenost triglicerida u jetri u periodu rane laktacije do 20 posto. Sve preko toga uzrokuje pojavljivanje patološkog zamašćenja jetre [2]. Kod krava sa „masnom jetrom“ aktivnost imunskog sistema je smanjena, a njihova mladunčad je slabe životne sposobnosti i veoma podložna neonatalnim infekcijama. Mnogobrojna ispitivanja su u velikoj meri rasvetlila po-

vezanost procesa zamašćenja jetre sa drugim poremećajima zdravlja i reprodukcije životinja. Naime, kasnije tokom laktacije nastaju poremećaji u funkciji jajnika praćeni izostajanjem ovulacije i polnog žara. Servis period je veoma dug, u nekim slučajevima nastaje trajan sterilitet. U takvim zapažanjima kod krava se često pojavljuju gnojni endometritisi i mastitisi [3].

Ključno pitanje većine naučnih istraživanja koja se izvode radi poboljšanja govedarske proizvodnje je kako racionalizovati potrebe krava u energiji, odnosno kako poboljšati sposobnost organizma da koristi sopstvene izvore energije koje ima na raspolaganju, a da pri tome ne dođe do razvoja patoloških procesa. Da bi se dao odgovor na takvo pitanje potrebno je najpre da se na pravilan način oceni energetski status krava, posebno kada se one nalaze u stanju NEB-a. Ocenjivanje energetskog statusa krava obavlja se korišćenjem pokazatelja koji bi trebali da zadovolje dva osnovna uslova: da su pouzdani i za govedarsku proizvodnju dovoljno ekonomični.

Validni pokazatelji energetskog statusa krava, odnosno stepena adaptacije u određenom periodu proizvodnog-reproduktivnog ciklusa, su telesna kondicija, parametri metaboličkog profila, hormonalni status ili vrednosti nekih sastojaka mleka. Nekoliko nedelja pre partusa, ovi parametri mogu da ukažu na opasnost od mogućih patološko-fizioloških poremećaja, pa je određenim merama moguće da se blagovremeno ublaže posledice NEB-a u prvoj fazi laktacije.

Istraživanja su ukazala da postoji značajna korelacija između telesne kondicije krava i njihove ishrane, proizvodnje mleka, reproduktivnih sposobnosti i zdravlja. Iako je ocena telesne kondicije (BCS – body condition scoring) dobar pokazatelj energetskog statusa krava on nije dovoljno osetljiv parametar u peripartalnom periodu kada su promene nagle i dramatične [9].

Kao pokazatelj energetskog statusa povremeno može da se koristi i metabolički profil, odnosno određivanje koncentracije najvažnijih parametara pokazatelja funkcionalnog stanja jetre. Preporučuje se određivanje metaboličkog profila iz uzoraka krvi uzetih na početku zasušenja, zatim dve do tri nedelje pred teljenje i kod tek oteljenih krava [6].

Koncentracija hormona u krvnoj plazmi ukazuje na stepen adaptacije organizma na negativan bilans energije. Naime, metaboličke promene koje se dešavaju tokom NEB-a najčešće su posledica endokrinog prestrojavanja u ovom periodu, odnosno promena u hormonalnom statusu krava koje, zatim, utiču na sve mehanizme koji omogućavaju pojačanu funkciju mlečne žlezde i optimalnu aktivnost reproduktivnih organa [13].

U poslednjoj deceniji se sve više koristi, radi utvrđivanja energetskog statusa krava, određivanje koncentracije organskih sastojaka mleka (masti, proteina i ureje). Ovakva procena je izrazito pouzdana i lako primenjiva, jer uzorkovanje nije stresogeno za životinju. Pored toga, metoda je i vrlo ekonomična ukoliko se određivanje uklapi u rutinsko utvrđivanje sastojaka sirovog mleka koje se koristi prilikom ispitivanja kvaliteta mleka [10, 11].

Ureja se u organizmu krava stvara u jetri iz amonijaka koji pretežno nastaje rezlaganjem belančevina hrane pod uticajem bakterija u predželucima. Kada se taj proces intenzivira toliko da količina stvorene ureje pređe bubrežni prag, koncentracija ureje u krvi se povećava. Pošto ureja lako prolazi kroz ćelijsku membranu, to će da prati i porast njene koncentracije u mleku. Intenzitet navedenih procesa zavisi od snabdevenosti organizma energijom i proteinima. Nedovoljan sadržaj energije u obroku uslovljava smanjenu aktivnost mikroflora buraga. To znači da bakterijska flora ne može u celosti da iskoristi amonijak, nastao razgrađivanjem proteina, za sintezu sopstvenih proteina. Tako, količina amonijaka u buragu raste, on se resorbuje i dospeva u jetru, gde se stvara povećana količina ureje. To prati povećanje koncentracije ureje u krvi i mleku. Istovremeno je smanjen i opseg sinteze bakterijskih proteina u buragu. Time je smanjena mogućnost sinteze proteina, pa je i njihova koncentracija u mleku snižena [7].

Upravo na osnovu odnosa koncentracije proteina i ureje u mleku može da se utvrdi energetska snabdevenost životinja pri različitom sadržaju energije i proteina u obroku. Kada je koncentracija ureje u mleku manja od 4 mmol/l, a koncentracija proteina viša od 32,0 g/l smatra se da je krava hranjena primereno proizvodnim potrebama. Pri manjem stepenu nedostatka energije, naročito prilikom kratkotrajnog i naglog prelaska na drugu hranu, koncentracija proteina ostaje na vrednostima većim od 32,0 g/l, ali se koncentracija ureje povećava više od 4 mmol/l. To se dešava naročito leti kada je prekomerna količina belančevina u obroku, uz manjak energije, odnosno sirovih vlakana. U slučaju nestašice energije, a dovoljne količine belančevina, koncentracija ureje u mleku je između 5 i 10 mmol/l, uz koncentraciju proteina koja je malo niža od 30 g/l. Ukoliko je koncentracija ureje u mleku niža od 4 mmol/l, a koncentracija proteina niža od 32,0 g/l, to nedvosmisleno ukazuje na manjak energije i proteina koji su uzrokovali ozbiljan metabolički poremećaj [10].

Energetska snabdevenost životinja može da se odredi i na osnovu odnosa zastupljenosti masti i proteina u mleku. Naime, prilikom obilne lipomobilizacije, povišava se koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvi, što dovodi do povećane sinteze mlečne masti i njene koncentracije u mleku. Ako je koncentracija proteina u mleku viša od 32,0 g/l a koncentracija masti u mleku niža od 45 g/l onda je snabdevanje energijom zadovoljavajuće. Ako se koncentracija mlečne masti povišava, uz istovremeno smanjenje koncentracije proteina u mleku to znači da kod jedinki u zapatu postoji energetska manjak [10].

Na osnovu izloženog može da se zaključi da ispitivanje biohemijskih sastojaka mleka (ureja, ukupni proteini i masti) može da doprinese boljem poznavanju energetskeg statusa visoko-mlečnih krava i blagovremenom preduzimanju odgovarajućih mera radi preveniranja mnogobrojnih poremećaja zdravlja koji nastaju kao posledica negativnog bilansa energije.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Materijal / Material

Ispitivanja su obavljena na četiri farme (tri privatne i jednoj društvenoj), na ukupno 62 krave holštajn-frizijske rase. Sve krave su bile u ranoj fazi laktacije (do prvih 100 dana laktacije). Analizirani su uzorci mleka uzeti u toku popodnevne-večernje muže. Sa farme A je uzeto 11 ($n=11$), sa farme B 16 ($n=16$), sa farme C 15 ($n=15$), a sa farme D 20 ($n=20$) uzoraka mleka. Sa farme D su uzeti od istih krava i uzorci mleka dobijeni prilikom jutarnje muže. Prosečna proizvodnja mleka u ovoj fazi laktacije je bila 18 litara kod ispitivanih krava na farmi A, 17 litara kod krava na farmi B, 23 litre kod krava na farmi C i 16 litara na farmi D. Ishrana krava na svim farmama se zasnivala na obrocima koji su bili preporučeni za tu kategoriju krava.

Metode / Methods

Koncentracije proteina i masti u mleku određene su aparatom MilkoScan. Koncentracija ureje u mleku utvrđena je na spektrofotometru CECIL 2021 uz korišćenje MUN (Milk Urea Nitrogen) testa (donacija Dr Donald C. Beitz, Iowa State University).

Prikaz rezultata / Interpretations of the results

Rezultati su obrađeni statistički uz upotrebu programa SSPS i prikazani tabelarno pomoću parametara deskriptivne statistike (srednje vrednosti – M, standardne devijacije – SD, standardne greške – SE, koeficijenta varijacije – CV i intervala varijacije – IV).

Odnosi koncentracije ureje i koncentracije proteina, kao i koncentracije proteina i masti u pojedinačnim uzorcima mleka prikazani su grafički.

Rezultati ispitivanja i diskusija / *Results and discussion*

Srednje vrednosti koncentracije proteina, masti i ureje u mleku krava uzetom tokom popodnevne-večernje muže za svaku od ispitivanih farmi pojedinačno, kao i zbirno za sve farme prikazani su u tabeli 1.

Koncentracija masti u mleku krava na farmama B i D bila je $16,6 \pm 7,5$ odnosno $10,7 \pm 2,6$ g/l. Na osnovu ovog rezultata moglo bi da se zaključi da na ovim farmama postoji sindrom snižene mlečne masti. Ova dijagnoza se postavlja kada je sadržaj masti u mleku za najmanje 50 posto niži od optimalne vrednosti, u rasponu od 12 do 17 g/l [1]. Na ostale dve farme (farme A i C) koncentracija mlečne masti je bila $38,9 \pm 7,7$ odnosno $33,8 \pm 9,3$ g/l, odnosno bila je očekivana za ovu rasu krava. Do smanjenja koncentracije masti u mleku, koje je zapaženo na dve od četiri ispitivane farme, najčešće dolazi za samo nekoliko dana, i to najčešće zbog promena u ishrani krava. Ovaj sindrom uglavnom poprima hroničan karakter, i za ponovno vraćanje koncentracije masti u mleku u optimalne

okvire potrebno je više vremena. Postoji više hipoteza kojima se objašnjavaju mehanizmi odgovorni za nastajanje ovog sindroma. Tako se smatra da velika zastupljenost suviše usitnjenih hraniva u obroku krava snižava stepen hidrogenizacije masnih kiselina u sadržaju buraga. Pri takvoj ishrani skraćuje se i delovanja mikroflore buraga. Na taj način se remeti proizvodnja nižih masnih kiselina pa se smanjuje relativni odnos acetata i propionata u buragovom sadržaju. Kao posledica toga smanjuje se priliv acetata i stepen sinteze mlečne masti, jer kao što je poznato acetat je osnovni prekursor za sintezu masnih kiselina u ćelijama mlečne žlezde [5].

Tabela 1. Koncentracija proteina (g/l), masti (g/l) i ureje (mmol/l) u mleku krava uzetom tokom popodnevne-večernje muže

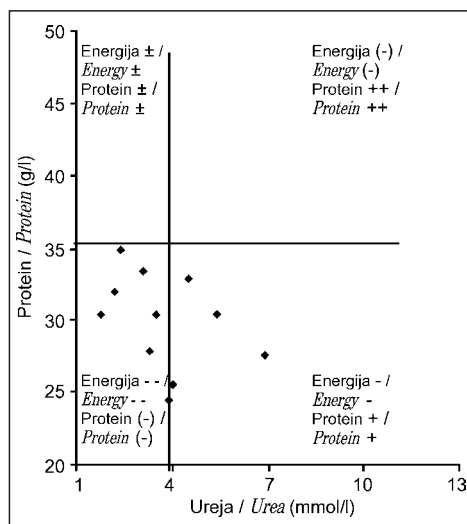
Table 1. Concentration of protein (g/l), fat (g/l) and urea (mmol/l) in cow milk from afternoon-evening milking

		Masti mleka / Milk fat (g/l)	Proteini mleka / Milk proteins (g/l)	Koncentracija ureje / Urea concentration (mmol/l)
Farma A / Farm A (n=11)	M	38,9	29,9	3,2
	SD	7,7	3,3	1,48
	SE	2,3	0,9	0,45
	CV	19,8	11,0	46,2
	IV	30,0-53,0	24,5-34,9	1,8-6,9
Farma B / Farm B (n=16)	M	16,6	26,9	5,06
	SD	7,5	3,1	1,71
	SE	1,9	0,8	0,42
	CV	45,8	11,57	12,38
	IV	8,0-32,0	20,0-35,0	1,6-8,0
Farma C / Farm C (n=15)	M	33,8	28,4	3,06
	SD	9,3	4,5	1,53
	SE	2,4	1,2	0,39
	CV	27,51	15,84	30,03
	IV	20,8-45,9	21,3-34,5	2,18-7,59
Farma D / Farm D (n=20)	M	10,7	30,5	4,43
	SD	2,6	1,7	1,06
	SE	0,6	0,3	0,4
	CV	24,3	5,57	23,93
	IV	6,0-16,0	27,0-34,0	2,5-6,9
Zbirno / Total (n=62)	M	23,0	29,0	4,6
	SD	13,0	3,0	1,5
	SE	2,0	0,4	0,2
	CV	56,5	10,34	32,6
	IV	6,0-53,0	20,0-35,0	1,6-8,0

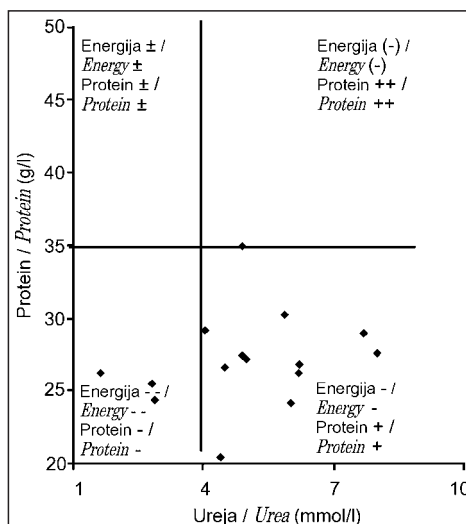
M – srednja vrednost; SD – standardna devijacija; SE – standardna greška; CV – koeficijent varijacije; IV – interval varijacije / *M* – mean value; *SD* – standard deviation; *SE* – standard error; *CV* – coefficient of variation; *IV* – interval of variation

Složeni odnosi u intermedijarnom metabolizmu preživara uključuju međusobnu konkurenciju jetre i masnog tkiva i delovanja hormona na proces sinteze-mobilizacije lipida. Poznato je da se pod uticajem insulina usmerava korišćenje acetata za metaboličke potrebe organizma. Insulinskom teorijom se objašnjava smanjenje koncentracije mlečne masti visokim nivoom insulina u sistemskoj cirkulaciji koji stimuliše korišćenje prekursora sinteze masti (acetat) u masnom tkivu [4]. Sindrom snižene mlečne masti u zapahtima krava prati pogoršanje reproduktivne funkcije, kao i drugi zdravstveni problemi. Kod procene krajnjih rezultata proizvodnje mleka i koncentracije mlečne masti treba da se ima u vidu da su krave koje imaju veću proizvodnju mleka podložnije ovom poremećaju.

Koncentracija proteina u mleku ispitivanih krava nije pokazivala značajne varijacije između krava na različitim farmama i bila je u rasponu od $26,9 \pm 3,1$ g/l na farmi B do $30,5 \pm 1,7$ g/l na farmi C. Ova koncentracija proteina se smatra nižom od dozvoljene granice za holštajn-frizijsku rasu goveda. Koncentracija ureje u mleku krava na ispitivanim farmama kretala se u rasponu od $3,06 \pm$



Grafikon 1. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava farme A /
Graph 1. Ratio between urea and protein concentrations in cow milk from farm A



Grafikon 2. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava farme B /
Graph 2. Ratio between urea and protein concentrations in cow milk from farm B

Energija / *Energy* - - izrazit deficit u snabdevanju energijom / *extreme deficiency in energy supply*

Proteini / *Proteins* (-) deficit u snabdevanju proteinima / *deficiency in protein supply*

Energija / *Energy* - manje izražen deficit u snabdevanju energijom / *less expressed deficiency in energy supply*

Proteini / *Proteins* + višak u snabdevanju proteinima / *surplus in protein supply*

Energija / *Energy* ± optimalno snabdevanje energijom / *optimal energy supply*

Proteini / *Proteins* ++ značajan višak u snabdevanju proteinima / *significant surplus in protein supply*

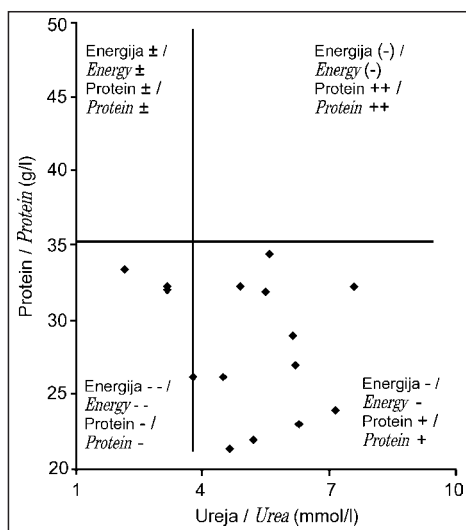
Proteini ± optimalno snabdevanje proteinima / *optimal protein supply*

1,53 mmol/l na farmi C do $5,06 \pm 1,71$ mmol/l na farmi B i bila je u skladu sa očekivanim vrednostima za ovu rasu goveda [8].

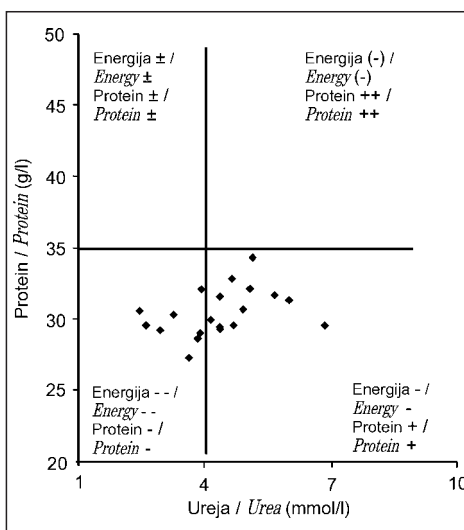
Dobijeni rezultati su prikazani i grafički. Odnos koncentracija ureje i proteina u mleku krava farme A prikazan je na grafikonu 1, farme B na grafikonu 2, farme C na grafikonu 3 i farme D na grafikonu 4. Zbirno za sve farme odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava prikazan je na grafikonu 5. Odnos koncentracija masti i proteina u mleku krava prikazani su na grafikonu 6 (za farmu A), grafikonu 7 (za farmu B), grafikonu 8 (za farmu C) i grafikonu 9 (za farmu D). Zbirno za sve farme odnos koncentracija masti i proteina u mleku krava prikazan je na grafikonu 10.

Iz grafikona 1 se zapaža da se većina tačaka nalazi u donjem levom kvadrantu, što ukazuje na izražen deficit u snabdevanju energijom i proteinima. Pretpostavlja se da je to posledica toga što obroci u ishrani krava ne zadovoljavaju u pogledu sadržaja energije i proteina ili su pak životinje bolesne (supklinička ketoza) i ne pojedu dovoljno hrane. Neunošenje dovoljno hrane u ranoj fazi laktacije još više produbljuje negativan bilans energije na početku laktacije i smanjuje proizvodne sposobnosti ispitivanih krava na farmi A.

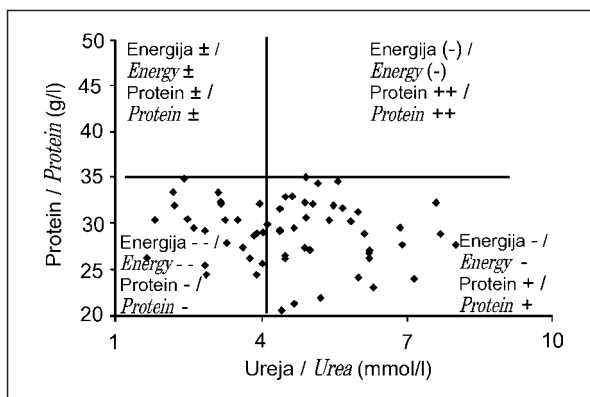
Iz grafikona 2 i 3 se zapaža da je najveći broj tačaka u donjem desnom kvadrantu. To ukazuje da se, najverovatnije, kod tih krava radi o deficitu energije uz relativan suficit proteina u obroku. Ovaj rezultat je donekle potvrđen nešto višom koncentracijom uree utvrđene u mleku krava farme B ($5,06 \pm 1,71$ mmol/l).



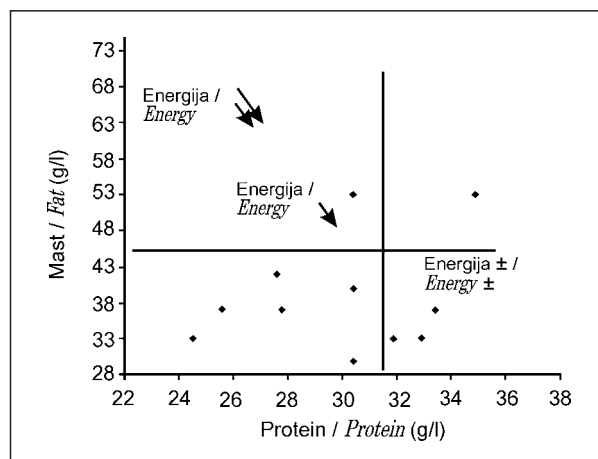
Grafikon 3. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava farme C /
Graph 3. Ratio between urea and protein concentrations in cow milk from farm C



Grafikon 4. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava farme D /
Graph 4. Ratio between urea and protein concentrations in cow milk from farm D

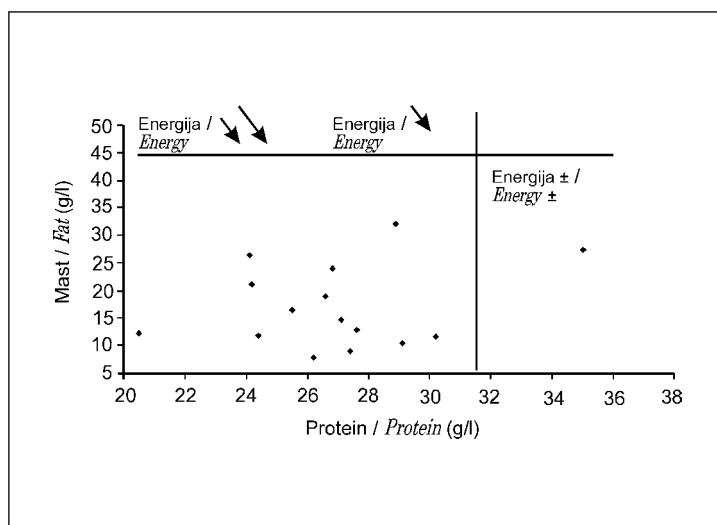


Grafikon 5. Odnos koncentracije ureje i proteina u mleku krava svih ispitivanih farmi /
Graph 5. Ratio between urea and protein concentrations in cow milk from all examined farms

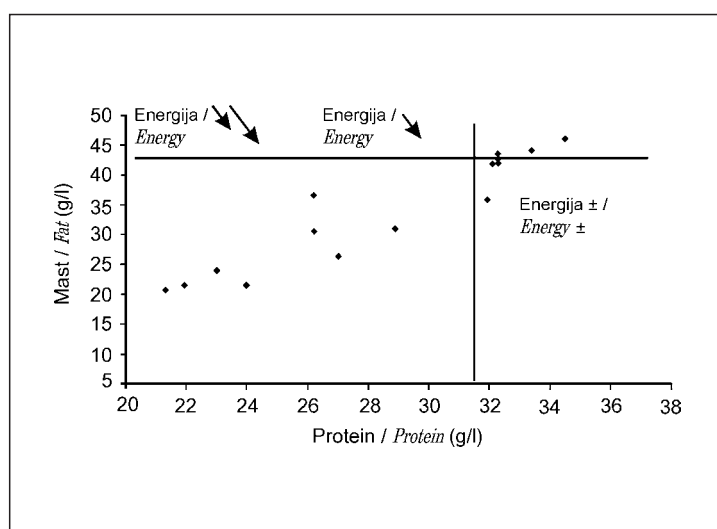


Grafikon 6. Odnos koncentracije masti i proteina u mleku krava farme A /
Graph 6. Ratio between fat and protein concentrations in cow milk from farm A

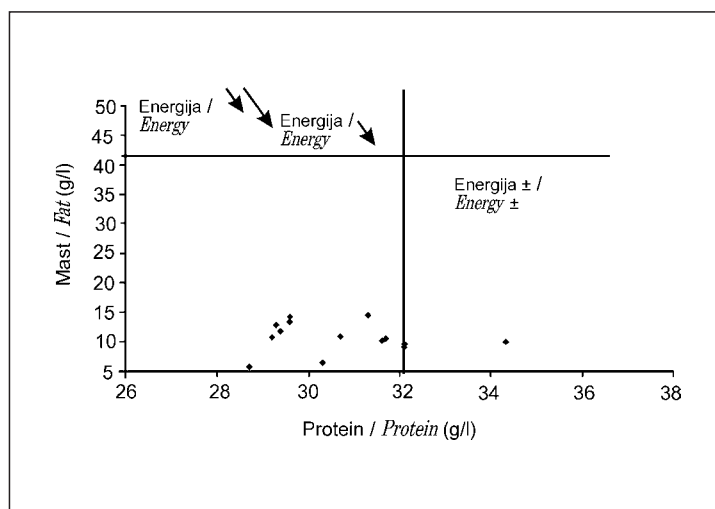
Energija / Energy ➡ energetski manjak / energy deficiency
Energija ± optimalno snabdevanje energijom / Energy ± optimal energy supply



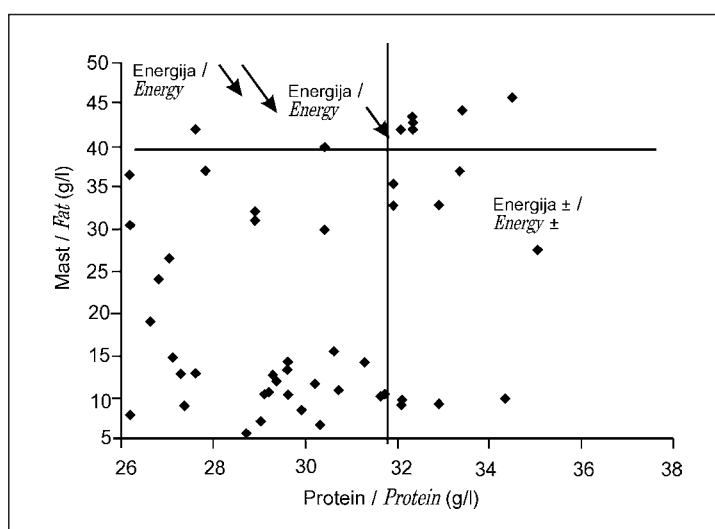
Grafikon 7. Odnos koncentracije sadržaja masti i proteina u mleku krava farme B /
Graph 7. Ratio between fat and protein content concentrations in cow milk from farm B



Grafikon 8. Odnos koncentracije masti i proteina u mleku krava farme C /
Graph 8. Ratio between fat and protein concentrations in cow milk from farm C



Grafikon 9. Odnos koncentracije masti i proteina u mleku krava farme D /
Graph 9. Ratio between fat and protein concentrations in cow milk from farm D



Grafikon 10. Odnos koncentracije masti i proteina u mleku svih ispitivanih krava /
Graph 10. Ratio between fat and protein concentrations in milk from all examined cows

Analiziranjem rezultata odnosa koncentracije ureje i proteina iz grafikonu 4 zapaža se da se kod 75 posto ispitanih krava na farmi D radi o deficitu energije i relativnom suficitu proteina u obroku (tačke u donjem desnom kvadrantu).

U tabeli 2 dat je prikaz koncentracija ureje (mmol/l) u mleku uzetom tokom jutarnje i popodnevne - večernje muže krava na farmi D.

Tabela 2. Koncentracija ureje (mmol/l) u mleku uzetom tokom jutarnje i popodnevne - večernje muže krava na farmi D /

Table 2. Urea concentration (mmol/l) in milk from morning and afternoon-evening milking at farm D

Farma D / Farm D		Koncentracija ureje / Urea concentration (mmol/l)
Jutarnja muža / Morning milking (n=20)	M	5,05
	SD	1,59
	SE	0,36
	CV	31,48
	IV	1,91-7,67
Večernja muža / Evening milking (n=20)	M	4,43
	SD	1,06
	SE	0,4
	CV	23,93
	IV	2,46-6,86

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

Interval neunošenja hrane kod krava je duži u periodu od popodnevno-večernje do jutarnje muže nego od jutarnje do večernje muže. Zbog toga, tokom noći, deficit energije u ishrani krava dolazi do punog izražaja i odražava se i na sastav mleka. Time se objašnjava viša koncentracija ureje ($p \sim 0,05$ - razlika je na granici statističke značajnosti) u mleku jutarnje u odnosu na mleko popodnevno-večernje muže. Naime, deficit energije u obroku uslovljava smanjenu aktivnost bakterijske flore buraga, zbog čega ona ne može u celosti da iskoristi amonijak, nastao razgradjivanjem proteina, za sintezu sopstvenih proteina. Time količina amonijaka u buragu raste, on se resorbuje i dospeve u jetru, gde se stvara povećana količina ureje. To prati povećanje koncentracije ureje u mleku. Istovremeno je smanjen i opseg sinteze baterijskih proteina u buragu. Time je smanjena mogućnost sinteze proteina, pa je i njihova koncentracija u mleku snižena [7]. Za pravilnu ocenu energetskog statusa na osnovu koncentracije ureje i proteina u mleku, u nejasnim slučajevima, može da se preporuči da se za analizu koriste uzorci mleka jutarnje i večernje muže.

Zbirni prikaz odnosa koncentracije ureje i proteina u mleku krava sa svih farmi (grafikon 5) ukazuje da su sve tačke u donjim kvadrantima, ali ravnomerno raspoređene između desnog i levog donjeg kvadranta. Dakle, kod svih krava se javlja deficit energije uz deficit ili relativni suficit proteina.

Iz grafikona 6, 7, 8, 9 se zapaža da je većina tačaka u donjem levom kvadrantu što znači da se kod ovih krava radi o značajnom deficitu energije. To pokazuje i grafikon 10, na kome su prikazani zbirno uzorci svih krava sa četiri ispitivane farme, a na kome se uočava da je najveći broj tačaka smešten u donjem levom kvadrantu.

Prikazane koncentracije masti, proteina i ureje u mleku su relativno pouzdani pokazatelji energetskog statusa krava u najranijoj fazi laktacije. Na osnovu dobijenih rezultata mogu da se daju preporuke koje bi otklonile eventualno utvrđene poremećaje u energetskom statusu krava. S obzirom da je ustanovljen deficit energije kod ispitivanih krava vlasnicima farmi može da se preporuči korekcija obroka povećanjem količine energetskih hraniva u ishrani krava. Uz to, s obzirom da su sve ispitivane krave u prvoj fazi laktacije, kada su inače u stanju negativnog bilansa energije, smatra se da u ovakvim slučajevima krave nisu na odgovarajući način pripremljene za nastupajuću laktaciju. Kod krava na farmi A zapažen je deficit proteina (pored deficita energije). Ovaj deficit je posledica ili obroka koji ne zadovoljavaju u sadržaju energije i proteina ili bolesnih stanja zbog čega one ne pojedu dovoljno hrane što još više produbljuje NEB. Određivanjem koncentracije ureje u uzorcima mleka jutarnje i popodnevno-večernje muže utvrđeno je da deficit energije, koji dolazi do punog izražaja tokom noći, ima kao posledicu višu koncentraciju ureje u mleku jutarnje u odnosu na mleko večernje muže.

Zaključak / Conclusion

Do sada korišćeni dijagnostički postupci su našli ograničenu primenu u svakodnevnoj praksi kako zbog svoje nedovoljne pouzdanosti (ocenjivanje telesne kondicije) ili neekonomičnosti (metabolički profil i hormonalni status krava). Postupak određivanja koncentracije ureje, masti i proteina u mleku, kao pokazatelja energetskog statusa, je pouzdana i racionalna metoda za dijagnostikovanje odstupanja u energetskom statusu krava, finansijski prihvatljiv za proizvođače, bez obzira da li se primenjuje na mini ili velikim farmama goveda. Ova ispitivanja je dovoljno obaviti samo u uzorcima mleka dobijenim u jutarnjoj muži. Međutim, u nekim nedovoljno jasnim slučajevima, potrebno je da se odrede ovi parametri i u uzorcima večernje muže, odnosno u uzorcima mleka jutarnje i večernje muže.

Literatura / References

1. Bauman D. E., Griinari J. M.: Regulation and nutritional manipulation of milk fat. Low-fat milk syndrome, *Adv Exp Med Biol*, 480, 209-216, 2000.
2. Drackley J. K.: Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?, *J Dairy Sci*, 82, 2259-2273, 1999.
3. Goff J. P.: Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health, *J Dairy Sci*, 89, 1292-1301, 2006.
4. Griinari J. M., McGuire M. A., Dwyer D. A., Bauman D. E., Palmquist D. L.: Role of insulin in the regulation of milk fat synthesis in dairy cows, *J Dairy Sci*, 80, 1076-1084, 1997.
5. Grummer R. R.: Effect of feed on the composition on milk fat, *J Dairy Sci*, 74, 3244-3257, 1991.
6. Ivanov I., Šamanc H., Vujanac I., Dimitrijević B.: Metabolički profil krava, Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma i reprodukcije goveda, *Zbornik radova, Subotica*, 241-247, 2005.
7. Jenkins T. C., McGuire M. A.: Major advances in nutrition: impact on milk composition, *J Dairy Sci*, 89, 1302-1310, 2006.
8. Jonker J. S., Kohn R. A.: Using milk urea nitrogen to evaluate diet formulation and environmental impact on dairy farms, *ScientificWorldJournal*, 18, Suppl 2, 852-859, 2001.
9. Jovičin M., Šamanc H., Milovanović A., Kovačević M.: Određivanje telesne kondicije životinja, Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma i reprodukcije goveda, *Zbornik radova, Subotica*, 217-231, 2005.
10. Kampl B.: Pokazatelji energetskog deficita mlečnih krava u mleku i njihovo korišćenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije, Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma i reprodukcije goveda, *Zbornik radova, Subotica*, 261-267, 2005.
11. Marenjak T. S., Poljičak-Milas N., Stojčević Z.: Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku, *Praxis veterinaria* 52, 3, 233-241, 2004.
12. Šamanc H., Sinovec Z., Cernescu H.: Osnovi poremećaja prometa energije visokomlečnih krava, *Zbornik radova, Subotica*, 89-101, 2005a.
13. Šamanc H., Stojić V., Kovačević B., Vujanac I.: Hormonalni status visokomlečnih krava, Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma i reprodukcije goveda, *Zbornik radova, Subotica*, 277-284, 2005b.

ENGLISH

ENERGY STATUS OF DAIRY COWS DETERMINED BY BIOCHEMICAL ANALYSIS OF ORGANIC COMPONENTS OF MILK

H. Samanc, Danijela Kirovski, B. Dimitrijevic, I. Vujanac, Z. Damnjanovic, M. Polovina

Valid indicators of the energy status of cows are the body condition, parameters of the metabolic profile, hormonal status, and organic components of milk. The energy status of cows of the Holstein-Friesian breed from four farms was estimated on the grounds of urea, protein and fat concentration in milk. Investigations covered 62 samples of milk (11 from farm A, 16 from farm B, 15 from farm C, and 20 from farm D). All cows were in the first stage of lactation and fed rations recommended for that category of animal. The average fat concentration in all milk samples was 23 ± 13 g/l, the average protein concentration was 29 ± 3 g/l, while the average urea concentration was 4.6 ± 1.3 mmol/l. It could be concluded on the basis of the value for the milk fat concentration alone that a decreased milk fat syndrome was present. In addition, graphic presentations are given for the relation between urea concentration and protein concentration, as well as protein and fat concentrations in the individual milk samples. Such an analysis provided a more detailed picture of the en-

ergy status of the examined cows. It was established that cows on farm A had a deficiency of energy and protein, and cows on farms B and C a deficiency of energy with a relative surplus of proteins. It was established that cows from farm D had a deficiency of energy, and there was an equal number of cows with a deficiency and with a relative surplus of proteins. The obtained results provide grounds for making recommendations for correcting the feed rations and improving the health of the cows. It stems from the obtained results that the determination of urea, fat and protein concentrations in milk is a reliable indicator of the energy status of cows, that it is rational and financially acceptable for every producer, regardless of whether it is implemented in small or large cattle farms. The diagnostic procedures used so far have been implemented in a limited form in daily practice because of insufficient reliability (evaluation of body condition) or lack of economic feasibility (metabolic profile and hormonal status of cows).

Key words: High-yield dairy cows, energy status, milk components

РУССКИЙ

ОЦЕНКА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА КОРОВ В ЛАКТАЦИИ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ КОНЦЕНТРАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ МОЛОКА

Х. Шаманц, Даниела Кировски, Б. Димитриевич, И. Вуянац, З. Дамянович,
М. Половина

Ценные показатели энергетического статуса высоко-молочных коров, относительно степени адаптации в некоторых фазах производно-репродуктивного цикла, суть кондиция тела, параметры метаболического профиля, гормональный статус и стоимости концентраций органических компонентов молока. В последнем десятилетии всё больше пользуется, ради утверждения энергетического статуса коров, определения концентрации мочевины, протеинов и жира молока. Такая (по качеству) оценка надёжная и легко применимая, тем более если вставится в рутинное утверждение компонентов сырого молока, которое регулярно пользуется при испытании качества молока. На основе отношения концентрации мочевины и протеинов в молоке можно утвердить энергетическая снабжённость животных при различном содержании энергии и протеинов в порции. Когда концентрация мочевины в молоке меньше 4 ммол/л, а концентрация протеинов больше 32,0 г/л считается, что корова кормлена примерно нуждам производства. При более маленьком недостатке энергии, концентрация протеинов более значительно не отступает от физиологических стоимостей, но концентрация мочевины увеличивается больше 4 ммол/л. В случае более выраженного дефицита энергии, а достаточные количества протеинов в порции, концентрация мочевины в молоке повышается (5 до 10 ммол/л), при концентрации протеинов, которая немного ниже 30 г/л. Несколько концентрация мочевины в молоке ниже 4 ммол/л, а концентрация протеинов ниже 32,0 г/л, то недвусмысленно указывает на дефицит энергии и протеинов, которые были причиной значительный энергитический дисбаланс. Результаты испытания в этой работе показывают, что биохимическое испытание молока достаточно сделать только в образчиках, полученных в утреннем доении. В некоторых недостаточных случаях, нужно определить эти параметры и в образчиках вечернего доения, относительно в образчиках утреннего и вечернего доения.

Ключевые слова: высоко-молочные коровы, энергитический статус, компоненты молока

**ISPITIVANJE HEMADSORPCIONIH SVOJSTAVA
GLIKOPROTEINSKIH HN I F ANTIGENA SPOLJAŠNJEG
OMOTAČA VIRUSA NEWCASTLE BOLESTI *IN VITRO*^{*}
*INVESTIGATIONS OF HEMADSORPTION CHARACTERISTICS OF
GLYCOPROTEIN HN AND F ANTIGENS OF NEWCASTLE DISEASE
VIRUS ENVELOPE IN VITRO***

J. Nišavić, N. Milić^{}**

Cilj naših istraživanja bilo je ispitivanje hemadsorpcionih svojstava glikoproteinskih HN i F antigena spoljašnjeg omotača virusa Newcastle bolesti. Posle 6 časova od inokulacije ćelijske linije Vero virusom Newcastle bolesti, prethodno aktivisanim sa 0,025 g/dl tripsin-versena, pojava hemadsorpcije je ustanovljena u manjem intenzitetu u razređenjima antigena od 1:8 do 1:16. Hemadsorpcija je ustanovljena u pomenutim ćelijskim linijama i posle 12 časova od inokulacije u razređenju virusa od 1:64, dok je posle 24 časa od inokulacije hemadsorpcija bila prisutna i u razređenju virusa od 1:256. Posle 24 časa od inokulacije ćelijske linije Vero uzorcima virusa Newcastle bolesti, aktivisanih tripsin-versenom i dodavanja specifičnog imunog seruma, ustanovljena je inhibicija hemadsorpcije kod inokulisanih ćelija sa razređenjem imunog seruma od 1:64.

Ključne reči: Virus Newcastle bolesti, Vero ćelije, hemadsorpcija, inhibicija hemadsorpcije

Uvod / Introduction

Virus Newcastle bolesti poseduje spoljašnji omotač u čijem sastavu se nalaze dva površinska glikoproteinska antigena hemaglutinin-neuraminidazni (HN) i fuzioni (F) proteinski molekul. Hemaglutinin-neuraminidazni (HN) protein virusa Newcastle bolesti ima višestruku ulogu. Najpre obezbeđuje aktivaciju vezivanja virusa za receptore na površini ćelije i time omogućava virusnu infekciju

^{*} Rad primljen za štampu 6. 12. 2006. godine

^{**} Mr Jakov Nišavić, asistent, dr Nenad Milić, red. profesor, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

ćelije, zatim aktivira neuraminidazu i pokreće proces ćelijske fuzije sa fuzionim (F) proteinom.

Fuzioni (F) protein spoljašnjeg omotača virusa Newcastle bolesti sintetise se kao neaktivni prekursor označen sa Fo, koji se pod dejstvom ćelijskih proteaza cepa na dve subjedinice koje ostaju povezane disulfidnim vezama. Na ovaj način postaje biološki aktivan i odgovoran za odvijanje procesa virusno – ćelijske i ćelijsko-ćelijske fuzije, kao i procesa hemolize.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Virus i kultura tkiva / Virus and tissue culture

Virus Newcastle bolesti, soj La Sota = $10^{-5,45}$ ($\log 10^{-5,45}$ TCID₅₀/0,1 ml) čiji je hemaglutinacioni titar bio 64HJ/0,1 ml ispitivan je primenom testova hemadsorpcije i inhibicije hemadsorpcije na ćelijskoj liniji Vero.

Imuni serum / Immune serum

Za izvođenje testa inhibicije hemadsorpcije, korišćen je imuni serum protiv virusa Newcastle bolesti, titra od 1:64 (Veterinarski zavod Zemun iz Zemuna).

Test hemadsorpcije / Hemadsorption test

U udubljenja mikrotitracionih ploča sa ravnim dnom u kojima se nalazio sloj Vero ćelija pojedinačno su inokulisane u količini od po 50 μ l dvostruka razređenja virusa Newcastle bolesti u 2% Eagle MEM-u počev od 1:2 do 1:512, koja su prethodno aktivisana sa 0,025 g/dl tripsin-versena. Posle perioda inkubacije u trajanju od 6 časova, 12 časova i 24 časa odlivana je podloga i dodavane su količine od po 50 μ l 0,5% suspenzije eritrocita kokoši. Ovako pripremljene mikrotitracione ploče inkubisane su pola časa na temperaturi od 4°C, a zatim je odlivan višak suspenzije eritrocita, a ćelije ispirane rastvorom fosfatnog pufera (PBS). Tri poslednja udubljenja mikrotitracionih ploča sa Vero ćelijama su služila za kontrolu tkiva, kontrolu virusa i kontrolu eritrocita. Reakcija hemadsorpcije u mikrotitracionim pločama, odnosno vezivanje eritrocita za ćelije kulture tkiva u kojima se nalazio virus, posmatrana je pod mikroskopom za kulturu tkiva.

Test inhibicije hemadsorpcije / Hemadsorption inhibition test

U udubljenja mikrotitracionih ploča sa ravnim dnom sa Vero ćelijama pojedinačno inokulisanim sa po 100 LD₅₀ virusa Newcastle bolesti, u količini od po 50 μ l, posle inkubisanja inokulisanih ćelija tokom vremenskog perioda od 24 časa na temperaturi od 36°C, ćelijama u bazenčićima su pojedinačno dodate količine od po 50 μ l specifičnog imunog seruma u razređenjima od 1:2 do 1:512. Ćelije su inkubisane pola časa na sobnoj temperaturi. Posle perioda inkubacije u sve bazenčiće mikrotitracionih ploča je dodato po 50 μ l 0,5% suspenzije eritrocita

kokoši i mikrotitracione ploče su ponovo inkubisane pola časa na temperaturi od 4°C. Posle inkubacije odlivan je višak suspenzije eritrocita, a ćelije ispirane PBS-om. Takođe, tri poslednja udubljenja mikrotitracionih ploča sa kulturom tkiva služila su za kontrolu tkiva, kontrolu seruma i kontrolu virusa. Ovako pripremljene mikrotitracione ploče su posmatrane pod mikroskopom za kulturu tkiva.

Rezultati / Results

Kod uzoraka virusa NDV koji su prethodno aktivisani sa 0,025g/dl tripsin-versena, posle 6 časova od inokulacije, hemadsorpcija se pojavila u manjem intenzitetu u razređenjima antigena virusa počev od 1:8 do 1:16. Nakon 12 časova od inokulacije virusa, hemadsorpcija je ustanovljena do razređenja antigena virusa od 1:64, da bi posle 24 časa od inokulacije virusa hemadsorpcija bila utvrđena do razređenja antigena od 1:256 (tabela 1).

Tabela 1. Hemadsorpciona aktivnost glikoproteinskih antigena spoljašnjeg omotača uzoraka virusa NDV, prethodno aktivisanih tripsin-versenom
Table 1. Hemadsorption activity of the glycoprotein antigens of the outer envelope of Newcastle disease virus, previously activated with trypsin-versen

Vreme proteklo od inokulacije Vero ćelija sa tripsin-versenom aktivisanim uzorcima virusa NDV / Elapsed time from inoculation of Vero cells with the samples of NDV, activated with trypsin-versen	Razređenja virusa NDV koje je izazvalo pojavu hemadsorpcije u inokulisanim Vero ćelijama / Dilutions of the Newcastle disease virus which induced hemadsorption in inoculated Vero cells
6 h	1:2, 1:4, 1:8 i 1:16
12 h	1:2, 1:4, 1:8; 1:16; 1:32 i 1:64
24 h	1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128 i 1:256

Uzorci virusa NDV, aktivisani tripsin-versenom, inokulisani su u ćelijsku liniju Vero i posle 24 časa im je dodavan specifični imuni serum. Ustanovljena je inhibicija hemadsorpcije kod inokulisanih ćelija tretiranih sa razređenjem seruma od 1:64.

