

ISSN 0350-2457
UDK 619 (05)

VETERINARSKI GLASNIK

naučni časopis
scientific journal

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

VET. GLASNIK Vol. 65 Br. 3-4 Str. 151 - 292 Beograd, 2011.



IZDAVAČ:
FAKULTET VETERINARSKÉ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF BELGRADE
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЈ МЕДИЦИНИ УНИВЕРСИТЕТА В БЕЛГРАДЕ

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

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

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD: *Vojin Ivetić, Milovan Jovičin, Vera Katić, Sanja Kovačević-Aleksić, Zoran Kulišić, Zoran Rašić, Horea Šamanc, Vesna Matekalo-Sverak, Jadranka Tijanić, Dragiša Trailović*

MEĐUNARODNI UREĐIVAČKI ODBOR – INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD: *Arturo Anadon (Španija), Horia Cernescu (Rumunija), Toni Dovenski (Makedonija), Petar Džaja (Hrvatska), Marijan Kosec (Slovenija), Mehmed Muminović (Bosna i Hercegovina), Dimitrios Raptopoulus (Grčka), Peter Šotony (Mađarska), Carlo Valente (Italija)*

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Jadranka Tijanić*

LEKTORI – LECTORS:

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



GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

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

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:

Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije
Publication of this journal is financially supported by:
Ministry of Education and Science, Republic of Serbia

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

Adresa časopisa:

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

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 65

BROJ 3 - 4

STRANA 151-292

Beograd 2011.

3-4

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKJE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 65 Br. 3 - 4 str. 151 - 292 Beograd, 2011.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Jezdimirović Milanka, Aleksić Nevenka, Barać-Bašević Ana, Žutić M., Ivetić V., Radanović O., Jezdimirović N.: Usporedno ispitivanje efikasnosti tulatromicina i florfenikola u lečenju bronhopneumonije junadi
Comparative Investigation on the Efficacy of Tulathromycin and Florfenicol in the Treatment of Bronchopneumonia in Feedlot Calves
Сравнительное испытание эффективности тулатромцина и флорфеникола в лечении бычков **153**
- Prodanović R., Vujanac I., Kirovski Danijela, Ivetić V., Savić B., Žutić M., Kureljušić B., Radanović O.: Paratuberkuloza u zapatu krava rase crveni holštajn
Paratuberculosis in Breeding Stock of Red Holstein Cows
Паратуберкулёз в племенном приплоде коров породы красный холштайн **179**
- Radović Bisa, Jotanović Stoja, Savić Đ., Nitovski A.: Biohemijski parametri krvi krava simentalске rase u različitim fazama reproduktivnog ciklusa
Blood Biochemical Parameters of Simmental Cows in Different Phases of Reproductive Cycle
Биохимические параметры крови коров Сименталской породы в различных фазах репродуктивного цикла **191**
- Stanojković A., Ašanin Ružica, Ašanin Jelena, Palić Ksenija, Stanojković Aleksandra, Žutić Jadranka: Ispitivanje prisustva alfa hemolitičkih streptokoka, enterokoka i streptokoka sličnih bakterija u različitim materijalima poreklom od svinja
Investigation of Presence of α Haemolytic Streptococci, Enterococci and Streptococci-like Bacteria in Different Materials Originating from Pigs
Испытание присутствия альфа гемолитических стрептококков, энтерококков и стрептококкам подобных бактерий в различных материалах происхождения от свиней. **203**
- Smajlović A., Mujezinović Indira, Ćupić V., Muminović M.: Rezidue nitrofurana u namirnicama animalnog porekla
Nitrofurans' Residues in Food Of Animal Origin
Остатки нитрофуранов в пищевых продуктах животного происхождения. . . **215**
- Đurić B., Ilić Tamara, Trailović D., Kulišić Z., Dimitrijević Sanda: Parazitske infekcije digestivnog trakta pasa na području Braničevskog okruga
Parasitic Infections of Digestive Tract of Dogs in Territory of Braničevo District
Паразитарные инфекции пищеварительного тракта собак на подведомственной области Браничевского округа **223**

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Milanov Dubravka, Petrović Jelena, Kapetanov M., Suvajdžić Ljiljana: *Arcanobacterium pyogenes* – faktori virulencije, značaj u etiologiji mastitisa i terapijske (ne)moćnosti
Arcanobacterium pyogenes – Virulence Factors, Importance in Mastitis Etiology and Therapeutic (im)possibilities
Arcanobacterium pyogenes – факторы вирулентности, значение в этиологии мастита и терапевтические (не)возможности **235**
- Stevanović Jelka, Borozan Sunčica, Jović S., Ignjatović I.: Antioksidativna odbrana
Antioxidative Defense
Антиокислительная защита **247**

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REVIEW – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Spasojević Kosić Ljubica, Lalošević Vesna, Lalošević D., Naglič A.: Bolest srčanog crva: prikaz slučaja kod psa
Heartworm Disease: Case Study in Dog Patient
Болезнь сердечного червя: показ случая у собаки **257**
- Ralić M., Jovanović M.: Okularna manifestacija lajšmanioze psa
Ocular Manifestation in Canine Leishmaniasis
Окулярная манифестация лейшманиоза собаки **269**
- Aleksić Jelena, Merćep Drinka, Aleksić Z., Jovanović M.: Trovanje psa furadanom 35-ST (karbamatni insekticid)
Dog Poisoning with Furadan 35-ST (Carbamate Insecticide)
Отравление собаки Фураданом 35-СТ (карбаматный инсектицид) **277**

DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKJE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS
- DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE - ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТЫ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ **287**

UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS. **289**

UPOREDNO ISPITIVANJE EFIKASNOSTI TULATROMICINA I FLORFENIKOLA U LEČENJU BRONHOPNEUMONIJE JUNADI*

COMPARATIVE INVESTIGATION ON THE EFFICACY OF TULATHROMYCIN AND FLORFENICOL IN THE TREATMENT OF BRONCHOPNEUMONIA IN FEEDLOT CALVES

Milanka Jezdimirović, Nevenka Aleksić, Ana Barać-Bašević, M. Žutić,
V. Ivetić, O. Radanović, N. Jezdimirović**

Ispitivana je klinička efikasnost tulatromicina (TU) i florfenikola (FL) u lečenju bronhopneumonije (BP) prouzrokovane vrstom *Pasteurella multocida*, izolovanom iz briseva nosa junadi. Simptomi BP su kvantifikovani da bi se dobio klinički skor (KS) koji definiše težinu kliničke slike kod životinja. Prema korišćenoj skali maksimalna vrednost KS parametara BP iznosi 47 bodova. U našem ogledu, vrednost prosečnog KS kod obolele junadi iznosila je $23,5 \pm 0,15$. Klinička efikasnost TU i FL procenjivana je svakodnevno, tokom sedam dana, na osnovu povlačenja kliničkih simptoma (smanjivanje vrednosti KS) i prisustva prouzrokovala BP u brisevima nosa 7, 28. i 35. dana od ukiđanja terapije. Tulatromicin je aplikovan s.c., jednokratno u terapijskoj dozi od 2,5 mg/kg, a florfenikol s.c., dvokratno u razmaku od 48 h u terapijskoj dozi od 40 mg/kg tm. U ovom ispitivanju TU je u prva četiri dana od aplikacije značajno brže od FL ($P < 0,05$) dovodio do povlačenja bitnih kliničkih simptoma, iako je aplikacija FL u tom periodu ponovljena. Klinička efikasnost TU u lečenju BP junadi četvrtog dana od primene iznosila je $43,4 \pm 1,5$ %, a florfenikola $27,2 \pm 1,6$ %. Međutim, petog dana od aplikacije TU i FL i drugog dana od druge aplikacije FL ustanovljena je približno ista klinička efikasnost ovih antimikrobnih lekova u lečenju BP. Prosečna efikasnost TU bila je $57,1 \pm 0,0$ %, a FL $58,5 \pm 0,0$ %. Vrednost individualnog i prosečnog KS kod junadi lečene TU i FL

* Rad primljen za štampu 06. 06. 2011. godine

** Dr sci med. vet. Milanka Jezdimirović, redovni profesor, dr sci med. vet. Nevenka Aleksić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; Ana Barać-Bašević, dr vet.-spec., Veterinarski zavod Zemun; dr sci med. vet. Milenko Žutić, naučni saradnik, dr sci. med. vet. Vojin Ivetić, naučni saradnik, Oliver Radanović, dr vet. - spec., stručni saradnik, Nemanja Jezdimirović, dr vet. med., istraživač-pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

iznosila je 10 bodova. Od kliničkih simptoma jedino se hipertermija nije povukla. Šestog dana od aplikacije TU i FL i trećeg dana od druge aplikacije FL oba antibiotika imala su podjednaku, maksimalnu (100%) kliničku efikasnost u lečenju BP. Ista klinička efikasnost zabeležena je i sedmog dana oglada. Izlečenje je potvrđeno odsustvom *P. multocida* u brisevima uzetim sedmog dana od početka lečenja. Međutim, kod 4 juneta (21,05 %) od ukupno 19 izolovan je *Streptococcus alpha haemolyticus*. Četiri nedelje od obustavljanja primene TU i FL uočen je recidiv BP prouzrokovane *P. multocida* kod 30% junadi lečene TU i 22,22% lečene FL. Posle jednokratne primene TU i FL, sedmog dana su se povukli svi klinički simptomi recidivirajuće BP, a mikrobiološki nalaz bio je negativan. Sumirajući rezultate dobijene uporednim ispitivanjem efikasnosti TU i FL u lečenju BP junadi prouzrokovane *P. multocida* predlažemo da se TU koristi kao lek prvog izbora u lečenju ove respiratorne infekcije. Njegova efikasnost, nedovoljna u prva tri dana od aplikacije, može da se poveća istovremenom primenom lekova iz grupe NSAIL i bronhodilatatora.

Ključne reči: tulatromicin, florfenikol, efikasnost, BRD, Pasteurella multocida, junad

Uvod / Introduction

Bronhopneumonija (BP) junadi predstavlja ozbiljan zdravstveni i ekonomski problem kod nas i u svetu. Postoji podatak da je kod 60 % junadi sa naših terena koja su obolela ili uginula od teškog oblika BP izolovana *Pasteurella spp.*, kod 36 % *Staphylococcus spp.*, kod 47 % *Streptococcus haemolyticus* i kod 58 % *Arcanobacterium pyogenes* (Šamanc i sar., 1990). Kao najčešći prouzrokovani BP navode se *P. multocida* i *Mannheimia haemolytica* (Kehrenberg i sar., 2001; Kehrenberg i Shwarz, 2001; Catry, 2005; Mohammadi i sar., 2006; Onat i sar., 2010). Međutim, ovi gram-negativni fakultativni anaerobi su prisutni i u gornjim disajnim putevima kod velikog broja zdrave junadi (Andrews, 2004; Boyce i sar., 2004). U etiologiji BP ređe učestvuju *Histophilus somni* i *Mycoplasma spp.* (Vidić i Boboš, 2001). Bakterijske infekcije respiratornog sistema obično su udružene sa virusima (Jermolenko i sar., 2000; Hodgins i sar., 2002; Lazić i sar., 2004).

Visok stepen morbiditeta junadi obično prati mortalitet koji se u Srbiji kreće od 14,3 do 50% (Šamanc i sar., 1990), a može da varira od 2 do 20%, zavisno od uslova držanja i uzgoja (Brunig-Fann i sar., 1992).

Učestalost pojavljivanja i intenzitet bakterijskih respiratornih infekcija zavise od više faktora: vrste i stepena patogenosti prouzrokovaca, kategorije goveda i spoljnih činilaca (variranja temperature, stepen vlažnosti vazduha, uslovi držanja, ishrana, transport, način rukovanja životinjama, stres, dehidracija i dr.)

(Nutsch i sar., 2005; Dowell, 2010). Procenat oboljevanja junadi od BRD može značajno da se smanji ako se faktori rizika svedu na minimum, sprovede adekvatna imunoprofilaksa i minimizira preventivna primena antibakterijskih lekova (Perino i Apley, 1999; Panousis, 2009). Međutim, dokazano je da zbog velikog broja uzročnika respiratornih infekcija ni polivalentne vakcine nisu apsolutno efikasne (Mosier i sar., 1998).

Kod junadi se morbiditet i mortalitet zbog bakterijske BRD mogu značajno smanjiti ako se blagovremeno postavi dijagnoza i započne terapija. U mnogim zemljama, u kojima je zvanično odobrena primena antibakterijskih lekova za profilaktički tretman kod goveda, veterinari bakterijsku infekciju respiratornog sistema „kontrolišu“ primenom ovih lekova kod zdrave junadi u cilju prevencije i sprečavanja širenja infekcije, kao i za lečenje već obolele junadi (EMEA; ECDC; FDA; WHO/FAO/OIE; Schwarz i Chaslus-Dancla, 2001; Rosi i sar, 2010).

Brojni autori imaju oprečne stavove u vezi sa preventivnom primenom antibakterijskih lekova kod zdrave junadi. Ne postoji jedinstven odgovor na pitanja – koji su antimikrobni lekovi i doze efikasni u prevenciji, nemaju negativan uticaj na proizvodne sposobnosti, zdravstveno stanje i razvoj, ne stvaraju rezistenciju i, najzad, koliko se taj tretman isplati (Van Donkersgoed, 1992; Metzner i sar., 1999).

Širenje bakterijske BRD sa obolele junadi sprečava se metafilaktičkom primenom antimikrobnih lekova kada broj obolelih dostigne „prag tolerancije“. Lekovima odabranim na osnovu antibiograma, uglavnom sa produženim delovanjem, tretiraju se sve jedinice sumnjive na BP koje su bile u kontaktu sa obolelima. Ovakav prilaz daje dobre rezultate i smanjuje morbiditet (Gibbs, 2001; Wellman i O'Connor, 2007; Catry i sar., 2008; Rosi, 2010). U zemljama EU, većina standardnih preparata (amoksisilin HCl, ampicilin HCl, tilozin, sulfametoksazol+trimetoprim, enrofloksacin, gentamicin i dr) i antibakterijskih lekova sa produženim delovanjem (florfenikol, tulatromicin, tilmikozin, marbofloksacin, ceftiofur, oksitetraciklin i dr.) odobrena je za metafilaksu BRD junadi (Bishop, 2005). Kod nas su ovi lekovi registrovani isključivo za lečenje.

Visoku efikasnost (70-90 %) u preveniranju i lečenju BP junadi izazvane pasterelama pokazali su novi makrolidni antibiotici, cefalosporini III generacije, fenikoli i fluorohinoloni (Rowan i sar., 2004; Kilgore i sar., 2005; Rooney i sar., 2005; Wellman i O'Connor, 2007; Catry i sar., 2008; Rosi, 2010). Oni postižu kliničku efikasnost u lečenju jedan do dva dana posle primene, a retko je potrebno da se daju duže nego što je određeno uputstvom (Icen i sar., 2009; Panousis, 2009; Kehrenberg i sar., 2001).

Novi antibakterijski lekovi (tulatromicin, florfenikol, ceftiofur) znatno su efikasniji protiv većine sojeva pasterela koji su ili slabo osetljivi ili rezistentni na druge antimikrobne lekove. Zbog svoje liposolubilnosti, oni se brzo i kompletno apsorbuju i u plućnom parenhimu dostižu nekoliko puta veće koncentracije nego u plazmi. U plućnom tkivu se tokom sedam dana održavaju u koncentracijama višim od MIC-a za većinu gram-negativnih i pozitivnih bakterija i mikoplazmi.

Cilj ovog rada bio je da se ispita osetljivost mikroorganizama gornjih respiratornih puteva junadi obolele od BRD na tulatromicin i florfenikol i ustanovi njihova efikasnost u lečenju. Rezultati treba da definišu lek prvog izbora u lečenju bakterijske respiratorne infekcije junadi koja potiču sa našeg terena.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Efikasnost tulatromicina i florfenikola u lečenju BRD ispitivana je na 19 junadi holštajn rase starih oko 6 meseci, na farmi Poljoprivrednog kombinata Beograd „Lepušnica“. Bronhopneumonija je dijagnostikovana kliničkim i mikrobiološkim metodama. Junad nisu bila tretirana antimikrobnim lekovima tri nedelje pre početka oglada.

Životinje su podeljene u dve grupe: grupa I (10 jedinki) tretirana je tulatromicinom (Draxxin inj, Pfizer), a grupa II (9 jedinki) florfenikolom (Floron inj, Krka). Tulatromicin je primenjen jednokratno u terapijskoj dozi od 2,4 mg/kg, florfenikol dvokratno, u razmaku od 48 h, u terapijskoj dozi od 40 mg/kg. Oba leka su aplikovana s.c. u predelu vrata.

Uzročnici BP izolovani su i identifikovani iz briseva nosa, standardnim mikrobiološkim metodama, i to: pre početka primene lekova i 7 i 28 dana posle primene lekova. Iz sekreta suznih žlezda prouzrokovajući BP nisu mogli da budu izolovani. Ispitivanje osetljivosti izolovane *Pasteurella multocida* na tulatromicin i florfenikol obavljeno je disk-difuzionom metodom, prema originalnom uputstvu proizvođača antibiogram tableta (Pfizer i Krka). Ispitivanja su izvedena u mikrobiološkoj laboratoriji Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije u Beogradu.

Zdravstveno stanje junadi obolele od BP ocenjeno je na osnovu kriterijuma koje su dali Braidwood i Henry (1990). Parametri procene su kvantifikovani da bi se dobio klinički skor. Po jedan bod dat je za izmenjen izgled sekreta nosa i očiju, obostrani konjunktivitis, kašalj, prisustvo patoloških disajnih šumova, uvećane submandibularne limfne čvorove i izmenjeno opšte stanje životinja (apetit, telesna masa, konzistencija fecesa i ponašanje). Depresija disanja nosila je 20 poena, a hiperpireksija i dispneja 10. Odsustvo simptoma ocenjeno je nulom. Na ovaj način određen maksimalan broj bodova za obolelu životinju iznosi 47 i označava izuzetno težak oblik BP.

Klinički pregled i ocena parametara BP obavljani su neposredno pred aplikaciju tulatromicina i florfenikola, svakodnevno u prvih sedam dana od davanja lekova i 28. i 35. dana posle njihove primene.

Da bi se postigla ujednačenost eksperimentalnih grupa, one su formirane na osnovu kliničkih parametara BP pre početka ispitivanja. Klinička efikasnost tulatromicina i florfenikola u lečenju BRD procenjavana je na osnovu povlačenja kliničkih simptoma (mean recovery response, MRR izražen u %). Brisevi nosa uzimani su za pregled 7. dana od početka i 28. i 35. dana od prekida lečenja.

Rezultati su statistički obrađeni primenom mera varijacije. Testiranje statističke značajnosti razlika srednjih vrednosti ispitivanih parametara kod lečene

junadi urađeno je analizom varijanse i t-testom primenom aplikacije MS Excell 2007.

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Ispitivanje prisustva mikroorganizama u brisevima nosa obavljeno je kod 27 junadi sa sličnom kliničkom slikom BP. Mikrobiološkim ispitivanjima kod osam životinja nije izolovana *Pasteurella spp.* pa one nisu bile uključene u ogled. Kod preostalih 19 junadi izolovana je *Pasteurella multocida*, a kod pet istovremeno i *Streptococcus alfa haemolyticus* u malom broju.

Deset junadi sa potvrđenom dijagnozom tretirano je TU (I grupa), a devet FL (II grupa). U tabeli 1 prikazan je individualni klinički skor (IKS) pre primene lekova, a u tabeli 2, IKS posle prvog dana od primene TU i FL.

IKS parametara za procenu težine kliničke slike BP kod junadi pre primene i jedan dan posle aplikacije tulatromicina (TU) kretao se od 23 do 24 boda ($23,2 \pm 0,1$), a odgovarajuće vrednosti kod junadi tretirane florfenikolom (FL) od 23 do 25 ($24,1 \pm 0,2$) (tabela 1, 2). Kod svih netretiranih životinja, kao i jedan dan posle prve primene FL ustanovljena je povišena telesna temperatura (40 do $40,5^{\circ}\text{C}$), dispneja, pojačana sekrecija iz nosa i depresivno ponašanje. Kod 9 od 10 junadi tretiranih TU i kod 6 od 9 tretiranih FL ustanovljen je kašalj. Poremećaj frekvencije disanja ustanovljen je kod 2 životinje lečene TU, i kod svih lečenih FL. Kod jednog juneta lečenog TU i kod 4 od 9 lečenih FL, prvog dana posle aplikacije lekova ustanovljeni su patološki respiratorni šumovi. Ni kod jedne obolele životinje nisu ustanovljeni obostrani konjunktivitis, uvećani submandibularni limfni čvorovi, niti depresija disanja.

Drugog dana od aplikacije TU i FL, kod svih jedinki obe grupe uočena je hipertermija ($40,0$ do $40,5^{\circ}\text{C}$) i dispneja. Pojačana sekrecija iz nosa zapažena je kod 6 junadi lečenih TU i kod 3 lečena FL, dok je depresivno ponašanje ustanovljeno kod svih životinja lečenih FL, ali ni kod jedne lečene TU. Kod 9 junadi lečenih TU i 6 lečenih FL registrovan je kašalj. Poremećena frekvencija disanja ustanovljena je samo kod jednog juneta lečenog TU i kod 6 lečenih FL. Patološki respiratorni šumovi registrovani su kod jedne jedinke lečene TU i kod 4 lečene FL (tabela 3).

Drugog dana od aplikacije lekova, IKS kod junadi lečene TU kretao se od 21 do 23 ($21,7 \pm 0,2$) i bio je manji nego pre tretmana i prethodnog dana (tabela 3,1,2). Istovremeno, IKS kod lečenih FL varirao je od 22 do 24 ($23,1 \pm 0,3$). Prosečni KS bio je značajno manji ($p < 0,01$) kod junadi lečene TU nego kod lečenih FL (tabela 9). Klinička efikasnost TU dva dana posle aplikacije bila je značajno veća od efikasnosti FL u lečenju BP junadi.

Tabela 1. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi pre aplikacije tulatromicina (T) i florfenikola (F)
 Table 1. Individual clinical scores for assessing bronchopneumonia in feedlot calves prior to administration of tulathromycin (T) and florfenicol (F)

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T.(°C) / Body temperature (°C)	Frekven- cija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Izgled nosnog sekreta / Nasal secretion	Izgled sek- reta iz oka / Ocular secre- tion	Obostrani konjun- ktivitis / Bilateral conjunctivitis	Kašali / Cough	Prisustvo patoloških respiratornih šumova / Presence of pathological respiratory murmurs	Povećanje subma- nibularnih limfnih čvorova / Increase of subman- dibular lymph nodes	Opšte stanje (apetit, telesna masa, konzis- tencija fecesa, ponašanje) / General condi- tion (appetite, body mass, con- sistency of fae- ces, behaviour)	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	40,0 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
2T	40,0 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
3T	40,0 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
4T	40,0 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
5T	40,5 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	24
6T	40,0 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
7T	40,2 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
8T	40,2 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
9T	40,2 (10)	0	10	1	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23

nastavakabele 1 / cont. Table 1

10T	40,4 (10)	1	10	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	24
1F	40,0 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
2F	40,3 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
3F	40,4 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
4F	40,5 (10)	1	10	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1 (Depresija)	24
5F	40,5 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
6F	40,5 (10)	1	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
7F	40,6 (10)	1	10	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1 (Depresija / Depression)	24
8F	40,6 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1 (Depresija)	25
9F	40,6 (10)	1	10	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1 (Depresija / Depression)	25

Tabela 2. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 1. dana od početka primene TU i FL
Table 2. Individual clinical scores for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 1 day after administration of TU and FL

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Izgled sekreta nosa / Nasal secretion	Kašalj / Cough	Prisustvo patoloških respiratornih šumova / Presence of pathological respiratory murmurs	Opšte stanje (apetit, telesna masa, konzistencija fecesa, ponašanje) / General condition (appetite, body mass, consistency of faeces, behaviour)	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
2T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
3T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
4T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
5T	40,5 (10)	1	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
6T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
7T	40,2 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
8T	40,2 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
9T	40,2 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
10T	40,4 (10)	1	10	1	0	1	1 (Depresija / Depression)	24
1F	40,0 (10)	1	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	24

nastavak tab. 2 / cont. Tab. 2

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Izgled sekreta nosa / Nasal secretion	Kašalj / Cough	Prisustvo patoloških respiratornih šumova / Presence of pathological respiratory murmurs	Opšte stanje (apetit, telesna masa, konzistencija fecesa, ponašanje) / General condition (appetite, body mass, consistency of faeces, behaviour)	Ukupan broj bodova / Total points scored
2F	40,0 (10)	1	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
3F	40,0 (10)	1	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
4F	40,1 (10)	1	10	1	0	1	1 (Depresija / Depression)	24
5F	40,0 (10)	1	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	24
6F	40,2 (10)	1	10	1	0	0	1 (Depresija / Depression)	23
7F	40,3 (10)	1	10	1	0	1	1 (Depresija / Depression)	24
8F	40,2 (10)	1	10	1	1	1	1 (Depresija / Depression)	25
9F	40,3 (10)	1	10	1	1	1	1 (Depresija / Depression)	25

Tabela 3. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 2. dana od početka primene TU i FL
Table 3. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 2 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Sekret iz nosa / Nasal secretion	Kašalj / Cough	Patološki respiratorni šumovi / Pathological respiratory murmurs	Opšte stanje / General condition	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	40,0 (10)	0	10	0	1	0	0	21
2T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	0	22
3T	40,0 (10)	0	10	0	1	0	0	21
4T	40,0 (10)	0	10	0	1	0	0	21
5T	40,4 (10)	1	10	0	1	1	0	23
6T	40,0 (10)	0	10	0	1	0	0	22
7T	40,1 (10)	0	10	1	1	0	0	22
8T	40,0 (10)	0	10	1	1	0	0	22
9T	40,1 (10)	0	10	0	1	0	0	21
10T	40,0 (10)	0	10	0	1	1	0	22
1F	40,0 (10)	0	10	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	22
2F	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
3F	40,0 (10)	0	10	1	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
4F	40,1 (10)	1	10	1	0	1	1 (Depresija / Depression)	24
5F	40,0 (10)	1	10	0	1	0	1 (Depresija / Depression)	23
6F	40,2 (10)	1	10	0	0	0	1 (Depresija / Depression)	22
7F	40,1 (10)	1	10	0	0	1	1 (Depresija / Depression)	23
8F	40,2 (10)	1	10	0	1	1	1 (Depresija / Depression)	24
9F	40,1 (10)	1	10	0	1	1	1 (Depresija / Depression)	24

Trećeg dana od aplikacije TU, odnosno prvog dana od ponovljene aplikacije FL, kod svih jedinki iz obeju grupa telesna temperatura je bila povišena ($40,0$ do $40,4^{\circ}\text{C}$). Dispneja je ustanovljena kod 4 od 10 životinja lečenih TU i kod 5 od 9 lečenih FL. Pojačana sekrecija iz nosa zapažena je kod 4 životinje lečene TU i kod 3 lečene FL, a depresivno ponašanje jedino kod 4 lečene FL, ali ne i kod onih lečenih TU. Kod 9 junadi lečenih TU i 6 lečenih FL kašalj nije nestao. Poremećena frekvencija disanja ustanovljena je samo kod jednog juneta tretiranog TU i kod 6 lečenih FL. Kod jedne jedinke lečene TU i kod 4 lečene FL ustanovljeni su patološki respiratorni šumovi (tabela 4).

IKS parametara BP junadi lečene TU trećeg dana posle njegove aplikacije kretao se od 11 do 23 ($15,5 \pm 1,65$), a IKS parametara BP junadi lečene FL od 11 do 24 ($18,1 \pm 1,9$) (tabela 4). Prosečan KS parametara BP kod junadi lečene TU bio je značajno manji nego kod junadi lečene FL (tabela 10, grafikon 1).

Povlačenje kliničkih simptoma BP kod junadi lečene TU bilo je značajno izraženije nego kod one lečene FL. Klinička efikasnost TU iznosila je prosečno $33,5 \pm 1,6$ %, a FL $24,9 \pm 1,88$ % (tabela 11). Smanjenje prosečnih vrednosti KS trećeg dana od aplikacije lekova u poređenju sa vrednostima pre lečenja statistički je značajno ($p < 0,01$) (tabele 11 i 12; grafikon 2).

Četvrtog dana od aplikacije TU i FL, odnosno drugog dana od ponovljene aplikacije FL, kod svih jedinki obe grupe telesna temperatura se kretala od $39,1$ do $39,8^{\circ}\text{C}$. Dispneja je ustanovljena kod tri životinje lečene TU i kod pet lečenih FL. Pojačana sekrecija iz nosa zadržala se samo kod jedne životinje tretirane FL, a prestala je kod lečenih TU. Depresivno ponašanje uočeno je kod jedne jedine jedinke lečene FL. Ni kod jedne životinje lečene TU nije zapažen kašalj, dok je kod 5 lečenih FL on bio izražen. Poremećaj frekvencije disanja ustanovljen je samo kod jedne životinje tretirane TU i kod 6 lečenih FL. Kod jednog juneta lečenog TU i kod 4 lečenih FL patološki respiratorni šumovi nisu otklonjeni (tabela 5).

IKS kod junadi lečene TU četvrtog dana od njegove aplikacije varirao je između 10 i 20 ($13,2 \pm 1,5$), a u isto vreme kod one lečene FL između 11 i 23 boda ($17,6 \pm 1,6$) (tabele 5 i 9). Prosečan KS kod junadi lečene TU bio je značajno manji nego u grupi tretiranoj FL (tabele 10 i 11). Povlačenje kliničkih simptoma BP kod junadi lečene TU bilo je signifikantno izraženije ($p < 0,05$), u poređenju sa grupom lečenom FL. Klinička efikasnost tulatromicina u lečenju BP junadi četvrtog dana od njegove primene iznosila je $43,4 \pm 1,5$ %, a florfenikola $27,2 \pm 1,6$ % (tabela 11).

Petog dana posle aplikacije TU i FL, odnosno trećeg dana od druge aplikacije FL, kod svih jedinki obeju tretiranih grupa ustanovljena je samo povišena telesna temperatura ($39,1$ do $39,5^{\circ}\text{C}$). Ostali klinički simptomi BP nisu ustanovljeni (tabela 6).

Individualni i prosečni KS parametara BP junadi lečene TU i FL petog dana od početka aplikacije iznosili su 10 (tabele 6, 9 i 10). Klinička efikasnost TU bila je $57,1 \pm 0,0$ %, a florfenikola $58,5 \pm 0,0$ % (tabela 11).

Tabela 4. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 3. dana od početka primene TU i FL
 Table 4. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 3 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Sekret iz nosa / Nasal secretion	Kašalj / Cough	Patološki respiratorni šumovi / Pathological respiratory murmurs	Opšte stanje / General condition	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	39,8 (10)	0	0	0	1	0	0	11
2T	39,7 (10)	0	0	1	1	0	0	12
3T	39,8 (10)	0	0	0	1	0	0	11
4T	39,9 (10)	0	10	0	1	0	0	21
5T	39,9 (10)	1	10	0	1	1	0	23
6T	39,6 (10)	0	0	0	1	0	0	11
7T	39,8 (10)	0	0	1	1	0	0	12
8T	39,9 (10)	0	10	0	1	0	0	21
9T	39,9 (10)	0	10	0	1	0	0	21
10T	39,8 (10)	0	0	0	1	1	0	12
1F	39,8 (10)	0	0	0	1	0	0	11
2F	39,8 (10)	0	0	1	1	0	0	12
3F	39,9 (10)	0	10	1	1	0	0	22
4F	39,8 (10)	1	10	1	0	1	0	23
5F	39,8 (10)	1	0	0	1	0	0	12
6F	39,9 (10)	1	10	0	0	0	1 (Depresija / Depression)	22
7F	39,9 (10)	1	10	0	0	1	1 (Depresija / Depression)	23
8F	39,8 (10)	1	0	0	1	1	1 (Depresija / Depression)	14
9F	39,8 (10)	1	10	0	1	1	1 (Depresija / Depression)	24

Tabela 5. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 4. dana od početka primene TU i FL /
Table 5. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 4 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Frekvencija disanja / Breathing frequency	Dispneja / Dyspnoea	Sekret iz nosa / Nasal secretion	Kašalj / Cough	Patološki respiratorni šumovi / Pathological respiratory murmurs	Opšte stanje / General condition	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	39,5 (10)	0	0	0	0	0	0	10
2T	39,4 (10)	0	0	0	0	0	0	10
3T	39,7 (10)	0	0	0	0	0	0	20
4T	39,7 (10)	0	10	0	0	0	0	20
5T	39,1 (10)	1	10	0	0	1	0	11
6T	39,5 (10)	0	0	0	0	0	0	10
7T	39,6 (10)	0	0	0	0	0	0	10
8T	39,6 (10)	0	0	0	0	0	0	10
9T	39,7 (10)	0	10	0	0	0	0	20
10T	39,7 (10)	0	0	0	1	1	0	11
1F	39,7 (10)	0	10	0	0	0	0	21
2F	39,7 (10)	0	10	0	0	0	0	21
3F	39,6 (10)	0	10	1	0	0	0	22
4F	39,6 (10)	1	10	0	1	1	0	22
5F	39,8 (10)	1	10	0	0	0	0	22
6F	39,7 (10)	1	0	0	0	0	0	11
7F	39,8 (10)	1	0	0	1	1	0	12
8F	39,7 (10)	1	0	0	1	1	1 (Depresija / Depression)	14
9F	39,6 (10)	1	0	0	1	1	0	13

Tabela 6. Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 5. dana od početka primene TU i FL

Table 6. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 5 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / Mark of calf	T.T. / Body temperature (°C)	Ukupan broj bodova / Total points scored
1T	39,8 (10)	11
2T	39,7 (10)	12
3T	39,8 (10)	11
4T	39,9 (10)	21
5T	39,9 (10)	23
6T	39,6 (10)	11
7T	39,8 (10)	12
8T	39,9 (10)	21
9T	39,9 (10)	21
10T	39,8 (10)	12
1F	39,8 (10)	11
2F	39,8 (10)	12
3F	39,9 (10)	22
4F	39,8 (10)	23
5F	39,8 (10)	12
6F	39,9 (10)	22
7F	39,9 (10)	23
8F	39,8 (10)	14
9F	39,8 (10)	24

Šestog dana od aplikacije TU, odnosno četvrtog dana od druge aplikacije FL, kod svih jedinki obe grupe telesna temperatura je bila u fiziološkim granicama (38,6 do 39,0 °C), a svi ostali simptomi su se povukli (tabela 7). Prosečni KS kod junadi lečene TU i FL iznosio je 0 bodova (tabele 7, 9 i 10), a klinička efikasnost oba leka u lečenju BP dostigla je 100 % (tabela 11, grafikoni 1 i 2).

Sedmog dana od aplikacije TU i FL, i petog dana od ponovljene aplikacije FL, klinički skorovi parametara BP ostali su neizmenjeni (Tabela 8, 10), kao i njihova klinička efikasnost (tabela 11, grafikoni 1 i 2).