Diskusija / Discussion

Ispitivanje hemadsorpcionih svojstava glikoproteinskih HN i F antigena spoljašnjeg omotača virusa Newcastle bolesti obavljali smo primenom testova hemadsorpcije i inhibicije hemadsorpcije. Primenom testa hemadsorpcije ustanovljena je pojava adsorpcije eritrocita zamorca na površinu Vero ćelija inokulisanih uzorcima aktivisanog virusa Newcastle bolesti već posle 6 časova. Ista se intenzivirala posle vremenskog perioda od 12 časova, odnosno 24 časa od inokulacije prethodno pomenutog virusa. Peter G. Polos i sar [2] pojavu hemadsorpcije kvantitativno su određivali na osnovu procenta ćelija koje su adsorbovale dva ili

više eritrocita u populaciji od 200 ćelija CHO-15B ćelijske linije inokulisane virusom Newcastle bolesti. Autori su na ovaj način ustanovili pojavu hemadsorpcije već posle 6 časova od inokulacije virusa u slabijem i posle 13 časova od inokulacije virusa u jačem intenzitetu. Milić [3] je pratio pojavu hemadsorpcije 0,4 % suspenzije eritrocita zamorca na inokulisanim ćelijskim linijama PK-15, TB, AUBEK i MDBK posle na 6 časova, 12 časova, 24 časa, 48 časova i 72 časa od inokulacije virusa PI3. Rezultati navedenih ispitivanja su pokazali da je hemadsorpcija u inokulisanim ćelijskim linijama PK-15, TB i AUBEK bila pozitivna posle 12 časova od inokulacije virusa, dok je kod ćelijske linije MDBK ustanovljena posle 24 časa od inokulacije. U svim prethodno navedenim ćelijskim linijama, utvrđena je pojava adsorpcije eritrocita na površine ćelija inficiranih virusom posle 24 časa od inokulacije virusa. Zhuhui Huang i sar [11] primenom više testova uključujući i test hemadsorpcije ustanovili su značajnu ulogu HN proteina u virulenciji virusa Newcastle bolesti. Aruna Panda i sar [9] primenom metode RT-PCR i testa hemadsorpcije, ispitivali ulogu koju amino-kiselinska sekvenca koja se nalazi na fuzionom proteinu virusa Newcastle bolesti i na koje deluju enzimi proteaze, ima u procesu aktivacije ovog proteina. Rezultati ispitivanja su pokazali da je aktivacija fuzionog (F) proteina delovanjem intracelularnih proteaza, od izuzetnog značaja za virulenciju virusa Newcastle bolesti. Katz i sar [1] posle inokulacije virusa Newcastle bolesti u kulturu embrionalnih pilećih fibroblasta, ispitivali su neke biološke karakteristike njegovih glikoproteinskih HN i F antigena primenom testova hemadsorpcije i inhibicije hemadsorpcije. Rezultati testa inhibicije hemadsorpcije su pokazali da je primenom specifičnog imunog seruma protiv virusa Newcastle bolesti, nastala inhibicija procesa adsorpcije eritrocita na površini ćelija inficiranih pomenutim virusom.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja, može da se zaključi da testovi hemadsorpcije i inhibicije hemadsorpcije mogu, zajedno sa drugim standardnim virusološkim metodama, uspešno da se koriste za ispitivanje nekih bioloških karakteristika glikoproteinskih HN i F antigena spoljašnjeg omotača virusa Newcastle bolesti.

Literatura / References

1. Katz D., Ben-Moshe Hana, Shlomit Alon: Titration of Newcastle Disease Virus and Its Neutralizing Antibodies in Microplates by a Modified Hemadsorption and Hemadsorption Inhibition Method, *Journal of Clinical Microbiology*, 3, 227-232, 1976. - 2. Polos P. *et al.*: Insensitivity of a Ricin-Resistant Mutant of Chinese Hamster Ovary Cells to Fusion Induced by Newcastle Disease Virus, *Journal of Virology*, 30, 69-75, 1979. - 3. Milić N.: Magistarska teza pod naslovom: Rano otkrivanje virusa PI3 u različitim kulturama tkiva uporednim ispitivanjem nekoliko metoda, 1989. - 4. Ah-Tye *et al.*: Virus-receptor interaction of human parainfluenza viruses types 1, 2 and 3, *Microb Pathog*, 27, 5, 329-336, 1999. - 5.

Chen L. *et al.*: The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion, *Structure (Camb)*, 9, 3, 255-266., 2001. - 6. Morrison G. Trudy: The three faces of paramyxovirus attachment proteins, *Trends in Microbiology*, 9, 3, 2001. - 7. Morrison G. Trudy: Structure and function of a paramyxovirus fusion protein, *Biochimica et Biophysica Acta* 1614, 73-84, 2003. - 8. Lawrence C. M. *et al.*: Structure of the Hemagglutinin-neuraminidase from Human Parainfluenza Virus Type 3, *J. Mol. Biol.*, 335, 1343-1357, 2004. - 9. Panda Aruna *et al.*: Role of fusion protein cleavage site in the virulence of Newcastle disease virus, *Microb. Pathog.*, 36, 1, 1-10, 2004. - 10. Ferreira Laura *et al.*: Gangliosides and N-glycoproteins function as Newcastle disease virus receptors, *Int J Biochem Cell Biol.*, 36, 11, 2344-2356, 2004. - 11. Zhuhui Huang *et al.*: The hemagglutinin-neuraminidase protein of Newcastle disease virus determines tropism and virulence, *J. Virol.*, 78, 8, 4176-4184, 2004.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF HEMADSORPTION CHARACTERISTICS OF GLYCOPROTEIN HN AND F ANTIGENS OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ENVELOPE *IN VITRO*

J. Nisavic, N. Milic

The objective of these investigations was to examine the hemadsorption characteristics of glycoprotein HN and F antigens of the Newcastle Disease virus envelope. Six hours following inoculation of the cell line with the Newcastle Disease Vero virus, previously activated with 0.025 g/dl trypsin-versene, the appearance of hemadsorption was established in a smaller intensity in antigens diluted in ratios from 1:8 to 1:16. Hemadsorption was also determined in the mentioned cell lines 12 hours following inoculation in viruses diluted 1:64, while hemadsorption was present in virus dilutions of 1:256 after 24 hours. Inhibition of hemadsorption in inoculated cells with immune serum dilutions of 1:64 was established 24 hours following inoculation of the cell line with Vero samples of the Newcastle Disease virus, activated with trypsin-versene and the addition of specific immune serum.

Key words: Newcastle Disease virus, Vero cells, hemadsorption, hemadsorption inhibition

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ХЕМАДСОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ГЛИКОПРОТЕИНЫХ HN И F АНТИГЕНОВ НАРУЖНОЙ ОБЛОЧКИ ВИРУСА НЬЮКАСЛА БОЛЕЗНИ, *IN VITRO*

Й. Нишавич, Н. Мишич

Цель наших исследований было испытание хемадсорбционных свойств гликопротеиновых HN и F антигенов наружной оболочки вируса Ньюкасла болезни. После 6 ч. от инокуляции клеточной линии Vero вирусом Ньюкасла болезни, предварительно активированным с 0,025 г для трипсин-версена, явление хемадсорбции установлено в более маленькой интенсивности в разрежениях антигена от 1:8 до 1:16. Хемадсорбция установлена в упомянутых клеточных линиях и после 12 ч. от

инокуляции в разведении вируса от 1:64, пока после 24 ч. от инокуляции хемадсорбция была присутствующая и в разведении вируса от 1:256. После 24 ч. от инокуляции клеточной линии Vero образчиками вируса Ньюкасла болезни, активированных трипсин-версеном и добавления специфического иммунного сывума, установлено торможение хемадсорбции у инокуляционных клеток с разведением иммунного сывума от 1:64.

Ключевые слова: Вирус Ньюкасла болезни, Vero клетки, хемадсорбция, торможение хемадсорбции

**UTJECAJ APLIKACIJE GONADORELINA U PUERPERIJU NA
REPRODUKTIVNE PARAMETRE KRAVA******INFLUENCE OF PUERPERAL GONADORELINE APPLICATION ON
REPRODUCTIVE PARAMETER VALUES IN COWS*****M. Šabanović, T. Mutavelić, A. Suljkanović, M. Lazarević****

U ovom radu su izneti rezultati ispitivanja utjecaja aplikacije gonadorelina u vremenskim periodima od 14 do 16, 17 do 20 i 21 do 25 dana post partum na reproduktivne parametre mliječnih krava. Istraživanja su izvedena kod ukupno 241 krave. Od ovog broja, gonadorelinom je tretirano 126 plotkinja dok je kontrolnu grupu sačinjavalo 115 krava koje su u istim intervalima dobijale placebo injekcije. Određivanje koncentracije progesterona izvedeno je 10 dana nakon aplikacije gonadorelina kod 43 krave, izabranih metodom slučajnog izbora iz prve dve grupe tretiranih plotkinja.

Analizom dobijenih rezultata u normalno otejenih krava utvrđeno je da su prosječni anestrusni period, servis period i međutelidbeni interval u grupama plotkinja tretiranih gonadorelinom značajno kraći u odnosu na kontrolne grupe. Reproductivni parametri krava sa različitom koncentracijom progesterona, 10 dana nakon aplikacije gonadorelina nisu se značajnije razlikovali. Vremenski period od aplikacije gonadorelina do koncepcije prema tretiranim grupama bio je kraći za 30, 30 i 14 dana u odnosu na kontrole. Ukupna koncepcija od prva tri vještačka osjemenjivanja kod krava tretiranih gonadorelinom je bila 88,8 procenata, dok je u kontrolnoj grupi krava koncipiralo 83,47 procenata jedinki.

Ključne reči: krave, gonadorelin Gn RH, reproduktivni parametri

Uvod / Introduction

Normalna reprodukcija goveda je uslovljena pozitivnom korelacijom mnogobrojnih ekoloških i bioloških faktora kao što su: ishrana, držanje, iskorištavanje, suzbijanje steriliteta, organizacija veštačkog osjemenjivanja i niz faktora bi-

* Rad primljen za štampu 2. 11. 2006. godine

** Dr Mustafa Šabanović, Veterinarska stanica, Živinice; mr Tarik Mutavelić, asistent, Veterinarski fakultet, Sarajevo; dr Ahmet Suljkanović, Veterinarska stanica Srebrenik, Federacija BiH; dr Miodrag Lazarević, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija

ološke i fiziološke prirode. Kod priplodnih grla, u najužoj vezi sa reprodukcijom, povezano se odvija nekoliko fizioloških razdoblja: pubertet, oplodnja, gestacija i razvoj ploda, porođaj, puerperij i servis period. Izuzimajući period gravidnosti koji je genetski definisan, trajanje ostalih razdoblja reproduktivnog ciklusa, naročito servis perioda, u mnogome zavisi od uspostavljanja i odvijanja normalne polne cikličnosti *post partum*, a na koju opet djeluju različiti i mnogobrojni faktori.

Osnovni zadatak reprodukcije u govedarstvu je da se u određenim uslovima držanja i ishrane plotkinja postigne što veći procenat plodnosti, sa fiziološki i ekonomski opravdanom dužinom servis perioda cijelog stada krava. Da bi jedna mliječna krava proizvela najviše teladi tokom života ona treba da se teli već sa dvije godine starosti, a zatim ponovo svakih dvanaest mjeseci sve dok se ne izluči, što je ključni činilac u optimalizaciji proizvodnje mlijeka. Nažalost, ovo se rijetko događa jer je interval od teljenja do sljedeće koncepcije u većine stada farmaskog uzgoja znatno produžen. Faktori koji mogu dovesti do povećanja intervala od teljenja do koncepcije, uz već navedene (neadekvatna ishrana u periodu prije i poslije teljenja, uslovi smještaja) uključuju i puerperalne poremećaje koji su rezultat teških teljenja, retencija sekundina i cistične degeneracije ovarija. Sve ovo na kraju uzrokuje dug i ekonomski neprihvatljiv servis period od 85 dana i međutelidbeni interval od više od 365 dana.

Posljednje dvije decenije, mnogobrojna istraživanja su bila usmjerena na potencijalnu upotrebu farmakoloških sredstava za poboljšanje reproduktivnih parametara, a naročito za skraćivanje anestrusnog perioda *post partum* i servis perioda. Poznato je da se kontrakcije uterusa mogu stimulisati uterotoničkim sredstvima u slučajevima produžene involucije uterusa, ali ovi postupci nisu znatnije utjecali na obnavljanje ovarijalne cikličnosti. U regulisanju polne cikličnosti domaćih životinja mnogo veću praktičnu vrednost imaju prostanglandini sa luteolitičkim osobinama i hipotalamusni gonadotropni oslobađajući hormon (GnRH) naročito u ranom puerperalnom periodu.

Do sada su u ovom pravcu primenjivane uglavnom dvije metode. Prva se sastoji u aplikaciji GnRH u ranom puerperiju i korištenju PG_{2alfa} radi uzrokovanja luteolize, čime se skraćuju interestrusnih intervali. Mnogobrojna istraživanja korištenja PGF_{2alfa} i GnRH u ranom puerperiju su imala nekonzistentne rezultate. Radi toga smo se odlučili da u uslovima farmaskog držanja krava istražimo utjecaj aplikacije GnRH u različitim vremenskim periodima *post partum* na reproduktivne parametre plotkinja.

Mozak kontroliše reproduktivnu osovinu otpuštanjem GnRH iz hipotalamusa. Kada je prvo ekstrahiran, nazvan je luteinizirajući hormon-oslobađajući hormon (LH-RH) budući da izaziva značajno otpuštanje luteinizirajućeg hormona u svih vrsta. Kasnije je dokazano da ovaj hormon izaziva otpuštanje folikulo-stimulirajućeg hormona (FSH) u mnogih vrsta [37]. Danas se smatra da postoji samo jedan oslobađajući hormon za gonadnu osovinu u svih sisara, odatle i naziv GnRH.

Ispitivanja farmakološkog upravljanja reprodukcijom krava *post partum* odvijaju se u tri glavna pravca. Ova istraživanja uključuju 1. djelovanje tokom ranog postpuerperalnog perioda i utjecaj na narednu plodnost; 2. djelovanje u periodu inseminacije radi poboljšanja stepena koncepcije i 3. djelovanje u kontroli reproduktivnih funkcija na nivou stada za poboljšanje reproduktivnih osobina.

U regulaciji procesa reprodukcije mliječnih krava primarno se koriste gonadotropin-oslobađajući hormon (GnRH) ili zbog luteolitičkih efekata, prostaglandin F_{2alfa} (PGF_{2alfa}). Karakteristike GnRH i PGF_{2alfa} i njihovu upotrebu, naročito u terapeutske svrhe, detaljno su opisali Seguin [35, 36] i Bosu [7].

Uterus goveda je otporniji na infekcije tokom estrusa nego u diestrusu. Zbog ponovljenog izlaganja estrogenima, a možda i zbog nekih drugih faktora, plodnost mliječnih krava se povećava sa svakim narednim estrusom sve do 80 dana *post partum*, nakon čega opada. Oboljenja u puerperalnom periodu (hipokalcemija, zaostajanje posteljice, teško teljenje i endometritis) mogu odgoditi vrijeme do prvog estrusa, smanjiti plodnost i povećati otvorene dane. Smatra se da produženje početka prvog estrusa može biti djelomično odgovorno za slabe reproduktivne parametre. Tako se plodnost teoretski može poboljšati ako se estrus izazove ranije u postpartusnom periodu krava. Sa povećanjem broja polnih ciklusa, krave sa endometritisom se mogu osloboditi infekcije prije pripuštanja.

Broj estrusnih perioda prije pripusta kod zdravih krava i krava sa infekcijom uterusa može se povećati upotrebom GnRH *post partum* izazivanjem rane ovulacije i početka polne cikličnosti. Tretiranjem krava koje su imale zreli *corpus luteum* može se takođe povećati broj estrusa tokom perioda čekanja.

U jednom od prvih istraživanja upotrebe GnRH, 10 mliječnih krava primilo je s.c. ušni implantat sa 100 µg GnRH a 10 krava je tretirano na isti način fiziološkim rastvorom 14. dana nakon partusa. Reproductivna aktivnost određivana je kliničkom ispitivanjem i hormonalnim promijenama [10]. U prvoj grupi, 9 od 10 krava tretiranih sa GnRH, ovuliralo je unutar jednog dana od tretmana, a ni jedna u kontrolnoj grupi. Prema ovim autorima, rana terapija *post partum* sa GnRH može poboljšati plodnost.

U jednom kasnijem širem istraživanju, 200 holštajn-frizijskih krava je tretirano sa 200 µg GnRH ili fiziološke otopine 8. i 23. dana *post partum*. Interval od teljenja do prvog estrusa, prvog osjemenjivanja i koncepcije, kao i indeksi osjemenjivanja nisu značajno varirali između tretiranih i kontrolnih grupa. Međutim, učestalost ovarijalnih cista je bila značajno manja u GnRH tretiranih krava nego kod kontrola (5,7:15,3 procenata) [1]. U istraživanjima Nasha i sar [31], 335 mliječnih krava iz dva stada tretirano je sa 100 µg ili 250 µg GnRH ili fiziološkom otopinom 13, 14. ili 15. dana *post partum*. U stadu sa boljim upravljanjem, tj. boljim otkrivanjem estrusa (kraći interval do prvog osjemenjivanja) krave su primajući 250 µg GnRH imale signifikantno kraći interval od teljenja do koncepcije, veći stepen koncepcije od prvog osjemenjivanja i niži indeks osjemenjivanja po koncepciji u odnosu na kontrole. Zaključeno je da aplikacija 250 µg GnRH 14. dana

post partum može izazvati raniju cikličnu aktivnost i poboljšati plodnost u stadima sa dobrom organizacijom reprodukcije.

Utjecaj aplikacije GnRH *post partum* proučavao je Leslie [24] u 384 holštajn-frizijskih krava sa zaostalom placentom. Krave su bile iz 48 različitih stada i njima je aplicirano po 200 µg GnRH ili fiziološke otopine i.m. između 8. i 14. dana *post partum*. Koristeći cijelu eksperimentalnu populaciju, nisu nađene signifikantne razlike između GnRH tretiranih i kontrolnih krava u stepenu involucije uterusa, pojavi reproduktivnih abnormaliteta ili intervala od partusa do prvog opaženog estrusa, prvog osjemenjivanja i koncepcije. Međutim, u jednoj podgrupi sa približno 80 krava koje su imale interval od teljenja do prvog osjemenjivanja duži od 80 dana tretman sa GnRH je rezultirao u signifikantno kraćem intervalu od teljenja do koncepcije, kraćem intervalu od teljenja do prvog osjemenjivanja i smanjenju broja osjemenjivanja po koncepciji ($P < 0,01$). Autori su zaključili da aplikacija GnRH kod krava sa zaostalom posteljicom poboljšava reproduktivne parametre.

Benmard i Stevenson [5] su istraživali efekat aplikacije PGF2 alfa (25 mg) i GnRH (200 mg) na 234 holštajn krava. Autori su aplikaciju izvodili u periodima od 10 do 14 i 20 do 24 dana *post partum* pojedinačno sa svakim hormonom i u grupi sa kombinacijom tretmana sa oba hormona (GnRH+PGF2_{alfa}). Sve krave u ogledu su razvrstane i u odnosu na tok puerperija, a u grupu sa abnormalnim puerperijem autori su svrstali krave (29 procenata) kod kojih su klinički utvrđene: teška teljenja, retencija sekundina, infekcije uterusa, gnojni iscjedak, mliječna groznica, ketoze i abnormalno povećanje materičnih rogova. Po obradi rezultata, autori su utvrdili poboljšanu plodnost kod krava koje su tretirane sa GnRH u periodu od desetog do četrnaestog dana i sa PGF2_{alfa} od dvadesetog do dvadeset četvrtog dana *post partum*. Interval od teljenja do koncepcije bio je manji kod svih tretiranih krava u odnosu na kontrole, a naročito kod krava kod kojih je zabilježena abnormalnost puerperija. Također, poboljšanje plodnosti nastaje i kao rezultat povećane učestalosti i pojave ovulacija i estrusa prije prvog osjemenjivanja, a uspostavljanje spolnih ciklusa dolazi unutar 6 sedmica *post partum*. Autori preporučuju primjenu tretmana sa GnRH ili PGF2_{alfa} u cilju poboljšanja reproduktivnih performansi naročito kod krava sa različitim vidovima abnormalnosti puerperija.

U daljim istraživanjima tretmana sa PGF2_{alfa} mliječnih krava i efekata na poboljšanje reproduktivnih performansi Stevenson i Call [40] su u ogledu na 843 holštajn krave ispitivali efekte tretmana sa GnRH (100 mg) i PGF2_{alfa} (25 mg) u periodima od jedanaestog do dvadeset petog dana i od dvadeset petog do četrdesetog dana *post partum*. Autori su 243 krave upotrijebili kao kontrolne, a ogled su provodili po slijedećem: tretman sa GnRH od jedanaestog do dvadeset petog dana *post partum* (n=211), tretman sa PGF2_{alfa} od jedanaestog do dvadeset petog dana *post partum* (n=215) i tretman sa od PGF2_{alfa} dvadeset petog do četrdesetog dana *post partum* (n=190). U odnosu na ispitivane reproduktivne parametre nisu utvrđeni pozitivni rezultati bez obzira na zdravstveni status grla

postpartum osim kod krava kojima je apliciran GnRH od jedanaestog do dvadesetpetog dana poslije teljenja gdje je došlo do smanjenja intervala anestrusa i intervala do koncepcije u odnosu na kontrolne krave. Krave sa reproduktivnim poremećajima su imale duži interval od teljenja do koncepcije poslije tretmana sa GnRH od osamnaestog do dvadeset petog dana *post partum* ili PGF₂_{alfa} od trideset trećeg do četrdesetog dana. Autori zaključuju da tretman ovim hormonima u ranom puerperalnom periodu nema efekta na poboljšanje reproduktivnih performansi mliječnih krava.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Istraživanja uspješnosti primjene analoga GnRH (gonadorelina) izvedena su na farmi mliječnih krava JPP „Spreća”, Donje Vukovije koja po konstrukciji i tehnologiji predstavlja savremen klasičan sistem držanja krava. Krave su bile holštajn-frizijske pasmine sa prosječnom proizvodnjom od 4 500 do 6 000 litara mlijeka. Ishrana krava je podešavana prema pojedinim fazama proizvodnje, tj. prema reprodukcijom ciklusu svake plotkinje.

Našim istraživanjima je ukupno bilo obuhvaćeno 284 krave. Podaci od svake krave su uzimani iz reproduktivno-zdravstvenog kartona i sve životinje su prije svakog tretiranja ginekološki pregledane. Posebno su registrovani reproduktivni poremećaji kao što su teška teljenja, retencija sekundina i puerperalni endometritis.

Istraživanja su sprovedena na tri ogledne grupe normalno oteljenih krava kojima je intramuskularno aplikovan gonadorelin (Fertagyl - Intervet) u dozi od 250 µg (2,5 ml).

- Prva grupa krava (n=48) kojima je apliciran gonadorelin u periodu od 14 do 16 dana postpartum;

- Druga grupa krava (n=44) kojima je apliciran gonadorelin u periodu od 17 do 20 dana postpartum;

- Treća grupa krava (n=34) kojima je apliciran gonadorelin u periodu od 21 do 25 dana postpartum.

Od ukupno 43 krave kojima je apliciran gonadorelin od 14 do 16 dana i od 17 do 20 dana postpartum uzorkovana je krv radi određivanja koncentracije progesterona u serumu.

Kontrolnim grupama krava (n=115) u istim vremenskim periodima postpartum apliciran je placebo (fiziološka otopina).

U svim grupama krava kako oglednih, tako i kontrolnih prije aplikacije je urađen detaljan ginekološki pregled (rektalni i vaginalni) radi utvrđivanja stanja uterusa (položaj, konzistencija i veličina rogova) i ovarija (veličina, funkcionalno stanje – razvoj folikula, *corpus luteum* i cistične degeneracije). Vaginalni pregled je obavljen radi uočavanja promjena u vagini, položaja cerviksa i njegovih promjena, te prisustva i karakteristika iscjetka.

Uzorci krvi su uzimani punkcijom v. jugularis putem vakuum sistema. Nakon odvajanja seruma uzorci krvi su zamrzavani na temperaturi od -20 °C. Određivanje koncentracije progesterona obavljeno je RIA metodom dijagnostičkim progesteronskim kitom.

Otkrivanje estrusa i osjemenjivanje vršeno je ustaljenim postupcima koji se stalno provode kao dio menadžmenta reprodukcije krava na farmi i to od 6 do 10. sati i od 18. do 22. sati. Osjemenjivanje krava vršeno je jednokratno, uvijek u isto vrijeme od 12. do 13. sati svakoga dana. Krave koje i narednog dana pokažu znake estrusa ponovo su bile osjemenjene. Gravidnost je dijagnosticirana rektalnim pregledom od 7 do 8 tjedana poslije osjemenjivanja.

Kriteriji korišteni za kompariranje rezultata između grupa krava su bili: dužina anestrusnog perioda i servis perioda, međutelidbeni interval, indeks osjemenjivanja i vremenski period od tretiranja do koncepcije. Reproductivni parametri su obrađeni samo za krave koje su koncipirale od tri osjemenjivanja. Ostale plotkinje su bile krave koje nisu dalje uzimane u obzir i označene su kao krave sa otvorenim danima.

Statistička obrada podataka je izvedena izračunavanjem standardnih parametara: SV – srednja vrijednost, SE – standardna greška, SD – standardna devijacija, IV – interval varijacije, uz primjenu t-testa za utvrđivanje značajnosti razlika. Sve razlike za $p < 0,05$ smatrane su signifikantnim.

Rezultati ispitivanja / Results

U tabelama od 1 do 6 prikazani su reproduktivni parametri normalno otejenih krava nakon apliciranja gonadorelina od 14 do 16, od 17 do 20 i od 21 do 25 dana postpartum, kao i odgovarajućih placebo kontrola.

Tabela 1. Utjecaj aplikacije gonadorelina od 14 do 16 dana post partum na reproduktivne parametre normalno otejenih krava ($n = 45$)

Table 1. The influence of gonadorelin application 14-16 days post partem on the reproductive performances of cows that gave normal birth ($n = 45$)

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% koncepcije / conception	Aplikacija – koncepcija / Application – conception
SV	52,09	64,96	1,53	350	76,29	51,31
SE	2,226	2,542	0,1	2,41	4,052	2,661
SD	14,93	17,05	0,66	16,2	27,18	17,85
IV	69	109	2	106	66,7	111
Min	27	29	1	314	33,3	15
Max	96	138	3	420	100	126

Tabela 2. Utjecaj aplikacije placeba od 14 do 16 dana post partum na reproduktivne parametre normalno oteljenih krava ($n = 45$)

Table 2. The influence of placebo application 14-16 days post partum on the reproductive performances of cows that gave normal birth ($n = 45$)

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Aplikacija – konceptija / Application – conception
SV	71,53	94,82	1,73	377,3	68,51	81,49
SE	3,31	4,727	0,11	4,683	4,146	4,845
SD	22,2	31,71	0,72	31,42	27,81	32,5
IV	120	176	2	176	66,7	185
Min	20	39	1	321	33,3	26
Max	140	215	3	497	100	211

Iz rezultata prikazanih u tabelama 1 i 2 uočavaju se značajne razlike u istraživanim reproduktivnim parametrima. Servis period kao mjerilo uspješnosti reprodukcije značajno je kraći ($p < 0,01$) kod krava tretiranih gonadorelinom (oko 23 dana). Zbog toga je i međutelidbeni interval značajno kraći u oglednih krava i iznosio prosječno $350 \pm 16,2$ dana, dok je u kontrolnoj grupi njegova prosječna vrijednost bila 377 ± 31 dana (27 dana više). Vrijeme od aplikacije gonadorelina do koncepcije je značajno kraće u krava tretiranih gonadorelinom i iznosi skoro 30 dana manje.

Tabela 3. Utjecaj aplikacije gonadorelina od 17 do 20 dana post partum na reproduktivne parametre normalno oteljenih krava ($n = 39$)

Table 3. The influence of gonadoreline application 17-20 days post partum on the reproductive performances of cows that gave normal birth ($n = 39$)

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Aplikacija – konceptija / Application – conception
SV	49,92	65,92	1,54	348	78,63	48,15
SE	2,126	3,562	0,12	3,585	4,456	3,44
SD	13,28	22,24	0,72	22,39	27,83	21,48
IV	70	105	2	105	66,7	103
Min	20	25	1	307	33,3	7
Max	90	130	3	412	100	110

Tabela 4. Utjecaj aplikacije placeba od 17 do 20 dana post partum na reproduktivne parametre normalno oteljenih krava (n = 31)

Table 4. The influence of placebo application 17-20 days post partum on the reproductive performances of cows that gave normal birth (n = 31)

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Aplikacija – konceptija / Application – conception
SV	70,81	96,26	1,87	378	62,9	78,48
SE	3,495	4,257	0,13	4,26	4,81	4,118
SD	19,46	23,7	0,72	23,7	26,8	22,93
IV	88	102	2	102	67	89
Min	22	56	1	338	33	49
Max	110	158	3	440	100	138

U tabelama 3 i 4 prikazani su rezultati statističke obrade podataka reproduktivnih parametara krava kojima je apliciran gonadorelin od 17 do 20 dana od teljenja i krava kojima je apliciran placebo. Analizom statističke značajnosti nađenih razlika utvrđeno je da su one veoma značajne u odnosu na servis period ($p < 0,01$). Ovo je značajan odraz i kraćeg anestrusnog perioda (skoro 20 dana) u odnosu na kontrolne krave. Međutim, period u oglednih krava bio je $348 \pm 22,39$ dana, a kod kontrolnih krava $378 \pm 23,7$, što je za 30 dana kraće u odnosu na kontrole. Vrijeme od aplikacije gonadorelina do koncepcije u oglednoj grupi bio je $48,15 \pm 21,48$, a u kontrolnoj grupi $78,48 \pm 22,93$ dana.

Tabela 5. Utjecaj aplikacije gonadorelina od 21 do 25 dana post partum na reproduktivne parametre normalno oteljenih krava (n = 28)

Table 5. The influence of gonadoreline application 21-25 days post partum on the reproductive performances of cows that gave normal birth (n = 28)

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Aplikacija – konceptija / Application – conception
SV	65,71	81,07	1,54	364	79,76	58,71
SE	5,039	6,834	0,14	6,76	5,098	7,082
SD	26,66	36,16	0,74	35,7	26,98	37,48
IV	98	172	2	172	66,7	173
Min	37	42	1	324	33,3	20
Max	135	214	3	496	100	193

Tabela 6. *Utjecaj aplikacije placebo od 21 do 25 dana post partum na reproduktivne parametre normalno oteljenih krava (n = 20)*

Table 6. *The influence of placebo application 21-25 days post partem on the reproductive performances of cows that gave normal birth (n = 20)*

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Aplikacija – konceptija / Application – conception
SV	76,45	95,1	1,6	37,2	73,3	72,8
SE	5,585	6,659	0,152	6,66	6,21	6,68
SD	24,98	29,78	0,681	29,81	27,8	29,9
IV	104	145	2	145	66,7	145
Min	22	50	1	332	33,3	28
Max	126	195	3	477	100	173

U tabelama 5 i 6 prikazani su rezultati statističke obrade podataka dobijenih analizom reproduktivnih pokazatelja normalno oteljenih krava kojima je od 21 do 25 dana *post partum* apliciran gonadorelin ili placebo. Utvrđeno je da je servis period značajno kraći kod oglednih krava u odnosu na kontrole ($p < 0,05$). Ovome je doprineo i 10 dana kraći anestrusni period u odnosu na kontrolne krave. Međutelidbeni period je bio kraći za 8 dana, dok je vremenski period od aplikacije gonadorelina do koncepcije bio kraći za 14 dana u odnosu na kontrole. Međutim, iz uporednih rezultata prikazanih u tabelama 1, 2, 3 i 4 uočava se da su pojedini reproduktivni parametri (anestrusni period, servis period i međutelidbeni period) znatno duži u grupi krava tretiranih od 21 do 25 dana *post partum* u odnosu na druge dve grupe (tabele 1 i 3).

Tabela 7. *Reproduktivni parametri krava kod kojih je koncentracija progesterona bila <0,50 ng/ml seruma, 10 dana nakon aplikacije gonadorelina (n=18)*

Table 7. *Reproductive parameters in cows with blood progesterone concentration lower than 0.50 ng/ml 10 days following gonadoreline application (n=18)*

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Progesterone / Progesterone ng/ml
SV	51,9	69,9	1,83	355	66,7	0,29
SE	4,22	4,53	0,19	4,36	6,6	0.03
SD	17,9	19,2	0,79	18,5	28	0.15
IV	66	97	2	83	66,7	0.49
Min	27	38	1	340	33,3	0
Max	93	135	3	423	100	0.49

U tabelama 7 i 8 prikazani su reproduktivni parametri plotkinja podjeljenih u grupe sa niskom i visokom koncentracijom progesterona 10 dana nakon aplikacije gonadorelina (<0,50 i >0,50 ng/ml).

Tabela 8. *Reproduktivni parametri krava kod kojih je koncentracija progesterona bila >0,50 ng/ml seruma 10 dana nakon aplikacije gonadorelina (n=16)*
 Table 8. *Reproductive parameters in cows with blood progesterone concentration higher than 0.50 ng/ml 10 days following gonadoreline application (n=16)*

	Anestrus / Anoestrus	Servis period / Open days period	Indeks osj. / Insemin. index	MTP / Interval between calvings	% konceptije / conception	Progesteron / Progesterone ng/ml
SV	52,3	66,3	1,56	351	74	3,85
SE	3,62	3,39	0,16	3,33	6,8	0,71
SD	14,5	13,6	0,63	13,3	27,2	2,84
IV	50	41	2	40	66,7	11,6
Min	29	48	1	331	33,3	0,77
Max	79	89	3	371	100	12,3

Analizom dobijenih rezultata nisu utvrđene statističke značajne razlike u svim analiziranim reproduktivnim parametrima. Može se, međutim, uočiti niži indeks osjemenjivanja i veći procenat konceptije kod krava sa višom koncentracijom progesterona od 0,50 ng/ml seruma.

U tabelama 9 i 10. prikazan je uspjeh VO kod krava tretiranih gonadorelinom u različitim vremenskim intervalima, kao i odgovarajućih placebo kontrola.

Tabela 9. *Rezultati konceptije oglednih krava tretiranih gonadorelinom u različitim vremenskim periodima postpartum*
 Table 9. *Results of conception in experimental cows treated with gonadoreline in different intervals postpartum*

Grupe krava u ogledu / Cows in experiment	Gravidno od / Pregnant from				Ukupno krava / Total number of cows	Ukupno koncipiralo / Total conception
	I VO I AI	II VO II AI	III VO III AI	Otvoreni dani / Open days		
14-16	25 (50%)	17 (34%)	3 (6%)	3 (6,25%)	48	45 (93,75%)
17-20	23 (52,27%)	11 (25,0%)	5 (11,36%)	5 (11,36%)	44	39 (88,63%)
21-25	17 (50,0%)	7 (20,58%)	4 (11,76%)	6 (17,64%)	34	28 (82,35%)

Tabela 10. Rezultati koncepcije kontrolnih krava tretiranih placebo u različitim vremenskim periodima post partum

Table 10. Results of conception in control cows treated with placebo in different intervals post partum

Grupe krava u ogledu <i>Cows in experiment</i>	Gravidno od / <i>Pregnant from</i>				Ukupno krava <i>Total number of cows</i>	Ukupno koncipiralo / <i>Total conception</i>
	I VO I AI	II VO II AI	III VO III AI	Otvoreni dani / <i>Open days</i>		
14-16	19 (38%)	19 (38%)	7 (14%)	5 (10%)	50	45 (90%)
17-20	10 (27,02%)	15 (40,54%)	6 (16,21%)	6 (16,21%)	37	31 (83,78%)
21-25	10 (35,71%)	8 (28,57%)	2 (7,14%)	8 (28,57)	28	20 (71,42%)

Analizom podataka navedenih u tabelama 9 i 10 može se zapaziti da se uspeh VO smanjivao sa odlaganjem momenta aplikacije gonadorelina. Procenat koncepcije je generalno bio veći u grupama koje su tretirane ovim hormonom.

Tabela 11. Rezultati koncepcije normalno otehlenih krava u odnosu na koncentraciju progesterona 10 dana nakon aplikacije gonadorelina /

Table 11. Results of conception in cows that gave normal birth according to the blood progesterone level

Grupe krava sa prost. / <i>Progest. levels</i>	Gravidno od / <i>Pregnant from</i>				Ukupno krava / <i>Total number of cows</i>	Ukupno koncipiralo / <i>Total conception</i>
	I VO I AI	II VO II AI	III VO III AI	Otvoreni dani / <i>Open days</i>		
<0,50 ng/ml	7 (30,43%)	7 (30,43%)	4 (17,39%)	5 (21,73%)	23	18 (78,26%)
>0,50 ng/ml	8 (40%)	7 (35%)	1 (5%)	4 (20%)	20	16 (80%)

U tabeli 11 uporedno su prikazani rezultati VO kod krava sa različitom koncentracijom progesterona u krvi 10 dana nakon aplikacije gonadorelina, pri čemu se ne zapažaju statistički značajne razlike među ovim grupama.

Diskusija / Discussion

Prema rezultatima većeg broja autora, reproduktivni problemi goveda farmskog uzgoja se najčešće odražavaju dugim anestrusom i servis periodom, manjom koncepcijom od prvog osjemenjivanja, u velikom indeksu osjemenjivanja, privremenom ili stalnom sterilitetu. Od značajnih faktora koji dovode do poremećaja u reprodukciji ističu se genetski i faktori okoline.

Uspješnost reprodukcije je jedan od važnih faktora profitabilnosti mliječnih stada i idealan mađutelidbeni interval trebao bi u prosijeku biti 365 dana

[25]. Ovo se može jedino postići ako su stepen koncepcije i otkrivanje estrusa visoki a interval između partusa i prvog osjemenjavanja manji od 90 dana [14, 32]. Najviše mliječnih krava obnavlja ovarijalnu cikličnost unutar prvog mjeseca nakon partusa [12, 20], ali neke životinje imaju duži postpartusni interval i mogu biti aciklične tokom perioda kada bi trebale biti osjemenjene [39].

Stevenson i Call [39] ukazuju da je ranije obnavljanje aktivnosti ovarija veoma značajno kako bi se postiglo prvo osjemenjivanje 55 dana nakon teljenja, a koncepcija unutar 85 dana. Prema ovim autorima nakon regresije gravidnog *corpus luteuma* postoji varijabilni anovulatorni period prije nago što se desi prva ovulacija. Dužina ovog anovulatornog perioda može biti uslovljena razinom ishrane, tjelesnom kondicijom, sisanjem, laktacijom, teškim teljenjem, pasminom, starošću, mjesecom teljenja, patologijom uterusa i oboljenjima koja dovode do iznuđenosti životinja [21, 12].

Endokrine promjene koje normalno prate uspostavljenje ciklične aktivnosti *postpartum* opisali su Etherington i sar [15] i Bosu i sar [6]. Na osnovu ovih istraživanja razvijene su i određene metode hormonalne terapije kako u postpartusnom periodu tako i kasnije. U tu svrhu najčešće se koriste GnRH (gonadotropni oslobađajući hormon) i prostanglandin PGF₂_{alfa} i njihove kombinacija.

U veterinarskoj praksi se analozi GnRH uglavnom koriste kod cističnih oboljenja ovarija, za poboljšanje stepena koncepcije aplikacijom neposredno prije ili poslije osjemenjivanja ili u sredini lutealne faze ciklusa i u tretmanu produženih ovulacija. Druga glavna upotreba GnRH i njegovih analoga je ubrzavanje početka ciklične aktivnosti u mliječnim krava u postpartusnom periodu.

U tom pogledu značajni nalazi u krava *post partum* prema Bosu [7] su kako slijedi: 1) Interval od partusa do razvoja folikula ovarija je prosiječno oko 14 dana, a interval do prve ovulacije je između 15 i 30 dana; 2) Koncentracija LH i odgovori hipofize na GnRH povećavaju se vremenom nakon teljenja kod mliječnih krava; 3) Oko 10 do 15 procenata mliječnih krava ispoljava abnormalnu ovarijalnu aktivnost prva dva mjeseca *post partum*; 4) Plodnost mliječnih krava tokom normalnog perioda je u direktnom odnosu sa brojem spolnih ciklusa prije pripuštanja ili osjemenjivanja. Ukazano je da aplikacija gonadorelina dvije sedmice nakon teljenja treba da pospeši ranije obnavljanje ciklične aktivnosti u krava nakon teljenja. Analozi GnRH aplicirani tokom postpartusnog perioda zdravim kravama dovode do ranije ciklične aktivnosti sa povećanom plodnošću kod mliječnih krava u prvom osjemenjivanju [5, 2, 31].

Leslie i sar [23], Bosu [7] i Marin i sar [25] izvijestili su o posebno pozitivnom utjecaju GnRH kod krava sa zaostalim placentom nakon tretiranja sa GnRH u drugoj sedmici postpartum. Britt i sar [9] ukazali su da sistematsko tretiranje krava gonadorelinom u postpartusnom periodu smanjuje broj krava izlučenih usljed neplodnosti i smanjuje procenat pojave cistične degeneracije ovarija od 15,2 u kontrolnoj grupi do 5,7 kod tretiranih krava.

U suprotnosti sa ovim nalazima su rezultati Petersa i Rileyja [32b] i Stevensona [39] koji su utvrdili negativan utjecaj tretiranja sa GnRH kod krava sa in-

fekcijom uterusa. Ovo izgleda podržava izvještaj Etheringtona [17] o povećanom stepenu razvoja piometre nakon tretiranja sa GnRH 15. dana *post partum*. U ovim istraživanjima nisu opisani tretmani kod krava sa teškim teljenjima i retencijama sekundina.

U našem radu analiza uspješnosti primjenjene metode pokretanja polne cikličnosti *post partum* vršena je na osnovu statistički obrađenih rezultata koji se odnose na: dužinu anestrusnog perioda, dužinu servis perioda, vrijednost indeksa osjemenjivanja, trajanje međutelidbenog perioda i vremena od aplikacije gonadorelina do koncepcije u normalno oteljenih krava kojima je apliciran gonadorelin.

O dužini anestrusnog perioda postoje mnogobrojni izvještaji koji se odnose na efikasnost reprodukcije i proizvodnju mlijeka. Tako VanDemark i Salisbury [40] ukazuju da se maksimalna efikasnost reprodukcije postiže između 100. i 120. dana poslije teljenja. Međutim, ovaj pristup ne obezbjeđuje maksimalnu reprodukciju tj. jedno tele svake godine. McClary i sar [26] ukazuju da je skoro 90 procenata oteljenih krava ponovo sposobno za reprodukciju prije isteka roka od 60 dana posle teljenja. Slama i sar [38] za signifikantno skraćenje međutelidbenog intervala preporučuju da se sa osjemenjivanjem krava otpočne u periodu 45 i 50 dana poslije teljenja, što omogućuje aplikaciju, reinseminaciju, intenzivniji program otkrivanja estrusa i efikasnije osjemenjivanje.

Mnogobrojna istraživanja su ukazala da je trajanje anestrusa *post partum* pod uticajem različitih faktora kao što su ishrana, laktacija, starost, pasmina, sisanje teladi, sezona teljenja, sistem držanja krava, tjelesna masa [32, 21, 33, 32a]. O značajnosti razlika u dužini anestrusnog perioda na osnovu mjerenja koncentracije progesterona u krvi ili mlijeku izjavili su Bulman i Lamming [11], King [20] i Keeling i Ravindran [18].

Bulman i Lamming [11] na osnovu određivanja koncentracije progesterona kod 553 mliječne krave *post partum* utvrdili su da se kod 90 procenata krava obnavlja ovarijalna aktivnost sa 50 dana *postpartum*, a da se kod 10 procenata krava ne uspostavlja normalna ovarijalna aktivnost. Međutim, prema McLeodu i Williamsu [27] ovarijalna cikličnost se obnavlja kod 81 procenta krava 30 dana nakon teljenja, a u 92 procenta krava 42 dana nakon teljenja.

Rezultati naših istraživanja aplikacije gonadorelina od 14 do 16 dana *postpartum* ukazuju da je anestrusni period kod tretiranih krava bio kraći za 21 dan u odnosu na kontrolu. Razlika je još značajnija kod krava tretiranih gonadorelinom u periodu od 17 do 20 dana *post partum*. Međutim, kod krava tretiranih u periodu od 21 do 25 dana *post partum* razlike u dužini anestrusnog perioda su manje u odnosu na druge dvije grupe. Rezultati naših istraživanja nakon aplikacije gonadorelina normalno oteljenim kravama su u saglasnosti sa navodima Leslie i sar [22], Britt i sar [9] i Nasha i sar [30].

U našim istraživanjima, krave kojima je apliciran gonadorelin od 14 do 16, od 17 do 20 i od 21 do 25 dana *post partum* imale su servis periode $64,96 \pm 17,05$, $65,92 \pm 22,24$ i $81,07 \pm 36,16$ dana. Istovremeno, u kontrolnim gru-

pama servis period je bio $94,82 \pm 31,71$, $96,26 \pm 23,7$ i $95,10 \pm 29,78$ dana. Značajnosti razlika bile su na nivou od $p < 0,01$. Međutim, u grupama krava tretiranih gonadorelinom od 21 do 25 dana *post partum* ove razlike su znatno manje i iznose 14 dana.

Ocjenjivanje intervala teljenja je standardna metoda prosuđivanja uspjeha programa reprodukcije u stadu. Neki autori dovode u pitanje vrijednosti takvog pristupa i sugerišu da se u obzir mogu uzeti i proizvodnje mlijeka i način držanja. U idealnom slučaju treba uzeti u obzir i te faktore, kao i ambijent zajedno sa intervalom teljenja, kada se ocjenjuje reproduktivno stanje stada. Na dužinu međutelidbenog intervala utječu mnogobrojni faktori, na prvom mjestu dužina anestrusnog perioda i pravovremeno otkrivanje estrusa. Kako je dužina graviditeta genetski uslovljena i na nju se ne može utjecati, svi ostali činioci su subjektivno uslovljeni [13]. Tu se na prvom mjestu misli na uslove držanja, ishranu prije i poslije partusa, higijenu porođaja i puerperija.

Veći broj autora smatra da je ekonomski opravdan međutelidbeni interval od 360 do 390 dana [13, 37, 42]. Esslemont [14] ukazuje da iz ekonomskih razloga krava treba da se teli svakih 330 dana, uz period zasušenja od 50 dana i da se na taj način ostvaruje maksimalna proizvodnja mlijeka.

U našim istraživanjima, nakon aplikacije gonadorelina normalno oteljenim kravama prema grupama (14-16, 17-20, 21-25 dana *postpartum*) međutelidbeni interval je bio 350, 346 i 364 dana. U kontrolnim grupama krava on je bio 377,3, 378 i 372 dana. Uočava se značajna razlika od 27, 32 i 8 dana kod oglednih krava u odnosu na kontrole. Kod najvećeg broja tretiranih krava ovim tretmanom je postignut optimalan međutelidbeni period. Rezultati naših istraživanja su u saglasnosti sa nalazima Benmarda i Stevensona [5] i Etheringtona [17].

Procenat koncepcije nakon prvog osjemenjivanja se najčešće uzima kao mjerilo uspjehnosti VO. Boyd i Reed [8] navode da od prvog osjemenjivanja ostaje gravidno oko 60 procenata krava. Prema Mooreu [28] procenat koncepcije u velikim stadima se kreće oko 30-50 procenata. Attonaty i sar [3] ukazuju da je procenat koncepcije od prvog VO u mliječnim krava u Francuskoj niži od 45 procenata.

U našim istraživanjima prosječni rezultati ukupne koncepcije u odnosu na vremensku aplikaciju gonadorelina *post partum* su bili 88,8 procenata. U kontrolnoj grupi krava od ukupnog broja (115) koncipiralo je 96 ili 83,47 procenata. Rezultati koncepcije normalno oteljenih krava u odnosu na jednokratno uzorkovanje progesterona 10 dana nakon aplikacije gonadorelina nisu se značajno razlikovali. Utvrđene niske koncentracije progesterona ($< 0,50$ ng/ml) kod jednokratnog uzorkovanja ne znače da krave nisu otpočele ciklirati jer se one dokazuju i u folikularnoj fazi spolnog ciklusa koja traje u prosijeku 7 dana. Prema Youngu i sar [41], Etheringtonu i sar [95] i Axu [4] prisustvo *corpus luteum-a* ne utječe na korisne efekte u odnosu na koncepciju što je zapaženo i u našim istraživanjima.

Literatura / References

1. Ahmaway A. A., Vogt D. M., Garverick H. A.: Coincidences and association of cystic ovaries with production and reproduction traits in dairy cattle, *J. Animal. Breed. Genet.*, 109, 2, 129-135, 1992.
2. Archibald L. F.: Apparent failure of prostaglandin F2 to improve the reproductive efficiency of postpartum dairy cows that had experienced dystocia and/or retained fetal membranes. *Theriogen.*, 34, 6, 1025-1034, 1990.
3. Attonaty M., Gastinel J., Jalles M., Thibier G.: Consequences economiques des troubles de la fecondite, *Troubles de la Reproduction dans L espece Bovine. 2nd Edition Compte Rendu de Journees d Information*, Paris, 16, 52, 1973.
4. Ax R. L.: Realistic goals for a dairy breeding program. *Proc. Southwest Nutr. Manage Conf., University of Arizona, Tucson*, 92-100, 1991.
5. Benmard M., Stevenson J.: Gonadotropin-Releasing hormone and Prostaglandin F2 alpha for postpartum dairy cows, *Dairy Sci.* 69, 800-811, 1988.
6. Bosu W. T. K., Peter A. T., DeDecker R. J.: Short-term changes in serum luteinizing hormone, ovarian response and reproductive performance following gonadotrophin releasing hormone treatment in postpartum dairy cows with retained placenta. *Can. J. Vet. Res.* 52, 2, 165-171, 1988.
7. Bosu W. T. K.: The use of GnRH in bovine reproduction. *Comp. C. E. Prac. Vet.* 4, 555, 1982.
8. Boyd H., Reed H.: Investigation into the incidence and causes of infertility in dairy cattle-influence of some management factors, *Brit. Vet. J.* 117, 74, 1961.
9. Britt J. H., Harrison D. S., Morrow D. A.: Frequency of ovarian follicular cysts, reasons for culling and fertility in Holstein Friesian cows given gonadotrophin releasing hormone at two weeks after parturition. *Am. J. Vet. Res.* 38, 749, 1977.
10. Britt J. H., Kittock R. J., Harrison D. S.: Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early postpartum cows. *J. Anim. Sci.* 39, 915, 1974.
11. Bulman D. C., Lamming G. E.: Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 54, 447, 458, 1978.
12. Callahan C. J., Horsman L. A.: Treatment of early postpartum metritis in dairy cattle: response and subsequent fertility. *Bov. Prac.* 22, 124-128, 1987.
13. De Kruif A.: Factors influencing the fertility of cattle population. *J. Reprod. Fert.*, 54, 507, 518, 1978.
14. Esslemont R. J.: The detection of oestrus in dairy cows, *Vet Annual*, 15th Issue, 50-53, 1977.
15. Etherington W. G., Martin S. N., Bonnett B., Johnson W. H., Miller R. B. *et al.*: Reproductive Performance of dairy cows following treatment with a single or two sequential doses of Cloprostenol 26 and/or 40 days postpartum. *Theriogen.* 29, 565-575, 1988.
16. Etherington W. G., Bosu W. T. K., Martin S. W., Cote J. F.: Reproductive performance in dairy cows following postpartum treatment with gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin: a field trial. *Can. Comp.* 48, 3, 245-250, 1984.
17. Etherington W. G.: The effect of gonadotrophin releasing hormone and/or cloprostenol on reproductive performance in Holstein Friesian dairy cows: A Field trial. *MSc Thesis, University of Guelph*, 1983.
18. Keeling B., Ravindran V.: Detection of postpartum ovarian activity in cows using on-farm progesterone ELISAS. *Vet. Rec.* 131, 13, 291-293, 1992.
19. King G. J., Saballo A.: Ovarian function in dairy cows during early lactation. *J. Anim. Sci.* 42, 3, 688-692, 1976.
20. King G. J.: Normal, short and long postpartum estrus cycles in dairy and beef cows. *10th Int. Congr. on Anim. Reprod. and Al.* University of Illinois at Urbana-Champaign USA. June 10-14, 1, 399, 1984.
21. Lamming G. F., Wathes D. C., Peters A. R.: Endocrine patterns of the postpartum cow. *J. Reprod. Fert. Suppl* 30, 155, 170, 1981.
22. Leslie K. E., Doig P. A., Bosu W. T. K., Curtis R. A.: Effects of gonadotrophin releasing hormone on reproductive performance of dairy cows with retained placenta. *Can. Comp. Med.*, 48, 4, 354-359, 1984.
23. Leslie K. E.: Effects of gonadotrophin releasing hormone on reproductive performance of dairy cows with retained placenta. *Ph D thesis, University of Guelph*, 1981.
24. Louca A., Legates J. E.: Production losses in dairy cattle due to days open. *J. Dairy Sci.* 51, 573, 1968.
25. Marin S. W., Aziz S. A., Sandals W. C. D., Curtis R. A.: The association between clinical disease, production and culling of Holstein-Friesian cows.

- Can. J. Anim. Sci. 62, 633, 1982. - 26. McClary D. G., Ptnam M. R., Wright J. C., Sartin J. L. Jr, *et al*: Effect of early postpartum treatment with prostanglandin F2alpha on subsequent fertility in the dairy cow. *Theriogen*. 31, 3, 565-570, 1989. - 27. McLeod B. J., Williams M. E.: Incidence of ovarian dysfunction in postpartum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment. *Vet. Rec.* 128, 121-124, 1991. - 28. Moore C. J.: An approach to applying Cloprostenol in practical farming conditions, Polish Veterinary Society Congress, Sept, 1978. - 29. Morrow D. A., Roberts S. J.: A review of postpartum ovarian activity and involution of the uterus and cervix in cattle. *The Cornell Veterinarian*. LIX, 1, 134-154, 1969. - 30. Nash J. G., Ball L., Olson J. D.: Effects on reproductive performance of administration of GnRH to early postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci.* 50, 1017, 1980. - 31. Nasir Hussain Shah: Reproductive performance of nili-ravi buffaloes after a single injection of GnRH early post-partum. Ph D thesis Utrecht. 1990. - 32. Pelissier C. L.: Dairy cattle breeding problems and their consequences, *Theriogen*. 6, 5, 1976. - 32a. Peters A. R., Riley G. M.: In „Factors influencing fertility in the postpartum cow” (eds H Karg and Schallenberger) 225, Martinus Nijhoff, The Hague, 1982. - 32b. Peters A. R., Riley G. M.: Is the cow a seasonal breeder? *Brit. Vet. J.* 138, 533, 1982. - 33. Radford H. M., Nancarrow C. D.: Ovarian function in suckling and non-suckling beef cows postpartum. *J. Reprod. Fert.* 59, 49, 56, 1978. - 34. Seguin B. E.: Role of prostanglandins in bovine reproduction. *JAVMA*, 176:1178-1181, 1980. - 35. Seguin B. E.: Use of prostanglandin in cows with unobserved estrus. *Acta Vet. Scand.*, Suppl. 77, 343, 1981. - 36. Schams D., Schallenberger E., Menser Ch., Stanig J., Zottmeiner K., Hofman B., Karg H.: Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenol.* 10, 453-468, 1978. - 37. Sherington J., Roche J. F.: Reproductive efficiency in spring calving dairy cows, *Irish Vet. J.*, 32, 8, 137, 1978. - 38. Slama H., Wells M. E., Adams G. D.: Factors Affecting Calving Interval in Dairy Herds, *J. Dairy Sci.*, 59, 7, 1976. - 39. Stevenson J. S., Call E. P.: Fertility of postpartum dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone and prostanglandin F2alpha: a field trial. *J. Dairy Sci.* 71:7, 1926-1933, 1988. - 40. VanDe-mark N. L., Salisbury G. W.: The relation of the postpartum breeding interval to reproductive efficiency in dairy cow. *J. Anim. Sci.* 9, 307-313, 1950. - 41. Young I. M., Harvey M. J. *et al*: Increased conception rate in dairy cows after early postpartum administration of prostanglandin F2alpha. *Vet. Rec.* 155, 429-431, 1984. - 42. Zeddies J.: *Der Wirtschaftliche Werte der Fruchtbarkeit, Die Milchpraxis*, VIII, 1977.

ENGLISH

INFLUENCE OF PUERPERAL GONADORELINE APPLICATION ON REPRODUCTIVE PARAMETAR VALUES IN COWS

M. Šabanović, T. Mutavelić, A. Suljkanović, M. Lazarević

This paper presents results of investigations conducted in order to investigate the influence of gonadoreline application 14-16, 17-20 and 21-25 days postpartum on reproductive parameters values in cows. A total of 241 cows was included in the study. Out of this number, 126 cows were treated with gonadoreline while 115 animals were placebo treated and served as controls. The estimation of progesterone concentration was conducted on 43 animals selected randomly from the first two groups of treated cows.

Analyses of the results in cows that gave normal birth, revealed that mean anoestrus period, open day's period and intervals between calving were significantly lower in the gonadoreline treated groups. Reproductive parameter values in cows with different progesterone concentrations did not differ significantly. The period from gonadoreline ap-

plication untill conception, was shorter by 30, 30 and 14 days, respectively, compared to the controls. The total conception rate from the first three artificial inseminations was 88. 8% in gonadoreline treated groups and 83.47 % in the control groups.

Key words: cows, gonadoreline Gn RH, reproductive parameters

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ АППЛИКАЦИИ ГОНАДОРЕЛИНА В ПУЭРПЕРИИ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ КОРОВ

М. Шабанович, Т. Мутавелич, А. Сульканович, М. Лазаревич

В этой работе вынесены результаты испытания влияния аппликации гонадoreлина в временных периодах от 14-16, 17-20 и 21-25 дней после родов на репродуктивные параметры молочных коров. Исследования совершены у совокупно 241 коровы. Из этого числа, гонадoreлином ечено 126 плодовитых коров пока контрольную группу составляло 115 коров, которые в тех же самых интервалах получали плацебо инъекции. Определение концентрации прогестерона совершено 10 дней после аппликации гонадoreлина у 43 коровы выбранных методом случайного выбора из первых двух групп леченных плодовитых коров.

Анализом полученных результатов в нормально отеленных коров утверждено, что средний анаструсный период, сервис период и интервал, относящийся между телением в группах плодовитых коров, леченых гонадoreлином значительно короче в отношении контрольных групп. Репродуктивные параметры коров с различной концентрацией прогестерона, 10 дней после аппликации гонадoreлина не более занчительно различались. Временный период от аппликации гонадoreлина до концепции к леченным группам был короче за 30, 30 и 14 дней в отношении контрольных. Совокупная концепция из первых трёх искусственных осеменений у коров, леченных гонадoreлином составляла 88,8 процентов, пока в контрольной группе коров конципировало 83, 47 процентов единичнжых животных.

Ключевые слова: коровы, гонадoreлин Гн РХ, репродуктивные параметры

**ISPITIVANJE UTICAJA KOLOSTRALNIH ANTITELA NA
RAZVOJ PATOMORFOLOŠKIH PROMENA POSLE
EKSPERIMENTALNE INFEKCIJE PRASADI VIRUSOM
KLASIČNE KUGE SVINJA***

***INVESTIGATIONS OF INFLUENCE OF COLOSTRAL ANTIBODIES ON
DEVELOPMENT OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES FOLLOWING
EXPERIMENTAL INFECTION OF PIGLETS WITH CLASSICAL SWINE
PLAGUE VIRUS***

Jasna Prodanov, R. Došen, M. Valčić, V. Polaček, T. Petrović, S. Lazić**

Patomorfološke promene koje se ustanovljavaju posle infekcije izazvane virusom klasične kuge svinja (KKS) kod neimunih jedinki su dobro poznate. Međutim, sa kliničko-patološkog aspekta problem predstavljaju prasadi, kod kojih se i pored ustanovljenih kolostralnih antitela virus klasične kuge svinja može da umnožava, ali bez ispoljavanja kliničkih simptoma karakterističnih za KKS. Postavlja se pitanje karakteristika patomorfološkog nalaza u slučaju probijanja kolostralnog imuniteta prasadi. Radi ustanovljavanja uticaja kolostralnih antitela na razvoj patomorfoloških promena kod KKS, izvedena je eksperimentalna infekcija virulentnim virusom KKS (soj Beker) prasadi u uzrastu 28, 35, 44. i 54. dana koja potiču od krmača vakcinisanih K-sojem virusa KKS. Kontrolna grupa je obuhvatala nevakcinisane jedinke, koje potiču od nevakcinisanih krmača. Posle uginuća i/lili žrtvovanja prasadi u ogledu, obavljen je patomorfološki pregled svih organskih sistema i prisustvo antigena virusa KKS je utvrđivano u organima i tkivima prasadi imunoenzimskim (ELISA) testom. Iako nakon veštačke infekcije kod svih jedinki nisu ustanovljeni klinički znaci karakteristični za klasičnu kugu svinja, patomorfološki nalaz posle uginuća i/lili žrtvovanja je ukazao na uspešnu eksperimentalnu infekciju i bio je tipičan za akutni tok KKS. Ustanovljena su krvarenja u većini organa i seroznih membrana (he-

* Rad primljen za štampu 20. 9. 2006. godine

** Mr Jasna Prodanov, istraživač saradnik, mr Radoslav Došen, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr Miroslav Valčić, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Vladimir Polaček, istraživač saradnik, dr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, dr Sava Lazić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

moragična dijateza). Međutim, utvrđene su i izvesne varijacije u pogledu izraženosti i distribucije patomorfoloških promena kod pojedinih jedinki.

Ključne reči: klasična kuga svinja, patomorfološke promene, kolostralna antitela

Uvod / Introduction

Patomorfološke promene koje se ustanovljavaju posle infekcije izazvane virusom klasične kuge svinja (KKS) kod neimunih jedinki dobro su poznate [8]. Međutim, u uslovima kada je klasična kuga svinja endemski prisutna, zapaža se i varijabilnost kliničkih simptoma i patomorfološkog nalaza, što svakako otežava dijagnostikovanje u ranoj fazi infekcije. Sa infektivnog aspekta problem predstavljaju prasići, kod kojih se i pored ustanovljenih kolostralnih antitela virus klasične kuge svinja može da umnožava, ali bez ispoljavanja kliničkih simptoma karakterističnih za KKS [6]. Dijagnostika je još kompleksnija ukoliko se ima u vidu da su u područjima u kojima je klasična kuga svinja endemski prisutna moguće infekcije virusima različite virulentnosti. Postavlja se pitanje karakteristika patomorfološkog nalaza u slučaju nedovoljne pasivne, kolostralne zaštite prasadi protiv infekcije izazvane virulentnim virusom klasične kuge svinja.

Da bi se ustanovio uticaj kolostralnih antitela na razvoj patomorfoloških promena kod klasične kuge svinja, obavljena je eksperimentalna infekcija izazvana virulentnim virusom klasične kuge prasadi koja potiču od krmača višekratno vakcinisanih Kina (K) sojem virusa KKS.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ogledna grupa životinja je obuhvatala osam prasadi, odnosno po dva praseta različitog uzrasta koja potiču od krmača višekratno vakcinisanih K-sojem virusa KKS. Nakon odabira prasadi, obavljeno je njihovo obeležavanje i formiranje su IV starosne grupe uzrasta od 21, 28, 37 i 47 dana. Kontrolna grupa je obuhvatala tri nevakcinisana praseta, koja potiču od nevakcinisanih krmača, uzrasta od 60 dana. Posle odabira prasadi usledio je period aklimatizacije od sedam dana, tokom koga je svakodnevno obavljen klinički pregled i u tom periodu životinje su bile klinički zdrave. Posle okončanja perioda aklimatizacije a u uzrastu prasadi od 28, 35, 44 i 54 dana, prasad su veštački inficirani intramuskularnom aplikacijom (i/m) 1ml virusa KKS, soj Baker, titra 3×10^5 TCID₅₀/ml. Veštačka infekcija prasadi kontrolne grupe obavljena je po istom modelu (i/m, 1 ml virusa KKS, soj Baker, titra 3×10^5 TCID₅₀/ml).

Pre veštačke infekcije, obavljeno je ispitivanje uzoraka krvnih seruma eksperimentalnih životinja imunoenzimskom tehnikom (ELISA) na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa klasične kuge svinja.

Posle uginuća i/ili žrtvovanja prasadi, obavljen je patomorfološki pregled svih organskih sistema. Od svakog praseta uzorkovani su organi: slezina, bubreg, tonzile, mandibularni limfni čvor i ileum za pregled *ELISA* tehnikom na prisustvo antigena virusa klasične kuge svinja.

Rezultati ispitivanja / Results

Pregledom krvnih seruma prasadi kontrolne grupe pre veštačke infekcije (0. dan) *ELISA* tehnikom nije ustanovljeno prisustvo specifičnih antitela protiv virusa klasične kuge svinja. Rezultati pregleda krvnih seruma na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa klasične kuge svinja prasadi ogledne grupe su prikazani u tabeli broj 1.

Tabela 1. Rezultati pregleda krvnih seruma prasadi ogledne grupe na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa klasične kuge svinja (*ELISA* tehnika) /
Table 1. Results of blood serum analysis of experimental piglets for presence of specific antibodies against classical swine plague virus (ELISA technique)

Uzrast prasadi / <i>Piglet age</i>	Oznaka prasadi / <i>Piglet number</i>	0. dan / <i>Day 0</i>
28 dana / <i>28 days</i>	I/1	+
	I/2	-
35 dana / <i>35 days</i>	II/1	-
	II/2	+
44 dana / <i>44 days</i>	III/1	-
	III/2	-
54 dana / <i>54 days</i>	IV/1	-
	IV/2	+

(+) pozitivan nalaz ; (-) negativan nalaz / (+) *positive finding*; (-) *negative finding*

Klinička slika bolesti posle veštačke infekcije prasadi koja potiču od vakcinisanih krmača / *Clinical picture of disease following artificial infection of piglets originating from vaccinated sows*

Kod prasadi uzrasta od 28 i 35 dana prvi porast telesne temperature je ustanovljen tri dana posle infekcije (dpi), kao i pojava kliničkih simptoma bolesti: smanjen apetit, ležanje i apatija. Zatim su usledili konjunktivitis (4 i 5 dpi), opstipacija (5 dpi) i proliv 6 dpi. Kod svih jedinki su zabeleženi lokomotorni poremećaji, konvulzija i pareza zadnjih ekstremiteta. Krvarenja na koži su ustanovljena samo kod jedne jedinke (br. I/1, 7 dpi). Sva prasadi uzrasta od 28 i 35 dana uginula je do 8 dpi. Kod prasadi uzrasta od 44 dana, prvi porast telesne temperature je ustanovljen već 2 dpi. Po svom toku klinička simptomatologija se nije razlikovala u odnosu na prethodno opisane jedinke. Promene po koži su zabeležene samo kod praseta br. III/2 u vidu izraženog eritema (od 9 dpi) i pojava krvarenja (od 7 do

11 dpi). Prase br. III/1 je uginulo 10 dpi, a prase br. III/2 12 dpi. U okviru grupe prasadi uzrasta od 54 dana, ističe se jedinka br. IV/2, kod kojih su samo u intervalu od 2 do 6 dpi ustanovljeni porast telesne temperature, smanjen apetit i apatija. Nakon toga je nastupilo poboljšanje i do kraja eksperimentalnog perioda (30 dpi) nije zabeleženo pojavljivanje oboljenja. Ovo prase je preživelo veštačku infekciju i žrtvovano je 30 dpi. Nasuprot tome, drugo prase uzrasta od 54 dana je od 3 dpi obolelo sa kliničkim znacima karakterističnim za klasičnu kugu svinja (ali bez pojave eritema i krvarenja po koži) i uginulo 7 dpi.

Kontrolna grupa prasadi / *Control group of piglets*

Prvi klinički simptomi kod prasadi kontrolne grupe ustanovljeni su 2 i 3 dpi: povišena telesna temperatura, smanjen apetit, apatija, konjunktivitis i opstipacija. Pojava proliva je zabeležena 4 dpi a afonija 6 dpi. Kod dva praseta od 6 dpi su dominirali lokomotorni poremećaji sa znacima ataksije i posteriorne pareze (br. K/1 i K/2), dok je kod praseta br. K/3 od 7 dpi sve do uginuća dominirala posteriorna pareza sa konvulzijama. Kod sve prasadi su zabeležene promene po koži u vidu cijanoze, eritema i izraženih krvarenja od 5 dpi sve do uginuća. Prasad kontrolne grupe su uginula 10 dpi (br. K/3), odnosno 13 dpi (br. K/1 i K/2).

U tabeli 2 prikazani su rezultati pregleda organa i tkiva na prisustvo antigena virusa klasične kuge svinja, dok su u tabeli 3 prikazane ustanovljene patomorfološke promene po eksperimentalnim grupama.

Tabela 2. Rezultati ispitivanja ELISA tehnikom na prisustvo i distribuciju antigena virusa klasične kuge svinja (ogledna i kontrolna grupa) /
Table 2. Results of investigations using ELISA technique for presence and distribution of classical swine plague viral antigens (experimental and control group)

Oznaka praseta / <i>Piglet number</i>	Slezina / <i>Spleen</i>	Bubreg / <i>Kidney</i>	Mandibularni limfni čvor / <i>Mandibular lymph node</i>	Tonzile / <i>Tonsils</i>	Ileum / <i>Ileum</i>
I / 1	+	+	+	+	+
I / 2	+	+	+	+	+
II / 1	+	+	+	+	+
II / 2	+	+	+	+	+
III / 1	+	+	+	+	+
III / 2	+	+	+	+	±
IV / 1	+	±	+	+	+
IV / 2	–	–	–	–	–
K/1	+	+	+	+	+
K/2	+	+	+	+	+
K/3	+	+	+	+	+

(+) pozitivan nalaz ; (–) negativan nalaz, (±) sumnjiva reakcija /
(+) *positive finding*; (–) *negative finding*; (±) *suspect reaction*

Tabela 3 Ustanovljene patomorfološke promene u ogleđnoj i kontrolnoj grupi prasadi /
Table 3. Established pathomorphological changes in experimental and control groups of piglets

Patomorfološke promene / Pathomorpho- logical changes	Broj praseta / Piglet number		I/1	I/2	II/1	II/2	III/1	III/2	IV/1	IV/2	K/1	K/2	K/3
	dpk-uginuće / Dpk-death		7	6	5	9	8	10	6	- *	12	12	8
	dpi-uginuće / Dpi-death		9	8	7	11	10	12	8	- *	14	14	10
Icterus	-	-	++	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
Haemorrhagiae subcutaneae	-	-	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	-	+
Petechiae epiglottidis	-	-	++	-	++	-	+++	-	+++	-	+++	++	++
Petechiae pharyngis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-
Pharyngitis diphtheroides necroticans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-
Tonsillitis diphtheroides necroticans	++	++	++	++	++	+++	+	+++	+++	-	+++	+++	+++
Lymphadenitis simplex acuta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-
Lymphadenitis haemorrhagica acuta	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
Petechiae thymi	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
Infarctus haemorrhagicus lienis	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Infarctus ischaemicus lienis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
Eccymosis pulmonis	-	+++	-	+++	-	+++	+++	-	+++	-	+++	+++	+++
Petechiae epicardii	-	+++	+++	+++	+++	-	+++	-	+	-	+++	+	+
Petechiae endocardii	-	-	+++	-	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-
Petechiae corticis renis	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	+++

nastavak tabela 3.

Patomorfološke promene / <i>Pathomorphological changes</i>	Broj praseta / <i>Piglet number</i>		I/1	I/2	II/1	II/2	III/1	III/2	IV/1	IV/2	K/1	K/2	K/3
	dpk-uginuće / <i>Dpk-death</i>		7	6	5	9	8	10	6	- *	12	12	8
	dpi-uginuće / <i>Dpi-death</i>		9	8	7	11	10	12	8	- *	14	14	10
Petechiae vesicae urinae			+	+	+	+	+++	+	+	+++	+++	+++	+++
Haemorrhagiae hepatis			-	++	-	-	-	++	-	-	++	-	++
Hepatitis apostematosa			-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
Petechiae et ecchymoses cholecistae			-	-	-	-	+++	+++	-	-	+++	++	++
Haemorrhagiae mesenterii			-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+
Petechiae tunicae serosae ventriculi			-	-	+++	-	-	-	-	-	++	++	+++
Petechiae tunicae mucosae ventriculi			+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-	+++	++	+++
Petechiae tunicae mucosae intestini			+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
Petechiae tunicae mucosae caeci			+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	-	+++
Petechiae tunicae mucosae coli			+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-	+++	-	+++
Colitis diphteroides diffusa et follicularis			-	-	-	-	-	++	-	-	-	+++	-
Haemorrhagiae mucosae recti			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
Congestio cerebri			+++	+++	+	+++	+++	++	++	-	+++	+++	+++
Haemorrhagiae cerebri et cerebelli			-	+++	+++	-	+++	-	+++	-	+++	++	++

- nije ustanovljeno / *not established*; + slabo izraženo / *poorly expressed*; ++ izraženost srednjeg stepena / *expressed in medium degree*; +++ izrazito / *extremely*; (dpk-uginuće) - interval u danima od pojave prvih kliničkih simptoma do uginuća / *(dpk-death) interval in days from appearance of first clinical symptoms until death*; (dpi-uginuće) - interval u danima od veštačke infekcije do uginuća / *(dpi-death) interval in days from artificial infection until death*; *- prase žrtvovano 30 dpi / *piglet sacrificed 30 dpi*



Slika 1. Klinička slika bolesti: izražene konvulzije, prase br. III/1 /
Figure 1. Clinical picture of disease: expressed convulsions, piglet No.III/1



Slika 2. Hemoragični limfadenitis, prase br. III/2 (12. dpi) /
Figure 2. Haemorrhagic lymphadenitis, piglet No.III/2 (12th day post infection)



Slika 3. Difteroidno-nekrotični tonzilitis, prase br. IV/1 (8. dpi) /
Figure 3. Diphtheroid-necrotic tonsillitis, piglet No.IV/1 (8th day post infection)



Slika 4. Hemoragični infarkti na slezini, prase br. I/1 (9. dpi) /
Figure 4. Haemorrhagic infarcts on spleen, piglet No.I/1 (9th day post infection)



Slika 5. Tačkasta krvarenja u bubrežnoj karlici, prase br. K/2 (14. dpi) /
Figure 5. Spotted haemorrhage in kidney pelvis, piglet No.K/2 (14th day post infection)



Slika 6. Tačkasta krvarenja po sluzokoži želuca, prase br. II/2 (9. dpi) /
Figure 6. Spotted haemorrhage in stomach mucosa, piglet No.II/2 (9th day post infection)



Slika 7. Krvarenja po sluzokoži rektuma, prase br. I/2 (8. dpi) /
Figure 7. Bleeding in rectum mucosa, piglet No.I/2 (8th day post infection)

Diskusija / Discussion

Pregledom krvnih seruma prasadi pred izvođenje eksperimentalne infekcije (0. dan), kolostralna antitela protiv virusa klasične kuge svinja utvrđena su kod po jednog praseta iz grupa uzrasta od 28, 35 i 54 dana. Kod prasadi uzrasta od 44 dana, kao i kod prasadi kontrolne grupe ova antitela nisu utvrđena. Analizom podataka o vakcinaciji krmača od kojih potiče prasad ogledne grupe, ustanovljeno je da je svaka od krmača vakcinisana protiv klasične kuge svinja u dosadašnjem periodu eksploatacije u proseku sedam puta. Smatra se da koncentracija imunoglobulina u serumu prasadi nakon ingestije kolostruma direktno zavisi od perioda proteklog između vakcinacije i prašenja krmače: ukoliko se krmače vakcinišu dovoljno dugo pre prašenja (najmanje pet meseci ranije), kolostralna antitela imaju poluživot karakterističan za klasu IgG (10-14 dana) [1]. Ukoliko se vakcinacija krmača obavi šest meseci pre gestacije, tj. deset meseci pre prašenja, maternalna antitela štite prasad do sedme nedelje, čak i do desete nedelje života [1, 5]. Na osnovu navedenog proizilazi da je za kolostralni imunitet prasadi koja potiču od vakcinisanih krmača značajniji interval između vakcinacije i prašenja, nego učestalost vakcinacija svake pojedinačne krmače.

Nakon veštačke infekcije prasadi uzrasta od 28 i 35 dana, uprkos utvrđenim antitelima maternalnog porekla kod po jedne jedinice iz svake grupe, već 3 dpi su ustanovljeni klinički znaci oboljenja. Utvrđene vrednosti telesnih temperatura i kliničke manifestacije bolesti odgovaraju karakteristikama akutnog toka opisanom u literaturi [2], ali je samo kod jednog praseta (br. I/1) ustanovljena pojava karakterističnih krvarenja po koži. S obzirom na to da se promene na koži belih svinja smatraju jednom od bitnih karakteristika oboljenja [2, 8], svakako da bi njihov izostanak u slučaju izbijanja klasične kuge svinja kod prasadi ovog uzrasta predstavljalo problem u kliničkoj dijagnostici, pogotovo na farmama na kojima se sprovodi imunoprofilaksa protiv klasične kuge svinja. Kod inficirane prasadi uzra-

sta od 44 dana, prvi porast telesne temperature je ustanovljen 2 dpi, što je jedan dan ranije u odnosu na prethodne dve grupe. Ovo može da se poveže sa činjenicom da kod nijedne inficirane jedinke 0. dana nisu ustanovljena kolostralna antitela. Promene po koži karakteristične za akutni tok klasične kuge svinja [2] ustanovljene su samo kod jednog praseta (br. III/2). Terzić i sar [7] ustanovili su da je prasad koja potiče od vakcinisanih krmača samo delimično zaštićena od infekcije izazvane virulentnim virusom klasične kuge svinja u starosti od 28 i 42 dana, uprkos činjenici da su u uzorcima krvnih seruma ustanovljena kolostralna antitela. Isti autor smatra da u uzrastu od 21 do 42 dana života maternalna antitela obezbeđuju samo delimičnu zaštitu od infekcije, ali su, sa druge strane, u dovoljnom tiru da interferiraju sa aktivnom imunizacijom.

Posle eksperimentalne infekcije prasadi uzrasta od 54 dana, prase br. IV/1 je uginulo 8 dpi. Nasuprot ovome, prase br. IV/2, iako je 3 dpi imalo porast telesne temperature i pokazivalo kliničke znake apatije i inapetencije, krajem 6 dpi je usledilo poboljšanje i ova jedinka do 30 dpi nije pokazala kliničke znake oboljenja. Van Oirschot [9] navodi da je u eksperimentalnim uslovima moguće da se izazovu različite kliničke forme klasične kuge svinja sa identičnim izolatima virusa. Kod prasadi uzrasta od 54 dana, dinamika infekcije se svakako nije kretala u skladu sa podacima iz literature da nakon 56 dana života nivo specifičnih antitela maternalnog porekla ne štiti od infekcije [7]. Kod prasadi kontrolne grupe je već 2 dpi zabeleženo pojavljivanje kliničkih znaka karakterističnih za klasičnu kugu svinja, što je u saglasnosti sa rezultatima Milanova i sar [4].

Patomorfološkim pregledom nakon uginuća sedam prasadi ogledne grupe ustanovljena su krvarenja u većini organa i seroznim membranama (hemoragična dijateza), za koje su saopštili drugi autori da su značajna karakteristika KKS [2, 8], pri čemu se ističe nalaz promena: univerzalni hemoragični limfadenitis, tačkasta krvarenja po bubrezima i sluzokoži mokraćne bešike, krvarenja po serozama i mukozama digestivnog trakta, i promene koje se smatraju patognomoničnim za akutni tok klasične kuge svinja – hemoragični infarkti na slezini [8]. Ustanovljeni nalaz je u skladu sa podacima iz literature da su vaskularne promene u akutnom toku klasične kuge svinja najizraženije u limfnim čvorovima, slezini, bubrezima i gastrointestinalnom traktu [2, 8]. Zanimljivo je da se u literaturi iz perioda osamdesetih godina prošloga veka navodi da je učestalost infarkta slezine oko 50 do 60 posto. Međutim, u skorijim epizootijama klasične kuge svinja, ova patomorfološka promena se ređe ustanovljava [8].

Pre žrtvovanja kod preživelog praseta uzrasta od 54 dana nisu ustanovljeni klinički znaci klasične kuge svinja. Međutim, patomorfološkim pregledom su ustanovljeni hemoragični infarkti na slezini, univerzalni limfadenitis i tačkasta krvarenja po sluzokoži mokraćne bešike. Klinička zaštita od klasične kuge svinja ne može da se smatra primarnim ciljem, čak je i nepoželjna, jer prikriva postojeću infekciju kod jedinke koja može da predstavlja izvor za pojavu sekundarnih žarišta oboljenja [10]. Dahle i sar [2] u svom radu su naveli da u nekim slučajevima promene na limfnim čvorovima uključuju samo hiperplaziju, dok

nalaz tipičnih krvarenja izostaje. Ali, nijedan od autora u svom radu nije saopštio nalaz hemoragičnih infarkta na slezini kod jedinke koja je preživela eksperimentalnu infekciju. U okviru kontrolne grupe, patomorfološki nalaz je kod svih jedinki bio patognomoničan (hemoragični infarkti na slezini) i karakterističan za akutni tok klasične kuge svinja [2, 4, 8]. Ističe se nalaz ishemičnih infarkta na slezini kod praseta br. K/3, što predstavlja patomorfološku promenu koja se retko navodi u literaturi. Sagledavanjem rezultata patomorfološkog pregleda (tabela 3), uočava se da su promene u kontrolnoj grupi bile izraženije na tkivu jetre, žučnoj kesi i plućnom tkivu. Promene na jetri predstavljaju nalaz koji se retko sreće u literaturi [2]. Kod svih jedinki su ustanovljena izražena petehijalna krvarenja po sluzokoži epiglotisa i sluzokoži mokraćne bešike. Za razliku od navedenog, u ogleđnoj grupi prasadi patomorfološke promene su bile izraženije na mukozama digestivnog trakta (krvarenja), sa izraženim difteroidno-nekrotičnim tonzilitisom. U ogleđnoj grupi nisu ustanovljena krvarenja po mezenterijumu, dok su samo kod jednog praseta ogleđne grupe patomorfološkim pregledom utvrđena petehijalna krvarenja po seroziji želuca. U obe grupe patomorfološke promene su bile konzistentne na bubrezima i sluzokoži mokraćne bešike, limfnim čvorovima, slezini, timusu i cekumu. U celini gledano u digestivnom i respiratornom traktu je bila prisutna fibrinozna i hemoragična inflamatorna reakcija.

U svim ispitivanim uzorcima organa i tkiva koja potiču od inficirane prasadi uzrasta od 28, 35 i 44 dana ustanovljeno je prisustvo antigena virusa klasične kuge svinja (*ELISA* tehnika), što je u saglasnosti sa podacima da se visoko virulentni virus može da utvrdi u većini organa 5 do 6 dana posle infekcije [8]. Od ovog nalaza odstupaju prasad uzrasta od 54 dana, pri čemu se ističe prase br. IV/2, kod koga ni u jednom ispitanom uzorku nije ustanovljen antigen virusa klasične kuge svinja. Slične rezultate pregleda organa *ELISA* tehnikom saopštili su Lipowski i sar [3], pri čemu negativne rezultate kod direktno inficiranog praseta, autori pripisuju postojanju antitela maternalnog porekla. U organima i tkivima prasadi kontrolne grupa *ELISA* testom je ustanovljen antigen virusa klasične kuge svinja u svim ispitivanim uzorcima.

Zaključak / Conclusion

Postignuti rezultati nakon eksperimentalne infekcije izazvane virulentnim sojem virusa klasične kuge svinja su bili neočekivani, s obzirom da se smatra da prasad koja potiče od vakcinisanih krmača poseduje maternalna antitela koja bi trebala da obezbede pasivnu zaštitu od klasične kuge svinja [6, 7]. Međutim, podaci u literaturi koji se odnose na ispitivanje kolostralnog imuniteta kod prasadi koja potiču od krmača koje se tokom perioda ekonomskog iskorišćavanja višekratno vakcinišu sa K-sojem, veoma su oskudni.

Maternalna antitela nisu sprečila nastanak infekcije izazvane visoko virulentnim virusom klasične kuge svinja, ali su uticala kako na intenzitet, tako i na učestalost određenih patomorfoloških promena. Međutim, nezavisno od toga da

li su ili nisu utvrđena kolostralna antitela, izrazita petehijalna krvarenja su ustanovljena u limfnim čvorovima, timusu, bubrezima, sluzokoži mokraćne bešike i u svim delovima digestivnog trakta prasadi. Prema tome, može da se kaže da pasivna zaštita maternalnog porekla nije dovoljno efikasna u zaštiti od virulentnog virusa klasične kuge svinja u eksperimentalnim uslovima infekcije.

Literatura / References

1. Corthier G., Charley B.: Influence of colostral antibodies on pig immunization against hog cholera virus. *Ann. Rech. Vét.*, 9, 2, 245-253, 1978. - 2. Dahle J., Liess B.: A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 15, 3, 203-211, 1992. - 3. Lipowski A. *et al.*: Early detection of hog cholera virus infection. *Proceedings of the 14th IPVS Congress, Italy*, 104-105, 1996. - 4. Milanov D. *et al.*: Detection of the classical swine fever virus antigen following experimental infection. *Acta Veterinaria*, 52, 2-3, 117-124, 2002. - 5. Precaustra P., Kato F., Brun A.: Swine fever. Immunisation of piglets. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.* 6, 281-289, 1983. - 6. Prodanov J.: Ispitivanje dužine trajanja zaštitnog nivoa maternalnih antitela kod prasadi poreklom od krmača koje su vakcinisane protiv klasične kuge svinja. Magistrska teza, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2005. - 7. Terzić S. *et al.*: Evaluation of the protection of piglets originating from vaccinated sows after vaccination with classical swine fever virus strain China. In: *Proceedings of the 15th IPVS Congress, England*, 357, 1998. - 8. Trautwein G.: Pathology and pathogenesis of the disease. In *Classical Swine Fever and Related Viral Infections*. Editors: Liess, B. Martinus Nijhoff Publishing, Dordrecht, The Netherlands, 27-49, 1988. - 9. van Oirschot J. T.: Persistent and inapparent infections with swine fever virus of low virulence. Their effects on the immune system. Ph.D. Thesis. Universiteit Utrecht, 5-30, 1980. - 10. van Oirschot J. T.: Vaccinology of swine fever: from lab to field. *Vet. Microbiol.* 96, 367-384, 2003.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF INFLUENCE OF COLOSTRAL ANTIBODIES ON DEVELOPMENT OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES FOLLOWING EXPERIMENTAL INFECTION OF PIGLETS WITH CLASSICAL SWINE PLAGUE VIRUS

Jasna Prodanov, R. Dosen, M. Valcic, V. Polacek, T. Petrovic, S. Lazic

The pathomorphological changes established following infection with the virus of classical swine plague in non-immune individuals are well known. However, piglets present a problem from the clinical-pathological aspect, in which this virus can be multiplied in spite of established colostral antibodies, but without the exhibiting of the clinical symptoms characteristic for the disease. The question of the characteristics of the pathomorphological finding is raised in the event of the breakdown of the colostral immunity of the piglets. With the objective of determining the influence of colostral antibodies on the development of pathomorphological changes in classical swine plague, piglets aged 28, 35, 44, and 54 days, originating from sows that had received a vaccine of the K-strain of the classical swine plague virus, were experimentally infected with a virulent variety of this virus (Becker strain). The control group comprised non-vaccinated animals originating from

non-vaccinated sows. Following the death and/or sacrificing of the piglets in the experiment, a pathomorphological examination was performed of all organic systems and the presence of classical swine plague virus antigens was established in organs and tissues of piglets using the immunoenzyme (ELISA) test. Even though clinical signs characteristic for this disease were not found in all animals following artificial infection, the pathomorphological findings following death and/or sacrificing indicated a successful experimental infection and was typical for the acute course of classical swine plague. Bleeding was established in most organs and serous membranes (haemorrhagic diathesis). However, certain variations were also established regarding the expression and distribution of the pathomorphological changes in certain animals.

Key words: Classical swine plague, pathomorphological changes, colostral antibodies

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОЛОСТРАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ НА РАЗВИТИЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОРОСЯТ ВИРУСОМ КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Ясна Проданов, Р. Дошен, М. Валчич, В. Полачек, Т. Петрович, С. Лазич

Патоморфологические изменения, устанавливаемые после инфекции вирусом классической чумы свиней (КЧС) у неиммунных единичных животных хорошо известны. Между тем, в клиническо-патологическом аспекте проблему представляют собой поросята, у которых вопреки установленным колостральным антителам вирус КЧС можно умножать, но без проявления клинических симптомов характеристических для КЧС. Задаётся вопрос характеристик патоморфологических результатов в случае пробивания колострального иммунитета поросят. С целью установливания колостральных антител на развитие патоморфологических изменений у КЧС, совершена экспериментальная инфекция вирулентным вирусом КЧС (штамм Бекер) поросят возраста 28, 35, 44 и 54 дня происхождением из свиноматок, вакцинированных К-штамом вируса КЧС. Контрольная группа охватывает не вакцинированные единичные животные, происхождением из невакцинированных свиноматок. После околения и/или жертвования поросят в опыте, совершен патоморфологический осмотр всех органических систем и присутствие антигена вируса КЧС утверждено нами в органах и тканях поросят иммуноэнзимным (ELISA) тестом. Хотя после искусственной инфекции у всех единичных животных не установлены клинические знаки, характеристичные для КЧС, патоморфологические результаты после околения и/или жертвования указали на успешную экспериментальную инфекцию и были типические для острого течения КЧС. Установлены кровотечения в большинстве органов и серозных мембран (геморрагический диатез). Между тем, утверждены и известные вариации в отношении выразительности и дистрибуции патоморфологических изменений у отдельных единичных животных.

Ключевые слова: классическая чума свиней, патоморфологические изменения, колостральные антитела

**ISPITIVANJE RASPROSTRANJENOSTI BRUCELOZE PASA
IZAZVANE BAKTERIJOM *BRUCELLA CANIS* NA TERITORIJI
OPŠTINE POŽAREVAC***

***INVESTIGATIONS OF SPREAD OF CANINE BRUCELLOSIS CAUSED
BY BRUCELLA CANIS IN TERRITORY OF MUNICIPALITY OF
POŽAREVAC***

S. Živojinović, Sonja Radojičić, Milena Živojinović, Jasmina Kirčanski**

U radu je ispitano prisustvo i rasprostranjenost infekcija izazvanih bakterijom *Brucella canis* kod različitih kategorija pasa na teritoriji opštine Požarevac. Ukupno je ispitan 151 pas, od toga je 74 krvnih seruma poticalo od pasa poznatih vlasnika i 77 od pasa lotalica. Ispitivanja su obavljena i na 40 uzoraka pune krvi pasa lotalica, kao i na organima fetusa i reproduktivnim organima serološki pozitivne ženke posle izvršene histerektomije. Ispitivanja su obuhvatila klinički pregled pasa, brzu serumsku aglutinaciju, sporu serumsku aglutinaciju i izolaciju uzročnika. Od svih ispitanih pasa pozitivan rezultat brzim aglutinacionim testom dalo je 16,55 posto ispitanih uzoraka, sporim aglutinacionim testom 11,25 posto, što je izuzetno veliki procenat u odnosu na druge regione naše zemlje. Antibiotička terapija, zoohigijenske mere, kastracija, odnosno histerektomija (izbeći recidive i prekinuti latic prenošenja infekcije) uslov su za iskorenjivanje oboljenja. Neophodna je kontrola pasa lotalica koji predstavljaju osnovni izvor infekcije. Rezultati dobijeni u toku ovog istraživanja ukazuju na potpunu opravdanost uvrščavanja ove zarazne bolesti u grupu oboljenja obaveznih za prijavljivanje.

Ključne reči: psi, Brucella canis, serološko ispitivanje, opština Požarevac

* Rad primljen za štampu 11. 12. 2006. godine

** Slobodan Živojinović, vet. spec. (JVS, Požarevac); dr Sonja Radojičić, docent, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Milena Živojinović, VSI „Požarevac“, Požarevac; Jasmina Kirčanski, dipl. vet., Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Bruceloza pasa je kontagiozno oboljenje izazvano fakultativno intracelularnom bakterijom *Brucella canis*. Pored pasa može da oboli i čovek, što povećava značaj rada na otkrivanju i suzbijanju ove bolesti. Bakterija je prvi put izolovana 1966. godine u SAD kao uzročnik enzootskog abortusa kuja, a zatim i u drugim zemljama sveta.