Međutim, 28 dana posle primene TU i 26 dana od obustavljanja FL ponovo su uočeni klinički simptomi BP. Klinička dijagnoza potvrđena je izolacijom *P. multocida*. Recidiv BP zabeležen je kod 3 od 10 junadi lečene TU i kod 2 od 9 lečenih FL (tabela 9). Prosečan klinički skor parametara BP u prvoj grupi iznosio je $12,6 \pm 0,6$, a u drugoj $24 \pm 0,0$ (tabela 12). Iz ovih razloga, životinje su ponovo jednokratno tretirane TU i FL. Sedam dana posle primene lekova, odnosno 35. dana posle prvog tretmana klinički simptomi BP junadi potpuno su se povukli.

Tabela 7. *Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 6. dana od početka primene TU i FL /*

Table 7. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 6 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / <i>Mark of calf</i>	T.T. / <i>Body temperature (°C)</i>	Ukupan broj bodova / <i>Total points scored</i>
1T	38,8 (0)	0
2T	38,7 (0)	0
3T	38,6 (0)	0
4T	38,8 (0)	0
5T	38,9 (0)	0
6T	38,7 (0)	0
7T	39,0 (0)	0
8T	39,0 (0)	0
9T	39,0 (0)	0
10T	38,9 (0)	0
1F	38,6 (0)	0
2F	38,6 (0)	0
3F	38,7 (0)	0
4F	39,0 (0)	0
5F	39,0 (0)	0
6F	39,0 (0)	0
7F	39,0 (0)	0
8F	39,0 (0)	0
9F	39,0 (0)	0

Tabela 8. *Individualni klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi 7. dana od početka primene TU i FL /*

Table 8. Individual clinical score for assessing bronchopneumonia in feedlot calves 7 days after initial administration of TU and FL

Oznaka junadi / <i>Mark of calf</i>	T.T. / <i>Body temperature (°C)</i>	Ukupan broj bodova / <i>Total points scored</i>
1T	38,9 (0)	0
2T	38,8 (0)	0
3T	38,9 (0)	0
4T	39,0 (0)	0
5T	38,5 (0)	0
6T	38,5 (0)	0
7T	38,7 (0)	0
8T	38,6 (0)	0
9T	39,0 (0)	0
10T	38,6 (0)	0
1F	38,7 (0)	0
2F	38,5 (0)	0
3F	38,8 (0)	0
4F	38,8 (0)	0
5F	38,7 (0)	0
6F	38,7 (0)	0
7F	38,8 (0)	0
8F	38,6 (0)	0
9F	38,5 (0)	0

Tabela 9. Zbirni IKS kod junadi lečene TU i FL od 1. do 7. dana od početka primene lekova i 28. i 35. dana od obustavljanja prvog tretmana
 Table 9. Summary of ICSs in feedlot calves treated with TU and FL from day 1 to 7 following initial treatment and on days 28 and 35 after its completion

Oznaka juneta / Mark of calf	Dani posmatranja / Days of observation								
	1	2	3	4	5	6	7	28	35
Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>									
1T	23	21	11	10	10	0	0	13	0
2T	23	22	12	10	10	0	0	12	0
3T	23	21	11	20	10	0	0	13	0
4T	23	21	21	20	10	0	0	0	0
5T	24	23	23	11	10	0	0	0	0
6T	23	22	11	10	10	0	0	0	0
7T	23	22	12	10	10	0	0	0	0
8T	23	22	21	10	10	0	0	0	0
9T	23	21	21	20	10	0	0	0	0
10T	24	22	12	11	10	0	0	0	0
Srednja vrednost /	23,2	21,7	15,5	13,2	10,0	0,0	0,0	3,8	0,0
SE	0,1	0,2	1,6	1,5	0,0	0,0	0,0	1,9	0,0
Florfenikol / <i>Florfenicol</i>									
1F	24	22	11	21	10	0	0	0	0
2F	24	23	12	21	10	0	0	0	0
3F	24	23	22	22	10	0	0	0	0
4F	24	24	23	22	10	0	0	0	0
5F	24	23	12	22	10	0	0	24	0
6F	23	22	22	11	10	0	0	0	0
7F	24	23	23	12	10	0	0	24	0
8F	25	24	14	14	10	0	0	0	0
9F	25	24	24	13	10	0	0	0	0
Srednja vrednost / Mean value	24,1	23,1	18,1	17,6	10,0	0,0	0,0	5,3	0,0
SE	0,2	0,3	1,9	1,6	0,0	0,0	0,0	3,5	0,0

Tabela 10. Prosečan KS po danima od početka aplikacije TU i FL /
Table 10. Average CS following initial administration of TU and FL

Dan od aplikacije leka / Day from appl. of medicine	Lekovi / Medicine	Broj junadi / No of calves	Srednja vrednost KS / Mean value CS	Minimalni KS / Minimal CS	Maksimalni KS / Maximal CS	Standardna greška / Stand. error
1	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	23,20	23	24	0,13
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	24,11	23	25	0,20
2	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	21,70	21	23	0,21
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	23,11	22	24	0,26
3	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	15,50	11	23	1,65
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	18,11	11	24	1,88
4	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	13,20	10	20	1,49
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	17,56	11	22	1,62
5	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	10,00	10	10	0,00
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	10,00	10	10	0,00
6	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	0,00	0	0	0,00
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	0,00	0	0	0,00
7	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	0,00	0	0	0,00
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	0,00	0	0	0,00

Tabela 11. Povlačenje kliničkih simptoma bronhopneumonije (MRR) kod junadi lečene TU i FL /

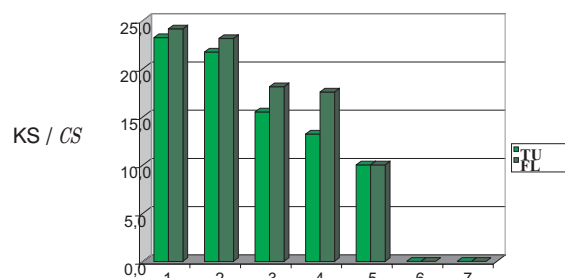
Table 11. Withdrawal of clinical symptoms of bronchopneumonia (MRR) in feedlot calves treated with TU and FL

Dan od početka aplikacije / Day from start of application	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>			Florfenikol / <i>Florfenicol</i>		
	Prosečna vrednost KS / Average value CS	Min-max	MRR %	Prosečna vrednost KS / Average value CS	Min-max	MRR %
1	23.30±0.13	23-24	0.0	24.11±0.20	23-25	0.0
2	21.70±0.21	21-23	6.9	23.11±0.26	22-24	4.2
3	15.50±1.65	11-23	33.5*	18.11±1.88	11-24	24.9*
4	13.20±1.49	10-20	43.4*	17.56±1.62	11-22	27.2*
5	10.00±0.00	10-10	57.1*	10.00±0.00	10-10	58.5*
6	0.00±0.00	0-0	100.0	0.00±0.00	0-0	100.0
7	0.00±0.00	0-0	100.0	0.00±0.00	0-0	100.0

*p<0,01

Tabela 12. Prosečan KS 28. i 35. dana po obustavljanju primene TU i FL /
Table 12. Mean CS on days 28 and 35 following completion of administration of TU and FL

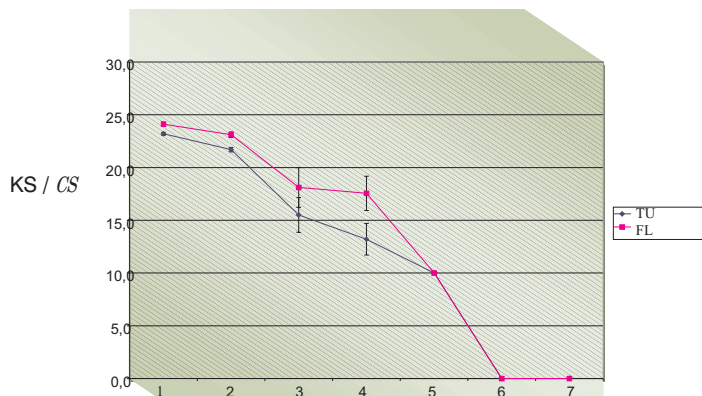
Dan od obustavljanja terapije / Days from end of therapy	Terapija / Therapy	Broj junadi / Number of calves	Recidiv/ Lečena junad / Relapse/ Treated calves	Srednja vrednost KS / Mean value CS	Min skor / Min score	Max skor / Max score
28	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	3/10	12,67±0,30	12	13
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	2/9	24,00±0,00	24	24
35	Tulatromicin / <i>Tulathromycin</i>	10	Nema	0,00±0,00	0	0
	Florfenikol / <i>Florfenicol</i>	9	Nema	0,00±0,00	0	0



Dani od pocetka aplikacije leka / Days from beginning of administration of drugs

Grafikon 1. Prosečan klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi od 1. do 7. dana /

Figure 1. Average clinical score (CS) for assessing bronchopneumonia in calves from day 1 to 7



Dani od pocetka aplikacije leka / Days from beginning of administration of drugs

Grafikon 2. Prosečan klinički skor parametara za procenu težine bronhopneumonije junadi od 1. do 7. dana od početka primene TU i FL

Figure 2. Average clinical score for assessing bronchopneumonia in calves from day 1 to 7 after initial administration of TU and FL

Diskusija i zaključak / Discussion and conclusion

Iz priloženih rezultata može se videti da je kod 19 (70,37 %) od ukupno 27 junadi obolele od kliničke forme BP iz briseva nosa izolovana *Pasteurella multocida*. Kod 5 junadi (26,31 %) osim *Pasteurella multocida* izolovan je i *Streptococcus alpha haemolyticus*, a kod 8 (29,62 %) od ukupno 27 mikrobiološki nalaz bio je negativan. Iz briseva oka svih ispitivanih junadi nisu mogli da se izoluju prozrokovajući.

Pasteurella multocida je veoma čest prouzrokovatelj BP junadi, kako kod nas tako i u svetu (Šamanc i sar., 1990; Kehrenberg i sar., 2001; Mohammadi i sar., 2006; Catry i sar., 2006; Icen, 2009; Šamanc, 2010).

Prosečan KS kod junadi obolele od kliničke forme bronhopneumonije (19 životinja) u našem ogledu iznosio je $23,5 \pm 0,15$ od maksimalnih 47 bodova, što ukazuje na srednje težak oblik BP. Kod svih junadi zabeležena je povišena telesna temperatura koja se kretala od 40,0 do 40,5°C, dispneja, serozno-mukozni iscedak iz nosa i depresivno ponašanje. Kod većine junadi (15 od ukupno 19) ustanovljen je kašalj, kod 11 od 19 poremećena frekvencija disanja, a kod 5 i patološki respiratorni šumovi. Ni kod jednog obolelog juneta, počev od prvog do sedmog dana od aplikacije lekova nisu uočeni iscedak iz oka, konjunktivitis i povećanje submandibularnih limfnih čvorova, niti depresija disanja (tabele 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 i 9).

Na osnovu rezultata ispitivanja uticaja TU i FL na vrednost KS bronhopneumonije junadi može se zapaziti da oba leka prva dva dana od aplikacije ne utiču značajno na povišenu telesnu temperaturu, dispneju, sekreciju iz nosa i kašalj (tabele 1 i 2). Drugog dana od aplikacije TU je otklonio depresivno ponašanje i gubitak apetita kod svih tretiranih životinja (100 % efikasnost), dok su ovi efekti izostali kod životinja lečenih FL (tabela 3). Efikasnost TU u povlačenju kliničkih simptoma BP drugog dana od primene u odnosu na prvi dan iznosila je 6,9 %, a florfenikola 4,2 % (tabela 11). Prosečna vrednost KS kod junadi lečene TU iznosila je $21,70 \pm 0,21$ bodova, a florfenikolom $23,10 \pm 0,30$ (tabela 11).

Da TU brzo dovodi do poboljšanja kliničke slike BP junadi izazvane pasterelama navode i drugi istraživači. Već posle 24 h od aplikacije, TU kod 95 % junadi prouzrokuje značajno poboljšanje opšteg zdravstvenog stanja, dok kod 59% normalizuje telesnu temperaturu. Međutim, kod 89 % junadi lečene TU izlečenje nastupa tek desetog dana od njegove aplikacije (Grothues i sar., 2005).

Trećeg dana od aplikacije TU i prve aplikacije FL, kao i prvog dana od druge aplikacije FL, zapaženo je povlačenje pojedinih kliničkih simptoma BP kod većine junadi (dispneja, nosni iscedak, poremećena frekvencija disanja, depresija). Ustanovljena je statistički značajna razlika u smanjenju vrednosti kliničkog skora BP kod junadi lečene TU ($15,50 \pm 1,65$ bodova) u odnosu na vrednosti KS kod junadi lečene FL ($18,11 \pm 1,88$ bodova) (tabela 11). Takođe, značajnost je vidljiva i kada se porede prosečne vrednosti kliničkih skorova BP dobijene prvog i drugog dana posle primene oba leka u odnosu na treći dan od prve aplikacije TU i

FL i druge FL (tabela 11). Važno je istaći da je ovo smanjenje vrednosti kliničkog skora BP, odnosno vraćanje kliničkih simptoma na fiziološke vrednosti trećeg dana od primene TU u odnosu na prvi dan vidljivo kod $33,5 \pm 1,65$ % lečene junadi, a posle primene FL kod $24,9 \pm 1,88$ %. Smanjenje kliničkog skora BP trećeg dana od početka primene lekova značajno je veće u odnosu na prethodni dan. Po svemu sudeći, TU je efikasniji antibiotik od FL u lečenju BP junadi prouzrokovane bakterijom *P. multocida*. Kod više od trećine junadi lečene TU već trećeg dana od njegove primene dolazi do vidljivog oporavka, a posle primene FL kod četvrtine lečene junadi, i to posle njegove druge aplikacije.

Ako se u ovom periodu analizira povlačenje pojedinačnih simptoma BP kod junadi lečene TU može se zaključiti da on otklanja dispneju i sekreciju iz nosa kod 60 % junadi, poremećenu frekvenciju disanja i patološke respiratorne šumove kod čak 90 %, dok je gubitak kašlja ustanovljen samo kod 10 % junadi. Tulatromicin ne utiče na povišenu telesnu temperaturu. Pre lečenja, prosečna vrednost ovog parametra iznosila je $40,15 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, a trećeg dana od primene TU ona je bila neznatno niža, $39,81 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$.

Florfenikol, posle trećeg dana od prve aplikacije i prvog dana od druge, otklanja dispneju kod 55,55 % junadi, sekreciju iz nosa kod 66,67 %, depresivno ponašanje kod 55,56 %, kašalj i poremećenu frekvenciju disanja kod 33,33 % junadi. Florfenikol ne utiče značajno na povišenu telesnu temperaturu ni posle dvokratne aplikacije. Prosečna vrednost telesne temperature pre aplikacije FL iznosila je $40,12 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$, a trećeg dana $39,83 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ (tabele 1 i 4).

Međutim, rezultati drugih autora dobijeni ispitivanjem efikasnosti TU u lečenju BP junadi prouzrokovane gram-negativnim i pozitivnim mikroorganizmima i virusima dobijeni trećeg dana od njegove primene, bili su nešto bolji od naših. Tulatromicin je već trećeg dana od aplikacije efikasnije snižavao povišenu telesnu temperaturu kod sve lečene junadi (od $40,28$ na 39°C), otklanjao kašalj kod 80 % junadi, hipersekreciju iz nosa kod 75 %, a poremećenu frekvenciju disanja i patološke respiratorne šumove kod svih životinja (100 %) (Booker i sar., 2007; Icen, 2009). Takođe, florfenikol je, prema rezultatima drugih autora, već trećeg dana od aplikacije imao prosečnu efikasnost od 90,1 % u smanjivanju kliničkog skora BP prouzrokovane *P. multocida*, pri čemu je značajno snižavao povišenu telesnu temperaturu kod svih tretiranih životinja (Aslan i sar., 2002; Ashraf i sar., 2009), što nije moglo da se ustanovi u našem ispitivanju.

U ovom ogledu ni TU ni FL četvrtog dana od aplikacije nisu značajno snižavali povišenu telesnu temperaturu, u poređenju sa prosečnim vrednostima zabeleženim pre lečenja, drugog i trećeg dana od početka lečenja.

Ustanovljena je statistički značajna razlika u smanjenju vrednosti kliničkog skora BP kod junadi lečene TU ($13,20 \pm 1,49$ bodova) u odnosu na lečenu FL ($17,56 \pm 1,62$ bodova) (tabela 11). Ovo smanjenje ustanovljeno četvrtog dana od primene TU u odnosu na prvi dan vidljivo je kod $43,4 \pm 1,49$ % junadi, a posle primene FL kod $27,2 \pm 1,62$ %. Smanjenje kliničkog skora BP četvrtog dana

od početka primene TU i FL značajno je veće u odnosu na prethodni dan ($P < 0,01$) (tabela 11).

Kada se analizira uticaj TU na povlačenje pojedinačnih kliničkih simptoma BP četvrtog dana od njegove aplikacije može se uočiti da je kod 70% lečene junadi izostala dispneja, a kašalj i hipersekrecija iz nosa kod svih životinja (100 %).

Florfenikol je značajno manje od TU otklanjao kliničke simptome BP iako je njegova aplikacija ponovljena. U ovom periodu posmatranja FL je kod 44,44 % junadi otklonio dispneju, a kod 90 % depresivno ponašanje i hipersekreciju iz nosa. Kod nešto više od polovine lečene junadi (55,55 %) FL je otklanjao respiratorne patološke šumove, a kod manje od polovine kašalj (44,44 %) i poremećenu frekvenciju disanja (33,33 %) (tabela 5).

Petog dana od aplikacije TU i FL i trećeg dana od ponovljene aplikacije FL, individualni kao i prosečan KS kod obe grupe junadi iznosio je 10 bodova, a odnosio se na povišenu telesnu temperaturu koja se kretala od 39,5 do 39,1°C. U ovom periodu ni kod jedne životinje nisu uočeni bilo koji drugi klinički simptomi BP (tabele 6, 9 i 10). Prosečna efikasnost TU u lečenju BP dobijena petog dana od njegove primene iznosila je $57,1 \pm 0,00$ %, a FL $58,5 \pm 0,00$ %. Iz priloženog rezultata vidi se da je FL dostigao efikasnost tulatromicina u lečenju BP tek petog dana od njegove prve aplikacije, odnosno trećeg dana od druge. I jedan i drugi lek značajno su povećali stepen povlačenja kliničkih simptoma u odnosu na početak lečenja ($P < 0,01$) (tabela 11). Šestog dana od aplikacije TU i FL i četvrtog dana od druge aplikacije FL kod svih jedinki obe grupe telesna temperatura se spustila na fiziološku vrednost (od 38,6 do 39,0°C).

Vrednosti individualnog i prosečnog KS parametara BP junadi lečene TU i FL bile su jednake nuli, što znači da su se šestog dana od početka lečenja svi klinički simptomi povukli. Klinička efikasnost TU i FL u lečenju BP junadi šestog dana od početka primene TU i četvrtog dana od druge aplikacije FL iznosila je 100 %.

Sedmog dana od aplikacije TU i FL i petog dana od druge aplikacije FL klinički skorovi parametara BP lečene junadi, kao i klinička efikasnost oba leka bili su isti kao i prethodnog dana. Da su oba leka efikasna u lečenju BP junadi prouzrokovane *P. multocida* dokazuje i negativan mikrobiološki nalaz briseva nosa. Međutim, oba leka su nedovoljno efikasna u lečenju BP prouzrokovane *Str. alpha haemolyticus*, čije je prisustvo dokazano kod 21,05 % lečene junadi.

Sličnu efikasnost TU i FL u lečenju BP junadi prouzrokovane *P. multocida* i *Mannheimia haemolytica* zabeležili su i drugi autori (Aslan i sar. 2002; Grothues i sar., 2005; Kilgore i sar., 2005; Ashraf i sar., 2009).

Naša ispitivanja efikasnosti TU i FL u lečenju BP junadi prouzrokovane *P. multocida* i u manjem stepenu *Staph. aureus* i *Str. alpha haemolyticus* pokazuju da je TU u prva četiri dana od aplikacije imao značajno veću efikasnost od FL ($P < 0,01$). Slične rezultate u poređenju efikasnosti ova dva antibiotika dobili su i drugi autori (Nutsch i sar., 2005; Rooney i sar., 2005; Schunicht i sar., 2007).

Značajno je napomenuti da je TU već drugog dana od aplikacije otklonio depresivno ponašanje i gubitak apetita kod svih životinja, što je izostalo posle primene FL. Trećeg dana TU otklanja dispneju i hipersekreciju iz nosa kod 60 % junadi, dok poremećenu frekvenciju disanja i patološke respiratorne šumove otklanja kod čak 90 % junadi. Značajno slabiju efikasnost u otklanjanju ovih simptoma imao je FL. Očigledno je da je TU brže uspostavljao funkciju organa za disanje i varenje od FL. Slični rezultati u lečenju BP junadi dobijeni su posle trodnevne primene gentamicina i kombinacije streptomocina i penicilina G (Pešić, 2001) ili ceftiofura (Šamanc i sar., 1990). Nedovoljna efikasnost TU i FL u lečenju BP prouzrokovane pasterelama dobijena u prva dva dana od njihove aplikacije može značajno da se popravi ako se primenjuju zajedno sa NSAIL (fluniksimeglumin, meloksikam, diklofenak) (Ashraf i sar., 2009; Guzel i sar., 2010).

Iz prikazanih rezultata jasno se vidi da recidiv BP nastaje posle četiri nedelje od obustavljanja primene lekova, i to kod 3 od 9 (30 %) junadi lečene TU i 2 od 10 junadi (22 %) lečene FL. Klinička dijagnoza recidiva BP potvrđena je izolacijom *P. multocida* iz briseva nosa kod svih 5 junadi. Klinička slika ponovljene BP kod junadi lečene TU bila je slabo izražena, a prosečan KS iznosio je $12,6 \pm 0,6$, dok je kod junadi lečene FL klinička slika bila umereno teška (prosečan KS $24 \pm 0,0$), odnosno ista kao i na početku lečenja. Sedam dana posle ponovnog lečenja recidiva respiratorne infekcije, odnosno 35. dana od obustavljanja prvog tretmana, TU i FL su kod sve lečene junadi doveli do povlačenja kliničkih simptoma BP, a mikrobiološki nalaz je bio negativan.

Recidiv BP ustanovljen 28 dana posle obustavljanja primene TU i prve primene FL zapazili su i drugi autori (Schunicht i sar., 2007; Hannon i sar., 2009).

Literatura / References

1. Andrews AH. Calf respiratory disease In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG. (Ed.) Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. (2nd ed.), 2004, pp: 239-48. Iowa State Press, Blackwell Publishing Company.
2. Ashraf S, Awais O, Muhammad I, Umer Naveed Ch, Muhammad MA. Efficacy of florfenicol against heamorrhagic septiceamia in Buffalo Calves. Pak J Zool Suppl 2009; (9):119-22.
3. Aslan V, Maden M, Erganis O, Birdane FM, Corlu M. Clinical efficacy of florfenicol in the treatment of calf respiratory tract infections. Vet Quart 2002; (24): 35-9.
4. Bishop Y. The veterinary formulary, 6th ed. Pharmaceutical Press, 2005.
5. Booker CW, Abutarbush SM, Schunicht OC, Jim GK, Perrett T, Wildman B K, Guichon PT, Pittman TJ, Jones C, Pollock CM. Evaluation of the efficacy of tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot Calves. Vet Ther 2007; 8(3): 183-200.
6. Boyce JD, Lo RYC, Wilkie I. and Adler B. Pasteurella and Mannheimia. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG and Thoen CO (Ed.) Pathogenesis of Bacterial infections in animals (3 th ed.), 2004; 273-95. Blackwell Publishing, Iowa, USA.
7. Braidwood C, Henry V. Clinical efficacy of chlortetracycline hydrochloride administered in milk replacer to calves. Vet Rec 1990; 127: 297-301.

8. Caluwaerts T, Van de Vein J, Theeuwes P, Veekens W, Opsomer G. Different metaphylactic treatment schemes with Nufloor® compared to Draxxin and control in a naturally occurring outbreak of BRD in veal calves. *European buiatrics forum*, 2009; p 126.
9. Catry B, Decostere A, Schwarz S, Kehrenberg C, de Kruif A, Haesebrouck F. Detection of tetracycline-resistant and susceptible pasteurellaceae in the nasopharynx of loose groupoused calves. *Vet Res Commun* 2006; 30: 707-15.
10. Catry B, Duchateau L, Van de Ven J, Laevens H, Opsomer G, Haesebrouck F, De Kruif A: Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease. *J Vet Pharmacol Ther* 2008; 31(5): 479-87.
11. Catry B. *Pasteurella* and *Mannheimia* species from calves: differentiation and antimicrobial resistance, PhD thesis, Ghent University, Merelbeke, Belgium. 2005.
12. Dewell G. Priručník, Univerzitet savezne države Ajova, Koledž veterinarske medicine, 2010.
13. Donkersgoed J. Meta-analysis of field trials of antimicrobial mass medication for prophylaxis of bovine respiratory disease in feedlot cattle. *Can Vet J* 1992: 786-95.
14. ECDC (<http://www.ecdc.europa.eu>)
15. EMEA (<http://www.emea.europa.eu>)
16. FDA (<http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidance/ucm122050.htm>) WHO/FAO/OIE Expert Workshop on Non-human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific Assessment, Geneva, Switzerland, 1-5, December 2003.
17. Gibbs A. Practical approach to the control of pneumonia in housed calves. *In Practice* 2001; 23: 323-9.
18. Hodgins C, Conlon A, Shewen E. Respiratory Viruses and Bacteria in Cattle, In K. A. Brodgen and J. M. Guthmiller (ed.), *Polymicrobial Diseases*, Chapter 12, ASM Press, 2002.
19. <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidance/ucm122050.htm>
20. Icen S, Sekin S, Yesilmen s, Isik N, Simsek A. Viral and bacterial patogen isolated and identified from pneumonic calves in region of Diyarbakir and its treatment with tulathromycin. *J Anim Vet Adv* 2009, 8 (8):1540-50.
21. Jermolenko G, Mirković M, Cvetković V, Božović V. Imunoprofilaksa i sanacija respiratornih oboljenja junadi. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik*, 2000; 6: 561-6.
22. Kehrenberg C, Schwarz S. Molecular analysis of tetracycline resistance in *Pasteurella aerogenes*. *Antimicrob Agents* 2001, 45: 2885-90.
23. Kehrenberg C, Schulze-Tanzil G, Martel J.L, Chaslus-Dancla E, Schwarz S. Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Vet Res* 2001; 32: 323-39.
24. Kilgore WR, Spensley MS, Sun F, Nutsch RG, Kathleen A, Rooney KA, SkogerboeTL. Clinical Effectiveness of Tulathromycin, a Novel Triamilide Antimicrobial, for the Control of Respiratory Disease in Cattle at High Risk for Developing Bovine Respiratory Disease *Vet Ther* 2005; 6, (2): 136-42.
25. Lazić S, Petrović T, Pušić I, Velhner M. Najčešća virusna oboljenja teladi u industrijskom odgoju. *Veterinarski glasnik* 2004; 58 (1-2): 67-76.
26. Metzner M, Behrmann DD, Klee W. Efficacy of an immune modulator in enzootic pneumonia of dairy calves. *J Vet Med A* 1999;46(5): 293-9.

27. Mohammadi GR, Ghazvini K, Abbas Panah H. Antimicrobial susceptibility testing of Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida isolated from calves with dairy calf pneumonia. Arch Razi Instit 2006; 61 (2):91-6.
28. Mosier DA, Panciera RJ, Rogers DP, Uhlich GA, Butine MD, Confer AW, Basaraba RJ. Comparison of serologic and protective responses induced by two Pasteurella vaccines. Can J Vet Res 1998; 62(3): 178-82.
29. Nutsch RG, Skogerboe TL, Rooney KA, Weigel DJ, Gajewski K, Lechtenberg KF. Comparative Efficacy of Tulathromycin, Tilmicosin, and Florfenicol in the Treatment of Bovine Respiratory Disease in Stocker Cattle. Vet Ther 2005; 6: 167-79.
30. Onat K, Kahya S, Carli T. Frequency and antibiotic susceptibility of Pasteurella multocida and Mannheimia haemolytica isolates from nasal cavities of cattle. Turk J Vet Anim Sci. 2010; 34(1): 91-4.
31. Panousis N. Dairy calf pneumonia: effective treatment depends on early and accurate diagnosis. Veterinarski glasnik 2009; 63(3-4): 177-87.
32. Perino LJ, Apley M: Bovine respiratory disease, In:Howard JL, Smith RA (eds): Current Veterinary Therapy:Food Animal Practice. Philadelphia, WB Saunders, 1999, 446-55.
33. Pešić S. Ispitivanje efikasnosti antibiotske terapije na tok i stepen izlečenja bronhopneumonije teladi. Specijalistički rad, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2001.
34. Rooney KA, Nutsh RG, Skogerboe TL, Weigel DJ, Gajewski K, Kilgore WR. Efficacy of tulathromycin compared with tilmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. Vet Ther 2005; 6: 154-66.
35. Rossi SCA, Vandoni SL, Bonfanti M, Forbes AB. Effects of Arrival Medication with Gamithromycin on Bovine Respiratory Disease in Feedlot Cattle in Italy. Intern J Appl Res Vet Med 2010; 8(2): 87-95.
36. Rowan TG, Sarasola P, Sunderland SJ, Giles CJ, Smith DG. Efficacy of danofloxacin in the treatment of respiratory disease in European cattle. Vet Rec 2004; 154: 585-9.
37. Šamanc H, Damnjanović Z, Marković S, Jonić B, Pilipović S. Primena leka Excenel (Ceftiofur-Na) u lečenju teladi sa respiratornim sindromom. Veterinarski glasnik 1990; 7: 501-620.
38. Šamanc H. Oboljenja respiratornog i kardiovaskularnog sistema goveda. Naučna KMD, 2010.
39. Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet Res 2001; 32: 201-25.
40. Van Donkersgoed J. Meta-analysis of field trials of antimicrobial mass medication for prophylaxis of bovine respiratory disease in feedlot cattle. Can Vet J 1992: 786-95.
41. Vidić B, Boboš S. Haemophilus somni u goveda-epizootiologija, dijagnostika i kontrola. Savremena poljoprivreda 2001; 50(3-4): 261-5.
42. Wellman NG, O'Connor AM. Meta-analysis of treatment of cattle with bovine respiratory disease with tulathromycin. J Vet Pharmacol Ther 2007; 30(3): 234-41.

COMPARATIVE INVESTIGATION ON THE EFFICACY OF TULATHROMYCIN AND FLORFENICOL IN THE TREATMENT OF BRONCHOPNEUMONIA IN FEEDLOT CALVES

Milanka Jezdimirović, Nevenka Aleksić, Ana Barać-Bašević, M. Žutić, V. Ivetić, O. Radanović, N. Jezdimirović

The clinical efficacy of tulathromycin (TU) and florfenicol (FL) in the treatment of bronchopneumonia (BP) caused by *Pasteurella multocida* which was isolated from nose swabs of diseased calves has been examined. The symptoms of bronchopneumonia (BP) were quantified by means of the clinical score (CS) with a maximum of 47 points. In the current investigation the average CS in diseased calves was 23.5 ± 0.15 . The clinical efficacy of TU and FL was assessed every day in the first week after the administration of the drugs and was based on the decrease in CS and on microbiological findings on days 7, 28 and 35 after the completion of therapy. Tulathromycin was administered s.c., in the prescribed therapeutic dose (2.5 mg/kg BW), and florfenicol s.c., twice at a 48 h interval, in its respective therapeutic dose (40 mg/kg BW). In spite of the repeated administration of FL, TU was significantly more rapid to decrease the major clinical symptoms in the first four days following the application, in comparison with FL ($P < 0.05$). On the fourth day after the administration, the clinical efficacy of TU in the therapy of BP in calves was $43.4 \pm 1.5\%$, and of florfenicol $27.2 \pm 1.6\%$. However, five days after the application of TU and two days after the repeated application of FL the assessed clinical efficacy of the two antibiotics was roughly the same. The average efficacy of TU was $57.1 \pm 0.0\%$, and of florfenicol $58.5 \pm 0.0\%$, both the individual and mean CS in the treated calves was 10 points, due to hyperthermia, which remained the only symptom. Six days after the administration of TU and three days after the repeated application of FL both antibiotics had equal maximum efficacy (100%) in the treatment of BP. The clinical efficacy remained unchanged on day seven. The recovery was confirmed by the absence of *P. multocida* in nose swabs sampled on the seventh day after the initial treatment. However, in 4 calves (21.05 %) of the 19 treated *Streptococcus alpha haemolyticus* was isolated. Four weeks after the completion of the treatment with TU and FL the recurrence of BP caused by *P. multocida* was noted in 30% of calves treated with TU and 22.22% with FL. Seven days after a single administration of TU and FL, all clinical symptoms of recurrent BP and the microbiological findings were negative. Given the obtained results of the investigation on the efficacy of TU and FL in calves, TU can be recommended as the drug of first choice in the treatment of BP caused by *P. multocida*. Its insufficient clinical efficacy in the first three days following the application may be enhanced by simultaneous administration of NSAID and bronchodilators.