Prvi serološki pozitivni slučajevi u našoj zemlji otkriveni su 1998. godine, a prva uspešna izolacija *Brucella canis* je obavljena 1999. godine. Sva istraživanja ove problematike uglavnom su obavljena na teritoriji Beograda, gde je ustanovljen relativno visok stepen prevalencije i to kod pasa poznatih vlasnika, kao i na teritoriji Crne gore, područje Podgorice, gde su otkriveni serološki pozitivni psi iz kategorije pasa litalica. *Brucella canis* je prvi put izolovana na teritoriji SCG 2000. godine. Izolat je označen kao *Brucella canis* soj SR-1 [4].

Smatra se da se bolest širila putem međunarodnih izložbi i parenjem pasa koji se zbog ekonomskih razloga transportuju širom sveta. Ulazna vrata infekcije su genitalni organi, konjunktiva i sluznica usne i nosne duplje. Tri nedelje posle infekcije bakterije se pojavljuju u krvi životinje (bakterijemija), gde se zadržavaju neko vreme. Ako je životinja gravidna, bakterije odlaze u matericu zato što placenta predstavlja tropno tkivo. Zato se često dešava da takve životinje ne stvore antitela i tada su serološki negativne sve do nekoliko dana pre pobačaja. Ako životinja nije gravidna, brucele posle prodiranja u organizam dospevaju u krv, gde se zadržavaju u dužem vremenskom periodu bez pojavljivanja kliničkih simptoma.

Inkubacija je neodređena. Nikada nije kraća od dve nedelje, a u proseku traje od nekoliko nedelja do nekoliko meseci. Kliničkim pregledom se često nađe otok retrofaringealnih limfnih čvorova. Kod ženskih životinja se javlja pobačaj između sedme i devete nedelje graviditeta, sa mukoidnim, serohemoragičnim ili sivozelenim vaginalnim iscetkom koji može da traje preko šest nedelja [1]. Kod pasa koji još nisu dostigli polnu zrelost osnovna klinička manifestacija je generalizovani limfadenitis [3]. Kod muških životinja se javlja epididimitis oko pet nedelja posle inficiranja. Patološke promene na spermatozoidima uočavaju se od 18 do 27 nedelje i manifestuju se oštećenjem akrozoma, deformacijom spermatozoida sa zadržanom protoplazmatičnom kapljicom, deformacijom repa, glave, aglutinacijom glava na glavu [2]. Ostale promene obuhvataju prostatitis, atrofiju testisa i zapaljenje kože skrotuma sa pojavom lezija zbog lizanja bolnog mesta [6].

Prevremeno rođena štenad je najčešće slaba i uginu za 24 do 48 časova. U nekim slučajevima, mladunci koji su verovatno inficirani intrauterino, preživljavaju i imaju uvećane limfne čvorove kao jedini vidljivi znak bolesti. Limfni čvorovi su uvećani i edematozni zbog limfoidne hiperplazije i granulomatozne inflamacije [4]. Ne tako često mogu da se jave diskospondilitis, poliartritis, glomerulonefritis i rekurentni uveitis anterior sa edemom rožnjače.

Ni jedna antibiotska terapija nije sto posto efikasna i često se obolje-nje ponovo javlja kod životinja koje su bile naizgled izlečene. Najčešće se mužjaci i ženke kastriraju, pri čemu se samo prekida prenošenje uzročnika. Enrofloksacin i aminoglikozidi, doksiciklin (tetraciklin) i streptomycin su pokazali sinergizam, dok su doksiciklin (tetraciklin) i rifampicin bili antagonisti.

Da bi došlo do pojavljivanja kliničkih simptoma bolesti kod ljudi potreban je veliki broj bakterija, tj. visoka infektivna doza. Česti simptomi su nelagodnost, bolovi u grlu, drhtavica, glavobolja, mučnina, bolovi u mišićima i zglobovima. Zapažen je gubitak telesne mase i uvećanje limfnih čvorova [8].

Za izolaciju *B. canis* najbolje je da se u laboratoriju pošalju pobačeni fetusi. Uzorci želudačnog sadržaja fetusa, slezina, jetra i fetalna membrana moraju da se uzorkuju aseptično u sterilnim kontejnerima. Takođe može da se pošalje i vaginalna sluz i mleko životinja koje su pobacile. Od mužjaka seme, testis, puna krv, epididimis, sadržaj prostate i urin je najbolji materijal za izolaciju. Uzorci se transportuju na ledu. Kod ženki se uzorkuje puna krv, vaginalni iscedak, placenta i urin [1]. Izolacija *B. canis* je moguća iz krvi, pobačenih fetusa, placente, limfnih čvorova, slezine, reproduktivnih organa mužjaka, semena, vaginalnog iscedka i materice. Postoje podaci o mogućoj izolaciji i iz kostne srži, mleka i urina [Eilts, 2003].

Diferencijalno-dijagnostički dolaze u obzir: trihomonijaza, neosporoza, vibrioza (*Campilobacter*), leptospiroza, mikoze (*Aspergillus*, *Absidia*) i listerioza.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ispitano je 74 krvna seruma pasa poznatih vlasnika i 77 krvnih seruma pasa litalica sa teritorije opštine Požarevac. Ispitano je i 40 uzoraka pune krvi pasa litalica. Za potrebe seroloških ispitivanja krv je uzorkovana u sterilne vakutejnere iz *vena cephalica antebrachii*. Posle odvajanja krvnih seruma oni su alikvotirani i čuvani na temperaturi od -20°C do izvođenja testa. Radi izolacije, krv je uzorkovana sterilno iz *vena cephalica antebrachii* u sterilne bočice sa dodatkom natrijum citrata. Uzorci pune krvi su čuvani na temperaturi od -20°C do izvođenja testa.

Serumi prikupljeni od pasa litalica i pasa poznatih vlasnika, testirani su preporučenim testovima i to prvo brzom serumskom aglutinacijom na pločici. Korišćena je jedna kap obojenog antigena i jedna kap krvnog seruma koji se ispituje. Posle njihovog mešanja očitavana je reakcija u roku od dva minuta. Pojava aglutinata označavana je kao pozitivna reakcija. Zbog specifičnih antigenih karakteristika *B. canis* koristio se homotipski antigen. Serumi pasa koji su dali pozitivne rezultate na brzom aglutinacionom testu testirani su sporom serumskom aglutinacijom sa 2-merkaptotanolom.

Spora serumska aglutinacija izvođena je na temperaturi od 37 °C i reakcija je očitavana na 24 i 48 časova. Testirana su razređena: 1/50, 1/100 i

1/200. Ukoliko su serumi imali pozitivnu reakciju u razređenju 1/200, rađena je dalja titracija (1/400, 1/800, 1/1600). Potpuno razbistravanje tečnosti u epruveti tumačeno je kao pozitivna reakcija. Svi serumi sa titrom jednakim ili većim od 1/200 proglašavani su kao pozitivni. Takođe su se koristili i Rose bengal test i mikro aglutinacija radi provere prisustva antitela na klasične brucele.

Izolacija *B. canis* je izvedena na Katedri za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu po preporukama iz literature [9]. Od sterilno uzetih uzoraka krvi (njih 35) nije izolovana *B. canis*. Ovo se i očekivalo, s obzirom da su serumi ovih životinja bili serološki negativni. Uzorak seropozitivne ženke koji je uzet pre početka antibiotske terapije, kao i jedan broj seronegativnih uzoraka pune krvi (njih 5), morao je da bude eliminisan zbog nepropisnog pakovanja u staklene epruvete koje nisu bile predviđene za duboko zamrzavanje. Krv serološki pozitivne ženke, organi fetusa, reproduktivni organi uzorkovani posle histerektomije su bili bakteriološki negativni, što je najverovatnije bila posledica efikasnog antibiotskog tretmana.

Klinički pregled se sastojao iz dva dela. Prvi deo pregleda, koji je obuhvatao anamnezu i nacional, obavljen je kod pasa poznatih vlasnika kojih je bilo 74. Drugi deo pregleda, koji se odnosio na određivanje habitusa i trijasa, urađen je kod svih pasa.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Prvi deo kliničkog pregleda u koji se ubrajaju anamneza i nacional, bilo je moguće izvesti jedino na grupi pasa poznatih vlasnika.

Svi ispitani psi poznatih vlasnika, od kojih je bilo 52 mužjaka i 22 ženke, bili su polno zreli. Od toga su 18 mužjaka i 6 ženki bili rasni psi. Ostali ispitivani psi bili su mešanci. Ukupno se 19 ženki štenilo, a njih tri nikada nije pokazivalo znake estrusa. U grupi rasnih mužjaka, 15 je pareno pod kontrolom vlasnika i ordinirajućeg veterinara, dok za mešance vlasnici nisu bili u mogućnosti da daju tačne podatke. Deo rasnih pasa, njih 16 je barem jedanput bilo na nekoj izložbi, smotri ili utakmici, što je podatak od značaja zbog mogućeg dolaska u kontakt sa velikim brojem drugih pasa sa različitih teritorija (ne samo naša opština, okrug, država, već i okolne zemlje). Svi su bili uredno vakcinisani protiv besnila. Telesna građa kao odraz povezanosti i razvijenosti koštanog i mišićnog tkiva podelila je grupu pasa poznatih vlasnika u grupu sa dobrom (70 pasa) i grupu sa lošom telesnom građom (4 psa). Na osnovu određivanja habitusa koji predstavlja stanje životinje u momentu pregleda, moglo se reći da je veći deo pasa bio solidne telesne građe. Dobijanjem rezultata u testu merenja brzine i stepena reagovanja na nadražaje iz spoljašnje sredine klasifikovali smo 65 pasa kao živahne i 9 pasa kao flegmatične. Ispitivanjem položaja tela u prostoru i konstitucije kao delova habitusa utvrdili smo kod svih pasa da su te karakteristike u granicama normale, odnosno dobre.

S obzirom da se u drugoj ispitanoj grupi radilo o lualicima odmah smo pristupili drugom delu kliničkog pregleda, a to je opšte ispitivanje životinje

koje je i najinteresantnije za kliničare (*Status praesens*). Rezultati dobijeni u grupi pasa lotalica u opštim ispitivanjima kojima smo obuhvatili habitus i trijas (temperatura, puls i disanje) pokazali su da je od ispitanih 77 pasa lotalica dobru telesnu građu imalo njih 63, dok je sa lošom bilo njih 14. Temperamentnih je bilo 72, a flegmatičnih 5. Položaj tela u prostoru i konstitucija kod svih ispitanih pasa lotalica su bile dobre. Temperatura je merena maksimalnim termometrom sa Celzijusovim podeocima, rektalno, kod odmornih pasa i uvek je bila u granicama normale (37,5-38,5°C) kod obe ispitujuće grupe pasa. Puls i disanje su bili u granicama normale.

Od svih ispitanih pasa izdvojen je jedan, i to mešanac, ženka, stara oko pet godina koja je u momentu prvog kliničkog pregleda i prvog uzorkovanja krvi bila gravidna. Pripadala je grupi pasa sa dobrom telesnom građom, a u odnosu na temperament moglo se reći da je flegmatična, dobre konstitucije. Ženka je imala temperaturu 37,8 °C, puls je bio 100-110 otkucaja u minutu, a frekvencija disanja je bila 22-25 ekspiracija u minutu. Dobijeni parametri su varirali u zavisnosti od momenta pregleda (pre i posle štenjenja), ali su se uvek nalazili u granicama normale.

Uzorci seruma koji su dali pozitivnu reakciju u brzom aglutinacionom testu, testirani su sporom serumskom aglutinacijom sa 2-merkaptetanolom. Takvih seruma bilo je ukupno 25. Ispitivana razblaženja seruma bila su 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800. Isti broj pasa imao je titar 1/50 i 1/100, po 4 psa (16 %), 17 uzoraka bilo je sa titrom jednakim ili većim od 1/200 (68 %), a od ukupnog broja ispitanih seruma pasa lotalica kojih je bilo 77, sa titrom jednakim ili većim od 1/200 bilo je 17 pasa (22,07 %). Ti psi su proglašavani pozitivnim. Čak 8 pasa (32 %) imalo je titar specifičnih antitela 1/400, dok je kod jednog (4%) titar bio 1/800.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja krvnih seruma pasa lotalica sporim aglutinacionim testom sa 2-merkaptetanolom /

Table 1. Results of examinations of blood serum of stray dogs using slow agglutination test with 2-mercaptoethanol

Ispitujuća razređenja seruma / <i>Serum dilutions used</i>	Broj pasa / <i>Number of dogs</i>	Procenat, %
1/50	4	16
1/100	4	16
1/200	8	32
1/400	8	32
1/800	1	4
Ukupno / <i>Total</i>	25	100

Od svih ispitanih pasa, pozitivan rezultat brzim aglutinacionim testom dalo je 25 uzoraka (16,55%). Sporim aglutinacionim testom obuhvaćeni su samo serumski pas lotalica koji su dali pozitivan rezultat brzim aglutinacionim testom. Od

77 pasa lutilica titar 1/200 i veći dalo je 17 uzoraka (22,07%). Na celom uzorku (151) ovaj procenat je 11,25 posto.

Rezultat prvog ispitivanja kod izdvojene ženke bio je 1/400, a posle terapije titar je pao na 1/100. Nedelju dana posle završetka terapije kuja je oštenila 6 štenadi, pri čemu su dva bila mrtvorodena, a četiri je uginulo u roku od sedam dana. Neposredno pre operacije titar antitela na *B. canis* je bio manji od 1/50.

U toku naših ispitivanja ustanovili smo: izuzetno veliki procenat serološki pozitivnih pasa lutilica na teritoriji opštine Požarevac u odnosu na druge regione SCG i ne postojanje oboljenja kod pasa poznatih vlasnika (zbog ograničenog kretanja, tako da nisu imali mogućnost kontakta sa psima lutilicama). Nije ustanovljena korelacija između dobijenih rezultata i dela grada u kome su se nalazili serološki pozitivni psi. Serološka dijagnostika pasa zasniva se na nekoliko metoda, ali ni jedna nije potpuno pouzdana, pa je izolacija najsigurnija dijagnostička metoda. Ipak, serološki pregledi su neophodni za novonabavljene životinje. Međunarodno preporučeni serološki protokol određuje titar 1/200 kao sigurno pozitivan znak aktivne infekcije. Antibiotička terapija, zoohigijenske mere isključenje iz reprodukcije uslov su za iskorenjivanje oboljenja. Poštovanje propisanih doza i načina aplikacije preparata po preporuci proizvođača prilikom tretmana serološki pozitivnih životinja uslov je uspešne terapije čime se smanjuje nastajanje recidiva. Zbog izuzetno visokog broja serološki pozitivnih pasa na teritoriji opštine Požarevac, neophodno je da se smanji broj pasa lutilica koji predstavljaju osnovni izvor infekcije. Uz terapiju obavezno bi trebalo da se primeni i kastracija, odnosno histerektomija, kako bi se izbegli recidivi i prekinuo lanac prenošenja infekcije.

Sprovedena serološka ispitivanja isključila su postojanje pozitivnih pasa na klasične brucele (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*). Bruceloza pasa izazvana bakterijom *B. canis* u vreme izrade ovog rada nije bila predviđena postojećim zakonskim propisima za prijavljivanje. Rezultati dobijeni u toku ovog istraživanja ukazuju na potpunu opravdanost uvršćivanja ove zarazne bolesti u grupu oboljenja obaveznih za prijavljivanje. Uzimajući u obzir činjenicu da *Brucella canis* ima i zoonozni karakter, mogućnost dijagnostike ovog oboljenja imala bi pored velikog epizootičkog značaja i epidemiološku vrednost. Ta istraživanja bi isključila i druge vrste brucela i odredila eventualnu ulogu pasa kao prenosilaca bolesti.

Literatura / References

1. Geering W. A., Forman A. J., Nunn M. J.: Exotic Diseases of Animals. Aust Gov Publishing Service, Canberra, 440, 1995. - 2. Serikawa T., Takada H., Kondo Y., Muragichi T., Yamada J.: Multiplication of *Brucella canis* in male reproductive organs and detection of autoantibody to spermatozoa in canine brucellosis. Develop Biol. Standard. 56, 295-305, 1984. - 3. Carmichael L., Greene E.: Infectious disease of the dog and cat. Philadelphia, PA:WB Saunders, 248-257, 1998. - 4. Radojičić Sonja: Imunodijagnostički testovi u otkrivanju infekcije pasa izazvanih sa *Brucella canis* i njihov značaj u proceni epizootičke

situacije. Doktorska disertacija Univerzitet u Beogradu fakultet veterinarske medicine, 2000. - 5. Lolin Miroslava: Zarazne bolesti životinja bakterijske etiologije. Univerzitet u Beogradu, 68-78, 1989. - 6. Faron C., Faron E.: The Threat of Canine Brucellosis: Myth or Menace; 7. Bruce E. Elts 2003. Canine Brucellosis. University of Georgia Notes, 319-320, 1995. - 8. Carmichael L.: Brucellosis (*Brucella canis*) Appendix 4. in CRC Handbook Series in Zoonoses, Section A: Bacterial, Rickettsial and Mycotic Diseases, I, CRC Press, 180-194, 1979. - 9. Alton G. G. i sar.: Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA Paris, 1988.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF SPREAD OF CANINE BRUCELLOSIS CAUSED BY *BRUCELLA CANIS* IN TERRITORY OF MUNICIPALITY OF POŽAREVAC

S. Živojinovic, Sonja Radojicic, Milena Živojinovic, Jasmina Kircanski

The paper examines the presence and distribution of infections caused by *Brucella canis* in different categories of dogs in the territory of the Municipality of Požarevac. A total of 151 dogs were examined, and 74 blood serums originated from dogs of known owners and 77 from stray dogs. The investigations were carried out also on 40 samples of full blood of stray dogs, as well as fetal organs and reproductive organs of a serologically positive female following hysterectomy. Investigations included a clinical examination of the dogs, rapid serum agglutination, slow serum agglutination, and isolation of the cause. In all the examined dogs, the rapid agglutination test gave a positive result in 16.55% of the examined samples, the slow agglutination test 11.25%, which is an extremely high percentage in comparison with other regions of our country. Therapy using antibiotics, zoohygienic measures, castration or hysterectomy (as attempts to avoid residue and break the chain of the transfer of the infection) are conditions for eradicating the disease. Control of stray dogs is necessary, as they present the basic source of the infection. The results obtained in the course of these investigations indicate the absolute justification of including this contagious disease in the group of diseases whose reporting is compulsory.

Key words: Dogs, *Brucella canis*, serological examinations, Municipality of Požarevac

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ РАСШИРЁННОСТИ БРУЦЁЛЛЕЗА СОБАК, ВЫЗВАННОГО С *BRUCELLA CANIS* НА ТЕРРИТОРИИ ОБЩИНЫ ПОЖАРЕВАЦ

С. Живоинович, Соня Радоичич, Милена Живоинович, Ясмينا Кирчански

В работе испытано нами присутствие и расширённость инфекций, вызванных с *Brucella canis* у различных категорий собак на территории общины Пожаревац. Совокупно нами испытана 151 собака, из ётого 74 кровяных серумов происало из собак известных владельцев и 77 из бродячих собак. Испытания совершены и на 40 образчиков полной крови бродячих собак, словно и на органах плода и репродуктивных органах серологически положительные самки после совершенной истерэктомии. Испытания охватили клинический осмотр собак, быструю

серумную агглютинацию, медленную серумную агглютинацию и изоляцию возбудителя. Из всех, испытанных собак положительный результат быстрым агглютинационным тестом дало 16,55%, испытанных образчиков, медленным агглютинационным тестом 11,26%, что исключительно большой процент в отношении других регионов нашей страны. Антибиотическая терапия, зоогигиенические меры, кастрация, то есть истерэктомия (избежать рецидивы и прекратить цепь перенесения инфекции) условие для искоренения заболевания. Необходим контроль бродячих собак, представляющие собой основной источник инфекции. Результаты, полученные в течение этого исследования указывают на полное оправдание включения этой заразной болезни в группу заболеваний, обязательных для прописки.

Ключевые слова: собаки, *Brucella canis*, серологическое испытание, община Пожаревац

**POBOLJŠANJE KVALITETA RIBNJAČKE VODE PRIMENOM
PRIRODNIH ZEOLITA I DINAMIKA ADSORPCIJE
HIDROLOŠKIH TOKSIKANATA***

***QUALITY IMPROVEMENT OF FISHERY WATER USING NATURAL
ZEOLITE AND DYNAMICS OF ADSORPTION OF HYDROLOGICAL
TOXICANTS***

**S. Obradović, Marija Vukašinović, M. Šekler, M. Rajković,
Nada Kosanović****

U praktičnim i laboratorijskim uslovima ispitivana je adsorpciona sposobnost prirodnog minerala zeolita, domaćeg porekla na hemijske parametre vode pri intezivnom gajenju kalifornijske pastrmke. Analizom dobijenih rezultata, ustanovljena je statistički značajna adsorptivna moć i selektivnost zeolita prema: amonijaku ($p < 0,01$), nitratima ($p < 0,01$), nitritima ($p < 0,05$) i ukupnoj tvrdoći vode ($p < 0,05$). Primenjivani zeolit je doprineo poboljšanju ambijentalnih uslova u pastrmskom ribnjaku, a takođe je imao pozitivan ekološki efekat na filtraciju hidroloških toksikanata izlazne vode ribnjaka.

Ključne reči: voda, zeolit, kalifornijska pastrmka, ambijent

Uvod / Introduction

Osnovni uslov za razvoj akvakulture i ribarstva je postojanje i očuvanje održivog kvaliteta vode. Vodni resursi kojim se snadbeavaju ribnjaci su na granici ekološke održivosti, jer je više od polovine tekućica naše zemlje više ili manje kontaminisano raznim zagađivačima [1]. Istovremeno, pri intezivnom gajenju pastrmke koncentracija toksikanata vode se povećava (nepojedena hrana, metabolički ekskreti i drugi), čime se izvodi direktni deficitarni uticaj na uspešno gajenje riba. Pastrmke imaju visoke zahteve u pogledu kvaliteta vode, a eutrofizacija ambijenta predstavlja jedan od najvažnijih ograničavajućih faktora tehnološkog procesa proizvodnje.

Dekontaminacija otpadnih produkata vode u akvakulturi, nameće potrebu primene raznih filterskih metoda za poboljšanje kvaliteta kako ulazne

* Rad primljen za štampu 9. 10. 2006. godine

** Dr Saša Obradović, dr Marija Vukašinović, naučni saradnik, mr Milanko Šekler, spec. živinarstva, mr Miodrag Rajković, spec higijene, mr Nada Kosanović, istraživač, Veterinarski specijalistički institut „Kraljevo”, Kraljevo

tako i izlazne vode ribnjaka. Jedan od načina korekcije ambijentalnih karakteristika vode je i upotreba prirodnih zeolita kao filtera.

Zeoliti predstavljaju u vodi nerastvorne materije [2, 3] koje imaju sposobnost katjonske izmene svojih jona sa jonima drugih materija iz različitih sredina, pri čemu se struktura zeolita praktično ne menja. Osnovnu jedinicu zeolita predstavlja aluminosilikatni tetraedar u čijoj se strukturi nalaze kanali ispunjeni vodom i izmenljivim katjonom. Zajednička osobina svih zeolita (više od 60 vrsta) je da poseduju zajednički zamenljivi katjon, uprkos činjenici da se razlikuju po svom hemijskom sastavu.

Polazeći od činjenice da je kvalitet ambijenta, jedan od osnovnih činilaca uspešne pastrmske proizvodnje, u ovom radu je praćena dinamika adsorpcionog dejstva prirodnog zeolita na smanjenje toksičnog opterećenja ribnjačke vode pri intenzivnoj akvakulturi. Istovremeno na laboratorijskom nivou ispitivane su adsorpcione karakteristike zeolita sa kontrolisanim rastvorima azotnih frakcija vode.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Sva potrebna eksperimentalna istraživanja obavljena su na pastrmskom ribnjaku „Jasinje” pored Čačka u trajanju od 35 dana. U tu svrhu izdvojena su dva bazena pojedinačne zapremine od 28,8 kubnih metara. Na ulaznom i izlaznom delu oglednog bazena (O-I) postavljene su plastične posude (filteri), zapremine od 0,15 kubnih metara ispunjene zeolitom, (granulacije 0.5-2 cm), kroz koje je proticala ulazna, odnosno izlazna voda bazena slobodnim proticajem. Voda kontrolnog bazena (K-o) nije tretirana zeolitskim filterima ispunama. Ulaz vode u bazenima je bio 8 l/s, odnosno protok vode od 24 izmene vode za 24 časa.

U ogledu se koristio nasadni materijal iz predtovnih bazena, uzrasta 12⁺ meseci (prosečne mase 150,2 g i prosečne dužine 23,83 cm), u ukupnom broju od 3200 riba podeljenih u dve grupe od po 1600 jedinki. Gustina nasada bila je 8,34 kg/m³; 55,56 individue/m³; 30,04 kg/l/s; 200 jedinki/l/s; indeks gustoće 0,0350 i indeks protoka 1,260. Ribe su hranjene standardnim načinom ishrane.

Uzorci vode su uzimani na četiri kontrolna profila za svaki bazen posebno, svakih sedam dana: pre ulaska vode u bazene, na početku bazena, na sredini bazena i na izlasku vode iz bazena. Fizička i hemijska analiza ispitivanih parametara vode ribnjaka obavljena je primenom standardnih metoda [4, 5] u laboratorijama Veterinarskog specijalističkog instituta „VSI - Kraljevo”.

U laboratorijskim uslovima su ispitivane adsorpcione karakteristike prirodnih zeolita prema određenim hemijskim parametrima vode. Ispitivanja su sprovedena u tečnom medijumu sa sintetičkim rastvorima amonijaka i nitrata. Korišćene su adsorpcione protočne kolone ispunjene zeolitom granulacije 1 do 3 mm, čija je zapremina bila 45 cm³, sa pH vrednošću od 7,8 do 8,1. Brzina jednog proticanja efluenta kroz kolonu dužine 400 mm i prečnika od 18 mm imala je vrednost od 9,52 V/h (1 V protekne kroz kolonu za 6,3 minuta). Ulazna voda je imala zapreminu jednaku zapremini jonoizmenjivačkog zeolita u koloni (45 cm³).

Statistička obrada podataka obavljena je uobičajenim matematičko-statističkim postupcima. Podaci su obrađeni statističkom metodom analize varijanse, ocenjivanje značajnosti razlika između srednjih aritmetičkih vrednosti obavljeno je primenom „t” testa.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Rezultati ispitivanja uticaja prirodnog zeolita kao korektora ambijentalnih uslova vode ribnjaka, pri intenzivnom gajenju kalifornijske pastrmke prikazani su u tabeli 1 i tabeli 2 na osnovu sedmodnevnih merenja.

Iz prikazanih tabelarnih rezultata uočava se da je dotok vode bio ujednačen tokom trajanja ogleda i iznosio je 8 l/sec, sa protokom od 24 izmene/danu. Temperatura vode je tokom istraživanja pokazala neznatna variranja, a ustanovljene vrednosti su pratile kolebanja temperature vazduha. Temperaturni maksimum je registrovan 35 dana ogleda (14,9 °C), a temperaturni minimum 7 dana ogleda (12 °C). Vrednosti analiziranih fizičkih parametara vode su povoljne za gajenje kalifornijske pastrmke i za postizanje optimalnih proizvodnih rezultata [1, 6, 7].

Reakcija vodene sredine (pH) je imala vrednosti u intervalu od neutralne do slabo bazne (7.15-7.95), što se podudara sa optimalnim vrednostima ovog parametra u salmonidnim vodama [8, 9]. Koncentracije rastvorenog kiseonika su ispoljile nešto niže vrednosti na kontrolnim profilima C i D u poređenju sa izmerenim vrednostima ulazne vode na profilu A (12.50-13.31 mg/l), što je posledica metaboličkih procesa organizma riba, razgradnje organskih materija i viših temperatura vode [9, 10, 11]. Najoptimalnija koncentracija kiseonika u salmonidnim vodama, jeste njegov sadržaj veći od 8 mg/l [11, 12, 13]. Regulacija jonske reakcije vode i acidobazne ravnoteže telesnih tečnosti riba je uslovljena prisustvom ugljen-dioksida, čije su vrednosti tokom trajanja ogleda bile od 1,71 do 2,60 mg/l. Izmerene koncentracije ovog parametra vode su u saglasnosti sa poželjnim vrednostima gajenja pastrmki [14, 15]. Smanjenje numeričkih vrednosti ovog hemijskog parametra u sredini bazena (kontrolni profil C) i izlazu vode iz bazena (kontrolni profil D) rezultat je intenzivnih asimilacionih i disimilacionih procesa riba, kao i razgradnje organskog materijala u vodi ribnjaka [1, 16].

Vrednosti BPK₅ (biološke potrošnje kiseonika) i utroška KMnO₄ (oksidabilitet vode), nisu pokazivale veće horizontalne razlike i bile su od 0,40 do 1,35 mg/l (BPK₅), odnosno od 4,15 do 6,28 mg/l (KMnO₄). Utvrđeni rezultati ukazuju da voda u bazenima ribnjaka nije organski opterećena iznad dozvoljenih granica za gajenje pastrmki [9, 17] i da prisustvo zeolita u vodi nije uticalo na promene korelativnog odnosa ova dva hemijska parametara. Prisustvo ortofosfata u vodi oba bazena (PO₄ mg/l) je zanemarljivo, s obzirom da je samo u jednom uzorku vode registrovana minimalna koncentracija PO₄ mg/l, od 0,001 mg/l (O-I bazen, 21 dana).

Tabela 1. Fizičko-hemijske analize parametara vode O-I bazena ribnjača tokom trajanja oglada /
Table 1. Physical-chemical analysis of fish pond O-I tank water parameters during experiment

Parametri / Parameters	1	7 dana / 7 days				14 dana / 14 days				21 dana / 21 days				28 dana / 28 days				35 dana / 35 days			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Dotok l/s / Flow	-O-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
CO		12,5	12	12	12	12,60	12,60	12,60	12,60	13,20	13,20	13,20	13,50	13,60	13,90	13,90	14,10	14,20	13,60	13,70	14,30
pH		7,30	7,15	7,4	7,45	7,63	7,70	7,70	7,72	7,42	7,44	7,45	7,45	7,45	7,72	7,72	7,84	7,86	7,66	7,70	7,95
CO ₂ mg/l		1,74	1,86	1,95	2,10	1,70	1,85	1,90	2,15	1,96	2,15	2,30	2,30	2,60	1,85	1,93	2,21	2,36	1,50	1,56	1,92
odH		14,65	14,74	14,25	14,6	14,3	14,15	14,05	14,1	13,96	13,82	13,93	13,85	13,34	13,32	13,41	13,42	13,45	13,51	13,58	13,94
O ₂ mg/l		13	12,80	12,70	9,40	8,30	13,10	13,10	12,10	10,84	12,50	12,22	11,60	9,56	12,85	12,85	9,20	7,95	13,30	13,10	11,88
BPK ₅ mg/l		0,58	0,56	0,59	0,85	0,93	0,45	0,46	0,92	0,95	0,50	0,53	0,64	0,77	0,53	0,54	0,95	1,10	0,63	0,64	1,10
KMnO ₄ mg/l		4,36	4,21	4,25	4,65	4,65	4,60	4,80	5,79	5,85	4,23	4,29	6,45	6,48	4,33	4,35	5,56	6,10	4,69	4,75	5,12
NO ₂ mg/l		0,015	0,015	0,015	0,022	0,013	0,014	0,011	0,013	0,010	0,011	0,010	0,015	0,011	0,02	0,02	0,012	0,015	0,012	0,012	0,024
NO ₃ mg/l		0,95	0,92	0,77	0,98	0,82	0,91	0,81	0,96	0,83	0,95	0,90	1,05	0,99	0,81	0,82	0,98	1,06	0,89	0,91	0,95
NH ₃ mg/l		0,038	0,033	0,016	0,048	0,036	0,039	0,029	0,046	0,032	0,036	0,029	0,042	0,030	0,034	0,035	0,040	0,041	0,032	0,033	0,040
PO ₄ mg/l		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

O – Početno stanje parametara vode / Beginning condition of water parameters

A – Uzorak vode pre zeolita I / Water sample before zeolite I

B – Uzorak vode posle zeolita I / Water sample after zeolite I

C – Uzorak vode pre zeolita II / Water sample before zeolite II

D – Uzorak vode posle zeolita II / Water sample after zeolite II

Tabela 2. Fizičko-hemijske analize parametara vode K-o bazena ribnjača tokom trajanja ogleda /
Table 2. Physical-chemical analysis of the pond K-o tank water parameters during experiment

Parametri / Parameters	1	7 dana / 7 days				14 dana / 14 days				21 dana / 21 days				28 dana / 28 days				35 dana / 35 days			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Dotok l/s / Flow	-O-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
C ₀		12,5	12	12,10	12,10	12,50	12,50	12,50	12,60	12,60	13,10	13,10	13,20	13,30	13,85	13,85	14,00	14,10	13,58	13,59	14,00
pH		7,28	7,20	7,35	7,42	7,45	7,60	7,65	7,65	7,70	7,39	7,41	7,46	7,46	7,70	7,71	7,89	7,92	7,52	7,58	7,86
CO ₂ mg/l		1,71	1,82	1,93	2,15	2,32	1,69	1,83	1,89	2,10	1,90	1,97	2,20	2,58	1,82	1,92	2,15	2,33	1,48	1,53	1,89
oD _H		14,60	14,72	14,72	14,65	14,65	14,12	14,30	14,30	14,32	13,81	13,91	13,90	13,91	13,28	13,30	13,35	13,38	13,39	13,40	13,45
O ₂ mg/l		13,05	12,75	12,72	9,56	8,60	13,00	12,90	11,90	10,50	12,50	12,41	11,11	9,25	12,90	12,82	10,53	9,15	13,31	13,30	11,95
BPK ₅ mg/l		0,61	0,54	0,55	0,81	0,92	0,40	0,41	0,89	0,90	0,50	0,51	0,60	0,71	0,55	0,56	0,87	1,21	0,61	0,62	0,99
KMnO ₄ mg/l		4,39	4,19	4,23	4,64	4,68	4,55	4,60	5,35	5,70	4,15	4,25	6,28	6,75	4,26	4,32	5,31	6,14	4,64	4,69	5,11
NO ₂ mg/l		0,015	0,015	0,015	0,021	0,023	0,013	0,013	0,013	0,014	0,012	0,013	0,014	0,015	0,020	0,020	0,013	0,015	0,012	0,012	0,019
NO ₃ mg/l		0,95	0,92	0,94	0,97	0,99	0,90	0,91	0,94	0,96	0,92	0,93	1,02	1,11	0,79	0,89	0,94	1,02	0,91	0,92	0,94
NH ₃ mg/l		0,037	0,032	0,034	0,045	0,049	0,037	0,037	0,042	0,043	0,035	0,035	0,040	0,042	0,031	0,032	0,039	0,043	0,031	0,031	0,037
PO ₄ mg/l		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

O – Početno stanje parametara vode / Beginning condition of water parameters

A – Uzorak vode pre bazena / Water sample before tank

B – Uzorak vodena početku bazena I / Water sample of beginning of tank

C – Uzorak vode na sredini bazena / Water sample of tank environment

D – Uzorak vode na izlasku bazena / Water sample at exit from tank

Tabela 3. Prosečne vrednosti pojedinih parametara vode O-I bazena 1 - 21 dan /
Table 3. Average values of certain water parameters O-I tanks 1 - 21 day

Parametri / Parameters	1-21 dana / 1-21 days	1-21 dana / 1-21 days	Značajnost / Significance
	Profili A+C / Profile A+C	Profili B+D / Profile B+D	
NO ₂ mg/l	0,015	0,0116	* p<0.05
°dH	14,246	14,045	* p<0.05
NO ₃ mg/l	0,971	0,853	** p<0.01
NH ₃ mg/l	0,0407	0,0288	** p<0.01

Tabela 4. Prosečne vrednosti parametara vode K-o-bazena 1 - 21 dan /
Table 4. Average values of water parameters of K-o tanks 1 - 21 days

Parametri / Parameters	1-21 dana / 1-21 days	1-21 dana / 1-21 days	Značajnost / Significance
	Profili A+C / Profile A+C	Profili B+D / Profile B+D	
NO ₂ mg/l	0,014	0,015	/
°dH	14,266	14,285	/
NO ₃ mg/l	0,945	0,973	/
NH ₃ mg/l	0,0385	0,0399	/

Sadržaj ukupne tvrdoće vode je bio u rasponu od 13,28 do 14,74 °dH, što vodu oba bazena ribnjaka deklariše kao srednje tvrdu [18]. Vrednosti ovog parametra vode odgovaraju poželjnim vrednostima za gajenje salmonida koje su od 8 do 20 °dH [7, 11]. Na osnovu podataka prikazanih u tabelama od 1 do 3 primena zeolita u vodi O-I bazena, omogućila je smanjenje vrednosti ukupne tvrdoće vode kako kod ulaznog, tako i kod izlaznog filtera za 0,205 °dH. Prednja konstatacija se odnosi na prvih 21 dan primene zeolita, gde je primenom t-testa utvrđena statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između prosečnih vrednosti ovog parametra kontrolnih profila A+C (14,246 °dH, pre zeolitskih filtera) i kontrolnih profila B+D (14,045 °dH, posle zeolitskih filtera). Iz podataka tabele 4 može da se konstatuje odsustvo statističke značajnosti vrednosti ovog parametra u Ko-bazenu. Test signifikantnosti prosečnih vrednosti ovog parametra, ukazuje na postojanje značajnih signifikantnih razlika ($p < 0,05$) između O-I bazena (profili B+D) i Ko-bazena, bez primene zeolita kao filtera. Utvrđeni rezultati naše analize se podudaraju sa podacima Grbavčića [20], koji navodi smanjenje ukupne tvrdoće vode za 10,3 °dH u prvih nekoliko časova njegove primene.

Uvidom u dobijene rezultate u pogledu koncentracije nejonizovanog amonijaka, nitrita i nitrata, može da se konstatuje da su sva tri parametra imala

vrednosti koje ukazuju na umeren stepen zagađenja vode ribnjaka. Povećane vrednosti ovih parametara vode su posledica antropogenog zagađenja rečne vode kojom se ribnjak snadbeva, povećane temperature, kao i smanjenog protoka vode što prikazuje i analiza vode pre početka oglada (tabele 1 i 2). Poznata je činjenica smanjenja vodostaja i povišenja temperature rečnih tokova tokom letnjih meseci, što ima kao posledicu i promene u vrednostima fizičko-hemijskih osobina vode [7].

Najniža vrednost amonijaka zabeležena je na kontrolnom profilu D O-I bazena, 21. dana eksperimenta (0,030 mg/l), a najviša 7. dana na kontrolnom profilu C istog bazena (0,0487 mg/l). Koncentracija nitrata (NO_3) ima dijapazon kretanja od 0,77 mg/l (7 dana, profil B, O-I bazenu) do 1,10 mg/l (21. dana, profil D, Ko-bazena). Vrednosti nitrita (NO_2) bile su od 0,010 do 0,025 mg/l.

Amonijak je prisutan u vodi kao primaran produkt razlaganja azotnih jedinjenja gde se najčešće nalazi u obliku slabo toksičnog amonijum jona (NH_4) i visoko toksičnog nejonizovanog (NH_3) jona. Obe forme amonijaka su normalnim ambijentalnim uslovima zastupljene u minimalnoj koncentraciji, zahvaljujući procesima nitrifikacije. Međutim, veći nivo organskog zagađenja: nepojedena hrana, feces, antropogena zagađenja i drugi toksikanti mogu da uslove porast količine amonijaka, što može negativno da se odrazi na hidrobionte [9]. Ustanovljene vrednosti nedisovanog amonijaka u ovom eksperimentu su veće od preporučenih graničnih vrednosti 0,0125 mg/l-0,035 mg/l [20, 22]. Međutim, prema Boydu [23] i Fijanu [1] pastirke podnose i više koncentracije nitrata od graničnih vrednosti, zahvaljujući razvijenim adaptivnim sistemima svoga organizma.

Rastvoreni amonijak u vodi, pri oksidaciji se transformiše u nitrite i nitrate. Sadržaj nitrita u vodi je veoma nepostojan, jer se brzo transformišu u nitrate. Ustanovljene koncentracije za ova dva hemijska parametra vode su u saglasnosti sa graničnim vrednostima za nitrite: od 0,04 do 0,1 mg/l [7, 21, 24], odnosno za nitrate od 0 do 3 mg/l [16, 24].

Na osnovu podataka (tabela 1, 2 i 3), može da se uoči da je adsorpcioni efekat zeolita kao filtera bio naročito efikasan do 21. dana oglada, što se, pre svega, odnosi na O-I bazen. Utvrđeno smanjenje vrednosti nitrata, nitrita i amonijaka na kontrolnim profilima B i D u odnosu na uzorke vode sa kontrolnih profila A i C tokom prvih 21 dana su rezultat primene zeolita kao filtera u vodi bazena O-I. Zeolit primenjen kao filter vode je uticao na signifikantno smanjenje vrednosti nitrata, amonijaka i tvrdoće vode. Postojanje signifikantnih razlika (tabela 4) između ustanovljenih vrednosti nitrata, nitrita i amonijaka na posmatranim profilima u vodi Ko-bazena nije utvrđeno ($p > 0,05$).

Statističkim poređenjem prosečnih vrednosti nitrita (NO_2) i nitrata (NO_3) u O-I bazenu, kao međuprodukata denitrifikacije, pre filtera sa zeolitom (kontrolni profil A + C) i posle filtera sa zeolitom (kontrolni profil B + D) od 1 do 21 dana oglada, utvrđena su statistički značajna odstupanja ($p < 0,05$) za nitrite, odnosno visoko signifikantna značajnost ($p < 0,01$) za nitrate. Statistička analiza ukazuje na postojanje statistički vrlo značajnih razlika ($p < 0,01$) između prosečnih

vrednosti nedisovanog amonijaka u O-I bazenu (tabela 3) pre filtera sa zeolitom (A+C) i utvrđenih koncentracija posle filtera sa zeolitom (kontrolni profil B + D). Takođe, test signifikantnosti prosečnih vrednosti nitrita i nitrata, ukazuje na postojanje značajnih signifikantnih razlika ($p < 0,05$), odnosno statistički vrlo značajnih razlika ($p < 0,01$) vrednosti nitrata između O-I bazena (profili B+D) i Ko-bazena (profili B+D), bez primene zeolita kao filtera.

Stimulativni efekat adsorpcije zeolita je ispoljen samo na početku eksperimenta, tačnije od 1 do 21 dana. Nakon 21 dana (od 21 do 35 dana) primenjeni zeolit u vodi O-I bazena nije ispoljio adsorptivno dejstvo prema analiziranim parametrima vode, što praktično znači da je nastalo njegovo zasićenje, odnosno postizanje ekvilibrijuma katjonske izmene. Pored pozitivnog uticaja na hemijske parametre vode, ispitivani zeolit primenjen kao filterska ispuna u vodi bazena O-I, uzrokovao je i dobro zdravstveno stanje gajenih riba. Posle završetka eksperimenta (35 dana) broj uginulih riba u bazenu O-I je bio 46 jedinki, odnosno 2,87 posto, dok je broj uginulih riba u Ko-bazenu bio 58 riba, odnosno 3,62 posto. U eksperimentalnim bazenima tokom trajanja oglada nisu registrovani simptomi patoloških oboljenja gajenih riba.

Jonoizmenjivačka sposobnost zeolita je osim u praktičnim uslovima (vodi ribnjaka) ispitivana i u laboratoriji Veterinarskog specijalističkog instituta iz Kraljeva. Ispitivanje je imalo za cilj utvrđivanje adsorpcionih sposobnosti zeolita prema sintetičkim rastvorima NH_4 i NO_3 . Hemijski sastav ispitivanog zeolita sa sadržajem klinoptilolita više od 90 posto je prikazan u tabeli 5.

Tabela 5. *Hemijski sastav zeolita, (%) /*
Table 5. Chemical structure of zeolites, (%)

SiO₂	62,65 – 64,88	CaO	3,04 – 3,46	H₂O	10,45 – 13,30
Al₂O₃	12,99 – 14,10	MgO	1,07 – 1,64	Cu	0,006 – 0,007
Fe₂O₃	1,35 – 2,07	Na₂O	0,82 – 1,05	Mn	0,018 – 0,027
TiO₂	0,15 – 0,22	K₂O	0,69 – 1,35	Zn	0,007 – 0,090

Određivanje adsorpcije različitih koncentracija NH_4 i NO_3 , obavljeno je primenom spektrofotometrijske metode u vremenskim intervalima od 1 do 30 minuta. Koncentracija NH_4 je bila 1 mg/l; 0,5 mg/l; 0,2 mg/l, a koncentracija NO_3 50 mg/l; 10 mg/l; 0,5 mg/l.

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 6 izvedena je konstatacija da adsorpcija ispitivanih parametara vode u laboratorijskim uslovima traje maksimalno 10,5 minuta.

Najveća adsorptivna moć prirodnog zeolita je u prvih 2, odnosno 3,4 minuta, a nakon toga adsorpcija toksikanata vode se smanjuje do postizanja ekvilibrijuma. Afinitet adsorpcije je najveći prema nižim koncentracijama NH_4 i NO_3 , što je u saglasnosti sa navodima Grbavčića [19]. Sa povišenjem koncentracije

amonijačnog jona (0,2-1 mg/l) i koncentracije NO_3 (0,5-50 mg/l) smanjuje se efikasnost adsorpcije, jer se dobijaju niže vrednosti jonoizmenjivačkog kapaciteta primenivanog zeolita (2,63 mg/g i 0,9 mg/g). Protok vode nije imao značajan uticaj na kvalitet adsorpcije, jer pri većem protoku vode (12 V/h) stepen adsorpcije u kolonama je bio neznatno manji od stepena jonske izmene pri protoku napojne vode od 9,52 V/h (2,70-0,91 mg/g).