Key words: tulathromycin, florfenicol, efficacy, BRD, *Pasteurella multocida*, calves

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТУЛАТРОМИЦИНА И ФЛОРФЕНИКОЛА В ЛЕЧЕНИИ БЫЧКОВ

Миланка Ездимирович, Невенка Алексич, Анна Барач-Башевич, М. Жутич, В. Иветич, О. Раданович, Н. Ездимирович

Испытана клиническая эффективность тулатромицина (ТУ) и флорфеникола (ФЛ) в лечении бронхопневмонии (БП) вызванной видом *Pasteurella multocida*, изолированной из мазков носа бычков. Симптомы БП количественны, чтобы получилось клиническое число очков (КО) определяющее тяжёлость клинической картины у животных. Согласно пользованной шкале максимальная стоимость числа КО параметров БП составляет (в сумме) 47 очков. В нашем опыте стоимость среднего числа КО у заболевших бычков составляла (в сумме) $23,5 \pm 0,15$. Клиническая эффективность ТУ и ФЛ оценивана повседневно, в течение семи дней на основе ухода клинических симптомов (уменьшение стоимости числа КО) и присутствия возбудителя БП в мазках носа 7, 28 и 35 дней от отмены терапии. Тулатромицин апплицирован с.к., однократно в терапевтической дозе от 2,5 мг/кг, а флорфеникол с.к. двукратно в промежутке от 48 ч в терапевтической дозе от 40 мг/кг тм. В этом испытании ТУ в первых четырёх дней от аппликации значительно быстрее ФЛ ($P < 0,05$) приводил до ухода значительных клинических симптомов, хотя аппликация ФЛ в этом периоде повторена. Клиническая эффективность ТУ в лечении БП бычков четвёртого дня от применения составляла (в сумме) $43,4 \pm 1,5\%$, а флорфеникола $27,2 \pm 1,6\%$. Между тем, пятого дня от аппликации ТУ и ФЛ и второго дня от второй аппликации ФЛ установлена приблизительно тот же самая клиническая эффективность этих антибиотиков в лечении БП. Средняя эффективность ТУ была $57,1 \pm 0,0\%$, а флорфеникола $58,5 \pm 0\%$. Стоимость индивидуального и среднего числа КО у бычков, леченных ТУ и ФЛ составляла (в сумме) 10 очков. От клинических симптомов только гипертермия не ушла. Шестого дня от аппликации ТУ и ФЛ и тетьего дня от второй аппликации ФЛ оба антибиотика имели одинаковую, максимальную (100%) клиническую эффективность в лечении БП. Такая же клиническая эффективность записана и седьмого дня опыта. Излечение подтверждено отсутствием *P. multocida* в мазках взятым седьмого дня от начала лечения. Между тем, у 4 бычков (21, 0,5%) от совокупно 19 изолирован *Streptococcus alpha haemolyticus*. Четыре недели от приостановки применения ТУ и ФЛ замечен рецидив БП возбуждённой *P. multocida* у 30% бычков, леченных ТУ и 22,22%, леченных ФЛ. После однократного применения ТУ и ФЛ, седьмого дня ушли все клинические симптомы возвращающей БП, а микробиологические результаты были отрицательными. Суммируя результаты, полученные сравнительным испытанием эффективности ТУ и ФЛ в лечении БП бычков возбуждённой *P. multocida* мы предлагаем, что ТУ пользуется как лекарство первого выбора в лечении этой респираторной инфекции. Его недостаточная эффективность в первых трёх днях от аппликации может увеличиться одновременным применением лекарств из группы НСАИЛ и бронходилататоров.

Ключевые слова: тулатромицин, флорфеникол, эффективность, БРД, *Pasterella multocida*, бычки

**PARATUBERKULOZA U ZAPATU KRAVA RASE CRVENI
HOLŠTAJN***
*PARATUBERCULOSIS IN BREEDING STOCK OF RED HOLSTEIN
COWS*

R. Prodanović, I. Vujanac, Danijela Kirovski, V. Ivetić, B. Savić,
M. Žutić, B. Kureljušić, O. Radanović**

U ovom radu opisana je paratuberkuloza u izolovanom zapatu od 25 visokomlečnih krava rase crveni holštajn. Životinje u zapatu su klinički pregledane, a zatim podvrgnute testu kasne preosetljivosti i ispitivanju krvnog seruma na prisustvo specifičnih antitela protiv Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (Map). Kliničkim pregledom kod dve životinje uočeni su simptomi bolesti koji su ukazivali na uznapredovali stadijum paratuberkuloze. U krvi krava koje su pokazivale kliničke znake bolesti određivani su parametri crvene i bele krvne slike, koncentracija ukupnih proteina, albumina, gvožđa, natrijuma, kalijuma i aktivnost kreatin kinaze. Analizom parametara crvene krvne slike utvrđena su izvesna odstupanja koja su ukazivala na postojanje hipohromne mikrocitne anemije. Broj leukocita je bio u okviru fizioloških vrednosti, ali je neutrofilno-limfocitni količnik bio narušen i iznosio skoro 1:1. Rezultati biohemijskih analiza krvnog seruma obolelih krava ukazali su na hipo-proteinemiju, hipoalbuminemiju, hipoferemiju, hiponatremiju, hipokalemiju i povećanu aktivnost enzima kreatin kinaze. Sumnjiva reakcija na mestu aplikacije avijarnog tuberkulina je ustanovljena kod dve životinje. Životinje sa kliničkim znakovima bolesti su bile negativne na test kasne preosetljivosti. Prisustvo specifičnih antitela protiv uzročnika paratuberkuloze dokazano je kod četiri životinje (16%), uključujući dve životinje sa kliničkim znakovima bolesti i jednu koja je imala sumnjivu reakciju na mestu aplikacija avijarnog tuberkulina. Pored toga, kod jedne uginule životinje opisane su makroskopske i mikroskopske promene u

* Rad primljen za štampu 16. 05. 2011. godine

** Radiša Prodanović, dr vet. med., istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, Katedra za bolesti papkara, dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, docent, Katedra za fiziologiju i biohemiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr sci. med. vet. Vojin Ivetić, viši naučni saradnik, dr sci. med. vet. Božidar Savić, istraživač saradnik, dr sci. med. vet. Milenko Žutić, naučni saradnik, Branislav Kureljušić, dr. vet. med., istraživač pripravnik, mr sci. med. vet. Oliver Radanović, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

odnosu na intenzitet i distribuciju lezija, tip ćelijskog infiltrata i broja prisutnih acidorezistentnih bakterija, a promene su okarakterisane kao difuzne promene multibacilarnog tipa. Iz promenjenih organa izvršena je izolacija uzročnika bovine paratuberkuloze.

Ključne reči: krava, paratuberkuloza, Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis

Uvod / Introduction

Paratuberkuloza ili Džonova bolest je hronična, neizlečiva, infektivna bolest koju uzrokuje bakterija *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (*Map*). Od ranije je poznato da je paratuberkuloza iscrpljujuća crevna bolest goveda, pseudotuberkulozni enteritis i/ili terminalni ileitis (Manning i Collins, 2010). Oboljenje se javlja kod domaćih i divljih preživara, ali su opisani slučajevi prirodne infekcije i kod konja, svinja, pasa, lisica, zečeva, kuna, lasica i primata (Manning i Collins, 2010; Hutchings i sar., 2010). Karakteriše se povremenim do stalnim prolivom, smanjenjem proizvodnje mleka, postepenim gubitkom telesne mase i na kraju uginućem. Osnov makroskopskih promena čini hronični granulomatozni enteritis, limfangitis i limfadenitis mezenterijalnih limfnih sudova i limfnih čvorova. *Map*, mali (0,5x1,5 µm) intracelularni, acidorezistentan, slabo gram-pozitivan bacil, izdvojen je (kulturelno i PCR metodom) i kod bolesnika sa Kronovom bolešću. Međutim, postoje velike protivurečnosti o patogenetskom značenju takvih nalaza (Sharp, 1997; Herman-Taylor, 1998).

Uzročnik se u zapat unosi najčešće kupovinom latentno inficiranih grla ili kliconoša, koje izlučuju *Map*, pre svega fecesom, i do 18 meseci pre pojave prvih simptoma bolesti. Smatra se da se većina goveda inficira kao mlada telad. Ulazna vrata infekcije su digestivni organi (ileum), a opisane su i diaplacentarne infekcije, kao i infekcije putem zaraženih bikova (Ayele i sar., 2004). Dosadašnja iskustva pokazala su da su mlade životinje osetljivije na infekciju, a da su posebno prijemčiva telad u prvih 30 dana života. Ipak, aktivno kliconoštvo i pojava kliničkih simptoma paratuberkuloze retko se javljaju pre uzrasta od 18 meseci, a najčešće značajno kasnije, u uzrastu od 2 do 5 godina. Međutim, iako ređe, bolest može da se ispolji i ako infekcija nastane kod odraslih jedinki. Pri tome, poseban značaj se pridaje predisponirajućim činiocima, kao što je deficitarna ishrana, visoka proizvodnja mleka, bolesti metabolizma, stres, veličina infektivne doze i imunosupresivni agensi (Ayele i sar, 2001).

Gonzalez i sar. (2005) su dokazali postojanje različitih tipova patomorfoloških promena kod paratuberkuloze goveda. Do tada je kod goveda neopisana fokalna forma bolesti, uglavnom na limfnim čvorovima, potvrdila opravdanost kriterijuma prethodno primenjenih za opis promena kod malih preživara. Međutim, za razliku od ovaca, veći spektar lezija kod goveda, a naročito razvoj difuzne

intermedijarne forme, ukazuje na to da su kod goveda patomorfološke promene manje konzistentne. Smatra se da razlike u lokalnom imunskom odgovoru u različitim segmentima creva kod goveda (Begara-McGorum i sar., 1998), kao i uočene razlike u morfologiji ćelijske populacije u Pajerovim pločama između ovaca i goveda (Pastoret i sar., 1998), mogu da utiču na tip i mesto patomorfoloških promena kod preživara. Takođe, smatra se da i razlike u sojevima *Map* koje postoje između ovaca i goveda mogu da budu značajne (Clark, 1997). Ipak, nejasno je da li ove razlike u tipovima patomorfoloških promena, naročito difuznih lezija, predstavljaju prelaznu ili divergentnu formu paratuberkuloze (Gonzalez i sar., 2005).

Iako je poznata više od 100 godina, i na našim prostorima opisana od strane Vukovića još 1908. godine (Heinrich, 1962), u našoj stručnoj literaturi nema mnogo dokumentovanih podataka o ovoj bolesti (Radojčević i sar., 1961; Jovanović i sar., 1999). Nedovoljna rasvetljenost, i u nekim pojedinostima još uvek nepoznata imunopatogeneza, mnoštvo različitih ograničenja u postavljanju dijagnoze i kontrole ove bolesti čine da paratuberkuloza uporno opstaje u zapatima goveda. Tome u značajnoj meri doprinosi otpornost *Map*, zahvaljujući specifičnoj građi svog ćelijskog zida, na dejstvo spoljašnjih faktora, uključujući i mnogobrojne dezinficijense. S toga se danas sa pravom smatra da je paratuberkuloza veoma raširena i da u velikoj meri ekonomski opterećuje mlečno govedarstvo (Chiodini, 1996). Veliki broj istraživanja koja su imala za cilj da se utvrdi raširenost ove infekcije pokazao je da je, osim u Švedskoj (Engvall i sar., 1994; Herthnek, 2006) i nekim delovima Australije (Kennedy i Allworth, 2000), u manjem ili većem procentu, prisutna u većini zemalja. Rezultati ispitivanja raširenosti paratuberkuloze u našoj zemlji iz šezdesetih godina prošloga veka (Radojčević i sar., 1961) imaju relativan značaj, zbog toga što su ispitivanja vršena samo tamo gde je postojala sumnja na paratuberkulozu. U jednom takvom ispitivanju od 1240 uzoraka krvi u reakciji vezivanja komplementa pozitivna reakcija je ustanovljena u 12,4% slučajeva. U novijim ispitivanjima sprovedenim na području Južnobačkog okruga, ELISA metodom ustanovljeno je prisustvo specifičnih antitela protiv uzročnika paratuberkuloze u 5,5% ispitanih goveda (Vidić i sar., 2001).

U ovom radu opisana je paratuberkuloza u zapatu visokomlečnih krava rase crveni holštajn. Klinička slika, hematološke i biohemijske promene u krvi krava, rezultati testa kasne preosetljivosti i serološkog ispitivanja su izloženi. Pored toga, kod jedne uginule životinje makroskopske i mikroskopske promene opisane su u odnosu na intenzitet i distribuciju lezija, tip ćelijskog infiltrata i broja prisutnih acidorezistentnih bakterija, a iz delova promenjenih organa izvršena je izolacija uzročnika bovine paratuberkuloze (*Map*).

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivanjem je obuhvaćen izolovani zapat goveda od 25 visokomlečnih krava rase crveni holštajn. Unutar zapata, dve životinje progresivno su

gubile u telesnoj masi i znatno smanjile proizvodnju mleka, uprkos relativno očuvanom apetitu. Obolele životinje bile su u uzrastu od 3 godine i vodile poreklo od grla uvezenih iz Češke i Mađarske. Progresivno mršavljenje bilo je praćeno upornim i neizlečivim prolivom posle primenjene terapije (antibiotici i antihelmintici). Uvidom u evidenciju o zdravstvenom stanju životinja, moglo se videti da su i ranije na farmi bili prisutni poremećaji zdravlja krava praćeni dugotrajnim i iscrpljujućim dijarejama. Krava od koje je potekla zaraza takođe je imala slične simptome.

Sve životinje u zapatu su klinički pregledane, a zatim podvrgnute testu kasne preosetljivosti, intradermalnom aplikacijom avijarnog tuberkulina prema uputstvu proizvođača (*Avitubal*, Češka). Od svih životinja na farmi, punkcijom *vene jugularis* uzeti su uzorci krvi. Krv je nakon uzimanja čuvana na +4°C najduže do 4 sata. Krvni serum je dobijen centrifugiranjem krvi na 3000 obrtaja u trajanju od 15 minuta. Prisustvo specifičnih antitela protiv uzročnika paratuberkuloze određivano je u krvnom serumu ELISA metodom (*Idexx*, USA). Od životinja koje su pokazivale kliničke znake bolesti, uzorci krvi su sačuvani i za hematološke analize a deo je centrifugiran u cilju dobijanja krvnog seruma za biohemiju. Parametri crvene i bele krvne slike određivani su na automatskom hematološkom analizatoru (*Abacus Junior*, Francuska). Koncentracija ukupnih proteina, albumina, gvožđa, natrijuma, kalijuma i aktivnost kreatin kinaze je određivana u uzorcima krvnog seruma na biohemijskom analizatoru (*Secomam*, Francuska).

Mesec dana nakon obavljenog kliničkog pregleda i uzimanja uzoraka krvi jedna obolela krava je uginula. Izvšena je obdukcija uginule jedinke, a tanka i debela creva su dostavljena odeljenju za patološku morfologiju Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije iz Beograda. Organi su pregledani makroskopski, a zatim su delovi promenjenih organa (ileum i cekum) fiksirani u 10% neutralnom formalinu i obrađeni standardnom histološkom tehnikom. Kolorizacija tkiva je urađena hematoksilin-eozinom (HE) i metodom po *Ziehl-Neelsen*-u. Pored toga, skarifikati sluznice ileuma i cekuma su obojeni metodom po *Ziehl-Neelsen*-u.

Nakon primarne obrade uzorci su zasejani na Lovenštajn-Jensen podlogu bez mikobaktina i inkubirani u aerobnim uslovima na 37°C tokom 16 nedelja. Jednom nedeljno proveravan je rast kolonija na podlozi. Za identifikaciju izraslih kolonija primenjen je kriterijum preporučen od strane Jorgensena (1982).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Kliničkim pregledom kod dve životinje uočeni su simptomi bolesti koji su ukazivali na uznapredovali stadijum paratuberkuloze (slika 1 i 2), dok kod ostalih životinja u zapatu nisu uočene nikakve promene. Obolele životinje su bile afebrilne, lošeg opšteg stanja i veoma mršave (kahektične). U kliničkoj slici dominirala je uporna, profuzna dijareja, otok u submandibularnom području, bledilo vidljivih sluzokoža i kože vimena, gruba i nakostrešena dlaka. Feces je bio vodene konzistencije, tamno obojen, sa mehurićima gasa.



Slika 1. Otok u submandibularnom području
Figure 1. Swelling in submandibular area



Slika 2. Obolela krava – kaheksija
Figure 2. Diseased cow - cachexia

Hematološkim analizama je utvrđeno da su neki parametri crvene i bele krvne slike krava odstupali u odnosu na fiziološke vrednosti (tabela 1). Broj eritrocita je bio u okviru referentnih vrednosti, a kod jedne obolele životinje vrednosti za hematokrit i koncentraciju hemoglobina su bile niže od fizioloških. Međutim, zapaža se da je dijametar eritrocita bio smanjen, a i sami eritrociti su slabije punjeni hemoglobinom. To upućuje na nalaz hipohromne mikrocitne anemije. Pored toga, iako je broj leukocita bio u okviru fizioloških vrednosti, uočava se da je narušen normalan neutrofilno-limfocitni količnik, koji je kod obe obolele životinje iznosio skoro 1:1.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja hematoloških parametara krvi obolelih krava /
Table 1. Results of examinations of haematological parameters in blood of diseased cows

	Eritrociti / <i>Erythrocytes</i> $\times 10^{12}$	Hb g/dl	Ht %	MCV ft	MCH pg	MCHC g/L	Leukociti / <i>Leukocytes</i> $\times 10^9$
Ref	5-10	10,5 – 14	30 – 40	40-60	14-19	300-360	5-10
1.	6,59	8,2	24,4	37	12,4	330	5,1
2.	8,57	10,6	32,8	38	12,4	323	6,94

Referentne vrednosti preuzete od Baumgartnera (2002).
Reference values according to Baumgartner (2002).

Rezultati biohemijskih analiza krvnog seruma obolelih krava ukazali su na hipoproteinemiju, hipoalbuminemiju, hipoferemiju, hiponatremiju, hipokalemiju i povećanu aktivnost enzima kreatin kinaze (tabela 2). Rezultati hematološkog i biohemijskog ispitivanja krvi obolelih životinja su bili u skladu sa zdravstvenim stanjem i stadijumom bolesti u trenutku kada je obavljen klinički pregled i kada su uzimani uzorci krvi za analizu. Međutim, iako su hematološke i biohemijske promene u krvi životinja obolelih od paratuberkuloze predvidive za poje-

dine stadijume bolesti, one nisu u dovoljnoj meri specifične da bi imale presudan dijagnostički značaj (Fecteau i Whitlock, 2010).

Tabela 2. Rezultati ispitivanja biohemijskih parametara krvi obolelih krava
Table 2. Results of examinations of biochemical parameters in blood of diseased cows

	Ukupni prot. <i>Total proteins</i> g/l	Albumini / <i>Albumins</i> g/l	Fe μ mol/l	Na mmol/l	K mmol/l	Kreatin kinaza / <i>Creatine kinase</i> IU/l
Ref	60-80	30-40	27-40	135-157	6-12	17,4-107
1.	31,1	13,1	11,6	119,3	3,31	356,5
2.	51,8	18,5	8,55	120,5	3,84	280,3

Referentne vrednosti preuzete od Baumgartnera (2002). /
Reference values according to Baumgartner (2002).

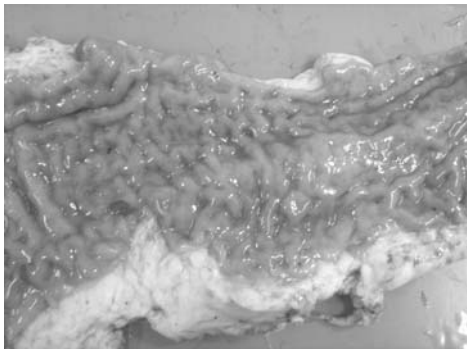
Sedamdeset i dva sata nakon intradermalnog aplikovanja avijarnog tuberkulina izvršeno je očitavanje reakcije. Kod dve životinje ustanovljena je sumnjiva reakcija na mestu aplikacije (zadebljanje kožnog nabora veće od 2, a manje od 4 mm, bez drugih kliničkih simptoma). Zanimljivo je da su životinje sa kliničkim znakovima bolesti bile negativne na test kasne preosetljivosti, dok su kod jedne sumnjive ustanovljena i specifična antitela protiv *Map*.

Slično kao kod tuberkuloze ljudi i goveda, intradermalni test se može primeniti i u dijagnostici paratuberkuloze goveda, pri čemu se kao antigen koristi ekstrakt *M. avium* ili *M. johnei*. Dokazano je da je inicijalni odgovor na mikobakterijske infekcije posredovan Th1 limfocitima (Manning i Collins, 2001), a ćelijski imunski odgovor se smatra i esencijalnim u kontroli progresije *Map* infekcije. Međutim, kako navode Jovanović i Knežević (2005), ovi testovi se nisu pokazali pouzdanim zbog svoje niske specifičnosti i osetljivosti, jer daju veliki broj lažno pozitivnih, a naročito lažno negativnih reakcija u odmaklim stadijumima bolesti. Kao što je pomenuto, imunopatološka osnova ove bolesti je jaka ćelijska imunska reakcija na antigene *Map*, ali se kod obolelih životinja istovremeno pojavljuje smanjena reaktivnost na druge antigene. Takva stanja su izraženija u odmaklim stadijumima bolesti, a pored poremećene transformacije limfocita koja se može dokazati *in vitro*, goveda koja boluju od paratuberkuloze slabije reaguju i na tuberkuline. Čini se da u takvim okolnostima presudnu ulogu u ometanju normalne ćelijske reaktivnosti, kako navodi Tizard (2009), imaju imunosupresivni faktori u krvnom serumu obolelih životinja.

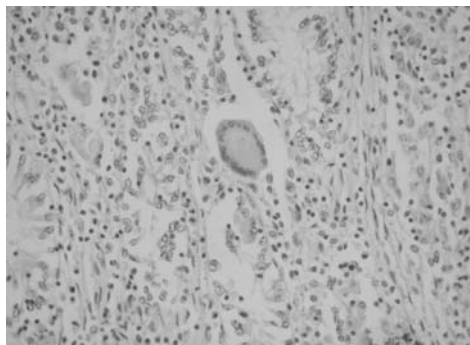
U uzorcima krvnih seruma ispitivanih životinja dokazano je postojanje specifičnih antitela protiv uzročnika paratuberkuloze kod četiri životinje (16%), uključujući životinje sa kliničkim znakovima bolesti. Međutim, ako se uzme u obzir osetljivost i specifičnost upotrebljenog ELISA testa, možemo pretpostaviti da je broj inficiranih u ispitivanom zapatu znatno veći. Naime, Collins i Morgan (1991) smatraju da procenat inficiranih životinja u zapatu, potvrđenih ELISA testom, treba

udvostručiti kako bi se dobila procena stvarne prevalencije paratuberkuloze. Takođe, dokazano je da je osetljivost ELISA testa u vezi sa stadijumom bolesti i količinom *Map* u fecesu (Sweneey i sar., 1995; McKenna i sar., 2005). Navedeni autori su pokazali da je kod izlučivanja malih količina *Map* u fecesu, osetljivost ELISA testa iznosila svega 15 procenata, dok je kod životinja sa kliničkim znakovima paratuberkuloze osetljivost bila 87 procenata. Uopšteno uzevši, ELISA je pouzdan test za kontrolu zapata, dok je u pojedinačnim slučajevima za potvrdu neophodna i izolacija uzročnika (Jovanović i sar., 2005).

Makroskopskim pregledom dostavljenih organa utvrđene su dominantne promene na terminalnom delu tankih creva, pre svega na ileumu (slika 3). Promene su obuhvatale zadebljanje zida creva, proširenje i zadebljanje supseroznih limfnih sudova, povećanje ileocekalne tonzile. Nabori sluznice ileuma, u vidu gusto zbijenih i isprepletenih vijuga, bili su veoma izraženi. Opisane promene uočene su i na cekumu, ali su bile znatno slabijeg intenziteta. Na ostalim delovima tankih i debelih creva nisu uočene makroskopski vidljive promene. Najintenzivnije mikroskopske promene ustanovljene su takođe u ileumu (slika 4). Sastojale su se u infiltraciji lamine proprije i submukoze makrofagima, epiteloidnim ćelijama varijabilnih morfoloških svojstava i retkim eozinofilima. U ćelijskom infiltratu ne retko su se mogli zapaziti i limfociti i multinuklearne Langhansove ćelije. Inače crevni epitel je bio sa fenomenima atrofije i fuzije zadebljalih crevnih resica. U nekim isečcima mononuklearni infiltrat se uočavao uglavnom u telu crevnih resica koje nisu bile fuzionisane, dok je u nekim inflamatorni proces detektovan i u mišićnom sloju crevnog zida. Pored toga, multifokalni mononuklearni infiltrati su uočeni i u tunici serozi u neposrednoj blizini limfnih sudova uzrokujući njihovu inflamaciju (*limfangitis*). Opisane patomorfološke promene uporedive su sa difuznim lezijama multibacilarnog tipa saopštenih od strane većeg broja autora (Huda i Jensen, 2003; Gonzalez i sar., 2005).

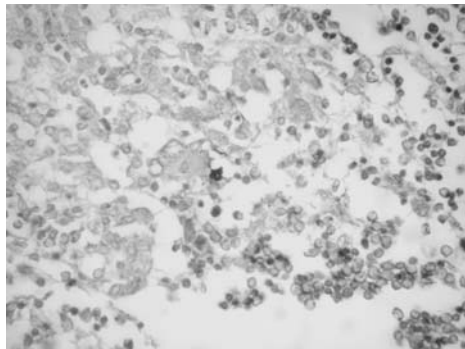


Slika 3. Ileum krave-jasno izraženi nabori sluznice /
Figure 3. Cow ileum – clearly expressed folds in mucosa



Slika 4. Proprija ileuma krave-celularni infiltrat sa Langhansovim gigantocitima, He x 400
Figure 4. Cow ileum propria – cellular infiltrate with Langerhans giantocytes, He x 400

U histološkim preparatima bojenim po Cil-Nilsonu u citoplazmi makrofaga su uočeni brojni acidorezistentni štapićasti oblici (slika 5). U mikroskopskom preparatu pripremljenom od skarifikata sluznice ileuma i cekuma i obojenom po Cil-Nilsonu ustanovljeno je prisustvo acidorezistentnih štapića u manjim grupama. Nakon 7 nedelja kultivacije, iz skarifikata promenjenih delova tankih creva, zapažen je disgoničan rast u vidu sitnih okruglih nepigmentisanih kolonija. U preparatu urađenom iz kolonija obojenom po Cil-Nilsonuuu dokazani su acidorezistentni kratki štapići.



Slika 5. Acidorezistentni štapići fagocitovani u makrofagima, ZN x 1000 /
Figure 5. Acid-resistant rods phagocytosed in macrophages, ZN x 1000

Prema Fecteau i Whitlocku (2010), goveda u stadima obolelim od paratuberkuloze mogu se svrstati u jednu od pet kategorija: neinficirana, životinje u tihoj, supkliničkoj, kliničkoj i odmakloj kliničkoj fazi bolesti. Različiti stadijumi bolesti razlikuju se prema jačini ispoljenih kliničkih znakova, potencijalnom izlučivanju *Map* u okolinu i mogućnostima kojima se bolest može otkriti. Opšte je prihvaćeno da na jednu životinju u odmakloj kliničkoj fazi bolesti dolazi oko 25 inficiranih, pri čemu će prema navodima Whitlocka i sar. (2009) trenutno dostupnim dijagnostičkim metodama biti otkriveno 15 do 25 posto. Čini se da presudan uticaj na to hoće li se i u kojoj meri razviti kod životinja klinički znakovi bolesti ima uzrast u vreme inficiranja (Chiodini i sar., 1984).

Zaključak / Conclusion

Rezultati ispitivanja su pokazali da obolele životinje u zapatu u kome se pojavljuje paratuberkuloza klinički ispoljavaju uporan i nezaustavljiv proliv i progresivno mršavljenje. Laboratorijska ispitivanja i alergijski testovi mogu da posluže kao dopunski dijagnostički postupci. Konačna dijagnoza se postavlja na osnovu patološko-anatomskog i bakteriološkog nalaza.

Morfološkim i kulturelnim karakteristikama izolovani acidorezistentni štapići odgovaraju za rod *Mycobacterium*, i u sklopu celokupnog nalaza upućuju na bovinu paratuberkulozu. Na osnovu intenziteta i distribucije lezija, kao i tipa ćelijskog infiltrata i broja prisutnih acidorezistentnih bakterija, makroskopske i mikroskopske promene mogu se okarakterisati kao difuzne promene multibacilarnog tipa.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je podržan sredstvima projekta III 46002 iz programa integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja finansiranog od strane Ministarstva nauke Republike Srbije.

The work was supported with funds from project III 46002 from the programme of integrated and interdisciplinary research financed by the Ministry for Science of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Ayele WY, Bartos M, Svastova P, Pavlik I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet Microbiol* 2004; 15, 103(3-4): 209-17.
2. Ayele WY, Machackova M, Pavlik I. The transmission and impact of paratuberculosis infection in domestic and wild ruminants. *Vet Med-Czech* 2001; 46: 205-24.
3. Baumgartner W. Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere, 5. aktualisierte Auflage, Berlin: Parey Buchverlag, 2002.
4. Begara-McGorum I, Wildblood LA, Clarke CJ, Sharp JM, Jones DG. Early immunopathological events in experimental ovine paratuberculosis. *Vet Immunol Immunopath* 1998; 65: 4869-72.
5. Chiodini RJ, van Kruiningen JH, Merkal SR. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell Vet* 1984; 74: 218-22.
6. Chiodini RJ. Immunology resistance to paratuberculosis. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 1996; 12: 313-43.
7. Clarke CJ. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *J Comp Path* 1997; 116: 217-61.
8. Collins MT, Morgan IR. Economic decision analysis model of a paratuberculosis test and cull program. *JAVMA* 1991; 199: 1724-9.
9. Engvall A, Larsson B, Bolske G, Wahlsotron H. Swedish livestock is considered free from paratuberculosis. *Proceedings of the 4th International Coloquium on Paratuberculosis*. St. Johne's College, Cambridge, U.K, 1994: 27-31.
10. Fecteau Marie-Eve, Whitlock R H. Paratuberculosis in cattle. In: Marcel A Behr and Desmond M Collins, editors. *Paratuberculosis: organism, disease, control*, Preston: AMA Dataset, 2010: 144-56.
11. Gelberg BH. Intestinal Diseases in Ruminants. In: McGavin MD, Zachary FJ editors. *Pathologic Basis Veterinary Disease*. St. Louis: Mosby Elsevier, 2008: 372-4.
12. Gonzalez J, Geijo VM, Garcia-Pariente C, Verna A, Corpa MJ, Reyes EL, Ferreras CM, Juste AR, Garcia Marin FJ, Perez V. Histopathological Classification of Lesions associated with Natural Paratuberculosis Infection in Cattle. *J Comp Path* 2005; 133: 184-96.
13. Heinrich B. *Lehrbuch der Schafkrankheiten*. Berlin und Hamburg: Paul Parex, 1962.

14. Herthnek D. Detection and confirmation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in clinical samples. Licentiate thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, 2006.
15. Huda A, Jensen HE. Comparasion of histopathology, cultivation of tissues and rectal contents, and interferon-gamma and serum antibody responses for the diagnosis of bovine paratuberculosis. *J Comp Path* 2003; 129: 259-67.
16. Hutchings RM, Stevenson K, Greig A, Davidson SR, Marion G, Judge J. Infection of Non-ruminant Wildlife by *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis. In: Marcel A Behr and Desmond M Collins, editors. Paratuberculosis: organism, disease, control, Preston: AMA Dataset, 2010: 188-200.
17. Jorgensen JB. An improved medium for the culture of *Mycobacterium paratuberculosis* from faeces. *Acta Vet Scand* 1982; 23: 325-35.
18. Jovanović M, Knežević M, Merćep D. First diagnosis of sheep paratuberculosis in Serbia. *Acta Veterinaria* 1999; 49(1): 51-61.
19. Jovanović M, Knežević M. Paratuberkuloza (Johnova bolest) – osnovne karakteristike i stanje u našoj zemlji. *Vet Glasnik* 2005; 59(5-6): 507-19.
20. Kennedy DJ, Allworth MB. Progress in national control and assurance programs for bovine Johne's disease in Australia. *Vet Microbiol* 2000; 77: 443-51.
21. Manning EJ, Collins MT. *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis: pathogen, pathogenesis and diagnosis. *Revue Scientifique et Technique* 2001; 20, 133-50.
22. Manning EJ, Collins MT. Epidemiology of Paratuberculosis. In: Marcel A Behr and Desmond M Collins, editors. Paratuberculosis: organism, disease, control, Preston: AMA Dataset, 2010, 22-8.
23. Manning EJ, Collins TM. History of Paratuberculosis. In: Marcel A Behr and Desmond M Collins, editors. Paratuberculosis: organism, disease, control, Preston: AMA Dataset, 2010: 1-9.
24. McKenna SL, Keefe GP, Barkema HW, Sockett DC. Evaluation of three ELISAs for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis using tissue and fecal culture as comparison standards. *Vet Microbiol* 2005; 110: 105-11.
25. Pastoret PP, Griebel P, bazin H, Govaerts A. Handbook of Veterinary Immunology. London: Academic Press, 1998.
26. Radojčević M, Mihajlović B, Knežević N, Otenhajmer I, Paunović M. Paratuberkuloza goveda. *Vet. glasnik* 1961; 11: 927-30.
27. Sharp JM. Johne's disease: risk of the interspecies transmission. *Fra. Praktis* 1997; 2, 1-5.
28. Sweeney RW, Whitlock RH, Buckley CL, Spencer PA. Evaluation of a commercial enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle. *JVDI* 1995; 7: 488-93.
29. Tizard RI. Secondary Immunological Defects. In: Veterinary Immunology. Texas: Mosby Elsevier, 2009: 464.
30. Vidić B, Grgić Ž, Bjelajac B, Trkulja R. Ispitivanje rasprostranjenosti paratuberkuloze kod goveda i ovaca. *Vet glasnik* 2001; 55(1-2): 9-16.
31. Whitlock RH. Johne's disease. In: Smith BP, editor. Large Animal Internal Medicine. St Louis: Mosby Elsevier, 2009, 881-7.

ENGLISH

PARATUBERCULOSIS IN BREEDING STOCK OF RED HOLSTEIN COWS

R. Prodanović, I. Vujanac, Danijela Kirovski, V. Ivetić, B. Savić, M. Žuitić,
B. Kureljušić, O. Radanović

This paper describes paratuberculosis in an isolated breeding herd of 25 high-yield dairy cows of the Red Holstein breed. The animals were examined clinically and then given the test for delayed type hypersensitivity and their blood serum was examined for the presence of specific antibodies against *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (Map). The clinical examination revealed that two cows exhibited symptoms of the disease that indicated an advanced stage of paratuberculosis. The following parameters were examined in the blood of the cows that showed clinical signs of the disease: leukocytes and erythrocytes count, concentrations of total proteins, albumin, iron, sodium, potassium, and activity of creatine kinase. The analysis of the red blood cell count revealed certain digressions that indicated the existence of hypochromic microcytic anaemia. The number of leukocytes was within the physiological values, but the neutrophil-lymphocyte ratio was disrupted and stood at almost 1:1. The results of the biochemical analyses of the blood serum of diseased cows indicated hypoproteinaemia, hypoalbuminaemia, hypoferrremia, hyposodiamaemia, hypokalemia, and increased activities of creatine kinase enzymes. A suspect reaction on the site of application of avian tuberculin was determined in two animals. Animals with clinical signs of the disease reacted negative to the test of delayed type hypersensitivity. The presence of specific antibodies against the cause of paratuberculosis was proven in four animals (16%), including two animals with clinical signs of the disease and one that had a suspect reaction on the site of application of avian tuberculin. Furthermore, one animal that died exhibited macroscopic and microscopic changes regarding the intensity and distribution of lesions, the type of cellular infiltrate, and the number of present acid-resistant bacteria, and the changes were characterized as diffuse changes of multibacillary type. The cause of bovine paratuberculosis was isolated from the altered organs.