Tabela 6. Adsorpcija NH_4 i NO_3 prirodnim zeolitom, u laboratorijskim uslovima
Table 6. Adsorption of NH_4 i NO_3 by natural zeolite, in laboratory conditions

Koncentracija NH_4 mg/l / Concentration of NH_4 mg/l	1 mg/l	0,5 mg/l	0,2 mg/l
Vreme adsorpcije/min. / Adsorption time/min.	10.5	7.2	3.4
Jonoizmenjivački kapacitet, mg/g, Ionchangable capacity, mg/g	2,63	3,56	6,54
Koncentracija NO_3 mg/l / Concentration of NO_3 mg/l	50 mg/l	10 mg/l	0,5 mg/l
Vreme adsorpcije/min. / Adsorption time/min.	7.2	4.3	2
Jonoizmenjivački kapacitet, mg/g / Ionchangable capacity, mg/g	0.9	1.12	1.6

Analizirani rezultati ukazuju na dobar adsorptivni efekat prirodnog zeolita, jer je njegova primena kao filterske ispune u vodi pastrmskog ribnjaka, uzrokovala pozitivnu korekciju ambijentalnih uslova, što se ispoljavalo smanjenjem numeričkih vrednosti amonijaka, nitrata, nitrita i ukupne tvrdoće vode. Ovakvo shvatanje je istovremeno u saglasnosti sa nalazima nekolicine istraživača ove problematike [25, 26]. Pored toga ovi rezultati navode na zaključak da primena zeolita u vodi kao korektora ambijentalnih uslova, kako u ribnjačkoj vodi, tako i u laboratorijskim uslovima pozitivno deluje samo u početnoj fazi njegove primene, ostvarujući adsorptivni efekat do faze njegovog zasićenja emitentima vode. Na tu činjenicu ukazuju i istraživanja više autora [19, 25, 26, 27] i ono daje prihvatljivo objašnjenje smanjenja koncentracije amonijaka i ostalih azotnih frakcija u vodi tretiranoj prirodnim zeolitima. Pojava nitrita, nitrata i amonijaka u filtriranoj vodi nameće potrebu daljih istraživanja ove problematike i primene novih modifikovanih mineralnih preparata, kako bi se prevazišao aktuelni problem eutrofizacije vode pri intenzivnom gajenju riba.

Zaključak / Conclusion

Dobijeni rezultati ukazuju da primena zeolita kao filterske ispune u vodi ribnjaka utiče na statistički značajno smanjenje ($p < 0,01$ i ($p < 0,05$) koncentracije nitrita i ukupne tvrdoće vode, odnosno visoko značajnu signifikantnost

smanjenja numeričkih vrednosti amonijaka i nitrata. U laboratorijskim uslovima ustanovljeno je postojanje lineranog odnosa koncentracije ispitivanih parametara vode i efekta adsorpcije. Prakticno značenje navedene konstatacije, što je koncentracija NH_4 i NO_3 u vodenom rastvoru veća to je i adsorptivni efekat selektivnosti zeolita prema njima veći.

Literatura / References

1. Asaj A.: Higijenska analiza pitke vode. Veterinarski priručnik, Znanstvena naklada, Zagreb, 709-728, 1990. - 2. Waughan D. E. W.: Zeolites Natural. Occurrence Properties (U. L. B. Sand, F. A. Mupton – Ed.) Pergamon Press, New York, 353-362, 1988. - 3. Grujić S.: Tehnološki postupci za prečišćavanje otpadnih voda iz fabrika za proizvodnju veštačkih đubriva. Voda i sanitarna tehnika, 3, 37- 45, 1988. - 4. Metode za ispitivanje higijenske ispravnosti vode za piće (Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd, 1990). - 5. Standard Methods for the of Water and Wastwater 19th Ed., American Public Health Asociation. Washington, 1995. - 6. Fijan N.: Hranidba riba, Bjelovar, 5-19, 1975. - 7. Aganović M.: Salmonidne vrste riba i njihov uzgoj, IGKRO „Svjetlost” Zavod za udžbenike, Sarajevo, 303, 1979. - 8. Alabaster J., Lloyd R.: Water quality Criteria for Freshwater Fish, Ind Edition, Butterworth Scientific, London – Boston, 29-53, 1982. - 9. Mitrović-Tutundžić V., Brković-Popović I.: Normativi kvaliteta voda za ribarstvo. II simpozijum Ribarstvo Jugoslavije, Kotor, 121-126, 1995. - 10. Fijan N.: Bolesti i neprijatelji riba. Slatkovodno ribarstvo, Jumena, Zagreb, 439-513, 1982. -11. Steffens W., Rennert K.: Effektivitätsverbesserungen durch Mineralstoffzusatz im Trockenmischfutter für Karpfen. Z. Binnenfischerei DDR, 5, 171-174, 1989. - 12. Itazawa Y.: Anestimation of the minimum level of dissolved oxygen in water required for normal life of fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 37, 4, 273-276, 1971. - 13. Volk S.: Hladnovodni ribnjaci. Slatkovodno ribarstvo, Jumena, Zagreb, 313-336, 1982. - 14. Piper G. R. *et al.*: Fish Hatchery Management. United States Department of the interior. Fish and Wildlife Service, Washington, 247-274, 1982. - 15. Pujin V., Grinčević M.: Hidrobiologija. Ekološki pokret Novog Sada, 142, 1998. -16. Marković Z., Mitrović-Tutundžić V.: Poluintenzivni sistem – mogućnost uspešne i rentabilne proizvodnje šarana u Srbiji. IV jugoslovenski simpozijum Ribarstvo Jugoslavije, Vršac, 31- 49, 2000. - 17. Pravilnik o higijenskoj ispravnosti voda, Sl. list SRJ, 42/98. - 18. Jakovljević M., Blagojević S., Raičević V.: Hemija i mikrobiologija – praktikum. Poljoprivredni fakultet, Beograd, Zemun, 93-20, 1998. - 19. Grbavčić M., *et al.*: Primena prirodnih zeolita u procesima prečišćavanja amonijačnih vodenih rastvora. IX kongres hemije i hemijske tehnologije Jugoslavije, 123-139, 1992. - 20. Kulišić B., *et al.*: Korišćenje otpada u pastrvskoj proizvodnji – pokušaj pripremanja silaže umjetnom probavom lešina. Ribarstvo Jugoslavije, 41, 77-78, 1986. - 21. Tompson S.: Potrebni količini na voda za poedini proizvodni fazi vo pastrmkite ribnici. Seminarot vo Struga – Odglduvanje na pastrmka vo pastrmski ribnici, 1-14, 1996. - 22. Boyd C. E.: Water quality management in pond fisch culture. Elsevier, Aquaculture 19, 191-199, 1982. - 23. Fijan N.: Bolesti i neprijatelji riba. Slatkovodno ribarstvo, Jumena, Zagreb, 439-513, 1982. - 24. Wedemeyer G. A.: Enviromental Requirements for fish health. In Proceedings of the International Symposium of Diseases of Cultured Salmonids, 41- 55, Setlle, 1977. -25. Nguyen M. L., Tanner C. C.: Ammonium Removal from Wastewaters Using Natural New – Zealand Zeolites. New Zealand Journal of Agricultural research, 41, 3, 427- 446, 1998. - 26. Berger D. *et al.*: Description of ammonium content of output waters from trout farms in relation to stocking density and flow rates. Ecological Engineering, 17, 4, 27-36, 2000. - 27. Miljević R. N., Stojić Lj. D.: Metode za uklanjanje amonijaka i nitrata iz zagađenih voda. Konferencija o aktuelnim problemima zaštite voda, bar, 265-268, 1990.

ENGLISH

QUALITY IMPROVEMENT OF FISHERY WATER USING NATURAL ZEOLITE AND DYNAMICS OF ADSORPTION OF HYDROLOGICAL TOXICANTS

S. Obradovic, Marija Vukasinovic, M. Sekler, M. Rajkovic

The adsorption capability of the natural mineral zeolite of domestic origin, on chemical parameters in water used for the intensive breeding of the Rainbow Trout was investigated in practical and laboratory conditions. It was established on the grounds of an analysis of the obtained results that there is a statistically significant adsorptive power and selectivity of zeolite towards: ammoniac ($p < 0.01$), nitrates ($p < 0.01$), nitrites ($p < 0.05$), and total hardness of water ($p < 0.05$). The applied zeolite contributed to the improvement of the ambient conditions in the trout pond, and it also had a positive ecological effect on the filtration of hydrological toxicants of the pond water output.

Key words: water, zeolite, Rainbow Trout, ambient.

РУССКИЙ

УЛУЧШЕНИЕ КАЧЕСТВА РЫБЪЕЙ ВОДЫ ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИРОДНЫХ ЗЕОЛИТОВ И ДИНАМИКА АДСОРБЦИИ ГИДРОЛОГИЧЕСКИХ ТОКСИКАНТОВ

С. Обрадович, Мария Вукашинович, М. Шеклер, М. Райкович

В практических и лабораторных условиях испытывана адсорбционная способность природного минерала zeolite, домашнего происхождения на химические параметры воды при интенсивном разведении калифорнийской форели. Анализом полученных результатов, установлена статистически значительная адсорбционная мощь и селективность zeolite к: аммиаку ($p < 0,01$), нитритам ($p < 0,05$) и совокупной твёрдости воды ($p < 0,05$). Применённый zeolite внёс свой вклад улучшению окружающих условий в форелевом пруде, а также имел положительный эффект на фильтрацию гидрологических токсикантов выходной воды пруда.

Ключевые слова: вода, калифорнийская форель, окружение

**PRIMENA PREPARATA NA BAZI ZEOLITA U ISHRANI RIBA
ONCORHYNCHUS MYKISS (WALBAUM) I NJEGOV UTICAJ
NA MORFOMETRIJSKE KARAKTERISTIKE***
***ADDING ZEOLITE „MINAZEL-PLUS” IN FEEDING ONCORHYNCHUS
MYKISS (WALBAUM) AND ITS INFLUENCE ON MORPHOMETRICAL
CHARACTERISTICS***

**S. Obradović, Marija Vukašinović, M. Šekler, M. Rajković,
Nada Kosanović****

*Analiziran je uticaj modifikovanog zeolita kao aditiva hrane primenjenog u koncentraciji od 0,8 posto na morfometrijske karakteristike i osnovne proizvodne pokazatelje gajenja kalifornijske pastrmke *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).*

Analizom dobijenih rezultata, ustanovljeno je da je prisustvo zeolita u hrani za pastrmke imalo pozitivan efekat sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$) na sve analizirane morfometrijske pokazatelje tempa rasta riba, kako njihove završne telesne mase, totalne dužine tela, dužine i visine tela, tako i njihovog prirasta.

Uključivanje zeolita u smeše za pastrmke je imalo stimulatивно dejstvo na ostvarene rezultate osnovnih proizvodnih pokazatelja faktora kondicije (FK), koeficijenta ukupnog rasta (KUR) i proizvodnog indeksa (PI) u odnosu na Ko-grupu riba, hranjenih bez dodataka zeolita u hrani.

Ključne reči: hrana, zeolit, kalifornijska pastrmka, rast

Uvod / Introduction

Kvalitetna hrana i ishrana predstavljaju jedan od najbitnijih činilaca za očuvanje zdravlja riba, odvijanje normalnih fizioloških funkcija organizma i ostvarivanja uspešne i rentabilne akvakulturne proizvodnje. Savremeni tehnološki pristup proizvodnje hrane za ribe bazira se na upotrebi raznih aditiva radi postizanja

* Rad primljen za štampu 9. 10. 2006. godine

** Dr Saša Obradović, naučni saradnik, dr Marija Vukašinović, naučni saradnik, mr Milanko Šekler, spec. živinarstva, mr Miodrag Rajković, spec. zoohigijene, mr Nada Kosanović, naučni istraživač, Veterinarski specijalistički institut, Kraljevo

maksimalnih proizvodnih rezultata. Zbog toga pristupljeno je eksperimentalnom proučavanju uticaja modifikovanog zeolita („Minazel Plus”) kao aditiva hrane na visinu proizvodnih rezultata kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss* W).

Danas je sve više prisutan neklasičan način produkcije „konzumne” ribe (dotovljavanje), sa kojim su u svetu, a i kod nas postignuti značajni rezultati [1, 2]. Razlozi primene ovakvog tehnološkog postupka proizvodnje su, pre svega, nedostatak bazena, brzo ostvarivanje ekonomičnih prihoda i neadekvatne ekološke karakteristike vode.

Upotrebom zeolita kao aditiva hrane postignuti su mnogobrojni pozitivni rezultati u ishrani živine, svinja i preživara. Treba naglasiti da u literaturi do sada nema dovoljno eksperimentalnih podataka o primeni zeolita kao aditiva hrane za „pretkonzumne” ribe i njegovog uticaja na morfometrijske parametre rasta riba, usled čega će ovaj rad da doprinese delimičnom rasvetljavanju aktuelnosti ove problematike.

Materijal i metode / *Materials and methods*

Eksperimentalna istraživanja u ovom radu obavljena su na nepunostavskom pastrmskom ribnjaku „Jasinje” (Čačak) u trajanju od 40 dana. U tu svrhu izdvojena su dva bazena zapremine od 28.8 kubnih metara sa jednakim ulazom vode od 660 l/min, odnosno protokom vode od 33 izmene vode za 24 časa.

U ogledu se koristio nasadni materijal „predkonzumne” pastrmke (prosečne telesne mase od 131,25 g, totalne dužine tela od 21,19 cm, dužine tela od 20,80 cm i visine tela 4,98 cm), u ukupnom broju od 4000 jedinki, podeljenih u dve grupe, po 2000 riba u svakom bazenu. Početna gustina nasada u oba bazena je bila 9,13 kg/kubnih metara ili 69,44 jedinke/kubnih metara sa indeksom gustine od 0,0412 i indeksom protoka 1,483.

Kontrolna grupa riba Ko hranjena je peletiranom hranom proizvođača „Agroprodukt” bez dodatka zeolita, a ogledna grupa riba 0-I je hranjena peletiranom hranom istog proizvođača, sa dodatkom zeolita u količini od 0,8 posto. Sirovinski sastav hrane za pastrmke prikazan je u tabeli 1. Količina i broj dnevnih obroka određivan je prema unapred datim tabelama ishrane (3), prilagođenim temperaturi vode i masi riba u toku trajanja ogleda. Upotrebljena hrana i fizičko-hemijski parametri vode su uzorkovani i hemijski analizirani na početku eksperimenta primenom standardnih metoda ispitivanja [4, 5, 6] u laboratorijama Veterinarskog specijalističkog instituta, Kraljevo.

Svakih deset dana određivana je konverzija hrane vazdušno suve materije na osnovu podataka merenja prirasta pastrmki i utroška hrane, a potrošnja hrane je evidentirana svakodnevno. Istovremeno, tokom ovog istraživanja, svakodnevno se pratilo zdravstveno stanje i mortalitet riba, za svaku grupu posebno.

Tabela 1. Sirovinski sastav upotrebljenih smeša (%) /
Table 1. Unprocessed structure of used mixture (%)

Redni broj	Komponenta / Component %	Ko	O-I
1	Kukuruz / Corn	15,8	15
2	Riblje brašno / Fish flour	50	50
3	Sojina sačma / Soybean meal	11	11
4	Stočni kvasac / Cattle yeast	4	4
5	Mono-Ca-fosfat / Mono-Ca-phosphate	0,3	0,3
7	Jodirana so / Iodine salt	0,3	0,3
8	Obrano mleko / Skimmed milk	3	3
9	Premiks / Premix	1	1
10	Sojino ulje / Soybean oil	12,6	12,6
13	Peletin / Peletin	2	2
14	Minazel-Plus / Minazel-Plus	–	0,8
Ukupno / Total:		100	100

Analiza proizvodnih rezultata obuhvatila je desetodnevno merenje i određivanje parametara: prosečne telesne mase, prosečne totalne dužine tela (od vrha glave do kraja repnog peraja), prosečne dužine tela (od vrha glave do osnove repnog peraja), prosečne visine tela (vertikalno rastojanje od početka leđnog peraja do centralne strane trbuha), zatim njihovog prirasta, faktora kondicije, koeficijenta ukupnog rasta i proizvodnog indeksa.

Reprezentativni kontrolni uzorak od 50 jedinki po bazenu za utvrđivanje individualne telesne mase i linearnih dužinskih mera uziman je sa različitih mesta bazena, po metodi slučajnog uzorka. Individualna telesna masa riba, utvrđivana je merenjem na decimalnoj tehničkoj vagi, a linearne dužinske mere su određivane, pomoću ihtimetra.

Faktor kondicije i koeficijent ukupnog rasta su izračunati po formuli Fultona [7], a proizvodni indeks po formuli Nikolića [8].

$$PI = \frac{\text{telesna masa (kg)} \times \% \text{preživelih riba}}{\text{dužina uzgoja (dana)} \times \text{konverzija}} \times 100 \quad Fk = \frac{g\bar{X} \cdot 100}{(L\bar{X})^3} \quad KUR = \frac{g\bar{X}}{L\bar{X}}$$

Fk – faktor kondicije, KUR – koeficijent ukupnog rasta, PI – proizvodni indeks, g $\bar{X}$ – srednja vrednost telesne mase, gL $\bar{X}$ – srednja vrednost totalne dužine tela, cm

Statistička obrada podataka obavljena je uobičajenim matematičko-statističkim postupcima, primenom analize varijanse uz ocenjivanje statističke značajnosti primenom „t” testa.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Prema podacima iz tabele 2 analizirani parametri vode imali su vrednosti koje su bile u intervalu dozvoljenih granica za gajenje pastrmki [9, 10]. Neznatno povećanje koncentracije nejonizovanog amonijaka, nitrita i nitrata je, pre svega, posledica antropogenog zagađenja rečne vode kojom se ribnjak snabdeva i njene povišene temperature [9].

Tabela 2. Fizičko-hemijska analiza parametara vode /
Table 2. Physical-chemical analysis of water parameter

Parametar / Parameter	Dotok / Inflow	Temp. / Temp.	Vredn / Value	CO ₂	odH	O ₂	BPK ₅	KMnO ₄	NO ₂	NO ₃	NH ₃	PO ₄
Jedinica / Unit	l/sec	Co	pH	mg/l	stepen	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Vrednost / Value	33	12.8	7.26	1.81	14.25	12.7	0.52	4.11	0.011	0.88	0.031	0.00

Podaci navedeni u tabeli 3 bliže ukazuju na hemijski sastav upotreb-
ljene hrane za pastrmke na ribnjaku „Jasinje”. U pitanju je hrana sa ujednačenim
sadržajem svih potrebnih hranljivih materija za ishranu kalifornijske pastrmke.

Prema Pravilniku o kvalitetu potpunih krmnih smeša i drugim zahte-
vima za životinje [11, 18] hemijski sastav upotrebljenih potpunih krmnih smeša u
ovom eksperimentu u potpunosti odgovara postavljenim zahtevima ishrane pas-
trmki.

Uporednom analizom rezultata individualnog masenog rasta (tabela
4) i lineranih dužinskih mera uočljivo je da su obe grupe riba bile približno
izjednačene u pogledu ovih parametara na početku ogleda. Međutim, dinamika
rasta i prirasta morfometrijskih karakteristika tokom daljeg trajanja ogleda, poka-
zuje izražen progresivan karakter O-I grupe pastrmki u odnosu na Ko-grupu riba.

Na kraju eksperimenta, četrdesetog dana uzrasta, numeričke vred-
nosti navedenih parametara O-grupe su bile veće od masenih i lineranih mera Ko-
grupe riba za: 9,725 % (telesna masa); 6,705 % (totalna dužina tela); 3,566
(dužina tela) i 7,389 (visina tela). Test signifikantnosti završnih vrednosti telesne
mase i završnih dužinskih mera, ukazuje na postojanje značajnih signifikantnih
razlika ($p < 0,05$) između O-I grupe riba koje su hranom dobijale zeolit u količini od
0,8 posto i Ko-grupe, bez dodatka zeolita u hrani.

Ostvarene razlike u završnim morfometrijskim parametrima direktno
su uticale na razlike u merama prirasta. Stoga su ovi rezultati u saglasnosti sa re-
zultatima većine autora koji su utvrdili da primena zeolita u različitim formulaci-
jama obroka za ribe utiče na povećanje završne telesne mase riba [13, 14, 15, 16].

Tabela 3. Hemijski sastav hrane, VSM (%) /
Table 3. Chemical food structure, VSM (%)

Hemijski sastav hrane, VSM (%) / Chemical food structure, VSM (%)			
R. b.	%	Ko	O-I
1	Voda / Water	8,96	8,67
2	Pepeo / Ash	10,49	10,96
3	Proteini / Protein	40,42	40,40
4	Celuloza / Cellulose	1,78	1,71
5	Mast / Fat	17,23	17,01
7	Suva materija (SM) / Dry substance (DS)	90,21	90,21
8	Kalcijum / Calcium	2,37	2,44
9	Ukupni fosfor / Total phosphorus	1,59	1,60
10	Metabolička energija ME MJ/kg / Metabolic energy ME	14,50	14,53
13	Lizin / Lysine	3,00	3,00
14	Metionin + cistin / Methionine + cystine	1,62	1,62
15	Triptofan / Tryptophan	0,49	0,49
16	Treonin / Threonine	1,74	1,74
17	Leucin / Leucine	3,12	3,12
18	Izoleucin / Isoleucine	2,01	2,01
19	Histidin / Histidine	1,04	1,04
20	Arginin / Arginine	2,47	2,47

Na osnovu postignutih završnih telesnih masa i ostvarenih završnih linearnih dužinskih mera riba u ovom ogledu sa velikom verovatnoćom može da se prosudi o uticaju zeolita kao aditiva hrane za ribe, međutim ostvareni prirast navedenih parametara je mnogo pouzdaniji pokazatelj.

Kretanje prosečnog prirasta telesne mase pastrmki i prirasta linearnih mera po grupama i po periodima ispitivanja je prikazano u tabeli 5. Prema prikazanim podacima, uočljivo je da je Ko-grupa riba imala znatno niži prirast telesne mase i prirast linearnih telesnih karakteristika u odnosu na O-I grupu riba čija je hrana tretirana količinom zeolita od 0,8 posto u svim periodima tova. Taj zaostatak se nije mogao da nadoknadi, što se odrazilo na završne vrednosti morfometrijskih parametara, koje su u toj grupi bile najmanje. Najveća razlika u veličini prosečnog prirasta telesne mase i porasta dužinskih mera između O-grupe i Ko-grupe riba je ostvarena u periodu od jednog do desetog dana, gde su one bile: za telesnu masu 43,511 posto; za totalnu dužinu tela 41,284 posto; za dužinu tela 70,454 posto i za visinu tela 78, 846 posto.

Tabela 4. Uporedni pregled morfometrijskih parametara (1-40 dana)
Table 4. Parallel view of morphometrical parameters (1-40 days)

Pokazatelji / Indexes	Ogledne grupe / <i>Experimental groups</i>							
	Ko-grupa / <i>Ko-groups</i>				O-I grupa / <i>O-I groups</i>			
	n	x	Sx	Sd	n	x	Sx	Sd
Dani / Days	Prosečna telesna masa po uzrasnim periodima, g / <i>Average body weight according to height periods, g</i>							
1	50	131,50	0,65	1,13	50	131,00	0,98	1,70
10	50	144,6	6,55	9,26	50	149,80	9,40	13,29
20	50	162,00	8,83	15,30	50	173,90	12,41	21,50
30	50	180,2	10,58	21,16	50	195,75	14,10	28,21
40	50	203,90	12,82	28,70	50	223,73	16,39	36,66
	Prosečna totalna dužina tela po uzrasnim periodima, cm / <i>Average total body length according to height periods, cm</i>							
1	50	21,15	0,31	0,54	50	21,22	0,67	1,17
10	50	22,40	0,62	0,88	50	22,76	0,77	1,09
20	50	22,69	0,47	0,81	50	23,38	0,64	1,11
30	50	23,75	0,53	1,06	50	24,62	0,71	1,41
40	50	24,31	0,55	1,23	50	25,94	0,80	1,79
	Prosečna dužina tela po uzrasnim periodima, cm / <i>Average body length according to height periods, cm</i>							
1	50	20,79	0,09	0,16	50	20,81	0,11	0,19
10	50	21,23	0,22	0,31	50	21,56	0,37	0,53
20	50	21,95	0,33	0,58	50	22,55	0,50	0,87
30	50	22,45	0,37	0,74	50	23,10	0,51	1,02
40	50	23,55	0,48	1,08	50	24,39	0,62	1,38
	Prosečna visina tela po uzrasnim periodima, cm / <i>Average body height according to height periods, cm</i>							
1	50	4,98	0,16	0,23	50	4,97	0,12	0,16
10	50	5,24	0,13	0,18	50	5,43	0,23	0,32
20	50	5,42	0,13	0,22	50	5,75	0,22	0,39
30	50	5,69	0,14	0,29	50	6,10	0,24	0,48
40	50	6,09	0,19	0,42	50	6,54	0,26	0,60

Posmatrano u celini prosečni prirast ispitivanih karakteristika riba za ceo ogledni period od jednog do četrdesetog dana (tabela 5), ukazuje da je najveće vrednosti za ispitivane parametre ostvarila ogledna 0-grupa pastrmki, tre-

tirana sa 0,8 posto zeolita u hrani. U poređenju sa Ko-grupom pastrmki, O-I grupa je ostvarila veće priraste morfometrijskih karakteristika: telesne mase za 5,08 grama; totalne dužine tela za 0,39 cm; dužine tela za 0,20 cm i visine tela za 0,12 cm.

Tabela 5. *Uporedni pregled prirasta i porasta morfometrijskih parametara (1-40 dana) / Table 5. Parallel view of increase and growth of morphometrical parameters (1-40 days)*

Pokazatelji / Indexes	Ogledne grupe / <i>Experimental groups</i>							
	Ko grupa / <i>Ko groups</i>				O-I grupa / <i>O-I groups</i>			
	n	x	Sx	Sd	n	x	Sx	Sd
Dani / Days	Prosečan prirast telesne mase po periodima ispitivanja, g / <i>Average growth of body weight according to investigation periods, g</i>							
1-10	50	13.10	0.98	2.18	50	18.80	0.63	2.40
10-20	50	17.40	2.15	3.04	50	24.10	2.65	3.74
20-30	50	18.20	1.58	2.74	50	21.85	1.53	2.66
30-40	50	23.70	2.17	4.35	50	27.98	1.93	3.87
1-40	50	18.10	1.68	3.77	50	23.18	1.49	3.95
	Prosečan prirast totalne dužine tela po periodima ispitivanja, cm / <i>Average growth of total body length according to investigation periods, cm</i>							
1-10	50	1.09	0.08	0.11	50	1.54	0.16	0.23
10-20	50	0.45	0.32	0.45	50	0.62	0.46	0.65
20-30	50	1.06	0.21	0.36	50	1.24	0.27	0.47
30-40	50	0.96	0.14	0.29	50	1.32	0.19	0.38
1-40	50	0.79	0.12	0.26	50	1.18	0.15	0.34
	Prosečan prirast dužine tela po periodima ispitivanja, cm / <i>Average growth of body length according to investigation periods, cm</i>							
1-10	50	0.44	0.10	0.14	50	0.75	0.03	0.04
10-20	50	0.72	0.14	0.19	50	0.99	0.12	0.16
20-30	50	0.50	0.09	0.15	50	0.55	0.12	0.22
30-40	50	1.10	0.15	0.30	50	1.29	0.16	0.31
1-40	50	0.69	0.11	0.25	50	0.89	0.13	0.28
	Prosečan prirast visine tela po periodima ispitivanja, cm / <i>Average growth of body height according to investigation periods, cm</i>							
1-10	50	0.26	0.055	0.08	50	0.46	0.035	0.05
10-20	50	0.18	0.04	0.056	50	0.32	0.07	0.098
20-30	50	0.27	0.02	0.049	50	0.35	0.04	0.073
30-40	50	0.40	0.045	0.09	50	0.44	0.034	0.07
1-40	50	0.27	0.035	0.078	50	0.39	0.026	0.059

Statističke razlike završnih vrednosti prirasta telesne mase, totalne dužine tela, dužine tela i visine tela riba, između O-I grupe (sa dodatkom 0,8 posto zeolita u hrani) i Ko-grupe su bile statistički značajne ($p < 0,05$).

Na osnovu ovih razmatranja i postignutih rezultata, može da se konstatuje da je dodatak zeolita hrani za pastrmke u količini od 0,8 posto, uslovio ostvarenje najboljih prirasta morfometrijskih vrednosti tela riba u O-I grupi sa izraženom statističkom značajnošću. U podacima iz literature, gde je primenjivan zeolit kao aditiv hrane za pastrmke do sada nisu istraživani prirasti dužinskih mera tela pastrmki, već je analiziran samo prirast telesne mase. Međutim, može da se zaključi da su rezultati ovog istraživanja o uticaju zeolita kao ingredienta hrane u saglasnosti sa podacima drugih autora, koji su, takođe, primenom zeolita u ishrani riba konstatovali veći prirast telesne mase u proseku od 4 do 31,9 posto [14, 15, 17].

Prema tabelarno prikazanim podacima (tabela 6) može da se zapazi da je na nivou od 40 dana eksperimenta najveća ukupna potrošnja vazdušno suve hrane ostvarena u O-I grupi riba, gde je bila 208,7691 kg, a najmanja u Ko-grupi od 231,3995 kg. Iskazano u relativnim vrednostima, O-I grupa pastrmki je tokom trajanja ogleda utrošila više hrane za 10,84 posto. Slične rezultate, pri davanju zeolita hrani za pastrmke utvrdili su Veljović i sar [17].

Konverzija hrane, kao interakcija prirasta i konzumacije, jedan je od najpouzdanijih pokazatelja uspešnosti proizvodnje i usvajanja hrane u ribarstvu. Analizirajući ovaj proizvodni parametar na kraju eksperimenta (tabela 6), uočava se da je najbolju konverziju hrane ostvarila O-grupa (sa dodatkom 0,8% zeolita u hrani). U poređenju sa Ko-grupom riba, ogledna O-I grupa pastrmki je ostvarila bolju konverziju hrane za 14,33 posto.

Podaci iz literature ne pružaju objašnjenje mehanizma delovanja zeolita na iskorišćavanje hrane. Pozitivan uticaj aditiva zeolita na svarljivost verovatno je jedan od razloga koji utiče na bolje iskorišćavanje hrane i hranljivih materija, što u krajnjoj instanci ima direktan uticaj na veličinu ostvarenog prinosa.

Mortalitet ispitivanih grupa riba na završetku ogleda, prikazan je u tabeli 6. Gubici gajenih riba su bili relativno niski, jer od ukupnog broja riba sa kojim je eksperiment započet, do kraja je uginulo 1,55 posto (Ko-grupa), odnosno 0,55 posto (O-I grupa). Iz rezultata procenta uginuća riba u ovom ispitivanju, može da se zaključi da je primena zeolita kao aditiva hrane imala pozitivno dejstvo na smanjenje mortaliteta gajenih riba, što je u potpunosti opravdalo njegovu tehnološku primenu u salmonidnoj proizvodnji. Postojanje signifikantnih razlika između ustanovljenih vrednosti mortaliteta riba nije utvrđeno ($p < 0,05$). Rezultati istraživanja autora [14, 15, 17] ukazuju na to da dodatak zeolita hrani pozitivno utiče na smanjenje mortaliteta uzgajanih riba. Zeolit kao aditiv hrane, primenjen u količini od 0,8 posto, takođe je ispoljio stimulativan efekat i na osnovne pokazatelje kompletnog gajenja riba u ovom eksperimentu (tabela 6). Prosečan faktor kondicije (FK) kao pokazatelj međusobnih odnosa telesne mase i totalne dužine tela riba, ukazuje da je O-grupa riba, gde je primenjivan zeolit kao dodatak hrane ost-

Vet. glasnik 60 (5-6) 345 - 355 (2006) S. Obradović i sar: Primena preparata na bazi zeolita u ishrani riba *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) i njegov uticaj na morfometrijske...

varila bolju vrednost FK, za 8,788% u poređenju sa Ko-grupom riba čija hrana nije sadržavala zeolit.

Tabela 6. *Proizvodni pokazatelji na kraju eksperimenta, 40 dana /*
Table 6. Production indexes on the end of experiment, 40 days

Pokazatelji / <i>Indexes</i>	Ogledne grupe / <i>Experimental groups</i>	
	Ko-grupa / <i>Ko-groups</i>	O-I grupa / <i>O-I groups</i>
Mortalitet / <i>Mortality</i> , %	1,55	0,55
Indeks / <i>Index</i> , %	100	35,483
FK – Koeficijent kondicije / <i>Condition coefficient</i>	1,274	1,397
Razlika / <i>Difference</i> , %		9,655
KUR – Koef. ukupnog rasta / <i>Total growth coefficient</i>	7,298	7,590
Razlika / <i>Difference</i> , %		3,998
PI – Proizvodni indeks / <i>Production index</i>	857,193	1163,25
Razlika / <i>Difference</i> , %		35,705
Konsumacija hrane VSM / <i>Food consumption VSM</i> , (g), (kg)	208,7691	231,3995
Razlika / <i>Difference</i> , %		10,84
Ukupno za sve dane po 1 ribi / <i>Total for all days by 1 fish</i> , g	106,028	116,339
Dnevno po 1 ribi, g / <i>Daily by 1 fish</i> , g	2,6507	2,9084
Konverzija hrane VSM / <i>Food conversion ratio VSM</i> , (g/g), (kg/kg)	1,4644	1,2546
Razlika / <i>Difference</i> , %		-14,3307

Prosečna vrednost koeficijenta ukupnog rasta (KUR), kao matematičkog prikaza lineranih dužinskih mera tela riba je iznosila u O-grupi riba 7,59, što je za 3,998 posto bolja vrednost od ustanovljene numeričke vrednosti Ko-grupe (7,298). Na osnovu izloženih rezultata faktora kondicije i koeficijenta ukupnog rasta, može da se konstatuje da upotreba zeolita u hrani za pastrmke pozitivno utiče kako na poboljšanje masenih i dužinskih prirasta, tako i na poboljšanje njihovog međusobnog odnosa, izraženog preko faktora kondicije i koeficijenta ukupnog rasta. Proizvodni indeks (PI) kao pokazatelj celokupne proizvodnje, koji u sebi obedinjuje telesnu masu riba, konverziju hrane i mortalitet, imao je veću vrednost u O-I grupi riba (sa dodatkom 0,8 posto zeolita u hrani) u odnosu na Ko-grupu riba za 35,705 posto.

Zaključak / Conclusion

Korišćenje zeolita „Minazel Plus” u koncentraciji od 0,8 posto u hrani za pastrmke imala je pozitivan efekat sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$) na sve analizirane morfometrijske pokazatelje tempa rasta riba, kako njihove završne komandne mase i završnih dužinskih mera, tako i njihovog prirasta. Primljeni aditiv nije imao signifikantnog uticaja na mortalitet riba. Prisustvo zeolita u hrani za pastrmke je doprinelo boljem iskorišćavanju hrane, odnosno boljoj konzumaciji i konverziji hrane. Osim toga, u poređenju sa Ko-grupom (bez korišćenja zeolita u hrani), ogledna grupa riba (sa dodatkom 0,8% zeolita u hrani) ostvarila je bolje rezultate osnovnih pokazatelja gajenja riba faktora kondicije (FK), koeficijenta ukupnog rasta (KUR) i proizvodnog indeksa (PI).

Literatura / References

1. Kuhlmann H., Koops H.: New technology for rearing, elvers in heated waters. FAO.EIFAC, 80, 45-43, 1990. - 2. Apostolski K.: Program proizvodnje konzumne ribe kaveznim sistemom na akumulaciji Salakovac, 1-21, 1986. -3. Phillips A. M.: Trout feeds and feeding. Manual of fish culture. U.S. Department of the Interior, Washington D. C., 1-29, 1970. - 4. Metode za ispitivanje higijenske ispravnosti vode za piće. Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd, 1-220, 1990. - 5. Standard Methods for the of Water and Wastwater 19th Ed., American Public Health Asociation.Washington 1-352, 1995. - 6. Službeni glasnik RS, br. 15/89. - 7. Pravdin I. F.: Rukovodstvo po izucenij rib Pičevaja promislenost, Moskva, 372-376, 1966. - 8. Nikolić D., Simović B.: Opšte stočarstvo, Naučna knjiga, Beograd, 436, 1985. - 9. Mitrović-Tutundžić V., Brković-Popović I.: Normativi kvaliteta voda za ribarstvo. II simpozijum Ribarstvo Jugoslavije, Kotor, 121-126, 1995. -10. Alabaster J., Lloyd R.: Water quality Criteria for Freshwater Fish, Ind Edition, Butterworth Scientific, London–Boston, 29-53, 1982. - 11. Pravilnik o kvalitetu stočne hrane, Sl. list SRJ, br. 20/2000. - 12. Dumić M., Vukićević O.: Prirodni zeoliti; upotreba u stočarstvu. Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih sirovina (ITNMS), Beograd, 1-17, 1990. - 13. Сеидов А. Г. *et al.*: Геология, генезис и исопользобвание Природных церлишов в сельском хозяйсщве. Звенигород, ан СССР, 107-109, 1987. -14. Танака, С. Б., Челищев, Н. Ф.: О Влиянии добавок клинойшилолишового шуфа на Продуктивность рыб. Вестник сельско-хозяйственной науки, Москва, 216-218, 1987. - 15. Таратухин В. А., Шимулская Л. К.: Кормление карйя с добавком Природных цеолишов. Вестник науки, Кубиршерская лаборатория. Гос. НКОРХ., 26-28, 1990. - 16. Veljović P. *et al.*: Primena zeolita kao aditiva hrane u intenzivnom uzgoju *Salmo gairdneri* Rich. Zbornik radova instituta za stočarstvo, Skoplje, 43-45, 1998. - 17. Veljović P. *et al.*: Primena zeolita kao aditiva hrane u intenzivnom uzgoju *Salmo gairdneri* Rich. Agroznanje, Nauka – Poljoprivreda – Iskustvo, Banja Luka, II, 2, 51-56, 2001. - 19. NRC.: Nutritien requirements of fish. National Academy Press. Washington DC. 168, 1991.

ENGLISH

ADDING ZEOLITE „MINAZEL-PLUS” IN FEEDING *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) AND ITS INFLUENCE ON MORPHOMETRICAL CHARACTERISTICS

S. Obradovic, Marija Vukasinovic, M. Sekler, M. Rajkovic

The influence of natural zeolite was analyzed, as a food additive applied in a concentration of 0,8% on morphometrical characteristics and basic production index of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) breeding.

By analyzing the obtained results it is found that the presence of zeolite in the trout food has a positive effect with a statistical significance ($p < 0,05$) on all analyzed morphometrical indexes of the fish growth rate, on their final body weight, total body length, body length and height, as well as their growth.

Including zeolite in the trout mixture had a stimulative effect on the accomplished results of the basic production index of the condition factor (CF), the coefficient of total growth (CTG) and production index (PI) in comparison with the Co-group of fish that are fed without adding zeolite to food.

Key words: food, zeolite, Rainbow Trout, growth

РУССКИЙ

ПРИМЕНЕНИЕ ЗЕОЛИТА „МИНАЗЕЛЬ-ПЛЮС” В КОРМЛЕНИИ *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА MORFOMETRICHESKIE ХАРАКТЕРИСТИКИ

С. Обрадович, Мария Вукашинович, М. Шеклер, М. Райкович

Анализировано влияние природного зеолита в качестве аддитива корма, применённого в концентрации от 0,8%, на морфометрические характеристики и основные производственные показатели разведения калифорнийской форели *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).

Анализом полученных результатов, установлено, что присутствие зеолита в форелевом корме имело положительный эффект с статистической значительностью ($p < 0,05$) на все анализируемые морфометрические показатели темпа роста рыб, как их конечной массы тела, тотальной длины тела, длины и высоты тела, так и его прироста.

Включение зеолита и смеси для форелей имело стимулятивное действие на осуществлённые результаты основных производственных показателей факторов кондиции (ФК), коэффициента совокупного роста (КСР) и производственного индекса (ПИ) в отношении на Ко-группу рыб, кормленных без добавок зеолита в корме.

Ключевые слова: корм, зеолит, калифорнийская форель, рост

PUTEVI PRENOŠENJA I ŠIRENJA VIRUSA AUJESKIJEVE BOLESTI NA MESOJEDE*

PATHWAYS FOR TRANSFER AND SPREADING OF AUJESZKY'S DISEASE TO CARNIVORA

I. Pušić, Bosiljka Đuričić, S. Lazić, R. Došen, Jasna Prodanov**

Aujeskijeva bolest (MA) je akutna virusna zarazna bolest većeg broja domaćih i divljih životinja. Epizootiološki oboljenje je već u dužem vremenskom periodu prisutno u našoj zemlji, a poslednjih godina učestalo se dijagnostikuje kod mesojeda. Cilj istraživanja bio je sagledavanje i utvrđivanje puteva prenošenja i načina širenja virusa MA na mesojede. Kao materijal za istraživanja korišćeni su epizootiološki podaci o pojavi MA, prikupljeni na terenu, kao i epizootiološki izveštaji Ministarstva poljoprivrede Republike Srbije i Saveznog ministarstva za poljoprivredu. Detaljnom epizootiološkom, kliničkom, patomorfološkom i laboratorijskom analizom je obuhvaćeno pet žarišta MA registrovanih na području Vojvodine. Utvrdili smo navedene puteve širenja infekcije virusom MA na mesojede: potrošnja termički neobrađenih svinjskih leševa, potrošnja termički neobrađenog svinjskog mesa koje potiče iz mesara ili redovnog klanja u domaćinstvu, upotreba iznutrica prinudno zaklane ovce, kohabitacija i kontakt sa inficiranim svinjama i vakcinacija živom vakcinom kontaminisanom virusom MA.

Ključne reči: Aujeskijeva bolest, putevi prenošenja, mesojedi

Uvod / Introduction

Aujeskijeva bolest (*Morbus Aujeszky*) je akutna virusna zarazna bolest velikog broja domaćih i divljih životinja [13]. Virus uzročnik Aujeskijeve bolesti (MA) svrstan je u porodicu *Herpesviridae* potporodicu *alphaherpesvirinae*, rod *Varicellovirus* [5].

* Rad primljen za štampu 10. 11. 2006. godine

** Mr Ivan Pušić, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr Bosiljka Đuričić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Beograd; dr Sava Lazić, naučni savetnik, mr Radoslav Došen, istraživač saradnik, mr Jasna Prodanov, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Bolest je prvi put opisana u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) 1813. godine kod goveda. Oboljenje se masovno javlja samo kod svinja, dok mesojedi i druge vrste obolevaju uglavnom sporadično [1]. Aujeskijeva bolest se ubraja među najznačajnije zarazne bolesti svinja u Evropi i Americi. Nanosi velike gubitke usled masovnog uginuća prasadi, abortusa, mumifikacije plodova i rađanja slabo vitalne prasadi. Kod tovljenika uzrokuje respiratorne poremećaje, zaostajanje u rastu i ponekad uginuća [10]. Kod mesojeda se infekcija izazvana virusom MA gotovo uvek završava letalno [6] usled izrazitog neurotropizma uzročnika i razvoja encefalitisa [3].

Epizootiološki oboljenje je već u dužem vremenskom periodu prisutno u našoj zemlji, a poslednjih godina sve češće se dijagnostikuje kod mesojeda, kako kod onih koji su u direktnom kontaktu sa svinjama tako i kod gradskih pasa i mačaka.

Cilj istraživanja je bio sagledavanje načina i utvrđivanje puteva prenošenja i širenja virusa MA na mesojede.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Kao materijal za rad korišćeni su klinički i epizootiološki podaci o pojavljivanju MA na terenu, prikupljeni od vlasnika životinja, terenske i farmske veterinarske službe, nadležnih republičkih veterinarskih inspektora i područnih epizootiologa, kao i epizootiološki izveštaji Ministarstva poljoprivrede Republike Srbije. Takođe, korišćena su i saopštenja Saveznog ministarstva poljoprivrede, podaci iz arhive Naučnog instituta za veterinarstvo „Novi Sad“ i Pasterovog zavoda u Novom Sadu. Detaljnom epizootiološkom, kliničkom, patomorfološkom i laboratorijskom analizom u periodu od 2000. do 2005. godine, obuhvaćeno je pet žarišta Aujeskijeve bolesti (MA) registrovanih kod pasa na području Vojvodine. U cilju ispitivanja prisustva infekcije izazvane virusom MA kod pasa i mačaka uzorkovana je krv za utvrđivanje prisustva specifičnih antitela protiv virusa MA.

Ispitano je ukupno 15 uzoraka krvi koji potiču od pasa iz dve odgajivačnice u kojima je utvrđena MA. Krv je uzorkovana punkcijom *v.cephalica antebrachi*. Za dokazivanje prisustva specifičnih antitela protiv virusa MA korišćen je serumneutralizacioni test (SNT), a za izolaciju virusa u kulturi tkiva korišćen je patološki materijal koga su činili uzorci mozga uginulih pasa, klinički i patomorfološki sumnjivih na infekciju izazvanu virusom MA. Izolacija virusa iz suspektih materijala je izvedena na kulturi ćelija svinjskih bubrega (PK-15).

Ispitivani slučajevi pojave MA kod pasa i mačaka / *Investigated cases of MA occurrence in dogs and cats*

Prvo ispitivano žarište je bilo privatno gazdinstvo, u kome se pojavljivalo oboljenje sa znacima poremećaja funkcije centralnog nervnog sistema (CNS) prvo je ustanovljeno kod prasadi na sisi (teturav hod, veslanje nogama), dok starije kategorije svinja nisu pokazivale znake oboljenja. Nekoliko dana

nakon obolevanja prasadi, oboleli su psi sa navedenim simptomima: pruritus u predelu glave, salivacija, anoreksija, gubitak ravnoteže i uginuće u roku od 48 časova od pojave prvih znakova oboljenja. Takođe, znaci oboljenja su primećeni i kod jedne mačke (pojave pene oko usana, teturav hod i anizokorija) koja je uginula sledećeg dana.

Tokom proučavanja pojave enzootije MA, utvrdili smo da se oboljenje javilo kod krava, svinja, ovaca, pasa i mačaka u 14 domaćinstava u dva naseljena mesta.

U sledećem žarištu MA koje smo ispitivali, oboljenje je klinički utvrđeno kod prasadi (opistotonus, podrhtavanje muskulature). Međutim, prema rečima vlasnika, desetak dana ranije, jedan pas je pokazivao znake promene ponašanja u vidu neveselosti, povraćanja i uginuo je za 24 časa. Oboljenje je nakon toga registrovano kod još dva psa, sa znacima upornog češanja i salivacije, koji su uginuli 24, odnosno 48 časova kasnije.

Pojava Aujeskijske bolesti je ustanovljena i u dve odgajivačnice pasa. Na osnovu anamnestičkih podataka utvrdili smo da su oboleli psi bili neveseli, većina je imala hipersalivaciju, a izražen pruritus je primećen samo kod tri psa, dok su se dva psa bolno oglašavala sve do uginuća. Uginuće je nastupalo u vremenu od 12 do 72 časa od pojave prvih znakova oboljenja. U odgajivačnici su bila prisutna ukupno 23 psa, od kojih je 8 uginulo. Vlasnik je tokom dužeg vremenskog perioda pse hranio termički neobrađenim mesom od svinjskih leševa, koje je nabavljao na okolnim farmama. Jedna kuja koja je ispoljavala simptome slične psima koji su uginuli (pojačana salivacija i trljanje njuške o zemlju), preživela je infekciju. Patomorfološkim pregledom pet leševa pasa uginulih od MA ustanovili smo navedene promene: povrede i razderotine na koži u predelu glave i došaplja, žućkasto-beličasta nekrotična ognjišta veličine glave čiode na bubrezima, kongestija moždanih ovojnica, hiperemija i krvarenja u malom i velikom mozgu. Kod jedne životinje uočeni su edem i kongestija pluća.

U drugoj odgajivačnici, od ukupno 12 pasa obolelo i uginulo je samo jedno štene u uzrastu od 2,5 meseci. Psi su nekoliko dana ranije hranjeni nekuvanim svinjskim kostima. Pre uginuća životinja se intenzivno češala po temenu i imala pojačano lučenje pljuvačke. Uginuće je nastupilo za 24 časa. Sekcijom leša uginulog psa nismo utvrdili prisustvo patomorfoloških promena. Od 15 pasa koji su bili prisutni u dve odgajivačnice u vreme izbijanja zaraze, uzorkovana je krv radi ispitivanja prisustva specifičnih antitela protiv virusa MA.

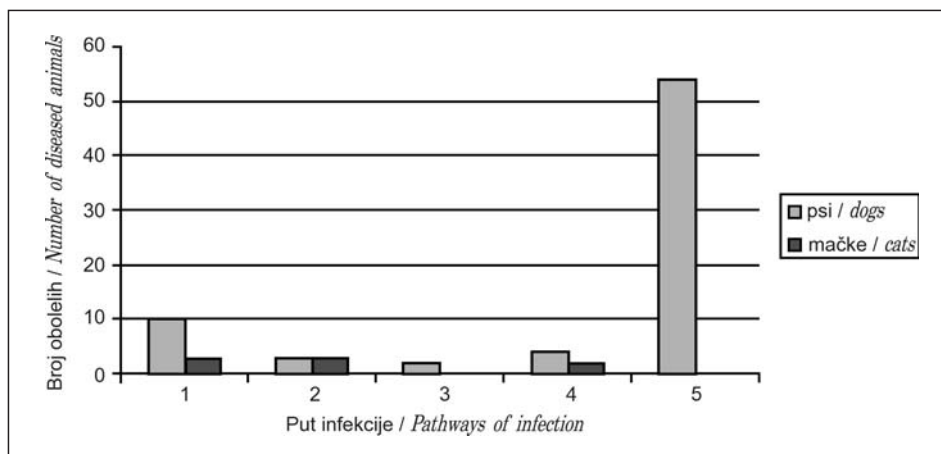
Rezultati / Results

Iz tabele 1 može da se vidi da je od 15 ispitanih krvnih seruma pasa u 3 seruma (20%), koja potiču od pasa iz iste odgajivačnice utvrđeno prisustvo specifičnih antitela protiv virusa MA. Sve tri jedinice su priplodne kuje, a utvrđene vrednosti titra antitela bile su 1:2 kod dve i 1:8 kod jedne životinje.

Tabela 1. *Prikaz titra specifičnih antitela protiv virusa MA kod pasa u odgajivačnicama / Table 1. Titer of specific antibodies against MA virus in dogs in breeding facilities*

Odgajivačnica / Breeding facility	Broj ispitanih pasa / Number of examined dogs	Titir antitela (1:) / Antibody titer (1:)					
		<2	2	4	8	16	32
1	11	8	2	0	1	0	0
2	4	4	0	0	0	0	0
Ukupno / Total	15	12	2	0	1	0	0
%	100	80,00	13,33	0	6,66	0	0

Na osnovu obavljenih ispitivanja ustanovili smo da su najčešći putevi širenja infekcije na mesojede bili: upotreba termički neobrađenih svinjskih leševa (10 pasa i 4 mačke), potrošnja termički neobrađenog svinjskog mesa koje potiče iz mesara ili redovnog klanja u domaćinstvu (3 psa i 3 mačke), konzumiranje iznutrica prinudno zaklane ovce (3 psa), kohabitacija i kontakt sa inficiranim svinjama (4 psa i 2 mačke) i vakcinacija živom vakcinom kontaminisanom virusom MA (54 psa). Na grafikonu 1 prikazani su slučajevi MA kod pasa i mačaka u zavisnosti od načina inficiranja.



Grafikon 1. *Izvori infekcije pasa i mačaka za virus MA / Graph 1. Sources of infection of dogs and cats for MA virus*

Legenda:

Seriya 1 - konzumiranje leševa svinja

Seriya 2 - konzumiranje termički neobrađenog svinjskog mesa poreklom iz mesara ili redovnog klanja u domaćinstvu

Seriya 3 - konzumiranje iznutrica prinudno zaklane ovce

Seriya 4 - kontakt sa inficiranim svinjama

Seriya 5 - vakcinacija živom vakcinom inficiranom virusom MA

Diskusija / Discussion

Svinje predstavljaju prirodnog domaćina za virus MA i rezervoar ovog virusa u prirodi [11]. Ovo takođe navode i Đuričić B. i sar [5] koji iznose podatke o rasprostranjenosti infekcije izazvane virusom MA, i kao vrste koje najčešće obolevaju navode svinje, pse i mačke. Treba da se ima u vidu da se etiopatogeneza i načini širenja infekcije virusom MA na mesojede donekle razlikuju od puteva infekcije kod biljojeda [9, 12].

Našim ispitivanjem je ustanovljeno da je glavni prirodni put infekcije mesojeda potrošnja svinjskih leševa ili termički neobrađenog svinjskog mesa. Pojava infekcije ustanovljena je i kod pasa i mačaka koji nisu hranjeni svežim mesom, ali su bili u direktnom kontaktu sa obolelim svinjama. Podaci iz literature takođe ukazuju da je ingestija svinjskog mesa glavni put infekcije karnivora. Pansaert i sar [7] ističu da svinje uvek predstavljaju, bilo direktno bilo indirektno, izvor infekcije za karnivore; bolest se kod pasa javlja jedino posle kontakta sa inficiranim svinjama ili ingestije svinjskog mesa i iznutrica koje sadrže virus.

U tri slučaja pojave MA kod pasa ustanovljeno je da su izvor infekcije bile nekuvane iznutrice prinudno zaklane ovce. Da meso i drugih prijemčivih životinja može da bude izvor infekcije za pse utvrdio je i Manfroni [6], koji je ustanovio pojavu oboljenja kod dva psa nakon konzumacije inficiranog goveđeg mesa. Kako su sirovo meso, kosti i iznutrice koje potiču od svinja glavni izvor infekcije za mesojede, svakako da pažnju zaslužuju epizootiološki podaci da su tri psa i tri mačke inficirani nakon što su pojeli termički neobrađene svinjske prerađevine nabavljene u mesari. Problem su latentno inficirane svinje koje su klinički zdrave i kao takve mogu da budu upućene na redovno klanje [4].

Masovna pojava MA kod pasa može da se javi i u intenzivnom uzgoju u odgajivačnicama, što smo i ustanovili u toku praćenja i pojavljivanja bolesti na terenu. U prvoj odgajivačnici od 23 psa obolelo je 9, a uginulo 8 pasa. Psi su tokom dužeg vremenskog perioda hranjeni leševima uginulih svinja sa okolnih farmi. Iz tabele 1 može da se uoči da je od 15 ispitanih krvnih seruma pasa, u tri seruma (20%) utvrđeno prisustvo specifičnih antitela protiv virusa MA. Sve tri jedinice su bile priplodne kuje koje su pobacile ili oštenile mrtvu ili avitalnu štenad u prvom narednom graviditetu. Pokušaj izolacije virusa MA iz pobačenih fetusa nije uspeo.

Kod mesojeda pojavu preživljavanja klinički manifestnog MA nismo pronašli u dostupnoj literaturi. Međutim, prisustvo titra specifičnih antitela protiv virusa MA kod tri psa ukazuje da su oni bili u kontaktu sa virusom, ali su preživeli infekciju. Nakon prestanka ishrane pasa termički neobrađenim svinjskim mesom nije bilo više uginuća. Psi koji su bili u kontaktu sa uginulim i seropozitivnim jedinkama nisu oboleli ni posle tri meseca. Ovo ukazuje da nije bilo prenošenja virusa sa psa na psa. Saglasno sa ovim nalazom, i drugi autori nisu ustanovili prenošenje virusa sa obolelih pasa na druge pse u kontaktu. Eidson i sar [2] i Pansaert i sar [7] navode da psi koji su bili u kontaktu sa obolelim psima ne obolevaju,

jer virus MA nije prisutan u pljuvački obolelih pasa u svim slučajevima, a i količina izlučenog virusa u pljuvački verovatno nije dovoljna da uzorkuje infekciju.

Istražujući puteve prenošenja infekcije virusom MA na mesojede utvrdili smo da je pojava oboljenja i uginuća kod 54 psa bila posledica vakcinacije živom atenuiranim vakcinom protiv besnila koja je bila kontaminisana virusom MA. Na osnovu izraženih kliničkih simptoma postavljena je sumnja da se radi o Aujeskijskoj bolesti, zbog čega se prestalo sa vakcinacijom vakcinama iz ove serije. Laboratorijska ispitivanja ove vakcine na kulturi ćelija i eksperimentalnim životinjama pokazala su prisustvo virusa MA. Na opasnost od kontaminacije živih atenuiranih vakcina, drugim živim agensima, koji mogu da izazovu oboljenje ukazuju u radovima i Pensaert i Morisson [8].

Zaključak / Conclusion

Epizootiološkim ispitivanjem utvrdili smo sledeće puteve širenja infekcije na mesojede: konzumiranje termički neobrađenih svinjskih leševa, konzumiranje termički neobrađenog svinjskog mesa koje potiče iz mesara ili redovnog klanja u domaćinstvu, konzumiranje iznutrica prinudno zaklane ovce, kohabitacija i kontakt sa inficiranim svinjama i vakcinacija živom vakcinom protiv besnila kontaminisanom virusom MA.

Budući da nema registrovane vakcine, niti efikasne terapije za mesojede obolele od MA, saznanja o putevima prenošenja i širenja virusa od velikog su značaja za uspešnu prevenciju oboljenja.

Literatura / References

1. Došen R. i sar.: Savremena poljoprivreda, 51, 269-271, 2002. - 2. Eidison B. S. *et al.*: J. A. V. M. A., 123, 34-37, 1953. - 3. Eloit M. *et al.*: Vet Rec., 124, 4, 91-94, 1989. - 4. Gagrčin M.: Humoralna imunološka reaktivnost prasadi poreklom od nazimica i krmača koje su u prvoj polovini graviditeta veštački inficirane virusom Aujeskijske bolesti. Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet, Beograd, 1989. - 5. Heinz F. X. *et al.*: Family Herpesviridae. In: Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report on the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press. San Diego, San Francisco, New York, Tokio, London, Boston, Sydney, 2000. - 6. Đuričić B. i sar.: Zbornik referata i kratkih sadržaja, Simpozijum IV jugoslovenski epizootiološki dani, Mataruška Banja, 153-155, 2002. - 7. Manfroni G.: Nuovo Progresso Veterinario, 38, 385-386, 1983. - 8. Pensaert M. B. *et al.*: Am. J. Vet. Res., 41, 12, 2016-2020, 1980. - 9. Pensaert M. B., Morrison M.: Vet. Res., 31, 141-145, 2000. - 10. Smith K. C., Herpesviral Abortion in Domestic Animals. The Vet. Jour. 153, 253-268, 1997. - 11. Vandeputte J., Pensaert M.: Vlaamsw Diergeneeskdd Tijdschr, 48, 140-150, 1979. - 12. Tomishima *et al.*: Traffic, 2, 429-436, 2001. - 13. Weigel R. *et al.*: Vet. Res., 31, 148-149, 2000. - 14. Župančić *et al.*: J. Vet. Med., B49, 253-256, 2002.

ENGLISH

PATHWAYS FOR TRANSFER AND SPREADING OF AUJESZKY'S DISEASE TO CARNIVORA

I. Pusic, Bosiljka Djuricic, S. Lazic, R. Dosen, Jasna Prodanov

Aujeszky's disease (*Morbus Aujeszky*) is an acute viral contagious disease occurring in a large number of domestic and wild animals. This epizootiological disease has been present in our country for quite some time now, and it has been increasingly frequently diagnosed in carnivora in the recent years. The objective of the investigations was to determine and establish the pathways for the transfer and the manner of spreading of the MA virus to carnivora. Epizootiological data on the appearance of MA, collected in the field, as well as an epizootiological report by the Serbian Ministry of Agriculture and of the Federal Ministry for Agriculture were used as material. Detailed epizootiological, clinical, pathomorphological, and laboratory analyses were performed in five critical spots for MA registered in the territory of Vojvodina province. We established the following pathways for the spread of the MA viral infection to carnivora: the consumption of thermally unprocessed swine carcasses, the consumption of thermally unprocessed pork originating from butcher shops or from regular slaughter on private farms, the consumption of viscera from emergency slaughtered sheep, cohabitation and contact with infected swine, and vaccination using a live vaccine contaminated with the MA virus.

Key words: Aujeszky's disease, pathways of transfer, carnivora

РУССКИЙ

ПУТИ ПЕРЕНЕСЕНИЯ И РАСШИРЕНИЯ ВИРУСА АУЕСКИ БОЛЕЗНИ НА МЯСОЯДНЫЕ

И. Пушич, Босилька Джуричич, С. Лазич, Р. Дошен, Ясна Проданов

Ауески болезнь (МА)-острая вирусная заразная болезня болезнь большего числа домашних и диких животных. Эпизоотологическое заболевание уже более долгое время присутствующее в нашей стране, а последних лет учащённо диагностируется у мясоядных. Цель исследования была замечание и утверждение путей перенесения и способы расширения вируса МА на мясоядных. В качестве материала для исследования пользованы эпизоотологические известия Министерства сельского хозяйства Республики Сербии и Союзного министерства сельского хозяйства. Детальным эпизоотологическим, клиническим, патоморфологическим и лабораторным анализом охвачено пять очагов МА, зарегистрированных на районе Воеводины. Мы утвердили следующие пути расширения инфекции вирусом МА на мясоядных: потребление термически необработанных свиных трупов, потребление термически необработанного свиного мяса происхождением из мясных магазинов или регулярного убоя в домашнем хозяйстве, потребление внутренностей принудительно убитой овцы, сожительство и контакт с инфицированными свиньями и вакцинация живой вакциной, контаминированной вирусом МА.

Ключевые слова: Ауески болезнь, пути перенесения, мясоядные

**ULOGA PASA U KONTAMINACIJI URBANE SREDINE
UZROČNICIMA PARAZITSKIH ZOONOZA***
*ROLE OF DOGS IN CONTAMINATION OF URBAN ENVIRONMENT
WITH CAUSES OF PARASITIC ZOONOSES*

I. Pavlović, Z. Kulišić, S. Đurđević, Zorana Mišić, Jana Momčilović,
D. Krstić**

*Psi pripadaju grupi najranije pripitomljenih životinja. Oni sa čovekom žive u kohabitaciji i dele životnu okolinu mnogo intimnije od ma koje druge životinjske vrste. Blizak kontakt lualica i ljubimaca, s jedne i polucija gradskih površina zagađenih fecesom ovih životinja, s druge strane, zatvaraju lanac infekcije parazitima, kojima je u konačnom nizu ugroženo i ljudsko zdravlje. Psi su nosioci i pravi domaćini velikog broja zoonoznih vrsta parazita – *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Echinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Toxocara canis*, *Ancylostomidae* spp. i drugih, čija jaja ili druge razvojne oblike eliminišu fecesom u spoljašnju sredinu. Porast slučajeva toksokaroze ljudi (sindrom visceralne larve migrans), ankilostomoze (kutana larva migrans), hidatidoze, toksoplazmoze ili kriptosporidioze su najbolji pokazatelj ovih relacija. Radi rešenja ovog problema neophodno je sistematsko istraživanje njihove parazitofaune uz najveću moguću saradnju vlasnika životinja, obavezno zdravstveno prosvetavanje stanovništva na polju oboljenja koja se prenose sa životinja na ljude i svakako sprovođenje dehelmintizacije pasa.*

Ključne reči: psi, zoonozni paraziti, životna sredina

Uvod / Introduction

Psi pripadaju grupi najranije pripitomljenih životinja. Oni sa čovekom žive u kohabitaciji i dele životnu okolinu mnogo intimnije od ma koje druge životi-

* Rad primljen za štampu 29. 11. 2006. godine

** Dr Ivan Pavlović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Zoran Kulišić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Slaviša Đurđević, docent, Vojnomedicinska akademija, Beograd; dr Zorana Mišić, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; Jana Momčilović, Medicinski fakultet, Beograd; dr Danilo Krstić, docent, Vojnomedicinska akademija, Beograd

njske vrste. Povećanje broja ljudi i životinja u urbanim i ruralnim sredinama u mnogome je poremetilo prirodne biološke relacije koje vladaju u ovakvim ekosistemima. Na to je svakako uticalo povećanje broja pasa (kućnih ljubimaca i lutilica). Ako se izuzmu glodari, psi čine najbrojniju „slobodnoživeću” populaciju u urbanoj sredini [2, 3, 8, 12, 14, 19, 21].

U današnje vreme, kada je veza čoveka i kućnih ljubimaca postala veoma bliska, ova bliskost je pokazala i svoje negativne strane. Poznato je, naime, da ako se neka vrsta životinja na ograničenom staništu namnoži ili se drži veći broj životinja na skučenom prostoru, to, po pravilu, omogućava izbijanje i širenje bolesti različite etiologije. Savremena medicina sve više dolazi do saznanja o postojanju čitavog niza bolesti koje se sa životinja prenose na ljude, a među kojima parazitoze pasa zauzimaju značajno mesto u patologiji ljudi [3, 7, 8, 20, 21]. Visoka koncentracija životinja lutilica, a zatim glodara, omogućava održavanje i cirkulaciju pojedinih parazitskih zoonoza u urbanoj sredini. Blizak kontakt lutilica i ljubimaca, s jedne i polucija gradskih površina fecesom ovih životinja, s druge strane, zatvaraju lanac infekcije izazvane parazitima, kojima je u konačnom nizu ugroženo i ljudsko zdravlje.

Fauna parazita pasa u urbanim sredinama /

Parasitic fauna of dogs in urban environmental condition

Fauna parazita pasa je mnogobrojna i raznovrsna. U urbanim sredinama obe populacije pasa (ljubimaci i lutilice), bez obzira na deo sveta gde su rađena istraživanja, najčešće su inficirane helmintima, i to *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Trichuris vulpis*, *Capillaria spp.*, *Mesocestoides lineatus*, *Dipylidium caninum*, *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus* [6, 9, 11, 13, 16, 18, 23, 24, 26, 41, 48, 53, 54]. Protozoarne infekcije su takođe značajne kod pasa i to naročito crevnim kokcidijama.

Postoji razlika u odnosu na faunu parazita, prevalenciju i distribuciju pri čemu se razlika ogleda u stepenu infekcije lutilica i ljubimaca, u zavisnosti od sredine u kojoj su životinje nastanjene. Ispitivanja ekološke valencije, koja kao deskriptivan pokazatelj daje sliku uticaja mikroklimatskih i pedoloških faktora i njihovog uticaja na biologiju razvojnog ciklusa parazita, bilo da su sa direktnim ili indirektnim razvojnim ciklusom, razjašnjava nam kosmopolitizam distribucije pobrajanih vrsta parazita. Stepent inficiranosti je u direktnoj korelaciji sa socio-ekonomskim uslovima pojedinih regiona, tako da se distribucija pojedinih zoonoznih infekcija (ehinokokoze pre svih) kreće u različitim vrednostima. U velikim urbanim sredinama u kojima postoji veliki broj kućnih ljubimaca stepen i prevalencija infekcija su znatno manji nego u sredinama u kojima ove životinje imaju između ostalog i funkcionalnu ulogu (psi čuvari, lovački psi i drugi). Ako se osvrnemo na rezultate istraživanja parazitofaune ovih životinja u svetu i kod nas, vidi se da ekstenzitet i intenzitet infekcije većinom zavise od načina držanja (ljubimci su uvek ređe i

slabije inficirani od litalica) i sredine u kojoj su životinje nastanjenje [3, 4, 12, 17, 19, 20, 21].

U našoj sredini stepen inficiranosti pasa i kontaminacija urbane sredine njihovim fecesom su u stalnoj tendenciji rasta [1, 3, 13, 14, 15, 16, 24, 33, 34, 35, 44, 50].

Kontaminiranost urbane sredine parazitskim elementima / *Parasitic contamination of urban environment*

Staništa ovih životinja u urbanim sredinama stalno su kontaminisana fecesom inficiranih pasa. Istraživanja polucije zemljišta, parkova, bazenčića za pesak i drugih koja su obavljena u velikim gradovima ukazala su da je najveća zagađenost baš jajima helminata, pri čemu su dominantne vrste *Toxocara canis*, *Ancylostomidae* spp. i *Toxocara cati*, a u manjem obimu *Trichuris vulpis*, *Dipylidium caninum*, *Taenia* spp. i *Mesocystoides lineatus* [2, 3, 7, 12, 17, 21, 28, 29]. Sve navedene vrste su uzročnici parazitskih zoonoza.

Istraživanja ove vrste su rađena na svim kontinentima. U većim evropskim gradovima kontaminiranost je ustanovljena od 15 do 17 posto u Londonu [8, 52], u Parizu 28 posto [19], u Pragu 28 posto [45], u Utrehtu 23 posto [10] i u Dublinu 32 posto [27]. Do sličnih rezultata se došlo istraživanjima u Italiji [6, 9], Švajcarskoj [40], Bosni i Hercegovini [27], Španiji [39], Poljskoj [22] i Rusiji [54]. Identična situacija je na američkom kontinentu [2, 6, 11], u Aziji [43, 46, 51, 53] i Australiji [5].

Od 1993. godine u Beogradu se kontinualno obavljaju pregledi zemljišta iz parkova i drugih javnih zelenih površina, peska iz bazenčića dečijih igrališta i fecesa pasa, po ustaljenim metodama [2, 18, 30, 47]. Prisustvo jaja parazita ustanovljeno je u 42,82 posto pregledanih uzoraka zemljišta i 0,75 posto peska u bazenčićima za pesak. Rezultati dobijeni tokom ovih pregleda ukazuju da je procenat kontaminisanih površina u Beogradu kreće u svetskim okvirima, što nam ne daje nikako pravo na zadovoljstvo [32, 33, 34, 35].

Nalaz, naročito jaja toksokara, u svim istraživanjima je bio u visokom procentu (i više od 55 posto od ispitivanog broja uzoraka), što ukazuje na svu opravdanost aksioma koji je Woodrof [54] postavio da svako zagađenje sredine sa više od 5 posto jaja toksokara, predstavlja ozbiljnu zdravstvenu opasnost po čoveka.

Epidemiološki značaj parazita pasa / *Epidemiological importance of dogs parasites*

Neposredni pokazatelji ovako nepovoljnog epizootiološkog i epidemiološkog stanja, ako se apstrahuju direktne posledice koje ustanovljene vrste parazita imaju po domaćine – pse, ogledaju se u infekcijama ljudi razvojnim oblicima pojedinih vrsta helminata, poput ehinokokusa, toksokare i ankilostomatida.

U urbanim sredinama, dominiraju infekcije ljudi larvenim oblicima toksokare i ankilostomatida. Toksokare uzrokuju oboljenja poznata kao sindrom visceralne i okularne larve migrans, a ankilostomide sindrom kutane larve migrans. Po podacima iz sveta sindrom visceralne i okularne larve migrans je ustanovljen serološki kod 1,4 posto pacijenata u Austriji, 2,4 posto u Britaniji, 2,7-5 posto u Švajcarskoj, 4,2 posto u Italiji, 8 posto u Holandiji, 7 posto u Švedskoj, 19,8 posto u Mađarskoj, 18,9 posto u Češkoj, 13,6 posto u Slovačkoj i slično [4, 19, 20]. U našoj sredini ovaj procenat je u rasponu od 2,3 do 23,4 posto [19]. Ankilostomidoza i sindrom kutane larve migrans se manje javlja i prisutna je u većem procentu u zapadnoj i centralnoj Evropi i SAD [12, 21, 37].

Infekcija izazvana najopasnijim zoonoznim parazitom pasa – *Echinococcus granulosus* je daleko zastupljenija u ruralnim, nego u urbanim sredinama, mada prevalencija hidatidoze kod ljudi u gradovima nije zanemarljiva. Jedan od činioca koji utiče na ovo nepovoljno stanje je ljudska nebriga i neobrazovanost koji direktno potpomažu širenju pojedinih parazitoza, pre svih ehinokokoze, odnosno hidatidoze. Na primer, individualno klanje životinja i odbacivanje organa u kojima se nalaze razvojni oblici ehinokokusa i koji na ovaj način postaju dostupni psima, čine glavnu komponentu širenja ove opasne zoonoze. Ovako drastična uloga koju čovek može da ima, samo pokazuje koliko je malo učinjeno na edukaciji ljudi u upoznavanju sa ovom parazitozom. Po podacima WHO stepen infekcija ljudi izazvanih ehinokokusom je u rasponu od 0,9 do 1,4 posto u severozapadnoj Evropi, 7 do 17 posto na Bliskom Istoku do 19 do 71 posto u pojedinim zemljama Afrike, posebno duž Mediterana [16, 38].

Umesto zaključka / *Instead of conclusion*

Na kraju neophodno je da se istakne potreba za daljim sistematskim istraživanjima parazitofaune pasa uz maksimalnu saradnju vlasnika životinja, kao i obavezno zdravstveno prosvetčivanje stanovništva na objašnjavanju oboljenja koja se prenose sa životinja na ljude, jer ako je pas čovekov najbolji prijatelj, zašto to ne bi bio i čovek psu.

NAPOMENA:

Zahvaljujemo se Ministarstvu nauke izaštite životne sredine Republike Srbije na pomoći pri izradi ovog rada.

Literatura / *References*

1. Antanasijević Slađana: Značajnije parazitoze domaćih životinja na epizootiološkom području Niša, Specijalistički rad, Veterinarski fakultet, Beograd, 1993. - 2. Dada B. J., Lindquist W. D.: J. Helminthol., 53, 145-146, 1979. - 3. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara, Bečkei Ž.: VII epizootiološki dani, sa međunarodnim učešćem, Zbornik referata, Jagodina, 127-128, 2005. - 4. Dubinski P.: Parasitology Int. 47, 128, 1998. - 5. Dunsmore J. D., Thompson R. C., Bates I. A. Vet. Parasitol., 16, 3-4, 303-311, 1984. - 6. Ghadirian E., Viens P., Strykowski H., Dubreuil F.: Can. J. Publ. Health, 67, 493-498, 1976; - 7. Giacometti A., Ciri-

- oni O., Fortuna M. *Europ. J. Epidem.*, 16, 1023-1026, 2000. - 8. Giluispie S. U., Flrhira M., Ramsay A.: *Publ. Hlth. (Lond.)*, 105, 335-339, 1991. - 9. Habluetzel A., Traldi G., Ruggieri S., Attili A. R., Scuppa P., Marchetti R., Menghini G., Esposito F.: *Vet. Parasitol.*, 113, 10, 243-252, 2003. - 10. Jansen J., van Knapen F., Schreurs M., van Wijngarden T.: *Tijdschr Diergeneeskund* 11, 4, 118-119, 1993. - 11. Javier López D., Katia Abarca V., Patricio Paredes M., Elisa Inzunza T.: *Chile, Rev Med Chil.* 134, 193-200, 2006. - 12. Kulišić Z., Pavlović I., Damjanović D., Aleksić N.: *The Canadian J. Infec. Dis.* 6, 413-414, 1995. - 13. Kulišić Z., Pavlović I., Nešić D.: *Valter D. of XX Congress WSAVA, Proceedings Yokohama, Japan*, 663, 1995. - 14. Kulišić Z., Pavlović I., Anastasijević S., Ignjatović R., Stanojević G., Lazarević S.: *Uloga pasa i mačaka, kućnih ljubimaca i litalica u kontaminaciji urbane sredine uzročnicima parazitskih zoonoza U: Grad u ekologiji - ekologija u gradu, monografija. radova Izd.: Sekretarijat za zaštitu životne sredine Niša*, 255-258, 1996. - 15. Kulišić Z., Pavlović I., Milutinović M., Aleksić-Bakrač N.: *Helminthol.* 37, 79-82, 1998. - 16. Kulišić Z., Aleksić-Bakrač Nevenka, Pavlović I.: *Ehinokokoza i hidatidoza domaćih životinja, Izd.: HE „Župa”, Kruševac*, 1-54, 1999. - 17. Kulišić Z., Pavlović I.: *Stručni skup kontrola štetnih organizama u urbanoj sredini, VI beogradska konferencija sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova Beograd*, 151-154. - 18. Laborde C. E. C.: *Les Ascarides du chien et la sante humaine. These pour le doctorat veterinaire. Ecole National Veterinaire de Alfort*, 1980. - 19. Lalošević D., Radulović Š., Velimirović S., Malenković M., Lalošević V., Popov Z., Rončević N., Gebauer E.: *Zbornik radova naučnog skupa posvećenog 100 godišnjici rođenja akademika Čedomira P. Simića, Beograd*, 32-41, 1996. - 20. Lewis J. W., Maizels R. M., eds. *Toxocara and toxocarasis. Clinical, epidemiological and molecular perspectives.* Birbeck, London, 1993. - 21. Mattone-Volpe F.: *J Am Podiatr Med Assoc.* 88, 5, 228-231, 1998. - 22. Mačenić E.: *Wiad Parazytol.* 46, 239-244, 2000. - 23. Miró G., Mateo M., Montoya A., Vela E., Calonge R.: *Parasitol Res.* 17, 2006. - 24. Nešić D., Pavlović I., Valter D.: *VI simpozijum male životinje, urbana sredina i ekologija, Zbornik radova i kratkih sadržaja radova Sarajevo*, 162-164, 1990. - 25. O Lorcain P.: *J. Helminth.* 68, 4, 237-241, 1994. - 26. O Lorcain P.: *Ireland, J. Helminth.* 68, 4, 331-336, 1994. - 27. Omeragić J., Zuko Almedina, Jažić A., Mućlabdić F., Sinanović N., Hadžimerović M.: *VIII epizootiološki danica međunarodnim učešćem, Zbornik kratkih sadržaja savetovanja Banja Vrdnik*, 56 (CD rom) 2006. - 28. Pavlović I., Kulišić Z., Erski-Biljić M.: *Programme and Abstracts of 1st International Conference on Emerging Zoonoses, Jerusalem, Israel*, 95, 1996. - 29. Pavlović I., Kulišić Z., Erski-Biljić M., Milutinović M.: *Arch. Intern. Hidatidosis*, XXII, 278, 1997. - 30. Pavlović I., Kulišić Z., Milutinović M.: *Vet. glasnik* 51, 1-2, 61-65, 1997. - 31. Pavlović I., Relić R., Srećković M., Tadić D.: *II kongres pedijatar Jugoslavije, Zbornik sažetak, Novi Sad*, 104-105, 1998. - 32. Pavlović I., Milutinović M., Radenković B., Janković Lj., Vučinić M., Kulišić Z.: *XI savetovanje DDD u zaštiti životne sredine sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Tara*, 233-237, 2000. - 33. Pavlović I., Petković Dragana, Milutinović Marija: *XI savetovanje DDD u zaštiti životne sredine sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Tara*, 239-242, 2000. - 34. Pavlović I., Teodor B., Stojanović D.: *Stručni skup kontrola štetnih organizama u urbanoj sredini, VI beogradska konferencija sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Beograd*, 159-163, 2003. - 35. Pavlović I., Kulišić Z.: *Ecologica XII*, 45, 11-16, 2005. - 36. Pavlović I., Kulišić Z.: *VIII epizootiološki danica međunarodnim učešćem, Zbornik kratkih sadržaja savetovanja, Banja Vrdnik*, 49-50 (CD rom) 2006. - 37. Richey T. K., Gentry R. H., Fitzpatrick J. E., Morgan A. M.: *South Med J.* 89, 6, 609-611, 1996. - 38. Roming T.: *Teniasis/Cysticercosis and Echinococcosis International Symposium, Abstracts Asahikawa, Japan* 34, 2005. - 39. Ruiz Dyblnez M. R., Garijo M. M., Alonso F. D.: *J. Helminth.*, 75, 169-173, 2001. - 40. Sager H., Moret Ch., Grimm F., Deplazes P., Doherr M., Gottstein B.: *Parasitol Res.* 22, 1-6, 2005. - 41. Senlik B., Cirak V. Y., Karabacak A.: *J Helminthol.* 80, 299-303, 2006. - 42. Shimizu T. J.: *Vet. med. Sci.*, 55, 807-811, 1993. - 43. Snow K. R., Ball S. J., Ber-

wick J. A.: Vet Rec, 121, 66-67, 1987. - 44. Sugathan P.: Dermatol Online J. 8, 2, 21, 2002. - 45. Tešić S.: Helminti digestivnog trakta pasa na području Požarevca, specijalistički rad, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, 1996. - 46. Uga S., Matsumura T., Aoki N., Kataoka N.: Jap. J. Parasit. 38, 280-284, 1989. - 47. Valkunova J.: Folia Parasitol. 29, 25-32, 1982. - 48. Vanpajris O., Hermans L., Flaes L. van der.: Vet. Parasitol. 38, 1, 67-73, 1991. - 49. Vasković N., Debeljak Z., Rajković M., Tomić A., Zečević S., Žarković A., Matović K., Šekler M.: VIII epizootiološki dani sa međunarodnim učešćem, Zbornik kratkih sadržaja savetovanja, Banja Vrdnik, 59, 2006. - 50. Vesić S.: Helminti digestivnog trakta pasa na području Valjeva, specijalistički rad, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, 1996. - 51. Wichit R., Supaporn N., Malinee T. A., Somchit P., Wana M., Kasidis V.: Southeast Asian J Trop Med Public Health 29, 744-777, 1998. - 52. Woodruff A. W.: Environ. Health, 84, 29-31, 1976. - 53. Woodruff A. W., de Savigny D., Jacobs D. E.: British Med. J. II, 1747-1748, 1978. - 54. Zharova V. V.: Voprosy med. gelmintol. Moskva, 36-38, 1976.

ENGLISH

ROLE OF DOGS IN CONTAMINATION OF URBAN ENVIRONMENT WITH CAUSES OF PARASITIC ZOOSES

I. Pavlovic, Z. Kulisic, S. Djurdjevic, Zorana Misic, Jana Momcilovic, D. Krstic

Dogs belong to the group of animals that were the first to be domesticated. They live in cohabitation with humans and share their environment much more intimately than any other animal species. The close contact between strays and pets, on the one side, and the pollution of urban areas with the feces of these animals, on the other, close the chain of infection with parasites, which jeopardizes also human health in the final link of that chain. Dogs are carriers and the true hosts to large numbers of species of zoonotic parasites – *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Echinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Toxocara canis*, *Ancylostomidae* spp. and others, whose eggs or other developmental forms they eliminate into the environment through feces. The increase in the number of cases of toxocarosis in humans (syndrome of visceral larvae migrans), ancylostomosis (cutanea larvae migrans), hydatidosis, toxoplasmosis, or cryptosporidiosis are the best indicators of these relations. In order to resolve this problem, it is necessary to conduct systematic investigations of their parasitic fauna with the maximum cooperation of the animal owners, compulsory health education of the population in the area of the diseases that are transferred from animals to humans, and, certainly, carrying out the dehelminthization of dogs.

Key words: dogs, zoonotic parasites, environment

**РОЛЬ СОБАК В КОНТАМИНАЦИИ ГРАДОСТРОИТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ПАРАЗИТАРНЫХ ЗООНОЗОВ**

**И. Павлович, З. Кулишич, С. Джурджевич, Зорана Мишич, Яна Момчилович,
Д. Крстич**

Собаки принадлежат к группе раньше всего одомашненных животных. Они с человеком живут в сожительстве и делят жизненное окружение много интимнее хотя которого то ни было другого животного вида. Близкий контакт бродячих собак и любимцев с одной и загрязнённых городских поверхностей, загрязнённых помётом этих животных с другой стороны закрывают цепь инфекции паразитами, которыми в конечном ряде угрожено и людское здоровье. Собаки носители инастоящие хозяины большого числа зоонотических видов паразитов – *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Echinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Toxocara canis*, *Ancylostomidae* spp. и др. чьи яйца или другие формы развития элиминируют помётом во внешнюю среду. Рост случаев токсокароза людей (синдром висцеральной личинки мигранс), анкилостомоза (кутаная личинка миграно), хидатидоза, токсоплазмоза или криптоспоридиоза наиболее хороший показатель этих реляций. С целью решения этой проблемы необходимо систематическое исследование их паразитофауны при максимальном сотрудничестве владельца животного, обязательное здравоохранительное просвещение населения на поле заболеваний, переносимые с животных на людей и во всяком случае проведение дегельминтизации собак.

Ключевые слова: собаки, зоонотические паразиты, жизненная среда

**MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA VIRUSA AVIJARNE
INFLUENCE*****MOLECULAR DIAGNOSTICS OF AVIAN INFLUENZA VIRUS****T. Petrović, S. Lazić, M. Kapetanov, Maja Velhner****

Uspešnost nadzora infektivne bolesti zavisi od sposobnosti brze detekcije i karakterizacije uzročnika i formiranja odgovarajućeg sistema za ispitivanje uspešnosti kontrole, kojim treba da se spreči ponovno izbijanje bolesti. S obzirom da influenza virusi nastavljaju da kruže uzrokujući značajan morbiditet i mortalitet kako u humanoj populaciji tako i kod životinja širom sveta, esencijalna je pravovremena identifikacija i praćenje cirkulišućih sojeva. Brza detekcija i karakterizacija novih visoko virulentnih varijeteta je jedan od prioriteta WHO mreže nadzora.

Primena molekularnih metoda ima sve značajniju ulogu u dijagnostici i praćenju influenza virusa. Od većeg broja molekularnih metoda, naročito je u upotrebi reverzna transkripcija-lančana reakcija polimeraze (RT-PCR). Tehnološki napredak na području izvođenja molekularnih metoda je omogućio da u toku jednog dana RT-PCR metodom mogu da se dokažu i veoma male količine infektivnog agensa u uzorku. U dobijenom PCR produktu relativno lako može da se utvrdi nukleotidni raspored i obavi detaljna analiza i molekularna epidemiologija cirkulišućih sojeva.

Postupak molekularne dijagnostike (RT-PCR) se zasniva na pravilnom odabiru ili dizajniranju prajmera u zavisnosti od željenog saznanja. Za tip specifičnu dijagnozu influence A, B ili C se koriste prajmeri koji umnožavaju unutrašnje gene kao što su nukleoproteinski (NP) ili matriks gen (M), jer su ovo geni visoko konzervisani među tipovima virusa. Ukoliko je, nakon dobijanja pozitivne reakcije, potrebno da se odredi podtip influence A, obavlja se odabir prajmera za gene površinskih antigena kao što je hemaglutinin. Posle tačne detekcije H podtipa moguće je da se direktnim sekvencioniranjem PCR produkta utvrdi virulencija virusa.

* Rad primljen za štampu 10. 11. 2006. godine

** Dr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, dr Sava Lazić, naučni savetnik, dr Miloš Kapetanov, naučni saradnik, dr Maja Velhner, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Mogućnost tipizacije molekularnim metodama se zasniva na velikoj razlici na amino-kiselinskom i nukleotidnom nivou između različitih HA podtipova (od 20 do 74%), dok su razlike između sojeva istog HA podtipa relativno male (0-9%). Osnovna prednost detekcije i tipizacije virusa influence RT-PCR metodom je u uštedi vremena. Naime, ona može da se uradi direktno iz uzoraka sa terena, a rezultat može da se dobije u okviru istog dana za razliku od konvencionalnih metoda koje traju 7 do 10 dana. Dobijen PCR produkt se može odmah i da sekvencira, čime može da se dobije odgovor na mogući virulentni potencijal izolata i njegovo dalje širenje. Utvrđivanje promena u sekvenci HA gena može da da informacije o pravcu razvoja genetskog drifta. U radu su opisane mogućnosti primena molekularnih metoda u dijagnostici i tipizaciji, odnosno molekularnoj epizootiologiji avijarne influence.

Ključne reči: avijarna influenza, RT-PCR, molekularna epizootiologija

Uvod / Introduction

Infekcije izazvane influenza A virusima ustanovljene su kod ljudi, većeg broja domaćih i divljih životinja i ptica. Sve do 1931. godine (kod svinja) i 1933. godine (kod ljudi), nije se znalo da influencu izazivaju virusi. Virus ne samo da je uzrokovao razornu pandemiju kod ljudi 1918. godine koja se završila sa 20 do 40 miliona žrtava, već kontinualno izaziva značajnu stopu smrtnosti kod ljudi i visok morbiditet i mortalitet kod životinja. Sve do 1955. godine, influenza virusima životinja i ptica nije se pridavao veliki značaj. Tek kada je te godine ustanovljeno da klasičnu kugu živine izaziva virus influence A sličan virusu izolovanom 1933. godine kod ljudi, počelo je da raste interesovanje za ovaj, kao i druge viruse životinja i ptica.

Zahvaljujući razvoju virusologije, molekularne biologije i genetike, izučavanjem izolata virusa došlo se do saznanja koja su ukazala na činjenicu da u prirodi postoji značajan rezervoar influenza A virusa sa širokim spektrom antigen-skih i bioloških karakteristika. Zbog toga su neki virusolozi smatrali da ovi virusi mogu da predstavljaju stalnu pretnju blagostanju ljudi, kao potencijalni izvor „novih” pandemičnih virusa. Stečena saznanja o virusima influence koja potiču od životinja mogu da doprinesu da se razjasne mnogobrojne nepoznanice u ekologiji i epidemiologiji influence A ljudi, kao oboljenja najrazornije moći u istoriji ljudskog roda.

Virus influence A kod ptica / Influenza A virus in birds

Kod životinja i ptica su utvrđene samo influenza A virusne infekcije. Prvi opis oboljenja potiče iz 1878. godine kada je zbog izuzetno visokog mortaliteta među pticama bolest nazvana kuga ptica („fowl plague”). Početkom 20. veka

je utvrđeno da je uzročnik ovakvog oboljenja ptica filtrabilni agens, a tek je 1955. godine izolovan virus. Za razliku od životinja i ljudi, kod ptica mogu da se nađu svih 16H i 9N podtipova influence A, uključujući veliki broj rekombinacija koje iz njih proizilaze [1]. Prema sposobnosti da uzrokuju oboljenje i njegovu težinu, influenza virusi ptica su podeljeni na visoko patogene sojeve virusa avijarne influence (HPAI) i nisko patogene sojeve virusa avijarne influence (LPAI). Kod HPAI virusa mortalitet može da bude i do sto posto. Do sada su utvrđeni samo H5 i H7 podtipovi kao HPAI virusi (samo u jednom sličaju H9). Ostali podtipovi kod ptica su niskopatogeni uzrokujući blago respiratorno oboljenje. Takođe je utvrđeno da nisu svi H5 i H7 virusi avijarne influence (AI) visokopatogeni, već da postoje i nisko patogeni AI virusi ovih podtipova, ali se oni zbog moguće mutacije, kada mogu lako da postanu visokopatogeni i označavaju kao (LPNAI). Prva velika epizootija kod ptica, uzrokovana H5 HPAI virusom je bila 1959. godine. Od tada je u toku prošlog veka zabeleženo 17 epizootija HPAI (5 kod ćuraka i 12 kod živine), od čega je 9 uzrokovano H7, a 8 je uzrokovano H5 podtipovima AI [1].

Prvi izolat AI kod divljih ptica je bio HPAI H5N3 izolovan 1961. godine u Južnoj Africi, ali do sredine sedamdesetih godina nisu sprovedena sistematska ispitivanja populacije divljih ptica. Do sada je virus influence utvrđen kod 90 vrsta iz 12 od 50 rodova ptica [2]. Danas se pouzdano zna da su divlje ptice, naročito plovke (rod *Anseriformes*) prirodni domaćini i rezervoari svih influenza A virusa, a samim tim i najveći epizootiološki i epidemiološki problem [1, 3]. U organizmu divljih ptica virusi influence A su najčešće slabo patogeni („equilibrium”), ali se dobro umnožavaju dovodeći do velike fekalne distribucije [3].

Genom virusa / *Viral genome*

Za razumevanje molekularne dijagnostike i epizootiologije influenza virusa, neophodno je dobro poznavanje genoma i građe virusa. Influenca virusi se svrstavaju u familiju *Orthomyxoviridae* koja se sastoji od 4 roda, Influenza A, B i C i roda *Thogotovirus*. Genom virusa je segmentiran i sastoji se iz 8 segmenata jednolančane negativno orijentisane RNA kod influenza A i B i 7 segmenata kod druga dva roda. Svaki od prvih 6 segmenta genoma kodira sintezu jednog proteina, dok segment 7 i 8 kodiraju sintezu dva proteina. Segmenti genoma su označeni brojevima koji ukazuju na redosled njihove pokretljivost na akrilamid gelu [4]. Segment broj 4 sadrži gen za hemaglutinin (HA), a segment 6 kodira gen za neuraminidazu (NA). Drugi segmenti, odnosno geni, važni su za druge delove strukture viriona (kapsid) ili funkcije (replikaciju). Ceo genom virusa ima 13588 nukleotida. Svaki segment genoma je inkapsuliran nukleokapsidnim proteinom (NP) i povezan sa virusnom polimerazom koja se sastoji iz tri dela, PB1, PB2 i PA formirajući tako ribonukleokapsid koji zajedno sa nestrukturim NS2 proteinom formira matriks protein (M1). Transkripcija se odvija u jedru i zahteva odvajanje, odnosno prepoznavanje nastavka („cap-stealing”) koji predstavlja deo nukleinske kiseline koja potiče od domaćina koji je vezan za mRNA. Prema tome, virusna

mRNA na 5' kraju poseduje „cap strukturu” (12-13 nukleotida) koja potiče od domaćina, a poliadenilovana je na 3' kraju. Prelazak sa transkripcije na replikaciju zahteva dekapidaciju pozitivno orijentisanih intermedijarnih RNA (cRNA) od NP proteina. Ovako dobijena RNA služi kao uzorak za sintezu progene virusne RNA (vRNA) [4].