Key words: cow, paratuberculosis, *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*

РУССКИЙ

ПАРАТУБЕРКУЛЁЗ В ПЛЕМЕННОМ ПРИПЛОДЕ КОРОВ ПОРОДЫ КРАСНЫЙ
ХОЛШТАЙН

Р. Проданович, И. Вуянац, Даниела Кировски, В. Иветич, Б. Савич, М. Жутич,
Б. Курелюшич, О. Раданович

В этой работе описан паратуберкулёз в изолированном племенном приплоде от 25 высоко-молочных коров породы красный холштайн. Животные в племенном приплоде клинически осмотрены, а затем подвергнуты тесту поздней чрезмерной чувствительности и испытанию кровяного сыворотки на присутствие специфических антител против *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (Map). Клиническим осмотром у двух животных замечены симптомы болезни, указавшие на продвиганную стадию паратуберкулёза. В крови коров, показывающие клиничес-

кие знаки болезни определяются параметры красной и белой кровяной картины, концентрация совокупных протеинов, альбуминов, железа, натрия, калия и активность креатин киназы. Анализом параметров красной кровяной картины утверждены известные отступления указавшие на существование гипохромовой микроцитарной анемии. Число лейкоцитов было в рамках физиологических стоимостей, но нейтрофильно-лимфоцитное количество было нарушено и составляло (в сумме) почти 1:1. Результаты биохимических анализов кровяного серума зболевших коров указали на гипопропротеинемию, гипоальбуминемию, гипоальбуминемию, гипоферремию, гипонатремию, гипокалемию и увеличенную активность креатин киназа. Сомнительная реакция на месте аппликации птичьего туберкулина установлена у двух животных. Животные с клиническими знаками болезни были отрицательными на тест поздней чрезмерной чувствительности. Присутствие специфических антител против возбудителя паратуберкулёза доказано у четырёх животных (16%), включая двух животных с клиническими знаками болезни и одно, имевшее сомнительную реакцию на месте аппликаций птичьего туберкулина. При этом, у одного околывшего животного описаны макроскопические и микроскопические изменения в отношении интенсивности и дистрибуцию повреждений, тип клеточного инфильтрата и числа присутствующих ацидорезистентных бактерий, а изменения охарактеризованы как диффузные изменения мультибацилярного типа. Из изменённых органов совершена изоляция возбудителя говяжьего паратуберкулёза.

Ключевые слова: корова, паратуберкулёз, *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*

BIOHEMIJSKI PARAMETRI KRVI KRAVA SIMENTALSKE RASE U RAZLIČITIM FAZAMA REPRODUKTIVNOG CIKLUSA****BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SIMMENTAL COWS IN DIFFERENT PHASES OF REPRODUCTIVE CYCLE*****Bisa Radović, Stoja Jotanović, Đ. Savić, A. Nitovski****

U radu je dat prikaz vrednosti biohemijskih parametara krvi krava simentalске rase (n=60), podeljenih u pet grupa (zasušene krave, rani puerperijum, kasni puerperijum, peti mesec laktacije, i krave sa produženim servis periodom). Obrok za krave u laktaciji je sadržao nedovoljnu količinu suve materije, za trećinu manje od donje granice potreba. Kod svih ispitanih grupa krava ustanovljen je jak deficit proteina i suficit kalcijuma u obroku. Koncentracija ukupnih proteina u krvi kod svih grupa krava bila je na gornjoj, a koncentracije bilirubina, karotina, vitamina A i ukupnih lipida, unutar fizioloških granica. Niska koncentracija uree kod treće, četvrte i pete grupe krava ($3,1 \pm 0,39$ mmol/l, $2,9 \pm 0,38$ mmol/l i $3,3 \pm 0,43$ mmol/l) ukazuje na disbalans proteina i energije u obroku. Na deficit energije ukazuje i niska glikemija kod svih grupa krava, posebno druge i pete grupe krava ($2,2 \pm 0,04$ mmol/l i $2,3 \pm 0,07$ mmol/l). Nepovoljan odnos kalcijuma i fosfora u obroku imao je za posledicu sužavanje odnosa kalcemije i fosfatemije, što je posebno uočljivo kod krava sa produženim servis periodom ($2,1 \pm 0,07$ mmol/l naprema $1,9 \pm 0,11$ mmol/l). Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da na nivou ispitanog zapata postoje supklinički poremećaji zdravlja uzrokovani neadekvatnom ishranom, koji nepovoljno utiču na proizvodne i reproduktivne parametre.

Ključne reči: krava, biohemijski parametri krvi, reproduktivni ciklus

* Rad primljen za štampu 16. 05. 2011. godine

** Dr Bisa Radović, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici; dr Stoja Jotanović, docent, mr Đorđe Savić, viši asistent, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjaluci; dr sci med. vet. Atanas Nitovski, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici

Uvod / Introduction

Metabolizam mlečnih krava tokom različitih faza proizvodno-reproduktivnog ciklusa prolazi kroz periode većeg i manjeg opterećenja, što je uslovljeno uzdržnim i potrebama za proizvodnju mleka i intrauterini rast teleta, kao i količinom i sastavom obroka. Kao najkritičniji u metaboličkom pogledu, označava se peripartalni – tranzicioni period, kada zbog povećanja potreba u energiji dolazi do prelaska iz stanja pozitivnog u stanje negativnog bilansa energije. U tom periodu je i najveća učestalost poremećaja zdravlja (Bobe, 2004; Šamanc i sar., 2005a; 2005b; Horvat i sar., 2007).

Opterećenje metabolizma mlečnih krava povećava se sa intenziviranjem laktacije (Bell, 1995), a maksimum se postiže kada proizvodnja mleka dostigne svoj vrhunac, od 60. do 120. dana laktacije. Neadekvatna ishrana u toku laktacije dodatno potencira opterećenje metabolizma i aktivira homeostatske mehanizme, koji mobilišu telesne rezerve masti (Grummer, 1995; Overton i Waldron 2004; Bobe, 2004; Šamanc i sar., 2005a; Horvat i sar., 2007). Nekontrolisana mobilizacija masti redovno ima za posledicu njihovo pojačano nakupljanje u jetri, te dolazi do narušavanja njenog morfološkog i funkcionalnog integriteta (Veenhuizen i sar., 1991; Ivanov i sar., 2005; Horvat i sar., 2007; Šamanc, 2010).

Iako se peripartalni period i vreme do postizanja vrha laktacije smatraju periodima kada je ishrani krava neophodno posvetiti posebnu pažnju, greške u sastavljanju obroka tokom ostalih faza proizvodno-reproduktivnog ciklusa takođe u velikoj meri mogu uticati na zdravlje i proizvodne sposobnosti mlečnih krava, a posebno na reproduktivne parametre. Krave kod kojih je postpartalno izražen negativan bilans energije imaju značajno duži servis period i kraći vek iskorištavanja u odnosu na grla sa povoljnijim bilansom energije, što negativno utiče na ekonomičnost proizvodnje (Šamanc i sar., 2005a; 2005b; Vuković i sar., 2005; Horvat i sar., 2007; Šamanc, 2010).

Da bi se stekao uvid u metabolički status zapata mlečnih krava i na vreme otkrila grla sa supkliničkim poremećajima zdravlja, preporuka domaćih autora (Ivanov i sar., 2005; Šamanc i sar., 2005b; Horvat i sar., 2007; Šamanc, 2010) jeste da se analiza biohemijskih parametara krvi izvrši na manjem broju krava tokom različitih faza proizvodnje (sredinom zasušenja, u ranoj laktaciji, oko 100. dana laktacije i pred kraj laktacije). Takođe, analizu metaboličkog profila trebalo bi izvršiti i na grlima kod kojih je servis period duži od uobičajenih 60-80 dana po teljenju, kako bi se preduzele korektivne mere i stvorili uslovi za pojavu estrusa i uspostavljanje graviditeta (Ivanov i sar., 2005; Šamanc i sar., 2005a; 2005b; Vuković i sar., 2005; Horvat i sar., 2007).

Cilj istraživanja bio je da se koncentracija nekih biohemijskih parametara krvi krava simentalke rase uporedi sa rezultatima analize obroka, kako bi se procenio njihov metabolički status u različitim fazama reproduktivnog ciklusa.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Istraživanje je sprovedeno na farmi mlečnih krava simentalke rase u blizini Kruševca, tokom oktobra meseca. Ukupno je ispitano 60 krava, starosti od pet do sedam godina, prosečne telesne mase 600 kilograma, sa prosečnom mlečnošću od 6485 litara, podeljenih u pet grupa po 12 krava. Prvu grupu činile su zasušene krave (1-15 dana do očekivanog termina teljenja), drugu krave u ranom puerperijumu (1-15 dana po teljenju), treću krave u kasnom puerperijumu (30-45 dana po teljenju), četvrtu grupu krave u petom mesecu laktacije (120-145 dana laktacije), a petu krave sa produženim servis periodom (3-6 meseci). Krave su držane u standardnim farmskim uslovima i hranjene obrokom sastavljenim od sena lucerke, kukuruzne silaže, sirovih repinih rezanaca, pivskog trebera i koncentrovane smeše za ishranu muznih krava.

Uzorci krvi uzimani su četiri sata nakon muže i hranjenja punkcijom v. *jugularis*, u sterilne vakutajnere. Posle spontane koagulacije krvi na sobnoj temperaturi, krvni serum je izdvajan centrifugovanjem na 3000 obrtaja u minutu, u trajanju od 15 minuta i čuvan na -18°C do ispitivanja. U uzorcima su određivane koncentracije ukupnih proteina, bilirubina, glukoze, vitamina A, karotina, kalcijuma, neorganskog fosfora, lipida i uree, a analiza je izvršena u Institutu za primenu nuklearne energije INEP - Zemun, na uređaju „ALCYON ABBOTT 300“. Istovremeno sa uzimanjem uzoraka krvi uzeti su i uzorci hraniva, koji su u laboratoriji za ispitivanje stočne hrane Instituta za stočarstvo Zemun polje ispitani na sadržaj hranljivih materija i njihov međusobni odnos.

Dobijeni podaci su statistički obrađeni metodama deskriptivne statistike i prikazani tabelarno. Testiranje razlika srednjih vrednosti parametara krvi između pojedinih grupa izvršeno je na nivou značajnosti od $p < 0,05$ i $p < 0,01$.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

U tabeli 1. prikazani su rezultati analize sastava obroka za zasušene i krave u laktaciji i njihove usklađenosti sa potrebama za datu proizvodnu kategoriju. Potrebe u energiji, sirovim proteinima i mineralnim materijama izračunate su u skladu sa preporukama koje su dali Sinovec i Ševković (1995) i Glamočić (1997).

Rezultati analize obroka pokazuju da njegov sastav nije bio usklađen sa potrebama životinja, kako po sastavu, tako i po količini. Ovo je posebno izraženo kod krava u laktaciji, kod kojih je deficit u suvoj materiji obroka iznosio čak jednu trećinu od donje granice potreba. Ovako veliki deficit suve materije u obroku ima za posledicu nedovoljno punjenje buraga i poremećaje u njegovoj pokretljivosti, a time i iskorištavanje dostupnih hranljivih materija iz obroka. Sadržaj proteina je manji za skoro polovinu od preporučenog dnevnog unosa za sve grupe krava, dok je sadržaj energije u obroku za krave u laktaciji manji za četvrtinu. Kod svih grupa krava ustanovljen je nepovoljan odnos kalcijuma i fosfora u obroku, uz odstupanje u korist kalcijuma. Imajući na umu da neadekvatno

hranjene krave razliku u ukupnim potrebama za hranljivim materijama i energijom nadoknađuju iz telesnih rezervi, za očekivati je da će se kod većine životinja pojaviti poremećaji metabolizma i zdravstvenog stanja, a posledično i reproduktivne smetnje (Staples i sar., 1990; Grubić i sar., 1997; Grubić i Adamović, 1998; Vuković i sar., 2005; Ivanov i sar., 2005; Horvat i sar., 2007; Šamanc, 2010).

Tabela 1. Sastav obroka i izračunate potrebe krava
Table 1. The ration composition and calculated needs of cows

	SM / Dry matter (kg)	NE _l / (MJ/dan)	SP / Crude protein (g)	Ca / Calcium (g)	P / Phosphorus (g)	Odnos Ca:P / Ca:P ratio
Zasušene krave / Dry cows	10,092	61,74	755	62,50	22,25	2,81:1
Potrebe / Needs	9,00-10,80	52,79	1296	58,50	34,60	1,69:1
Deficit/Suficit / Deficiency/ Surplus	Zadovoljava / Satisfying	+8,95	-541	+4	-12,35	suficit Ca / Ca surplus
Krave u laktaciji / Lactating cows	12,092	75,06	1226,20	111,59	46,45	2,40:1
Potrebe / Needs	18,00-21,00	98,92	2226,35	98	61	1,61:1
Deficit/Suficit / Deficiency / Surplus	Deficit / Deficiency	-23,86	-1000,15	+13,59	-14,55	suficit Ca / Ca surplus

Vrednosti ispitanih biohemijskih parametara krvi ispitanih grupa životinja i statistička značajnost razlika prikazani su u tabeli 2.

Koncentracija ukupnih proteina opada kod oštećenja ćelija jetre (Jovanović i sar., 1993; Lubojacka i sar., 2005; Ivanov i sar., 2005), a kod hroničnih oboljenja jetre može biti manja i do 20% (Sevinc i sar., 2003). Prosečna koncentracija ukupnih proteina kod krava u puerperijumu i kasnoj laktaciji bila je nešto iznad, dok je kod ostale dve grupe krava bila na gornjoj granici fiziološkog intervala (Jovanović, 1984; Radojičić i sar., 2002; Ivanov i sar., 2005; Radojičić, 2008; Šamanc, 2010). U poređenju sa referentnim vrednostima koje navode Kaneko i sar. (2008) kod svih krava je ustanovljena blaga hiperproteinemija. Visoke vrednosti proteinemije su najverovatnije u vezi sa nepovoljnim bilansom vode. U odnosu na rezultate Đokovića i sar. (2009a, 2009b), koji su biohemijske parametre krvi takođe ispitivali na grlima simentalke rase, koncentracija ukupnih proteina je viša kod svih grupa krava, što je posebno bilo izraženo kod krava u ranom puerperijumu i onih na vrhuncu laktacije. Zasušene krave obuhvaćene našim istraživanjem takođe su pokazivale više vrednosti koncentracije ukupnih proteina u odnosu na vrednosti koje su dobili pomenuti autori, pri čemu je ta razlika bila manja u odnosu na krave u laktaciji. U našem istraživanju nije ustanovljena statistička značajnost razlika između koncentracije ukupnih proteina kod krava u ranom puerperijumu i onih na vrhuncu laktacije, koja je postojala u istraživanjima Đokovića i

sar. (2009a, 2010). Isti autori su ustanovili i statistički značajnu razliku zasušenih u odnosu na krave na vrhuncu laktacije, koja u našem istraživanju nije registrovana.

Tabela 2. Vrednosti biohemijskih parametara krvi ispitanih grupa krava
Table 2. Values of biochemical blood parameters of examined groups of cows

Grupa / Group	I	II	III	IV	V	p<0,05	p<0,01
n	12	12	12	12	12		
Ukupni proteini / Total protein (g/l)	77,1±1,8	81,7±3,2	84,6±2,0	81,2±1,2	79,5±1,4	I:III, III:V	
Bilirubin / Bilirubine (μmol/l)	4,9±0,57	6,1±1,11	4,8±0,59	3,2±0,50	2,9±0,25	I:IV, II:IV, II:V, III:IV	I:V, III:V
Karotin / Carotine (μmol/l)	3,6±0,51	3,4±0,27	3,7±0,50	3,4±0,54	3,6±0,71		
Vitamin A / Vitamine A (I.J.)	81,3±3,6	76,7±6,9	94,9±11,1	112,2±8,8	118±8,3		I:IV, I:V, II:IV, II:V
Glukoza / Glucose (mmol/l)	2,6±0,12	2,2±0,13	2,7±0,13	2,5±0,11	2,3±0,07	I:II, II:III	III:V
Kalcijum / Calcium (mmol/l)	2,3±0,06	2,2±0,04	2,1±0,05	2,2±0,05	2,1±0,07		
Neorganski fosfor / Inorganic phosphorus (mmol/l)	1,8±0,08	1,6±0,09	1,5±0,10	1,7±0,06	1,9±0,11	I:III, II:V, III:V	
Lipidi / Lipids (g/l)	2,8±0,13	3,1±0,29	4,2±0,35	3,9±0,24	2,7±0,21	II:III, II:IV	I:III, I:IV, III:V, IV:V
Urea / Urea (mmol/l)	4,5±0,70	5,6±0,67	3,1±0,39	2,9±0,38	3,3±0,43		II:III, II:IV, II:V

I – zasušene krave, II – krave u ranom puerperijumu, III – krave u kasnom puerperijumu, IV – krave u petom mjesecu laktacije, V – krave sa produženim servis periodom /
I – dry cows, II – cows in early puerperium, III – cows in late puerperium,
IV – cows in the 5th month of lactation, V – cows with extended service period

Koncentracija bilirubina u krvi se smatra jednim od najvažnijih indikatora funkcionalne sposobnosti hepatocita (Bobe, 2004; Ivanov i sar., 2005; Radojičić, 2008; Šamanc, 2010). Prosečna koncentracija bilirubina bila je najviša kod grupe krava u ranom puerperijumu, pri čemu je ustanovljena visoko statistički značajna razlika u odnosu na krave u petom mesecu laktacije i krave sa produženim servis periodom. Ovaj nalaz je u skladu sa podacima koje za krave u ranoj laktaciji navode Đoković i sar. (2009a, 2009b, 2010) i ukazuje na veliko opterećenje jetre u prvim danima laktacije, što potvrđuju i vrednosti bilirubinemije kod pojedinih krava iz ove grupe. Relativno visoke koncentracije bilirubina kod zasušenih i krava u kasnom puerperijumu, koje se približavaju vrednostima ustanovljenim kod krava u ranom puerperijumu ukazuju na to da i kod ovih grupa

postoji značajno opterećenje jetre, najverovatnije zbog neadekvatne ishrane. Vrednost bilirubinemije kod zasušenih krava bila je skoro dvostruko veća od one koju su u svom radu naveli Đoković i sar. (2009a), ali je ipak ostala unutar granica referentnog intervala (Radojičić i sar., 2002; Ivanov i sar., 2005; Kaneko i sar., 2008; Radojičić, 2008; Šamanc, 2010).