Molekularna dijagnostika / *Molecular diagnostic*

Uspešnost nadzora infektivne bolesti zavisi od sposobnosti brze detekcije i karakterizacije uzročnika i formiranja odgovarajućeg sistema za ispitivanje uspešnosti kontrole, kojim treba da se spreči ponovno izbijanje bolesti. Visoka osetljivost i specifičnost detekcije nukleinskih kiselina je našla svoje mesto i u dijagnostici virusa influence. Tehnološki napredak na području izvođenja molekularnih metoda je omogućio da se u toku jednog dana PCR metodom mogu da dokažu i veoma male količine infektivnog agensa u uzorku. U dobijenom PCR produktu relativno lako može da se utvrdi nukleotidni raspored, a samim tim i genetska i populacijska struktura infektivnog agensa i razlike među pojedinim izolatima koje se javljaju pri njegovom prenošenju. Regija genoma koja se umnožava metodom PCR-a mora da bude odabrana tako da može da da odgovor na pitanja koja se tiču taksonomije, dijagnostike, populacijske genetike i evolucione srodnosti agensa.

Primena molekularnih metoda ima značajnu ulogu u dijagnostici i praćenju influenza virusa. S obzirom da influenza virusi nastavljaju da kruže uzrokujući značajan morbiditet i mortalitet kako u humanoj populaciji, tako i kod životinja širom sveta, esencijalna je pravovremena identifikacija i praćenje sojeva koji cirkulišu u prirodi. Brza detekcija i karakterizacija novih visoko virulentnih varijeteta je jedan od prioritarnih zadataka WHO globalne mreže nadzora. Visoka osetljivost i specifičnost molekularnih metoda kao što je RT-PCR omogućava detaljnu analizu i molekularnu epidemiologiju cirkulišućih sojeva. Tako nam, primera radi, utvrđivanje promena u sekvenci HA gena može da da informacije o pravcu razvoja genetskog drifta [5].

Od većeg broja molekularnih metoda, naročito je u upotrebi reverzna transkripcija – polimeraza lančana reakcija (Reverse Transcription – Polimerase Chain Reaction - RT-PCR) [6]. Lančanu reakciju polimeraze (PCR) je 1983. godine otkrio Kary Mullis, a već 1985. godine je objavljena prva primena u dijagnostičke svrhe u ispitivanju anemije sa pojavom srpastih ćelija kod ljudi [7]. Sa otkrićem termostabilne DNA polimeraze [8], metoda je dobijala sve veći značaj u dijagnostici virusa influence. U početku, RT-PCR se prvo koristio kao uspešna molekularna metoda u istraživačke, a u skorašnjem periodu i u dijagnostičke svrhe.

Lančana reakcija polimeraze je *in vitro* metoda prajmerom dirigovanog umnožavanja kratke specifične DNA sekvence [7]. Ovom metodom se deo nukleinske kiseline patogena u uzorku može specifično umnožiti do 10^6 kopija. Kada je startni materijal RNA patogena, neophodan prethodni korak predstavlja

reverznu transkripciju u svrhu dobijanja jednolančane (cDNA) koja ulazi u PCR reakciju [9].

PCR tehnika je bazirana na enzimatskom umnožavanju dela virusnog genoma upotrebom termostabilne DNA polimeraze korišćenjem specifičnih oligonukleotidnih prajmera [8]. Reakcija se sastoji od većeg broja ponovljenih ciklusa promena temperature u kojima nastaje umnožavanje specifičnog fragmenta DNA. Svaki ciklus je sastavljen od tri dela: razdvajanje lanaca DNA (denaturation) koji se odvija na oko 95°C, vezivanje začetnih oligonukleotida – prajmera (primer annealing) na tačno određeno, komplementarno mesto na lancu DNA, koje se odvija pri temperaturi od 45 do 72°C i sinteza (primer extension) ili izduživanje vezanih prajmera u pravcu formiranja novog komplementarnog dela DNA lanca, koji se odvija većinom pri temperaturi od 72°C. Celokupna reakcija se odvija u „thermocyclery” koji omogućava programiranje temperaturnog režima i vremena ciklusa i njegovih delova. Reakcija se, najčešće, sastoji od 25 do 40 ciklusa. Ponovljenim ciklusima denaturacije, vezivanja i sinteze moguće je umnožiti specifičan deo DNA tačno određene veličine, čiji se veliki broj kopija akumulira u mikrogramskim količinama koje lako mogu da se vide u gelu posle bojenja etidijum bromidom.

Postupak molekularne dijagnostike (RT-PCR) zasniva se na pravilnom odabiru ili dizajniranju oligonukleotidnih prajmera što zavisi od željenog saznanja. Za tip specifičnu dijagnozu influence A, B ili C koriste se prajmeri koji umnožavaju unutrašnje gene kao što su nukleoproteinski (NP) ili matriks gen (M), jer su ovo geni visoko konzervisani među tipovima virusa. Na ovaj način tačno može da se razvrsta da li je u materijalu koji se ispituje prisutan virus influence i kojem tipu pripada. Ukoliko nas, nakon dobijanja pozitivne reakcije, interesuje podtip influence A, odabiraju se prajmeri specifični za gene površinskih antigena kao što je hemaglutinin. Posle tačne detekcije H podtipa moguće je da se direktnim sekvencioniranjem PCR produkta utvrdi virulencija virusa [5, 6, 10]. Novi kvantitativni RT-PCR sistemi omogućuju tačnu determinaciju uz određivanje tačne količine virusa u ispitivanom uzorku [5].

Tokom razvoja molekularnih tehnika, RT-PCR je prvi put upotrebljen u tipizaciji za diferencijaciju H1 od H3 sojeva [11] i N1 od N2 sojeva [12]. Mogućnost tipizacije molekularnim metodama se zasniva na velikoj razlici na amino-kiselinskom i nukleotidnom nivou između različitih HA podtipova (od 20 do 74%), dok su razlike između sojeva istog HA podtipa relativno male (0-9%) [13, 14]. Osnovna prednost detekcije i tipizacije virusa influence RT-PCR metodom je u uštedi vremena. Naime, ona može da se izvede direktno iz uzoraka sa terena, bez umnožavanja infektivnog uzročnika, a rezultat može da se dobije u okviru istog dana za razliku od konvencionalnih metoda koje traju 7 do 10 dana. Dobijen PCR produkt može odmah i da se sekvencionira, čime može da se dobije odgovor na mogući virulentni potencijal izolata i njegovo dalje širenje [6].

Poređenje procenta pozitivnih uzoraka na influencu A i B putem izolacije virusa, serološkim ispitivanjima i RT-PCR testom je ukazalo na odličnu korela-

ciju između RT-PCR i klasičnih dijagnostičkih tehnika. Tom prilikom je za RT-PCR utvrđena veća osetljivost u odnosu na izolaciju virusa i serološka ispitivanja [5]. Isti autori zaključuju da RT-PCR omogućava postavljanje brze i tačne dijagnoze kod pojedinačno ispitivanih pacijenata, a istovremeno, predstavlja i najosetljiviju metodu u detekciji influence u zajednici. U Portugaliji je obavljeno poređenje multipleks RT-PCR u detekciji influenza virusa sa klasičnom metodom izolacije, ag *ELISA* testom i ispitivanjima prisustva specifičnih antitela. Ispitivanja su obavljena na uzorcima prikupljenim tokom 7 godina (1992-1999). Najveći broj pozitivnih nalaza je utvrđen RT-PCR testom, a najbolja korelacija je utvrđena između rezultata RT-PCR i parnih seroloških ispitivanja [15].

Molekularne metode (RT-PCR) omogućile su i ispitivanje arhivskih materijala iz 1918. godine i analizu virusa influence koji je uzrokovao najveću do sada poznatu pandemiju [5]. Još jedna prednost molekularnih metoda je u tome što se u ovim metodama obavlja destrukcija organske materije radi oslobađanja RNA, čime se istovremeno obavi inaktivacija virusa i spreči potencijalna mogućnost širenja virusa iz laboratorije, koja uvek postoji prilikom manipulacije sa živim virusom.

Upotreba molekularnih tehnika direktno na uzorcima sa terena omogućuju brzu identifikaciju uzročnika i njegov odnos sa trenutno cirkulišućim virusima i vakcinalnim sojevima. Na ovaj način je omogućena analiza cirkulišućih linija virusnih gena koja omogućuje brzo praćenje evolucije influenza virusa. Kombinacija RT-PCR-a i enzimske digestije ili sekvencioniranja PCR produkta može da se koristi u brzom diferenciranju genetskih varijanata koji su antigenski slični, a istovremeno omogućuje i razlikovanje između „divljih” i vakcinalnih sojeva virusa [5]. Molekularna baza različitih antigenskih karakteristika HA i NA podtipova leži u razlici na amino-kiselinskom, odnosno nukleotidnom nivou [6]. Sekvencioniranje PCR produkta na mestu cepanja HA proteina kod H5 i H7 virusa može veoma brzo da da odgovor o virulenciji ispitivanih izolata virusa za ptice.

Molekularna epizootiologija i epidemiologija / *Molecular epizootiology and epidemiology*

Molekularne dijagnostičke tehnike su omogućile pojavu i razvoj novog epizootiološko – epidemiološkog pristupa infektivnim oboljenjima, koji se bazira na genomskim – molekularnim sličnostima i razlikama uzročnika. Molekularna epizootiologija obuhvata laboratorijske i analitičke metode kojima se lakše može da objasni pojavljivanje infekcije kod životinja na nekom području, što istovremeno, omogućuje njihovo bolje praćenje i suzbijanje. Sa epizootiološkog stanovišta neophodno je razumeti prirodu ponašanja uzročnika. Na taj način može bolje da se predvidi mogućnost njegovog prenošenja i interakcije sa domaćinom. Podaci dobijeni tipizacijom uzročnika infekcije mogu da se upotrebe za osnovna molekularno epizootiološka ispitivanja, koja mogu da odgovore na pitanja mogućih izvora infekcije i rasprostranjenosti nekog uzročnika bolesti na

većem području [16]. Molekularna epizootiologija i molekularna epidemiologija već dugo nisu samo eksperimentalne metode, već se one danas upotrebljavaju u većini ozbiljnih epidemioloških studija. Iz ovih razloga se danas epizootiološke studije infektivnih bolesti bez korišćenja molekularne epizootiologije smatraju za nepotpune. Idealna molekularno epizootiološka ispitivanja bi trebalo da daju odgovore na pitanja zašto je došlo do pojavljivanja bolesti i kakve su perspektive njenog pojavljivanja u budućnosti. Ove informacije su od neprocenljivog značaja za sve postupke preventive i kontrole neke infekcije [17].

Najranijim ispitivanjem genoma virusa influence iz 1951. godine, koja su radili Burnet i Lind, ustanovljen je fenomen rekombinacije tako što su fenotipske karakteristike dva različita roditeljska virusa preneti na novonastali virus izolovan iz miša inficiranog sa dva različita virusa. U to vreme se nije znao način do kojeg je došlo do rekombinacije, jer je tek 1976. utvrđeno da se genom influenza virusa sastoji iz 8 segmenata na gelu. Kasnije je utvrđeno da tokom razmnožavanja virusa, odnosno udvajanju njegovog genoma, nastaju spontane mutacije [4]. Nastale mutacije su posledica zamena (supstitucije), dodavanja (inzercija) ili oduzimanja (delecija) nukleotida na nekom mestu u genomu, pri čemu se genom novog virusa razlikuje od onog od kojeg je nastao. Za mutacije se smatra da se pojavljuju ravnomerno u toku vremena (na godinu ili generaciju) i prostora (na genom, na milion baznih parova, na gen, na nukleotid).

Za RNA viruse je karakteristično da se mutacije javljaju mnogo češće u odnosu na DNA viruse. U prosečnom genu RNA virusa od 1000 nukleotidnih baza pojavi se između 10^{-5} do 10^{-7} mutacija. Do češćih mutacija kod RNA virusa dolazi zbog toga što njihova polimeraza nema sposobnost vlastite kontrole tačnosti prepisa RNA („proofreading”), kao što je imaju više razvijeni organizmi. Neutralna teorija molekularne evolucije predviđa da se posledice većine mutacija, koje se događaju u nekoj sredini, mogu da svrstaju u četiri grupe: 1. selektivno neutralna; 2. malo štetna; 3. veoma štetna i 4. pozitivno selektivna (u smislu prednosti) [18]. Mutacije 3 tipa dovode do isključenja iz populacije, a mutacije 4 tipa se veoma retko događaju. Molekularna evolucija virusa uglavnom je vezana za mutacije tipa 1 i 2 [17].

Kroz vreme se ove mutacije akumuliraju toliko da se virus razvije u novi soj. Stepenn mutacije za M1 gen virusa influence je $0,3 \times 10^{-3}$, za HA gen $1,9-3 \times 10^{-3}$, što sve zajedno za ceo genom iznosi $0,5 \times 10^{-3}$ amino-kiselinske supstitucije godišnje. Ta se progresivna mutacija naziva „antigenski drift”. Zbog toga što oblik proteinskog antigena polako doživljava promene koje se razlikuju kod svake generacije virusa i originalno antitelo prestaje da ih prepoznaje. Takav „drift” je odgovoran za lokalizovane pojave influence i događa se svake dve do tri godine [4]. Usled segmentiranosti RNA genoma influenza virusa, velika je mogućnost da kod simultane infekcije jedne ćelije sa dva različita soja virusa influence A, potomstvo viriona sadrži mešavinu roditeljskih gena. Tada postoji mogućnost da nastane 2^8 (=256) različitih kombinacija koje će formirati niz RNA segmenata kod potomstva virusa [4]. Primer za takvu mutaciju je i H3N2 humani influenza virus koji je

uzročnik pandemije 1968. godine, a koji se od prethodnog uzročnika pandemije H2N2 iz 1957. godine razlikuje u dva zamenjena gena PB1 i HA, koja potiču od AI virusa. Ovakve evolucije virusa nazivamo „antigenski šift”. Najveći broj nastalih mutacija je neselektivan ili nereproduktivan, dovodeći do izumiranja i nestanka takvog mutanta, ali se u nekom broju slučajeva javlja mutacija koju podrže svi potrebni zahtevi genetske i funkcionalne prirode, dovodeći time do novih epidemija i pandemija. Takve genetičke rekombinacije mogu da stvore potpuno nove osobine virusa kao što su: prijemчивost, odnosno sposobnost inficiranja određenog domaćina, prenosivost unutar i između vrsta, virulenciju itd [19]. Prema tome, najveća opasnost za humanu populaciju je infekcija izazvana AI virusom kod osoba koje su već inficirane humanim influenza virusom. Infekcija ljudi izazvana virusom AI se događa mnogo češće nego što se to misli, ali s obzirom na limitirane efekte koje izaziva, u najvećem broju slučajeva prolazi nezapaženo [20].

Tabela 1. Amino-kiselinske sekvence na mestu cepanja HA0 kod H5 virusa influence u zavisnosti od njihove virulencije za piliće [1] /
Table 1. Amino acid sequence on HA0 cleavage site in H5 influenza virus depending on their virulence in chickens [1]

Virus / Virus	Amino-kiseline na mestu cepanja HA0 / Amino acid cleavage site HA0
H5 virusi niske patogenosti (uzorak od preko 100 izolata) / H5 virus of low pathogenicity (sample of over 100 isolates)	-PQRETR*GLF-
H5 virusi visoke patogenosti / H5 virus of high pathogenicity	
1994/5 Meksički izolat (H5N2) / 1994/5 Mexican isolate (H5N2)	-PQRKRKTR*GLF-
Chicken/Scotland/59 (H5N1)	-PQRKKR*GLF-
Tern/S.Africa/61 (H5N3)	-PQRETRRRQKR*GLF-
Chicken/Pennsylvania/1370/83 (H5N2)	-PQKKKR*GLF-
Turkey/England/50-92/91 (H5N1)	-PQRKRKTR*GLF
HK/156/97 (H5N1) humani / HK/156/97 (H5N1) human	-PQRERRRKTR*GLF-
Ck/HK/97 (H5N1)	-PQRERRRKTR*GLF-
Poultry/Italy/97 (H5N2)	-PQRRRKTR*GLF-

Bazne amino kiseline arginin (R) i lizin (K) / Basic amino acids arginine (R) and lysine (K)

Glikoprotein hemaglutinin predstavlja najznačajniji protein koji određuje virulenciju kod AI virusa. On se produkuje kao prekursor (HA0) koji zahteva postranslaciono cepanje ćelijskih proteaza koje ga time dovode u funkcionalno stanje, čineći virus infektivnim [21]. Ovaj prekursor kod influenza virusa niske virulencije za živinu ima na mestu cepanja jedan arginin i još jedan na mestu broj 4. Ovi virusi imaju limitirani broj mesta cepanja ćelijskih proteaza kao što su tripsinu slični enzimi što uzrokuje njihovo ograničeno umnožavanje u respiratornom i digestivnom traktu. HPAI virusi poseduju višestruke bazne amino-kiseline (arginin i

lizin) na mestu cepanja HA0 bilo da su nastali inzercijom ili supstitucijom [22] i može da ih cepa veći broj ubikvitarnih proteaza od kojih je furin na prvom mestu (tabela 1). Ovim virusima je na taj način omogućeno da se veoma brzo replikuju oštećujući tom prilikom veliki broj vitalnih organa i tkiva što dovodi do uginuća životinje [1].

Poreklo HPAI nije u potpunosti razjašnjeno, ali ima sigurnih dokaza da nastaju mutacijama iz nisko virulentnih sojeva. Takav prvi potvrđen slučaj je bio 1976. godine u Australiji kada je utvrđena insercija od 9 nukleotida u genomu na mestu cepanja HA. Takav primer je i H5N2 virus AI u Meksiku 1996. godine za koji je pouzdano, sekvencioniranjem i analizom genoma, utvrđeno da je nastao od nisko patogenog soja izolovanog mesec dana ranije insercijom arginin-lizin na mestu cepanja H glikoproteina [23]. Rohm i saradnici [24] su sekvencioniranjem i analizom genoma visoko patogenih 15 H5 i 27 H7 influenza A virusa, izolovanih sa evroazijskog, afričkog, australijskog i severno-američkog kontinenta u periodu od 91. godine, utvrdili da ne pripadaju istoj liniji sojeva, ali da imaju iste pretke sa nepatogenim H5 i H7 sojevima. Isti autori su utvrdili i da je poreklo H7 virusa kod sisara isto kao i kod ptica.

Stepen evolucije influenza virusa u prirodnim domaćinima i rezervoarima, odnosno u divljim pticama je spor, dok je u slučaju infekcije sisara mnogo brži. On je, pre svega, izazvan selektivnim pritiskom na virus kao rezultat adaptacije na novog domaćina. Ranije se pogrešno smatralo da je stepen evolucije kod infekcije živine i ćuraka isti kao i kod divljih ptica, međutim, pouzdano je utvrđeno da se virus influence prilikom infekcije živine i ćuraka ponaša kao i prilikom infekcije sisara. U prirodnim domaćinima se virus AI najčešće ponaša avirulentno ili slabo virulentno, međutim u novoj vrsti domaćina virus može da se često dobro umnožava i uzrokuje oboljenje, ali se najčešće veoma teško ili nikako ne prenosi sa jedne na drugu jedinku [3]. Takav je i slučaj kod H5N1 infekcije u Hong Kongu 1997. godine kada je obolelo 18 i umrlo 6 ljudi, pri čemu postoje veoma slabi dokazi o prenošenju virusa sa čoveka na čoveka [25]. Danas postoje dokumentovani podaci da su virusi influence svinja, konja i ljudi adaptirani virusi AI [26].

Zaključak / Conclusion

Metode molekularne biologije su znatno olakšale istraživanja iz oblasti virusologije i epizootologije AI. Na lak i jednostavan način RT-PCR reakcijom može da se utvrdi prisustvo i obavi subtipizacija izolata virusa AI. Naknadnim sekvencioniranjem PCR produkata, moguće je tačno i veoma brzo da se utvrdi virulentni potencijal tih izolata. Pri tome, za razliku od konvencionalnih metoda izolacije virusa i utvrđivanja patogenog indeksa na pilićima, za metode molekularne biologije nisu neophodni visoki uslovi biosigurnosti, a dobijeni odgovori i predviđanja su mnogo preciznija. Na ovaj način može da se prati kretanje virusa u prirodi i obavlja utvrđivanje rezervoara infekcije. Sve prethodno rečeno ukazuje

na prednosti i potrebu uvođenja molekularnih metoda u rutinsku dijagnostiku, a istovremeno potvrđuje njihovu nezamenljivost u istraživačkom radu.

NAPOMENA:

Rad realizovan po projektu „Izučavanje tipizacije avijarnih i drugih virusa influence molekularnim dijagnostičkim tehnikama” koji je finansirao Pokrajinski sekretarijat za nauku.

Literatura / References

1. Alexander D. J.: A review of avian influenza in different bird species; *Veterinary Microbiology* 74, 3-13, 2000. - 2. Stallknecht D. E.: Ecology and epidemiology of avian influenza viruses in wild bird populations. In: *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*, Athens, Georgia. US Animal Health Association, 61-69, 1982. - 3. Suarez D. L.: Evolution of avian influenza viruses; *Veterinary Microbiology* 74, 15-27, 2000. - 4. Brown E. G.: Influenza virus genetics; *Biomed & Pharmacother* 54, 196-209, 2000. - 5. Zambon M. C. and Ellis J. S.: Molecular methods for diagnosis of influenza; *International Congress Series* 1219, 267-273, 2001. - 6. Lee M. S., Chang P. C., Shien J. H., Cheng M. C., Shieh H. K.: Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR; *Journal of Virological Methods* 97, 13-22, 2001. - 7. Saiki R. K., Scharf S., Faloona F.: Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for the diagnosis of sickle-cell anemia. *Science* 230, 1350-1354, 1985. - 8. Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A.: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 239, 487-491, 1988. - 9. Boye M., Kamstrup S., Dalgaard K.: Specific sequence amplification of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) and hog cholera virus and sequencing of BVDV nucleic acid. *Veterinary Microbiology* 29, 1-13, 1991. - 10. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th edition, Part 2, Section 2.1., Chapter 2.7.12. Avian influenza, 2004. - 11. Wright K. E., Wilson G. A., Novosad D., Dimock C., Tan D., Weber J. M.: Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by RT-PCR; *J. Clin. Microbiol.* 33, 1180-1184, 1995. - 12. Stockton J., Ellis J. S., Saville M., Clewley J. P., Zambon M. C.: Multiplex RT-PCR for typing and subtyping influenza and respiratory syncytial viruses; *J. Clin. Microbiol.* 36, 2990-2995, 1998. - 13. Wiley D. C., Wilson I. A., Skehel J. J.: Structural identification of the antibody-binding sites of Hong Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation; *Nature* 289, 373-378, 1981. - 14. Air G. M.: Sequence relationships among the haemagglutinin genes of 12 subtypes of influenza A virus; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 7639-7643, 1981. - 15. Andrade H. R., Zambon M. C.: Different diagnostic methods for detection of influenza epidemics; *Epidemiology and Infection* 124, 3, 515-522, 2000. - 16. Wilson M. E.: Emerging infectious and disease emergence, *Emerg. Infect. Dis.* 5, 308-309, 1999. - 17. Toplak I.: Molekularna epidemiologija bovine virusne diareje (BVD) u slovenskih plemenskih rejah govedi; Doktorska disertacija, Veterinarska fakulteta Univerza u Ljubljani, 2004. - 18. Kimura M.: The neutral theory of molecular evolution, Cambridge, Cambridge University Press, 1983. - 19. Đurišić S., Milanov Du-bravka, Petrović T.: Influenza-A infekcije životinja i ptica i njihov značaj za epidemiologiju influenza ljudi; *Veterinarski glasnik*, ISSN 0350-2457, 59, 3-4, 405-418, 2004. - 20. Capua I., Alexander D.J.: Avian influenza and human health; *Acta Tropica* 83, 1-6, 2002. - 21. Rott R.: The pathogenic determinant of influenza virus; *Veterinary Microbiology* 33, 303-310, 1992. - 22. Wood G. W., McCauley J. W., Bashiruddin J. B., Alexander D. J.: Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H5 and H7 subtypes; *Arch. Virol.* 130, 209-217, 1993. - 23. Perdue M. L., Garcia M., Senne D., Fraire M.: Virulence-associated sequence duplication at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza viruses; *Virus research* 49, 173-186, 1997. - 24. Rohm C., Horimoto T., Kawaoka Y., Suss J., Webster R. G.: Do haemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza viruses constitute unique phylogenetic lineages?; *Virology* 209, 664-670, 1995. - 25. Mounts

A. W., Kwong H., Izurieta H. S., Ho Z. Z., Au T. K., Lee M., Buxton-Bridges C., Williams S. W., Mak K. H., Katz J. M., Thompson W. W., Cox N. J., Fukuda K.: Case-control study of risk factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong; J. Infect. dis. 180, 505-508, 1999. - 26. Perdue M. L., Suarez D. L.: Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence; Veterinary Microbiology 74, 77-86, 2000.

ENGLISH

MOLECULAR DIAGNOSTICS OF AVIAN INFLUENZA VIRUS

T. Petrovic, S. Lazic, M. Kapetanov, Maja Velhner

The success of supervizing an infectious disease depends on the ability for speedy detection and characterization of the cause and the forming of a corresponding system for examining the success of control implemented in order to prevent a recurrence of the disease. Since influenza viruses continue to circle, causing significant morbidity and mortality both among the human population and among animals all over the world, it is essential to secure the timely identification and monitoring of the strains that are in circulation. The speedy detection and characterization of new highly-virulent varieties is one of the priorities of the World Health Organization monitoring network.

The implementation of molecular methods has an increasingly significant role in diagnostics and the monitoring of the influenza virus. Among a large number of molecular methods, the one particularly in use is the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Technological progress in the area of the conducting of molecular methods has enabled that we can prove, in one day, using the RT-PCR method even very small quantities of the infective agent in a sample. In an obtained PCR product, we can relatively easily establish the nucleotide sequence, a detailed analysis and molecular epidemiology of the circulating strains.

The molecular diagnostics procedure (RT-PCR) is based on the correct choice or designing of primers depending on the desired knowledge. In order to obtain a specific diagnosis of influenza A, B or C, primers are used which multiply internal genes, such as the nucleoprotein (NP) or matrix gene (M), because these are genes that are highly conserved among the virus types. In the event that we are interested in the subtype of influenza A, after obtaining a positive reaction, primers for genes of surface antigens are selected, such as hemagglutinin. Following the correct detection of the H subtype, it is possible to establish the virus virulence through the direct sequencing of the PCR product.

The possibility of typization using molecular methods is based on the big difference at the amino acid and nucleotide levels between different HA subtypes (from 20-74%), while the differences between strains of the same HA subtype are relatively small (0-9%). The basic advantage in the detection and typization of influenza viruses using the RT-PCR method is that it saves time. Namely, it can be performed directly from the samples taken in the field, and the result can be obtained within the same day, contrary to conventional methods that take 7 to 10 days. The obtained PCR product can also be sequenced immediately, which can provide an answer to the possible virulent potential of the isolate and its further spreading. The establishment of changes in the HA gene sequence can provide us with the information about the direction of the development of the genetic drift. The paper will describe in detail the possibilities for the implementation of molecular methods in diagnostics and typization, in fact, in the molecular epizootiology of avian influenza.

Key words: Avian influenza, RT-PCR, molecular epizootiology.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСА АВИАРНОЙ ИНФЛЮЭНЦЫ

Т. Петрович, С. Лазич, М. Капетанов, Мая Велхнер

Успешность надзора инфекционной болезни зависит от способности быстрой детекции и характеристики возбудителя и формированию соответствующей системы для испытания успешности контроля, которой нам нужно предупредить повторное появление болезни. С учётом, что инфлюэнца вирусы продолжают кружить причиняя значительную рождаемость и смертность как в гуманной популяции так и у животных по всему миру, эсенциальная своевременная идентификация и слежка циркулирующих штаммов. Быстрая детекция и характеристика новых высоко вирулентных вариететов один из приоритетов WHO сети надзора.

Применение молекулярных методов имеет всё более значительную роль в диагностике и слежке инфлюэнца вируса. Из большего числа молекулярных методов, особенно в употреблении реверсная транскрипция - полимеразы цепная реакция (РТ-ПЦР). Технологический прогресс на районе выведения молекулярных методов дал возможность, что в течение одного дня РТ-ПЦР методом мы можем доказать и очень маленькие количества инфекционного агента в образчике. В полученном ПЦР продукте релятивно легко мы можем утвердить нуклеотидный распорядок, детальный анализ и молекулярную эпидемиологию циркулирующих штаммов.

Поступок молекулярной диагностики (РТ-ПЦР) основывается на правильном отборе или дизайнировании праймеров в зависимости от желанного познания. Для типа специфический диагноз инфлюэнцы А, В или С пользуются праймеры, умножающие внутренние гены как нуклеопротеиный (НП) или матрикс ген (М), ибо это гены высоко консервированы между типами вирусов. Поскольку нас, после получения положительной реакции, интересует подтип инфлюэнцы А, совершается отбор праймеров для генов поверхностных антигенов как гамагглютинин. После точной детекции Н подтипа возможно прямым секвенционированием ПЦР продукта утвердить вируленцию вируса.

Возможность типизации молекулярными методами основывается на большой разнице на аминокислотном и нуклеотидном уровне среди различных НА подтипов (от 20-74%), пока разницы среди штаммов того же НА подтипа релятивно маленькие (0-9%). Основное преимущество детекции и типизации вируса инфлюэнцы РТ-ПЦР методом в экономии времени. А именно она может совершиться прямо из образчиков с места, а результат можно получить в рамках того же дня в отличие от конвенциональных методов, продолжающие 7 до 10 дней. Полученный ПЦР продукт можно сразу и секвенционировать, чем можно получить ответ на возможный вирулентный потенциал изолята и его далее расширение. Утверждение изменений в секвенце НА гена нам может дать информации о направлении генетического дрефта. В работе детально будут описаны возможности применений молекулярных методов в диагностике и типизации, относительно молекулярной эпизоотологии авиарной инфлюэнцы.

Ключевые слова: авиарная инфлюэнца, РТ- ПЦР, молекулярная эпизоотология

DEMODIKOZA PASA NA TERITORIJI GRADA NIŠA*
CANINE DEMODICOSIS IN TERRITORY OF CITY OF NIŠ

**D. Stojiljković, Nevenka Aleksić, Z. Kulišić, Zorica Nikolovski-Stefanović,
Zorana Mišić****

U ovom radu opisani su slučajevi demodikoze kod pasa sa teritorije grada Niša. Cilj ispitivanja je bio da se nešto više sazna o parametrima koji mogu da utiču na prijemчивost određenih pasa prema uzročniku demodikoze kao što su: životno doba, dužina dlake, pol i sezonska dinamika pojavljivanja bolesti.

*Pregledom 76 pasa suspektnih na demodikozu, ustanovljeno je da su svi bili infestirani vrstom *Demodex canis*. Promene su bile lokalizovane ili generalizovane.*

U ukupnom broju infestiranih pasa veći je bio udeo mužjaka (61,84%) nego ženki (38,16%).

Broj pasa obolelih od demodikoze bio je dva puta veći kod kratkodlakih u odnosu na dugodlake pse. Najčešće infestirani su bili psi rase doberman i nemački ovčar. Broj muških i ženskih jedinki kod kratkodlakih pasa obolelih od demodikoze bio je ujednačen, dok je kod dugodlakih bio veći broj mužjaka.

Najveći broj infestiranih je bio iz kategorije mladih pasa, uzrasta od godinu dana i njihov udeo u ukupnom broju obolelih bio je 65,79 posto, što nesumnjivo ukazuje da su demodikozi podložniji mlađi psi.

U periodu jesen-zima bio je veći broj infestiranih pasa nego u periodu proleće-leto.

Ključne reči: *Demodex canis, životno doba, dužina dlake, pol, sezonska dinamika*

* Rad primljen za štampu 10. 11. 2006. godine

** Dragoslav Stojiljković, vet. spec., Privatna veterinarska ambulanta, Niš; dr Nevenka Aleksić, redovni profesor, dr Zoran Kulišić, redovni profesor, dr Zorica Nikolovski-Stefanović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Demodikoza pasa je veoma značajna, široko rasprostranjena ektoparazitoza izazvana vrstama *Demodex canis* i *Demodex injai* [2, 3, 7, 12, 14, 15]. Postoje i opisi nove vrste kojoj još nije dato ime [22]. Paraziti borave i razmnožavaju se u dlačnom folikulu i lojnim žlezdama. Hrane se tkivnim sokovima, a najviše sadržajem lojnih žlezda. Svojim usnim aparatom, koji je podešen za drobljenje, oni oštećuju dublje strukture kože, a naročito koren dlake.

Demodeks se smatra normalnim stanovnikom kože dok ne počne da izaziva izraženi patološki efekat [10]. Smatra se da se psi infestiraju isključivo u najmlađem uzrastu, a da obole kasnije, ili nikad, što zavisi od imunog statusa, nasledne predispozicije i izvesnih drugih činilaca. Kuje zaraze svoju štenad tokom laktacije. Demodikoza je bolest kojoj su najprijemčivije mlađe životinje, najčešće u uzrastu do godinu dana, odnosno, do 18 meseci [21]. Dokazano je da su ugroženiji kratkodlaki psi [16, 17]. Stres bitno utiče na ispoljavanje i intenzitet kliničkih promena kod demodikoze. Promene hormonskog statusa, uključujući graviditet, mogu da utiču na pojavljivanje bolesti [21].

U zavisnosti od lokalizacije promena kod pasa demodikoza je opisana kao lokalizovana, generalizovana i kao pododermatitis prouzrokovan vrstom *Demodex canis* [21, 23]. Paraziti koji se nađu izvan primarne lokacije (kože), u jetri, limfnim čvorovima i drugim, najčešće su degenerisani i/ili uginuli. Oni su pasivno preneti krvotokom ili limfotokom [17].

Inicijalna proliferacija parazita može da bude rezultat genetskog ili imunskog poremećaja [21]. Imunska osnova za ispoljavanje demodikoze kod pasa je tema koja podstiče na pokušaje da se razotkrije tačan imunopatološki mehanizam nastajanja bolesti kod pasa. Ustanovljeno je da kod pasa sa simptomima generalizovane demodikoze imunosupresija uslovljava ispoljavanje kliničkih simptoma bolesti [1, 4, 11].

Patološki proces kod demodikoze razvija se kada broj parazita prevaziđe toleranciju imunološkog sistema, jer nalaz demodeksa na koži ne znači i razvoj bolesti [21]. Imunski i genetski poremećaji mogu da uzrokuju proliferaciju parazita *Demodex canis* koji potom rezultira hroničnom imunosupresijom što daje i noviji pogled na efikasnost imunoterapije [20].

Ustanovljeno je da je kod pasa lutilica najčešća infekcija izazvana vrstom *Demodex canis*, dok šugarci *Sarcoptes scabiei* var. *canis* i *Otodectes cynotis* zauzimaju drugo, odnosno treće mesto po zastupljenosti među uzročnicima ektoparazitoza (grinja) [14, 15, 18]. Najčešći ektoparaziti su buve.

Opisani su i slučajevi hroničnog zapaljenja spoljašnjeg ušnog kanala kod psa izazvanog parazitom *Demodex canis* [5, 13].

Nova vrsta demodeksa nazvana veliki *Demodex canis*, nađena kod četiri psa i opisana je 2002. godine. Mužjaci su bili dva puta duži, a ženke 50 posto duže od poznatih primeraka demodeksa kod pasa. Svi psi kod kojih su nađeni ovi novi oblici imali su simptome generalizovane demodikoze. Kod dva psa je us-

tanovljen istovremeni jatrogeni hiperkorticizam, a kod jednog hipotireodizam [12].

Dijagnoza demodikoze se postavlja nalazom većeg broja mladih parazita i jaja u površinskom uzorku kože. Dijagnostika putem biopsije kože preporučuje se kod retkih, hroničnih, slučajeva [6, 8, 18, 19, 21].

Prognoza kod pasa lečenih od demodikoze još uvek je neizvesna [5, 8, 9].

U ovom radu smo prikazali nalaze demodikoze kod pasa sa teritorije grada Niša. Cilj ispitivanja je bio da se nešto više sazna o parametrima koji mogu da utiču na prijemčivost određenih pasa prema uzročniku demodikoze kao što su: životno doba, dužina dlake, pol i sezonska dinamika pojavljivanja bolesti.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

U periodu od januara 2001. do maja 2006. godine u ambulanti za male životinje u Nišu pregledano je oko sedam stotina pasa. Za obradu i izradu ovog rada obrađeno je 76 pasa suspektnih na infestaciju vrstom *Demodex canis*. Površinski uzorak kože je prosvetljivao 10% natrijum-hidroksidom i mikroskopiран u specijalističkoj ambulanti za male životinje u Nišu. Primenjena je standardna metoda za dijagnostikovanje demodikoze [6, 18, 21].

Pre pregleda, uzimana je kompletna anamneza – podaci o vlasniku, ime psa, pol, starost psa, rasa, dužina dlake, mesto gde živi, mogućnost kontakta sa drugim životinjama, zatim apetit, način ishrane, odnos prema suprotnom polu, bolesti od kojih je bolovao i način lečenja, zapažanje o parazitima kože, eventualan način uništavanja parazita koji je bio primenjen u ranijem periodu, kao i opis i trajanje uočenih promena na koži psa.

Od ukupno 76 pasa, 47 je bilo muškog, a 29 ženskog pola.

U grupi analiziranih pasa bilo je 20 dugodlakih i 40 kratkodlakih pasa. Među dugodlakim bilo je 13 mužjaka i 7 ženki, a među kratkodlakim 19 mužjaka i 21 ženka. Obrađeno je i 15 mešanaca muškog pola i jedan ženskog pola.

Kod rasnih pasa najzastupljeniji su bili psi rase doberman i nemački ovčar, zatim rotvajler, američki pit bul terijer, trobojni gonič, dalmatinac, nemački bokser, šnauzer, čivava i drugih.

Među psima koji su ispitivani, bilo je 50 mladih životinja u uzrastu do godinu dana, 15 pasa uzrasta od jedne do dve godine i 11 pasa starijih od dve godine.

Ispitali smo uticaj pola, dužine dlake i životnog doba na prijemčivost pasa za *Demodex canis*.

Rezultati / Results

Pregledom 76 pasa suspektih na demodikozu, ustanovljeno je da su svi bili infestirani vrstom *Demodex canis*. Promene su bile lokalizovane ili generalizovane (slika 1 i 2).



Slika 1. Doberman oboleo od demodikoze, karakterističan fenomen „naočara“ (original) /

Figure 1. Dobermann diseased with demodicosis, characteristic bald rings around eyes, so-called spectacles phenomenon (original)



Slika 2. Generalizovana demodikoza kod šteneta napuljskog mastifa (original) /

Figure 2. Generalized demodicosis in Neapolitan Mastiff puppy (original)

Od ukupnog broja infestiranih pasa, 61,84 posto bili su mužjaci, a 38,16 posto ženke.

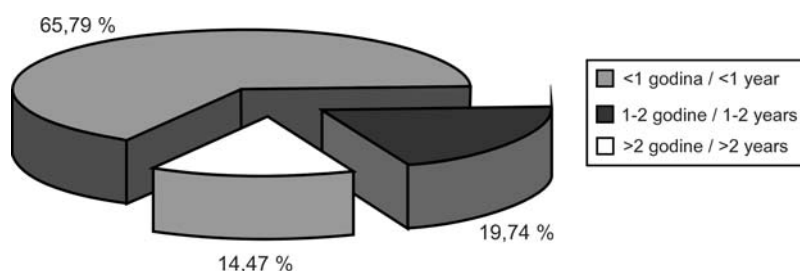
Broj muških i ženskih jedinki kod kratkodlakih pasa obolelih od demodikoze je ujednačen, kod dugodlakih je veći broj mužjaka. Kod mešanca je znatno veći broj infestiranih bio među mužjacima (tabela 1).

Grafikon 1 prikazuje starosnu strukturu infestiranih pasa, gde su ispitivane životinje svrstane u tri grupe: uzrasta do godinu dana, od jedne do dve godine i stariji od dve godine. Primetno je da je najveći broj infestiranih iz kategorije mladih pasa, uzrasta do godinu dana i njihov udeo u ukupnom broju obolelih od demodikoze je 65,79 posto. Broj obolelih u uzrastu do dve godine je 85,53 posto (50 obolelih uzrasta do godinu dana i 15 obolelih uzrasta od jedne do dve godine), a više od dve godine starosti 11 (14,47%).

Tabela 1. Zastupljenost *Demodex canis* kod pasa različitog pola u zavisnosti od dužine dlake /

Table 1. Representation of *Demodex canis* in dogs of different sexes depending on hair length

Dužina dlake / Hair length	Broj infestiranih pasa / Number of infected dogs				Ukupno / Total	
	mužjaci / males		ženke / females			
	Broj / No.	%	Broj / No.	%	No.	%
Dugodlaki psi / Long-haired dogs	13	17,11	7	9,21	20	26,32
Kratkodlaki psi / Short-haired dogs	19	25,00	21	27,63	40	52,63
Mešanci / Mixed breeds	15	19,74	1	1,32	16	21,05
Ukupno / Total	47	61,84	29	38,16	76	100,00



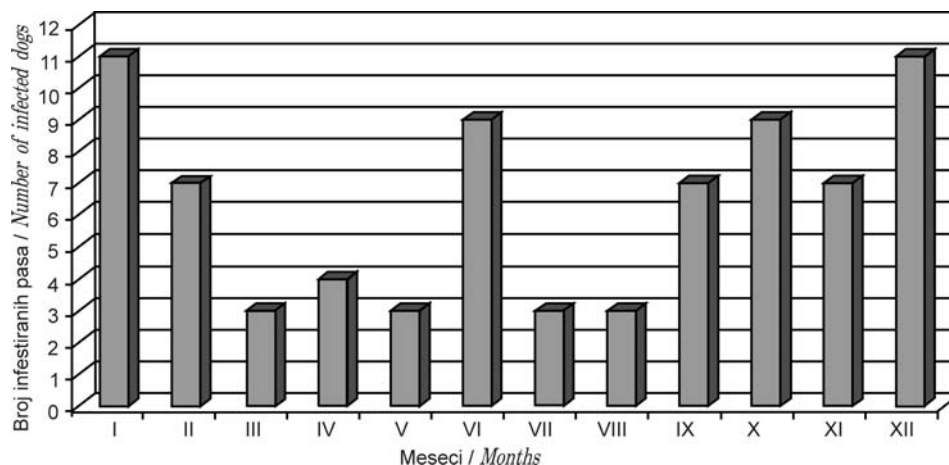
Grafikon 1. Starosna struktura pasa inficiranih sa *Demodex canis*

Graph 1. Age structure of dogs infected with *Demodex canis*

Broj pasa infestiranih sa *Demodex canis* u odnosu na rasu bio je sledeći: mešanci (16), doberman (14), nemački ovčar (13), rotvajler (5), američki pit bul terijer (4), trobojni gonič (3), šarplaninac (3), dalmatinac (3), šnauzer (3), škotski ovčar (2), engleski hrt (2), poenter (2), bokser (2), kratkodlaka čivava (2), francuski buldog (1) i epanjel breton (1).

U grafikonu 2 prikazana je zastupljenost infestiranih životinja po mesecima, odnosno sezonska dinamika pojavljivanja demodikoze kod pasa za petogodišnji period.

Primećuje se da je bio veći broj infestiranih pasa u periodu jesen-zima nego u periodu proleće-leto.



Grafikon 2. Broj pasa inficiranih sa *Demodex canis* tokom godine (po mesecima)
Graph 2. Number of dogs infected with *Demodex canis* over the year (per month)

Diskusija / Discussion

Uz imunsku osnovu i genetsku predispoziciju ka demodikozi koje još nisu u potpunosti definisane i dokazane, većina autora ukazuje na predisponiranost mlađih životinja [2, 16, 17, 21], što smo i ustanovili našim ispitivanjima, jer je procentualno daleko najveći broj jedinki bio u grupaciji mlađih životinja. Psi, uzrasta do godinu dana, činili su najveći broj infestiranih životinja, i to 65,79 posto.

Među infestiranim psima ustanovili smo 23,68 posto više muških nego ženskih životinja.

Analizom zastupljenosti dugodlakih i kratkodlakih pasa u ukupnom broju obolelih od demodikoze uočava se da je znatno veća zastupljenost kratkodlakih u odnosu na dugodlake pse. U odnosu na rasni sastav najveći broj infestiranih bili su dobermani kao predstavnici kratkodlakih pasa i nemački ovčari kao predstavnici dugodlakih pasa. Dobijeni rezultati se podudaraju sa podacima iz literature [16] koji ukazuju da ređe obolevaju dugodlaki psi u odnosu na kratkodlake, kao i da su najprijemčivije rase nemački ovčar, doberman, nemački bokser i foksterijer. Međutim, interesantna su i zapažanja Scotta i sar [21] da nema rasne predispozicije kod demodikoze pasa.

Našim istraživanjima ustanovljena je sezonska dinamika u pojavljivanju demodikoze pasa. U periodu jesen – zima broj infestiranih pasa bio je značajno veći u odnosu na proleće – leto.

Zadovoljavajući uslovi gajenja, adekvatna ishrana, držanje i nega životinja, pravilna dehelmintizacija i uništavanje ektoparazita, redovna vakcinacija,

sasvim sigurno utiču na povećanje otpornosti organizma uopšte, pa i otpornosti na demodikozu, a takođe i na brži oporavak obolelih pasa.

Zaključak / Conclusion

Naša ispitivanja su ukazala da je najveći broj infestiranih pasa u kategoriji mlađih životinja. Broj pasa obolelih od demodikoze bio je dva puta veći kod kratkodlakih u odnosu na dugodlake pse. Najčešće infestirani psi su rase doberman i nemački ovčar. Demodikoza je u značajno većem broju ustanovljena kod muških jedinki. Pokazalo se da je pojava demodikoze znatno učestalija u periodu jesen - zima nego u periodu proleće - leto.

NAPOMENA

Zahvaljujemo se Ministarstvu nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije, rad je urađen u okviru projekta 143022.

Literatura / References

1. Ackerman L.: Immune-mediated skin diseases. In: Morgan RV. Handbok of small practice. 3rd Edition, Saunders Company, Philadelphia, 941-943, 1997. - 2. Aleksić N.: Parazitske bolesti - specijalni deo, osnovni udžbenik, 2nd update, Autorovo izdanje, Beograd, 243-247, 2004. - 3. Aleksić-Bakrač N., Kulišić Z., Pavlović I.: Demodikoza – najznačajnija ektoparazitoza pasa. Zbornik radova XIV savetovanja DDD u zaštiti životne sredine, Subotica, 156-158, 2003. - 4. Barriga O. O., al-Khalidi N. W., Martin S., Wyman N.: Evidence of immunosuppression by *Demodex canis*, Vet Immunol Immunopathol, 32, 1-2, 37-46, 1992. - 5. Brockis D. C.: Otitis externi due to *Demodex canis*, Vet Rec, 135, 19, 464, 1994. - 6. Caswell J. L., Yager J. A., Barta J. R., Parker W.: Establishment of *Demodex canis* from canine skin engrafted onto scid beige mice, J Parasitol, 82, 6, 911-915, 1996. - 7. Desch C. E., Hillier A.: *Demodex injai*: a new species of hair follicle mite (Acari: Demodecidae) from the domestic dog (Canidae), J Med Entomol., 40 2, 146-149, 2003. - 8. Duclos D., Jeffers J. G., Shanley K. J.: Prognosis for treatment of adult-onset demodicosis in dogs: 34 cases (1979-1990), J Am Vet Med Assoc, 204, 4, 616-619, 1994. - 9. Folz S. D., Kratzer D. D., Conklin R. D. Jr, Nowakowski L. H., Kakuk T. J., Rector D. L.: Chemotherapeutic treatment of naturally acquired generalized demodicosis, Vet Parasitol, 13, 1, 85-93, 1983. - 10. Gothe R.: Demodicosis of dogs-a factorial disease?, Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 102, 9, 293-297, 1989. - 11. Halliwell R. E. W., Gorman N. T.: Veterinary clinical immunology, Saunders Company, Philadelphia, 247-254, 1989. - 12. Hillier A., Desch C. E.: Large-bodied *Demodex* mite infestation in four dogs, Am Vet Med Assoc. 220, 5, 623-627, 613, 2002. - 13. Knottenbelt M. K.: Chronic otitis externa due to *Demodex canis* in a Tibetan spaniel, Vet Rec, 135, 19, 464, 1994. - 14. Kulišić Z., Pavlović L., Milutinović M., Mišić Z., Aleksić-Bakrač N.: Ektoparaziti pasa i mačaka u urbanoj sredini, Simpozijum entomologa Srbije. Goč, Zbornik kratkih sadržaja radova, 53, 2001. - 15. Kulišić Z., Pavlović I., Mišić Z., Dimitrić A., Milutinović M.: Fauna ektoparazita pasa i mačaka na području Beograda i značaj njihovog suzbijanja, Zbornik celih radova Druge beogradske konferencije o suzbijanju štetnih artropoda i glodara, Beograd, 89-93, 1999. - 16. Litričin V.: Bolesti i nega pasa, Sportska knjiga, Beograd, 1990. - 17. Popović N., Lazarević M.: Bolesti kože malih životinja, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1999. - 18. Rodriguez Vivas R. I., Ortega Pacheco A., Rosado Aguilar J. A., Bolio G. M.: Factors affecting the prevalence of mange-mite infestations in stray dogs of Yucatan, Vet Parasitol, 115, 1, 61-65, 2003. - 19. Saridomichelakis

M., Koutinas A., Papadogiannakis E., Papazachariadou M., Liapi M., Trakas D.: Adult onset demodicosis in two dogs due to *Demodex canis* and a short tailed demodectic mite, J Small Anim Pract, 40, 11, 529-532, 1999. - 20. Sarker P., Mukherjee J., Ghosh A., Mondal M., Benerjee C., Chaudhuri S.: A comparative analysis of immunorestitution and recovery with conventional and immunotherapeutic protocols in canine generalized demodicosis: a newer insight of immunotherapeutic efficacy of T11TS, Immunol Invest, 33, 4, 453-468, 2004. - 21. Scott W. D., Miller H. W., Griffin E. C.: Muller & Kirk's Small Animal Dermatology, 5 th Edition, W.B. Saunders Company, 417-432, 1995. - 22. Tamura Y., Kawamura Y., Jnoue I., Ishino S.: Scanning electron microscopy description of a new species of *Demodex canis* spp., Vet. Dermatol, 12, 5, 275-278, 2001. - 23. White S. D.: Pododermatitis, Vet Dermatol, 1, 1-18, 1989.

ENGLISH

CANINE DEMODICOSIS IN TERRITORY OF CITY OF NIŠ

**D. Stojiljkovic, Nevenka Aleksic, Z. Kulisic, Zorica Nikolovski-Stefanovic,
Zorana Misic**

This paper describes cases of demodicosis in dogs from the territory of the city of Niš. The objective of the investigations was to learn more about the parameters that can influence the susceptibility of certain dogs to the cause of demodicosis, such as: age, hair length, sex, and seasonal dynamics of the incidence of the disease.

It was established following examinations of 76 dogs suspected of demodicosis that they were all infected with the specie *Demodex canis*. The changes were localized or generalized.

In the total number of infected dogs, there was a larger share of males (61.84%) than females (38.16%).

The number of dogs diseased with demodicosis was twice higher in short-haired than in long-haired animals. The most frequently infected were dogs of the doberman and German Shepherd breeds. The number of male and female animals among short-haired dogs diseased with demodicosis was equal, while there were more males among the long-haired animals.

The biggest number of infected animals was in the category of young dogs, up to one year of age, and they accounted for 65.79% of the total number of diseased animals, which shows without any doubt that younger dogs are more susceptible to demodicosis.

There were more infected dogs in the period autumn-winter than in the period spring-summer.

Key words: *Demodex canis*, age, hair length, sex, seasonal dynamics.

ДЕМИДОКОЗ СОБАК НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА НИША

Д. Стоилькович, Невенка Алексич, Зорица Николовски-Стефанович,
Зорана Мишич

В этом городе описаны случаи демодикоза у собак с территории города Ниша. Цель испытания была немного больше узнать о параметрах, которые могут влиять на восприимчивость определённых собак к возбудителю демодикоза как суть: жизненный возраст, длина шерсти, пол и сезонная динамика явления болезни.

Осмотром 76 собак подозрительных на демодикоз, установлено нами, что все были инфицированные видом *Demodex canis*. Изменения были локализованы или обобщены.

В совокупном числе инфицированных собак бóльшая была доля самцов (61,84%), чем самок (38,16%).

Число собак заболевших демодикозом было два раза бóльше у короткошерстных в отношении длиношерстных. Наиболее часто инфицированы были собаки породы доберман и немецкая овчарка. Число мужских и женских единичных животных у короткошерстных собак заболевших демодикозом было уравнено, пока у длиношерстных было бóльшее число самцов.

Наибóльшее число инфицированных было из категории молодых собак, до одного года старости, доля в совокупном числе заболевших составляла (в сумме) 65,79%, что несомненно указывает, что к демидикозу более подверженные более молодые собаки.

В периоде осень-зима было бóльшее число инфицированных собак, чем в периоде весна-лето.

Ключевые слова: *Demodex canis*, жизненный возраст, длина шерсти, пол, сезонная динамика

**DIJAGNOSTIKA PREDNJEG SEGMENTA OKA KOD PASA I
MAČAKA*****DIAGNOSTICS OF ANTERIOR EYE SEGMENT IN CATS AND DOGS****M. Hadži-Milić****

Dijagnostika prednjeg segmenta oka predstavlja najčešću dijagnostiku koja se sprovodi u oftalmologiji i u različitom obimu je primenjuje većina veterinara praktičara. Na ovom mestu je predstavljena kompletna dijagnostika u što konciznijem obliku. Prvo je predstavljen postupak sa životinjama, zatim oprema i anamneza. Predstavljene su dijagnostičke metode: pregled u osvetljenoj prostoriji u koje se ubrajaju pregled iz daljine, uzimanje brisa, STT, pregled iz blizine, zatim pregled u zamračenoj prostoriji u koje se ubrajaju pregledi u zamračenoj prostoriji kao što su fokalno osvetljenje i pregled direktnim oftalmoskopom i specijalni pregledi u zamračenoj prostoriji kao što su biomikroskopija, gonioskopija i keratoskopija. Uključene su i dodatne metode pregleda.

Ključne reči: oftalmologija, dijagnostika, oko, prednji segment, pas, mačka.

Uvod / Introduction

Dijagnostika prednjeg segmenta oka kome pripadaju: gornji očni kapak, donji očni kapak, treći očni kapak, vežnjača ili konjunktiva, lakrimalni sistem, rožnjača, prednja očna komora, iris, pupila, zadnja očna komora i sočivo, predstavlja osnovu oftalmološke dijagnostike i ujedno najčešće primenjivanu dijagnostiku u oftalmologiji domaćih životinja.

Dijagnostika je bazirana na različitim metodama i postupcima veterinarske oftalmologije. Redosled pregleda različitih delova prednjeg segmenta oka je uvek od prednjih (anteriornih) ka zadnjim (posteriornim) partijama oka. Uvek se prvo pregleda desno, pa zatim levo oko.

* Rad primljen za štampu 11. 12. 2006. godine

** Dr Milan Hadži-Milić, docent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Postupak sa životinjom / Procedure with animal

Postupak, odnosno ophođenje prema životinji za vreme pregleda trebalo bi da bude primereno vrsti, rasi i polu, a najbitnije je da se životinja što manje uznemirava, da je pod što manjim stresom, minimalno fiksirana, radi dobijanja što realnije kliničke slike. Svakako treba biti oprezan i brinuti o sigurnosti osoblja, vlasnika, kao i o ličnoj sigurnosti, iz razloga što su neka stanja i oboljenja, a pogotovu traume izuzetno bolne, pa može da se očekuje i agresivnija reakcija životinje.



Slika 1. Binokularna i monokularna lupa /
Figure 1. Binocular and monocular magnifying glasses

Oprema / Equipment

U neophodnu opremu može da se uvrstiti: izolovana soba koja može po potrebi da se zamračí, izvor fokalnog osvetljenja (obična ili specijalna lampa, direktni oftalmoskop, biomikroskop), izvor procepnog svetla (specijalna lampa, direktni oftalmoskop i biomikroskop), direktni oftalmoskop, različite vrste lupa (monokularna, binokularna i binokularna teleskopska), biomikroskop sa procepnim svetlom, tonometar, sočivo za gonioskopiju, različite vrste kanila, retraktor, blefarostat, aplikator za bris i fotoapararat.

Anamneza / Anamnesis

Anamneza mora da sadrži najbitnije informacije za postavljanje validne dijagnoze: starost, pol i rasa (nasledna oboljenja), zatim ranija oboljenja i primenjena terapija, vreme pojave određene promene na oku i njen razvoj tokom vremena, da li je zahvaćeno jedno ili oba oka. Takođe je značajno da li može da se primeti promena u ponašanju koja može da označi povećanu bolnost, promenu u vizusu ili orijentaciji životinje.

Posle pravilno uzete anamneze pristupa se izvođenju pregleda koji se obavlja prvo u osvetljenoj, a zatim u zamračenoj prostoriji.

Pregled u osvetljenoj prostoriji / *Examination in a lighted room*

Prostorija u kojoj se pregleda životinja može da bude osvetljena difuznom prirodnom svetlošću ili difuznom veštačkom svetlošću. Može da se primeni i veštačka usmerena svetlost.

Pregled iz daljine / *Examination from a distance*

Životinja se posmatra u celini, zatim se prelazi na glavu, uočavaju se držanje i pokreti životinje, prisustvo bilo kakve asimetrije facijalnog dela, a posebno položaj, veličina, oblik očnih jabučica, njihov međusobni odnos i odnos prema orbiti.



Slika 2. Everzija gornjeg, donjeg i trećeg oćnog kapka /
Figure 2. Eversion of upper, lower and third eyelid

Uzimanje brisa i drugih uzoraka / *Taking smears and other samples*

U ovoj fazi se preporučuje pre bilo kakvog manipulisanja kapcima i konjunktivom uzeti uzorak konjunktivalnog sekreta za bakteriološku i mikološku analizu. Takođe mogu da se uzmu uzorci za citološku, virusološku ili histopatološku analizu.

STT (Schirmer Tear Test) / *STT (Schirmer Tear Test)*

STT se ubraja u rutinske analize, a obavlja se uvek kada postoji sumnja da je smanjena lakrimacija, pogotovo vodenog dela PSF-a (prekornealnog suznog filma – PCTF eng).



Slika 3. STT papirići /
Figure 3. STT strips



Slika 4. Način aplikovanja i merenje količine suza /
Figure 4. Manner of application, measurement of quantity of tears

Pregled iz blizine / Examination from close up

Na ovaj način se pregleda očna jabučica i pomoćni delovi oka. Pregled se izvodi primenom fokalnog osvetljenja u kombinaciji sa difuznim osvetljenjem prostorije ili primenom usmerenog svetla većeg intenziteta.

Pregled se izvodi golim okom, bez uvećanja ili primenom različitih vrsta uvećanja (lupe različitih tipova i jačina).



Slika 5. Everzija trećeg očnog kapka /
Figure 5. Eversion of third eyelid

Radi lakšeg uočavanja, na prvom mestu stranog tela, promena na bulbarnoj, palpebralnoj ili na konjunktivi u forniksima, neophodno je primeniti everziju, odnosno izvrtnje kapaka. Ona se izvodi manuelno, bimanuelno ili instrumentalno, primenom različitih vrsta očnih blefarostata (retraktora), peana i pin-ceta.

Pregled u zamračenoj prostoriji / *Examination in a dark room*

Posle obavljenog pregleda u osvetljenoj prostoriji, pregled se nastavlja u zamračenoj prostoriji u kojoj posebno dolazi do izražaja prelaz između jako osvetljenog dela oka i potpuno neosvetljenog dela oka. Ova vrsta pregleda se sprovodi primenom fokalnog osvetljenja, čiji se snop svetlosti fokusira u jednoj tački.



Slika 6. Lampa za fokalno osvetljenje /
Figure 6. Lamp for focal lighting

Posle pregleda rožnjače pristupa se pregledu prednje očne komore, koja normalno sadrži bistru komornu tečnost (*humor aqueus*), a komunicira, preko otvora (zenice – *pupillae*), sa zadnjom očnom komorom.



Slika 7. Pregled fokalnim osvetljenjem /
Figure 7. Examination using focal lighting



Slika 8. Direktni oftalmoskop /
Figure 8. Direct ophthalmoscope

Pored specijalne lampe za fokalno osvetljenje, mogu da se koriste i obične baterijske lampe, kao i direktni oftalmoskop, kako kao izvor fokalnog osvetljenja, tako i za samostalni pregled prednjeg segmenta direktnim oftalmoskopom sa ugrađenim setom različitih uvećanja.

Specijalne metode pregleda / *Special examination methods*

Veliki je broj specijalnih metoda pregleda prednjeg segmenta oka. Ovde navodimo samo one najvažnije. Njihov broj je u novije vreme značajno uvećan razvojem tehnologije.

Biomikroskopija / Biomicroscopy

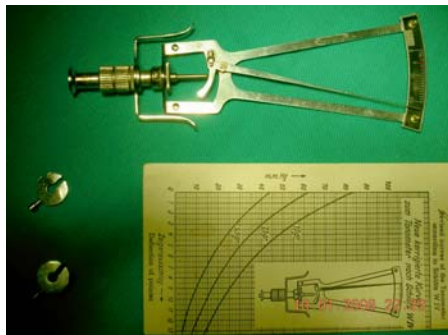
Pregled biomikroskopom omogućava najkvalitetniji pregled prednjeg segmenta oka sa uvećanjima do 40 x. Posebno je pogodna primena procepnog svetla koje može da se usmerava pod različitim uglovima. Danas je ovaj vid pregleda doživeo svoj vrhunac primenom konfokalne mikroskopije sa uvećanjima i do 800x, kada može da se prati patološki proces na ćelijskom nivou.



Slika 9. Biomikroskop sa procepnim svetlom /
Figure 9. Slit lamp biomicroscope

Tonometrija / Tonometry

Tonometrija predstavlja merenje intraokularnog pritiska (IOP), upotrebom različitih aparata, uređaja ili instrumenata. Značaj tonometrije je u dijagnostici glaukoma, odnosno povećanog IOP. Najrasprostanjenija je primena Schiøtzovog tonometra, na prvom mestu zbog cene. Svakako je najlakša i neuporedivo preciznija primena digitalnog tonopena, ali njegova upotreba je značajno ograničena izuzetno visokom cenom.



Slika 10. Schiøtzov tonometar /
Figure 10. Schiøtz tonometer

Gonioskopija / Gonioscopy

Gonioskopija predstavlja metodu kojom može direktno da se posmatra iridokornealni ugao i tako mnogo ranije i preciznije utvrde promene koje dovode do pojave glaukoma. Ova metoda se obavlja primenom različitih vrsta specifičnih sočiva (*goniolens*).

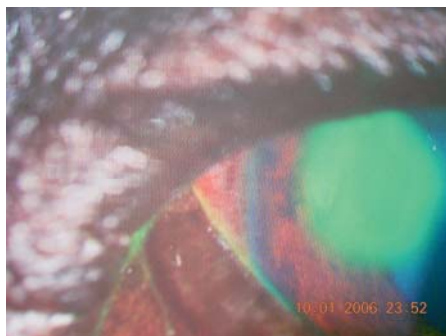
Keratoskopija / Keratometry

Keratoskopijom se utvrđuju promene u zakrivljenosti rožnjače, koje dovode do promene u prelamanju svetlosti, a time i do poremećaja vida. Primenuju se različite vrste klasičnih keratoskopa, a u novije vreme i savremenih kornealnih tomografa.

Dodatne metode pregleda / Additional examination methods

Bojenja (Fluorescein, Rose bengal) / Staining (fluorescein, rose bengal)

Razne vrste boja i bojenja se primenjuju u oftalmologiji, ali su najzastupljenija bojenja fluoresceinom radi utvrđivanja obima oštećanja rožnjače. Ovom metodom se boje devitalizovane ćelije rožnjače. Rose bengal bojenje je osetljivije i prikazuje oštećene, ali ne i devitalizovane ćelije.



Slika 11. *Fluorescein bojenje* /
Figure 11. *Fluorescein staining*

Fluorescein može da se koristi i za fluorescein drenažni test koji se primenjuje u proveru prohodnosti lakrimalnih punkta i lakrimonazalnog kanala, odnosno utvrđivanja normalne funkcionalnosti lakrimonazalnog drenažnog sistema.

Midrijatici i miotici / Mydriatics and myotics

U oftalmološkoj dijagnostici koriste se različiti medikamenti koji treba da olakšaju dijagnostikovanje. Atropin se koristi za postizanje midrijaze, kao i Adrenalin, dok se radi postizanja mioze koristi Pilokarpin.

Lokalna anestezija / *Local anaesthesia*

Primena lokalne anestezije je indicovana samo u dijagnostičke svrhe. Tetracain predstavlja lek izbora.

Opšta anestezija / *General anaesthesia*

Primena opšte anestezije je indicovana kada životinja ne sarađuje, a na prvom mestu kod teških traumatskih stanja oka kada je ujedno neophodna i intervencija, kao i u biomikroskopiji.

Kanulacija / *Cannulation*

Kanulacija se primenjuje u dijagnostici lakrimonazalnog drenažnog sistema. Primenuju se različite vrste kanila, specijalne sonde, kao i posebno pripremljeni konci 4-0, monofilamenti.

Pored prethodno navedenih metoda u dijagnostikovanju prednjeg segmenta oka primenjuju se i ultrazvučna i rendgenološka dijagnostika, konfokalna mikroskopija, CT i MRI.

ENGLISH

DIAGNOSTICS OF ANTERIOR EYE SEGMENT IN CATS AND DOGS

M. Hadzi-Milic

Diagnostics of the anterior segment of the eye present the most frequent diagnostics implemented in ophthalmology and by most veterinary practitioners as well. This paper presents the complete diagnostics in the most concise form possible. The procedure with animals is presented first, followed by the equipment, and then anamnesis. The following diagnostic methods are presented: examination in a lighted room which include an examination from a distance, taking a smear, the Schirmer tear test (STT), an examination from close by, examination in a dark room which comprises the elementary examinations, such as the use of focal lighting and examination using a direct ophthalmoscope, and special examination in a dark room, such as biomicroscopy, gonioscopy and keratotomy. Additional examination methods are also included.

Key words: Ophthalmology, diagnostics, eye, anterior segment, dog, cat

РУССКИЙ

ДИАГНОСТИКА ПЕРЕДНЕГО СЕГМЕНТА ГЛАЗА У СОБАК И КОШЕК

М. Хаджи-Милич

Диагностика переднего сегмента глаза представляет собой наиболее частую диагностику, проводимая в офтальмологии и в различном объёме её при-

меняет большинство ветеринаров практиков. На этом месте представлена комплектная диагностика в как можно более сжатой форме. Во-первых представлен поступок с животными, затем оборудование и анамнез. Представлены следующие диагностические методы: осмотр в освещённом помещении к которым принадлежат осмотр из дальности, бравание мазка, СТТ, осмотр из близости, затем осмотр в затемнённом помещении к которым принадлежат основные осмотры в затемнённом помещении как фокальное освещение и осмотр прямым офтальмоскопом и специальные осмотры в затемнённом помещении как биомикроскопия, гониоскопия и кератоскопия. Включены и дополнительные методы осмотра.

Ключевые слова: офтальмология, диагностика, глаз, передний сегмент, собака, кошка

**PRIRODNI NEPRIJATELJI RIBA KAO UZROK EKONOMSKIH
GUBITAKA NA RIBNJACIMA***

***NATURAL ENEMIES OF FISH AS CAUSE OF ECONOMIC LOSSES IN
FISH PONDS***

Maja Marković, Ksenija Palić**

Prisustvom prirodnih neprijatelja riba mogu da nastanu velike ekonomske štete na ribnjacima. Direktne štete nastaju tako, što su ihtiofagne vrste ptica u stanju da u kratkom vremenskom intervalu pojedu veliku količinu ribe ili kod riba stvore mehaničke povrede, koje kasnije postaju idealna mesta za razoj sekundarnih infekcija.

Kod preživelih riba, zavisno od dubine lezija, sanacioni proces protiče ili regeneracijom ili supstitucijom. Teža, veća oštećenja zaceljju ožiljkom koji može da uzrokuje deformacije delova tela, a sve to kod potrošača izaziva gađenje i takva riba se ne koristi za ishranu ljudi. Prema Scheperclausu ptice mogu da prouzrokuju čak i više od 60 posto gubitaka na šaranskim ribnjacima, naročito u objektima u kojima je smeštena šaranska mlad. Indirektne štete nastaju kada u organima ptica žive larveni ili drugi oblici pojedinih parazita koji izmetom dospevaju u vodu, a kasnije preko prelaznih domaćina postaju patogeni za ribe.

Ključne reči: ekonomski gubici, ihtiofagne ptice, ribe, ribnjak

Uvod / Introduction

Na ovaj prikaz prirodnih neprijatelja riba podstakao nas je članak u dnevnim novinama o prisustvu kormorana na Zvorničkom jezeru i problemima na koje tamošnji ribolovci nailaze.

Doktorima veterinarske medicine želimo da ukažemo da pored kormorana ribe imaju i čitav niz prirodnih neprijatelja koji takođe drastično mogu da utiču na brojnost ribljeg fonda.

* Rad primljen za štampu 6. 12. 2006. godine

** Maja Marković, docent, Ksenija Palić, asistent, Bolesti riba, rakova i školjki, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uz vodene tokove žive mnogobrojne vrste ptica, gmizavaca, vodozemaca koje se isključivo ili povremeno hrane ribom. Prisustvom ovih prirodnih neprijatelja riba, mogu da nastanu velike ekonomske štete kako u otvorenim vodama, tako i u ribnjacima.

Ptice koje se hrane ribom u stanju su da u kratkom vremenskom intervalu pojedu veliku količinu ribe ili da nanese ribama mehaničke povrede, koje kasnije postaju idealna mesta za razvoj sekundarnih infekcija. Kod preživelih riba, zavisno od dubine lezija, sanacioni proces protiče ili regeneracijom ili supstitucijom. Teža, veća oštećenja zaceljuju ožiljkom – supstitucijom, koji mogu da uzrokuju deformacije delova tela. To kod potrošača izaziva gađenje i takva riba se ne koristi u ishrani ljudi. Prema Scheperclausu, prirodni neprijatelji riba mogu da prouzrokuju čak i više od 60 posto gubitaka na šaranskim ribnjacima, naročito u onim u kojima je smeštena šaranska mlad.

Mala količina zagrejane vode u mladičnjacima, bogata nadvodna i podvodna flora, velika koncentracija ikre, larvi i riblje mladi privlači mnogobrojne neprijatelje riba.

U procesu gajenja riblje mladi u mrestilištima, rastilištima i mladičnjacima, pod normalnim uslovima ostaje u životu od 7 do 12 posto jedinki, dok u prirodi preživi tek stoti ili hiljaditi deo riblje populacije.

Indirektne štete nastaju kada u organima prirodnih neprijatelja riba žive larveni ili drugi oblici pojedinih parazita koji izmetom dospevaju u vodu, a kasnije preko prelaznih domaćina postaju patogeni za ribe.

Svake godine se sve više smanjuje odnos između broja riba kojima su poribljena razna ribnjačka jezera i broja izlovljenih riba iz njih na kraju toвне sezone. Ovaj negativan odnos dobrim delom je uzrokovan velikim povećanjem broja ptica močvarica. Na nekim šaranskim ribnjacima ove ptice su se toliko namnožile da su proizvodnju riba dovele skoro u nemoguću situaciju. Prikazane su samo najvažnije ptice močvarice: kormorani, čaplje (siva, bela, mala bela), divlje patke i gnjurci.

Kormoran (*Phalacrocorax carbo*) – velika, ptica sa tamnocrnim perjem zelenog sjaja. Odlično pliva i roni. Gnezdi se u kolonijama na drveću. Zimi se seli na jug. Ribu lovi veoma organizovano. Jedna grupa tera ribu prema obali, dok druga leti nisko iznad same površine vode. Na taj način grupišu ribu na malom prostoru i započinju „gozbu”. Svaki kormoran dnevno može da pojede do jednog kilograma ribe. Oni su izričiti ihtiofagi i nanose velike štete ribnjacima. Na jednom ribnjaku može da boravi i 5000 primeraka kormorana.

Čaplje. Pošto se ishrana čaplji sastoji skoro isključivo od riba, one takođe nanose velike štete. Smatra se da velika bela čaplja pojede oko 350 grama ribe u toku dana, siva čaplja oko 300 grama, a mala bela čaplja oko 250 grama. U prirodi svojim dugim nogama gaze po plitkoj vodi ili stoje na pogodnom mestu i čekaju da im se riba približi i tada ih love dugim kljunovima. Na ribnjacima se često nalaze na mestima na kojima se riba okuplja zbog prihranjivanja ili u mo-

mentima kada se voda ispušta iz rastilišta i mladičnjaka i tada praktično uništava riblju mlad.

Orao ribar (*Pandion haliaetus*) uglavnom se hrani većom ribom. Kružeci iznad ribnjaka motri na ribu koja pliva na površini, zaustavi se iznad tog mesta i posle kraćeg kruženja, munjevito se obrušava na plen. Ribu hvata zabijanjem kandži u leđa i sa njom odleće najčešće na neko drvo, pojede najbolje delove, a ostatak ostavlja. Ukoliko je riba veća nego što može da ponese, ostrim kandžama joj nanosi mehaničke povrede. Ubraja se u retke vrste ptica i ne nanosi velike štete ribarstvu.

Ušati gnjurac (*Podiceps cristatus*) i **Mali gnjurac** (*Podiceps nigrocolis*) hrane se sitnom ribom koju love roneći pod vodom, zadržavaju se na mladičnjacima. Mogu da nanese velike štete. Neke vrste gnjuraca su isključivi ihtiofagi, a neke samo povremeni.

Galeb (*Larus ridibundus*) se zadržava uz rastilišta i mladičnjake, gde lovi mlad, koja pliva uz površinu vode. Kada se ispušta voda iz ribnjaka sa konzumnom ribom, kupe sitnu, divlju ribu u plitkoj vodi i depresijama. Galeb se hrani i mladi pastrmskih vrsta riba.

Vodeni kos (*Cinclus cinclus*) hrani se ikrom, pre svega, salmonidnih, ali i ikrom drugih vrsta riba.

Divlje patke se hrane ikrom, larvama i mladi šarana, nanoseći velike štete mrestilištima.

Od gmizavaca kao prirodne neprijatelje riba treba da se pomenu dve vrste zmija: **Belouška** (*Tropidonotus natrix*) i **Zmija ribarica** (*Tropidonotus tassellatus*). Belouška je česta na šaranskim ribnjacima. Hrani se ribama i žabama, a velike štete nanosi objektima za uzgoj šaranske mladi – rastilištima.

Zmija ribarica je po boji tela slična šarki, ali šarka nikada ne ulazi u vodu. Živi pored pastrmskih ribnjaka i hrani se salmonidnom ribom.

Od nekoliko vrsta žaba koje nanose štete ribnjacima, najzastupljenija je **zelena žaba** (*Rana esculata*), naročito prisutna na šaranaskim ribnjacima. Hrani se larvama i mladuncima riba. Za vreme parenja mužjaci mehanički mogu da oštete oči većih riba, prihvatajući se za njih, umesto za ženke. U želucima žaba, koje su sakupljene iz mrestilišta i rastilišta, može da se nađe po nekoliko desetina larvi i sitnijih mladunaca, ali i ribica dužine od 5 do 6 centimetara.

Punoglavci zelene žabe se takođe hrane larvama, nanoseći ekonomske štete. Veliki broj punoglavca u ribnjaku može znatno da smanji populaciju mladi.

Na šaranskim ribnjacima neke vrste ptica ihtiofaga (kormoran, siva čaplja i galeb) mogu da prouzrokuju velike direktne i indirektne štete. Broj ovih ptica se enormno povećava kada se krajem leta zbog suše snizi nivo vode. Ribe, takođe, postaju lak plen i za vreme ispuštanja vode zbog izlova.

Zato treba da se primene sva zakonom dozvoljena sredstva odbrane, od ihtiofagnih ptica i drugih prirodnih neprijatelja riba, kako bi se smanjili ekonom-

ski gubici, nastali na šaranskim ribnjacima i to posebno u objektima (mrestilišta, rastilišta i mladičnjaci) u kojima se uzgaja šaranska mlad.

Literatura / References

1. Atanacković-Stojković Milica: Bolesti riba, rakova i školjki, Beograd 1998. -
2. Mikusa J.: Ribarstvo Jugoslavije, 57-76, Zagreb, 1990. - 3. Šigin A. A, Zooparazitologija 12-46, 4, Moskva, 2002.

ENGLISH

NATURAL ENEMIES OF FISH AS CAUSE OF ECONOMIC LOSSES IN FISH PONDS

Maja Markovic, Ksenija Palic

The presence of natural enemies of fish can result in huge economic damage to fish ponds. Direct damages result from the fact that ichthyophagous bird species are capable of eating large quantities of fish in a short time interval, or can cause mechanical injuries to fish which later on become ideal places for the development of secondary infections. In the surviving fish, depending on the depth of the lesions, the healing process takes place either by regeneration or substitution. More serious, bigger damaged areas heal with a scar that can lead to the deforming of parts of the body, and consumers find such fish, which are generally used for human consumption, repellent. According to Schaperclaus, birds can cause even more than 60% losses in carp breeding ponds, in particular in objects where carp fry are maintained. Indirect damages occur when the bird organs are inhabited by larvae or other forms of parasites, which reach the water through feces, and later become fish pathogens through transitory hosts.

Key words: Economic losses, ichthyophagous fish, pond.

РУССКИЙ

ЕСТЕСТВЕННЫЕ ВРАГИ РЫБ КАК ПРИЧИНА ЭКОНОМИЧЕСКИХ УБЫТКОВ НА ПРУДАХ

Мая Маркович, Ксения Палич

Присутствием естественных врагов рыб, могут наступить большие экономические ущербы на прудах. Прямые ущербы наступают так, что ихтифаговые виды птиц в состоянии в кратком временном интервале поедать большое количество рыб или у рыб создать механические повреждения, которые позже наступают идеальные места для развития вторичных инфекций. У пережитых рыб, зависимо от глубины повреждения, санационный процесс протекает или регенерацией или заменой. Более тяжёлые, большие повреждения заживают рубцом, который может привести до деформаций частей тела, а всё это у потребителя вызывает брезгливость и такая рыба пользуется для питания людей. По Schaperclausu птицы могут

причинить даже и больше 60% убытков на сазаних прудах, особенно в объектах в которых помещена сазанья молодь. Косвенные ущербы наступают, когда в органах птиц живут личиночные или другие формы некоторых паразитов, которые путём помёта успевают в воду, а позже через переходных хозяинов становятся патогенные для рыб.

Ключевые слова: экономические убытки, ихтиофаговые птицы, рыбы, пруд

OSNIVAČKA SKUPŠTINA VETERINARSKJE KOMORE SRBIJE

Na osnovu člana 37. Zakona o veterinarstvu („Službeni glasnik RS”, br. 91/05) u Beogradu je na Fakultetu veterinarske medicine održana Osnivačka skupština Veterinarske komore Srbije. Sednica se održala u dva dela 9. septembra i 11. novembra 2006. godine. Na drugoj sednici donet je Statut, Pravilnik o licenci za obavljanje veterinarske delatnosti, Odluka o visini članarine i Odluka o visini naknade za izdavanje licence za obavljanje veterinarske delatnosti. Ova dokumenta su shodno Zakonu prosleđena Ministarstvu na saglasnost.

Predstavnici u Skupštini izabrali su Statutom predviđene organe i tela: predsednika, Upravni odbor, Stručni i Nadzorni odbor, predstavnike u svetskoj i evropskoj organizaciji veterinara.

Za predsednika Komore izabran je dr Zoran Rašić.

Članovi Upravnog odbora su Radoš Raić, dipl. vet. (predsednik), Nestor Babin, dipl. vet. spec. (potpredsednik), prof. dr Branka Vidić, predstavnik JVS, Slavoljub Stanojević, dipl. vet., predstavnik Ministarstva, Nenad Milojković, dipl. vet., Saša Stokić, dipl. vet. i Grgo Tikvicki, dipl. vet. spec. iz veterinarskih organizacija.

Članovi Stručnog odbora su: prof. dr Dragiša Trailović (predsednik), prof. dr Sanja Aleksić-Kovačević, Vladimir Bursać, dipl. vet. spec, mr Olgica Ivanović, dipl. vet. spec, mr Milovan Jovičin, prof. dr Sava Lazić i dr Vojislav Obradović.

U Nadzorni odbor izabrani su: Vladimir Bogdanović, dipl. vet. spec. (predsednik), Stojadin Dragičević, dipl. vet., Goran Đorić, dipl. vet., Aleksandar Georgiev, dipl. vet. spec. i Jovanka Vlajković, dipl. vet. spec.

Predstavnici VKS u međunarodnim organizacijama su: Julijana Milosavljević, dipl. vet. spec. u WVA i dr Mirko Šinković u FVE.

Sednica svih organa i tela koji su prema usvojenom Statutu izabrani na Skupštini održana je 28. novembra 2006. godine. Cilj sednice je bio da se što pre počne sa radom, jer se to od izabranih predstavnika i očekuje. Konstituisanje Regionalnih odbora je prioritetni zadatak koji bi trebalo završiti do kraja godine. Zaključeno je da stručno-administrativna služba Komore i sekretar nastavljaju, do daljeg, da obavljaju poslove iz delatnosti Komore. Razmatran je plan aktivnosti za 2007. godinu, pa će se do sazivanja naredne sednice Skupštine raditi na sledećim poslovima: usaglašavanju Cenovnika veterinarskih usluga, inoviranju „Kodeksa veterinarsko-medicinske etike” iz 1995. godine, omogućavanju javnosti rada i obezbeđenju redovnog informisanja članova preko sajta Komore. Dogovoreno je da se za sledeću sednicu Upravnog odbora pripremi finansijski plan, predlog Po-

slovnika o radu Upravnog odbora, Pravilnik o unutrašnjoj organizaciji i sistematizaciji stručno-administrativne službe, Pravilnik o računovodstvu i amblem Komore.

Jadranka Tijanić, sekretar VKS

KALENDAR PLANIRANIH NAUČNIH I STRUČNIH SKUPOVA U ZEMLJI ZA 2007. GODINU

- 15 - 16. februar Beograd
28. seminar za inovaciju znanja veterinarara
Informacije: prof. dr Vera Katić, Katedra za higijenu mleka, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/ 2685 553 ili 36 15 436 lok. 322.
1. marta Beograd
Inovacije znanja iz oblasti DDDD
Informacije: prof. dr Brana Radenković, Zoohigijena, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/2684 173 ili 36 15 436 lok. 225.
- 29 - 31. mart Požarevac
9. epizootiološki dani
Informacije: prof.dr Bosiljka Đuričić, Katedra za zarazne bolesti , Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/2685 080 ili 36 15 436 lok. 352, e-mail: bosa@beotel.yu
- 12 - 19. maja Novi Sad
74. međunarodni poljoprivredni sajam
Informacije: Novosadski sajam, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 2, tel. 021/4830-000.
- 28 - 30. maja Tara
18. savetovanje „DDDD u zaštiti životne sredine”
Informacije: prof.dr Brana Radenković, Zoohigijena, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/ 2684 173 ili 36 15 436 lok. 225.
- Prva nedelja juna Teslić – Republika Srpska
12. savetovanje veterinarara Republike Srpske
Informacije: Veterinarska komora Republike Srpske, Banja Luka, Knjaza Miloša 21, tel. 99 387 51 466 321.
- 18 - 20. juna Vrnjačka Banja
54. savetovanje industrije mesa
Informacije: Institut za tehnologiju mesa, 11000 Beograd, Kačanskog 13, tel. 011/2650 655, fax. 651 825, e-mail: meatinst@beotel.yu
- Treća nedelja juna Kragujevac
Škola ultrazvuka
Edukacioni centar ultrazvuka u medicini i veterini (pet dana)
Informacije: prof. dr Vojislav Pavlović, Katedra za porodiljstvo, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/2684 184 ili 3615 436, lok. 252.
- Polovina juna Subotica – Palić
9. savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica veterinaria 2006”
Informacije: prof. dr Dragiša Trailović, Katedra za dijagnostiku, patologiju i terapiju oboljenja domaćih životinja, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/36 11 810, e-mail: trailo@net.yu

- 27 - 30. juna Soko Banja
5. simpozijum „Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda”
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel./fax. 011/ 2684 597, 2685 619, 2687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
- 4 - 7. septembra Zlatibor
16. savetovanje živinara
Informacije: Časopis „Živinarstvo”, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, tel. 011/657 953, fax. 644 841.
- Treća nedelja septembra Zlatibor
19. savetovanje veterinara Srbije
Informacije: Srpsko veterinarsko društvo, prof. dr Bosiljka Đuričić, Katedra za zarazne bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18, tel. 011/2685 080 ili 36 15 436 lok. 352, e-mail: bosa@beotel.yu
- Treća nedelja oktobra Beograd
Godišnji simpozijum veterinara male prakse – SIVEMAP 2006.
Informacije: Sekretar SMASAP-a Dimitrije Filipović, tel. 011/ 382 17 12, e-mail: smasap posta@yahoo.com
- 15 - 16. novembra Beograd
Savetovanje iz zoohigijene
Informacije: Prof. dr Slavča Hristov, Poljoprivredni fakultet, Institut za stočarstvo 11081 Beograd-Zemun, Nemanjina 6, tel./fax. 011/ 2615 315, lok.197; 193 659, e-mail: hristovs@agrifaculty.bg.ac.yu

**Prof. dr Ružica Ašanin, doc. dr Dejan Krnjaić i prof. dr Nenad Milić:
„PRIRUČNIK SA PRAKTIČNIM VEŽBAMA IZ
MIKROBIOLOGIJE SA IMUNOLOGIJOM”**

Rukopis pod navedenim naslovom je namenjen studentima Fakulteta veterinarske medicine, za predmet Mikrobiologija sa imunologijom, koji se sluša u III i IV semestru sa fondom časova od 3+2 u zimskom i 3+3 u letnjem semestru. Rukopis je prikazan na 271 stranici od kojih 239 stranica čini kompjuterski kucan tekst sa proredom, napisan jasnim i razumljivim stilom, a 32 stranice čini radna sveska za studente. Dokumentovan je sa 16 tabela, 28 shema i 117 slika. Materija predviđena planom i programom studija na pregledan i pristupačan način je izložena po metodskim jedinicama i obuhvata gradivo iz opšte bakteriologije i imunologije, specijalne bakteriologije, mikologije i opšte i specijalne virusologije. Koristeći najnovije naučne i stručne podatke autori su materiju iz navedenih oblasti izneli na savremen način i prilagodili je novim programima studiranja. Veoma jasno i koncizno izneta, materija će omogućiti studentima da lakše savladaju izloženo gradivo predviđeno planom i programom iz praktičnog dela nastave. Imajući u vidu prethodno iznete činjenice smatramo da rukopis zadovoljava sve kriterijume univerzitetskog pomoćnog udžbenika. Pošto isti ili sličan priručnik na našem jeziku ne postoji, sigurno da ovakav udžbenik za praktičnu nastavu iz predmeta Mikrobiologije sa imunologijom nedostaje. Neophodno je da se naglasi da pored osnovne namene, pomoćni udžbenik "PRIRUČNIK SA PRAKTIČNIM VEŽBAMA IZ MIKROBIOLOGIJE S AIMUNOLOGIJOM" može da koristi i svima onima koji se bave mikrobiologijom kao praktičnom disciplinom.

Recenzenti:

Prof. dr Milena Švabić-Vlahović,
redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu,
Prof. dr Miroslava Olujčić,
redovni profesor Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu, u penziji

**FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE
U BEOGRADU 2006. GODINE**

Doktorirali:

Mirilović D. Milorad
Janković M. Ljiljana
Trkulja Lj. Rodoljub
Cerić I. Olgica
Hadži-Milić N. Milan
Karabasil R. Nedeljko
Petrović R. Tamaš
Petrović M. Jelena

Specijalizirali:

Ristanić T. Milkica
Ostojić R. Jovan
Milić S. Perica
Šarić P. Ilija
Ntallaris M. Theodoros
Janku T. Đorđe

Magistrirali:

Filipović G. Irina
Veljović M. Ljubiša

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE U BEOGRADU 2006. GODINE

Nikolić V. Danijela

Rođena 22. 10. 1978. u Čupriji
Diplomirala 27. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Paraćin
Carice Milice 13

Tanasić M. Cveta

Rođena 29. 6. 1978. u Šapcu
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Banovo Polje
Zdravka Šestića 89

Mijailović M. Ivan

Rođen 20. 5. 1980. u Smed. Palanci
Diplomirao 27. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Mladenovac
Janka Katića 16/16

Kureljušić I. Branislav

Rođen 1. 6. 1981. u Zrenjaninu
Diplomirao 28. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Junaka Milena Tepića 4/45

Nenadović B. Aleksandar

Rođen 14. 1. 1980. u Čačku
Diplomirao 28. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Čačak
Braće Kovačevića 10

Stojković S. Smiljana

Rođena 5. 1. 1976. u Beogradu
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Jablanička 11/9

Novičić M. Mina

Rođena 6. 12. 1980. u Beogradu
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Lazarevac
Kolubarski trg 41

Čorak V. Branko

Rođen 21. 12. 1976. u Beogradu
Diplomirao 30. 10. 2006. godine
Stalno mesto boravka N. Beograd
Stojana Aralice 2

Popović B. Ljuba

Rođen 21. 3. 1979. u Beogradu
Diplomirao 20. 9. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Krunska 39

Todorović A. Ema

Rođena 4. 3. 1981. u Beogradu
Diplomirala 25. 10. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Celjska 6

Mikov J. Ninosav

Rođen 25. 5. 1975. u Dimitrovgradu
Diplomirao 31. 10. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Mis Irbijeva 28/7

Ristić Ž. Borko

Rođen 9. 2. 1978. u Smederevu
Diplomirao 30. 10. 2006. godine
Stalno mesto boravka Smederevo
Vučačka 93

Ivković M. Vladan

Rođen 14. 8. 1969. u Aleksincu
Diplomirao 30. 10. 2006. godine
Stalno mesto boravka Futog
Relje Savića 29

Radovanović V. Radiša

Rođen 16. 12. 1977. u Požegi
Diplomirao 28. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kosjerić
Antonija Kosjera 20

Todorović R. Predrag

Rođen 8. 1. 1976. u Beogradu
Diplomirao 26. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Jurija Gagarina 77/34

Mikina Z. Vladimir

Rođen 20. 9. 1975. u Zemunu
Diplomirao 25. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Zemun
Petra Kočića 47

Kuburić B. Boris

Rođen 2. 9. 1980. u Kikindi
Diplomirao 25. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Bulevar umetnosti 3/97

Šetkić M. Jovica

Rođen 30. 6. 1979. u Gradišci
Diplomirao 25. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Gradiška
Trebovljana 60

Ostojić R. Nataša

Rođena 30. 12. 1969. godine
Diplomirala 27. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Karađorđeva 7

Vasiljević R. Tatjana

Rođena 12. 7. 1972. u Aranđelovcu
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Aranđelovac
Braće Jugovića 1/3

Mitrović S. Ana

Rođena 27. 1. 1977. u Beogradu
Diplomirala 18. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ranka Tajsića 3

Nešić N. Slađan

Rođen 1. 7. 1981. u Šapcu
Diplomirao 18. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Jevremovac
Stepe Stepanovića 18

Đapović D. Zoran

Rođen 7. 5. 1976. u Užicu
Diplomirao 19. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Užice
Miloša Obrenovića 37/5

Đurić R. Zoran

Rođen 2. 10. 1977. u Gračanici
Diplomirao 18. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kukmuže
Opština Petrovo

Lazarević M. Ljubiša

Rođen 10. 6. 1980. u Tuzli, BiH
Diplomirao 19. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Tobut
Lopare, RS BiH

Modić P. Jasna

Rođena 23. 10. 1977. u Beogradu
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Rada Drainca 13/2

Pajović Ž. Jelena

Rođena 20. 1. 1978. u Ljuboviji
Diplomirala 20. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Crnča

Rakić T. Žarko

Rođen 8. 10. 1973. u Beogradu
Diplomirao 4. 12. 2006. godine
Stalno mesto boravka Obrenovac
Braće Lazića 53

Jovanović M. Dragan

Rođen 30. 8. 1979. u Šapcu
Diplomirao 27. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Gornja Vranjska
Varna

Baltić M. Tatjana

Rođena 26. 10. 1980. u Bihaću
Diplomirala 28. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Pančevo
Jastrebovačka 14/4

Spasojević Ž. Dragomir

Rođen 27. 3. 1977. u Beogradu
Diplomirao 29. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Kosjerić
Karađorđeva 17/1

Pavlović A. Nenad

Rođen 25. 5. 1980. u Beogradu
Diplomirao 27. 11. 2006. godine
Stalno mesto boravka Obrenovac
Cara Lazara 13