Vrednosti karotinemije kod svih ispitanih grupa krava bile su iznad donje granice koju navode Ivanov i sar. (2005), a približavale su se gornjoj granici referentnog intervala od $3,79 \mu\text{mol/l}$ koju navodi Šamanc (2010). Nismo ustanovili postojanje statistički značajne razlike između pojedinih grupa krava, kao ni značajnija odstupanja unutar grupa. U odnosu na vrednosti koje navode Veličković i Vuković (2005), vrednosti dobijene u našem istraživanju su značajno niže za zasušene, a za krave u ranom puerperijumu više. Poređenjem sa preporukama koje navode Friesecke (1978) i Lotthammer i Witkowski (1994), ustanovili smo da je karotinemija kod svih ispitanih krava imala zadovoljavajuće vrednosti. U našem istraživanju nije ustanovljen trend kretanja karotinemije tokom različitih faza reproduktivnog ciklusa koji su opisali drugi autori (Haraszi i sar., 1984; Lotthammer, 1985; Rakes i sar., 1985; Vuković i sar., 1985; Veličković i Vuković, 2005).

Prosečna koncentracija vitamina A bila je statistički značajno niža kod krava u ranom puerperijumu u odnosu na krave u petom mesecu laktacije i grupu sa produženim servis periodom. Ovakav nalaz može se protumačiti većim iskorištavanjem vitamina A za potrebe obnove epitela reproduktivnih organa i vimena u ranom puerperijumu, kao i njegovim pojačanim izlučivanjem putem kolostruma (Šamanc, 2010). Sličnim mehanizmom se može protumačiti i koncentracija vitamina A kod krava u zasušenju, jer se on pojačano preuzima u mlečnoj žlezdi i ulazi u sastav kolostruma. Veličković i Vuković (2005) su ustanovili sličan trend kretanja koncentracije vitamina A, pri čemu je najniža vrednost ustanovljena kod grupe krava dve nedelje nakon teljenja. U našem istraživanju nije potvrđeno postojanje povezanosti između kretanja karotinemije i koncentracije vitamina A, koju opisuju pomenuti autori.

Vrednosti glikemije kod svih ispitanih krava bile su unutar granica referentnog intervala (Jovanović, 1984; Radojičić i sar., 2002; Ivanov i sar., 2005; Radojičić, 2008; Šamanc, 2010). Kod krava u ranom puerperijumu i onih sa produženim servis periodom glikemija je bila na donjoj granici, što zajedno sa rezultatima analize obroka ukazuje na negativan bilans energije. Naši rezultati su u skladu sa nalazima Đokovića i sar. (2010), koji su kod krava u ranom puerperijumu ustanovili prosečnu glikemiju od 2,21 i 2,73 mmol/l. Đoković i sar. (2009a, 2009b) su ustanovili statistički značajnu razliku između glikemije zasušenih, krava u ranoj laktaciji i na vrhuncu laktacije, a sličan trend postoji i kod naših rezultata. Ovi autori postojanje i značajnost razlike tumače različitim metaboličkim opterećenjem u različitim fazama proizvodnog ciklusa, pri čemu se ne sme zanemariti i alimentarni uticaj.

Koncentracija kalcijuma i fosfora u krvi pokazatelj je mineralnog metabolizma. Do poremećaja u metabolizmu ovih minerala može doći usled njihovog nedostatka ili neadekvatnog odnosa u obroku i nedovoljne snabdevenosti vitaminom D (Stojević i sar., 2002; Ivanov i sar., 2005; Horvat i sar., 2007). Prosečne vrednosti kalcemije i fosfatemije ukazuju na poremećaj mineralnog metabolizma kod ispitanih krava, što potvrđuju i rezultati analize obroka. Apsolutni suficit kalcijuma u obroku, zajedno sa širokim odnosom Ca:P nepovoljno utiče na iskorišćavanje oba elementa iz dostupnih izvora, što dodatno potencira i njihovo značajno izlučivanje putem mleka ili ugradnje u skelet teleta (Jovanović, 1984). Vrednosti kalcemije kod svih ispitanih grupa krava su na donjoj granici fizioloških vrednosti ili nešto ispod njih, zavisno od uzete referentne vrednosti (Ivanov i sar., 2005; Kaneko i sar., 2008; Radojičić, 2008), a sličan trend postoji i kod fosfatemije. U poređenju sa vrednostima koje navode Đoković i sar. (2010), vrednosti kalcemije su neznatno niže kod zasušenih, a nešto više kod krava u ranom puerperijumu. Fosfatemija krava u našem istraživanju je značajno niža u odnosu na vrednosti koje su za zasušene i krave u ranom puerperijumu ustanovili isti autori (2,09 i 1,97 mmol/l). Važno je naglasiti da je kod krava sa produženim servis periodom ustanovljen sužen, skoro izjednačen, odnos kalcemije i fosfatemije, što uz njihovu nisku koncentraciju i glikemiju na donjoj fiziološkoj granici skoro izvesno predstavlja jedan od uzroka dugog servis perioda.

Koncentracija uree u krvi je značajan pokazatelj snabdevenosti azotom i energijom putem obroka. Do smanjenja dolazi kod deficita proteina u obroku, a posebno kod kombinovanog deficita energije i proteina. Do povećanja koncentracije uree u krvi dolazi kod suficita proteina u obroku, uz apsolutni ili relativni nedostatak energije (Stamatović i Jovanović, 1990; Stojević i sar., 2002; Horvat i sar., 2007). Prosečna koncentracija uree kod svih grupa krava bila je ispod donje granice intervala koji navode Kaneko i sar. (2008). U odnosu na referentne vrednosti koje navode Radojičić i sar. (2002), Ivanov i sar. (2005), Radojičić (2008) i Šamanc (2010) nisu ustanovljena odstupanja. Unutar ispitivanih grupa ustanovljeno je postojanje statistički značajnih razlika između sve četiri grupe krava u laktaciji. Činjenica da je najviša koncentracija uree ustanovljena kod krava u ranom puerperijumu može se povezati sa smanjenim iskorištavanjem energije obroka i uopšte smanjenim unosom hrane u ovom periodu, čime se ograničava sposobnost mikroflora buraga da vezuje amonijak oslobođen iz razloženih proteina hrane. Koncentracija uree kod krava u ranom puerperijumu u našem istraživanju je viša u odnosu na vrednosti za ovu kategoriju koje su ustanovili Đoković i sar. (2009 b, 2010). Sličan trend postoji i kod zasušenih krava, dok je kod krava u petom mesecu laktacije ustanovljena niža vrednost u odnosu na rezultate navedenih autora.

Vrednosti koncentracije ukupnih lipida u krvnom serumu ispitanih krava kretale su se u okvirima granica koje navode Ivanov i sar. (2005). Ustanovljene su statistički značajne razlike između pojedinih grupa, što se može povezati sa metaboličkim statusom u pojedinim reproduktivnim fazama i op-

terećenjem metabolizma zbog intenzivne laktacije, odnosno visokog graviditeta, a svakako i usklađenošću ishrane sa potrebama životinje. Samo je kod grupe krava u kasnom puerperijumu ustanovljena koncentracija ukupnih lipida koja se približava gornjoj granici fiziološke vrednosti, što je najverovatnije posledica aktiviranja homeoretskih mehanizama i intenziviranja lipomobilizacije sa porastom proizvodnje mleka.

Zaključak / Conclusion

Analizom obroka kod svih grupa krava ustanovljen je deficit proteina, od skoro 50% u odnosu na potrebe. Kod svih grupa krava u laktaciji uočljiv je jak deficit suve materije i energije obroka, koji sa napretkom laktacije iscrpljuje organizam krava i produžava servis period. Posmatranjem vrednosti ispitivanih parametara unutar grupa krava, mogu se uočiti velike individualne varijacije, jer se kod značajnog broja krava njihova vrednost nalazi ispod donje fiziološke granice. Na nedovoljnu snabdevenost proteinima i energijom ukazuju niska prosečna koncentracija uree, koja se u odnosu na preporuke nalazi ispod donje fiziološke granice kod svih ispitanih grupa životinja, i činjenica da je prosečna glikemija kod svih grupa krava izrazito niska, mada unutar fizioloških granica.

Fiziološke, čak i nešto povišene koncentracije proteina, kao i održavanje koncentracije glukoze, bilirubina i ukupnih lipida unutar fizioloških granica ukazuju na uglavnom očuvanu funkciju jetre. Ipak, koncentracija lipida kod krava u kasnom puerperijumu, koja se približava gornjoj fiziološkoj granici, ukazuje na negativan bilans energije i lipomobilizaciju. Koncentracije karotina i vitamina A kretale su se unutar fizioloških granica, što ukazuje na dobru snabdevenost ovim materijama putem obroka, najverovatnije iz sena lucerke. Parametri mineralnog metabolizma, zajedno sa rezultatima analize obroka, pokazuju da postoji nepovoljan odnos između kalcijuma i fosfora u obroku, što se negativno odražava na njihovo iskorištavanje. Poseban značaj ima nalaz niskih vrednosti kalcemije i fosfatemije, kao i njihov nepovoljan odnos kod svih grupa krava, a posebno grupe krava sa produženim servis periodom.

Literatura / References

1. Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy. *J Anim Sci* 1995; 73: 2804-19.
2. Bobe G Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3105-24.
3. Đoković R, Ilić Z, Bogosavljević-Bošković S, Petrović M. The functional state of liver cells in dairy cows in postpartal period and during lactation. *Savremena poljoprivreda* 2009b, 58(3-4): 37-43.
4. Đoković R, Ilić Z, Kurćubić V, Dosković V. The values of organic and inorganic blood parameters in dairy cows during the peripartal period, *Savremena poljoprivreda* 2010; 59(1-2): 30-6.

5. Đoković R, Ilić Z, Kurćubić V, Jevtić S. The functional state of liver cells in dairy cows during transition and lactation. *Acta Agriculturae Serbica* 2009a; XIV(27): 53-61.
6. Friesecke H. Beta Carotin und die Fruchtbarkeit des Rindes. Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, 1978.
7. Glamović D. Ocena kvaliteta i energetske vrednosti hraniva i sastavljanje obroka za preživare. Materijal za vezbe. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 1997.
8. Grubić G, Hristov S, Adamović M, Jovanović R. Uticaj suficita proteina u obrocima na zdravstveno stanje krava. *Vet glasnik* 1997; 3-4: 127-35.
9. Grubić G, Adamović M. Ishrana visokoproduktivnih krava, Poljoprivredni fakultet Beograd – Zemun, 1998.
10. Grumer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cows. *J Anim Sci* 1995; 73: 2820-33.
11. Haraszi J, Huszenicza Gy, Molnár L, Blaskovits A. Effect of periparturient lipid mobilization on serum total Carotene and Vitamin A Concentrations in cattle. *Acta Veterinaria Hungarica* 1984; 32:193-203.
12. Horvat J, Katić V, Šamanc H, Kirovski D. Zdravstveni poremećaji visokomlečnih krava u ranoj laktaciji i njihov uticaj na higijensku ispravnost sirovog mleka, VSI Subotica, 2007.
13. Ivanov I, Šamanc H, Vujanac I, Dimitrijević B. Metabolički profil krava. Zbornik radova 4. simpozijuma: Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda, Subotica 2005, 241-7.
14. Jovanović M. Fiziologija domaćih životinja. Beograd – Zagreb, 1984.
15. Kaneko JJ, Harvey J, Bruss M. *Veterinary Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Sixth Edition, Academic Press, London, New York, Tokyo, 2008.
16. Lotthammer KH. Ursachen und Massnahmen beim primär nicht infektiösen genitalkatarrh des Rindes. *Prakt Tierarzt* 1985; 66: 79-84.
17. Lotthammer KH, Wittkowski G. Fruchtbarkeit und Gesundheit des Rindes. Verlag Eule, 1994.
18. Lubojacka V, Pechova A, Dvorak R, Drastich P, Kummer V, Poul L. Liver steatosis following supplementation with fat dairy cows diets. *Acta Vet Brno* 2005; 74: 217-24.
19. Overton TR, Waldron MR. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci* 2004; 87: 105–19.
20. Radojičić B. Opšta klinička dijagnostika kod domaćih papkara. Naučna KMD, Beograd, 2008.
21. Radojičić B, Bojkovski J, Janković D. Neki biohemijski parametri u kontroli metabolizma visoko mlečnih krava, *Veterinarski žurnal Republike Srpske* 2002; 2(1-2): 31-5.
22. Rakes AH, Owens MP, Britt JH, Whiltow LW. Effects of Adding Beta-Carotene to rations of Lactating Cows Consuming Different Forages. *J Dairy Sci* 1985; 68: 1732-7.
23. Sevinc M, Basoglu A, Guzelbekta H. Lipid and lipoprotein levels in dairy cows with fatty liver. *Turk J Vet Animal Sci* 2003; 27: 295-9.
24. Sinovec Z, Ševković N. Praktikum iz ishrane. Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, 1995.
25. Stamatović S, Jovanović M. Bolesti papkara I - Bolesti goveda, Univerzitet u Beogradu. Fakultet veterinarske medicine, 1990.

26. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. Relationship Between Ovarian Activity and Energy Status During the Early Postpartum Period of High Producing Dairy Cows. *J Dairy Sci* 1990; 73: 938-47.
27. Stojević Z, Milinković-Tur S, Zdelar-Tuk M, Piršljin J., Galić G, Bačić I: Blood minerals and metabolites as an indices of metabolic disturbances in dairy cattle. *Praxis Vet* 2002; 50: 261-4.
28. Šamanc H. Bolesti organa za varenje goveda. Naučna KMD, Beograd, 2010.
29. Šamanc H, Sinovec Z, Adamović M, Grubić, G. Uloga ishrane u etiopatogenezi poremećaja metabolizma visokomlečnih krava, Zbornik radova 4. simpozijuma: Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda, Subotica, 27.09.-01.10. 2005b, 3-19.
30. Šamanc H, Sinovec Z, Cernescu H. Osnovi poremećaja prometa energije visokomlečnih krava, Zbornik radova 4. simpozijuma: Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda, Subotica, 27.09.-01.10. 2005a; 89-101.
31. Veenhuizen JJ, Drackley JK, Richard MJ, Sanderson TP, Miller LD, Joung JW. Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of experimental fatty liver and ketosis in cows. *J Dairy Sci* 1991; 74: 4238-53.
32. Veličković M, Vuković D. Koncentracija beta karotina i vitamina A u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu. *Vet glasnik* 2005; 59(5-6): 557-67.
33. Vuković D, Šamanc H, Damjanović Z, Perković S, Ignjić Đ. Koncentracija Ca, P, karotina i vitamina A u krvnom serumu krava simentalске rase sa osvrtom na poremećaje plodnosti. *Vet glasnik* 1987; 41(11-12): 927-30.
34. Vuković D, Veličković M, Perković S, Prka I. Poremećaji reprodukcije uslovljeni negativnim bilansom energije. Zbornik radova 4. simpozijuma Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda, Subotica, 27.09.-01.10. 2005; 209-15.

ENGLISH

BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SIMMENTAL COWS IN DIFFERENT PHASES OF REPRODUCTIVE CYCLE

Bisa Radović, Stoja Jotanović, Đ. Savić, A. Nitovski

This paper presents the values of blood biochemical parameters of Simmental cows ($n = 60$), divided into five groups (dry cows, early puerperium, late puerperium, the fifth month of lactation, and cows with an extended service period). The ration for lactating cows contained an insufficient amount of dry matter, a third less than the lower limit of their requirements. In all examined groups of cows, a strong protein deficiency and excess calcium was found in the diet. Total protein concentration in all groups of cows were on the upper physiological limit, and the concentrations of bilirubin, carotene, vitamin A and total lipids were within the normal range. Low concentrations of urea in the third, fourth and fifth group of cows (3.1 ± 0.39 mmol/l, 2.9 ± 0.38 mmol/l and 3.3 ± 0.43 mmol/l, respectively) indicate the imbalance of protein and energy in the diet. The presence of an energy deficit is also indicated by the low blood glucose in all groups of cows, especially the second and fifth groups of cows (2.2 ± 0.04 mmol/l and 2.3 ± 0.07 mmol/l, respectively). The unfavorable

ratio of calcium and phosphorus in the diet resulted in the narrowing of the calcium:phosphorus ratio in blood serum, which is particularly evident in cows with an extended service period (2.1 ± 0.07 mmol/l compared to 1.9 ± 0.11 mmol/l). Based on these results, we conclude that the tested herd exhibits subclinical health disorders, caused by an inadequate diet and with adverse effects on the productive and reproductive parameters.

Key words: cow, blood biochemical parameters, reproductive cycle

РУССКИЙ

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ КОРОВ СИМЕНТАЛСКОЙ ПОРОДЫ В РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА

Биса Радович, Стоя Йотанович, Дж. Савич, А. Нитовски

В работе дан показ стоимости биохимических параметров крови коров сименталской породы (n=60), разделенных в пять групп (засушенные коровы, ранний пуерперий, поздний пуерперий, пятый месяц лактации, и коровы с продолженным сервис периодом). Рацион для коров в лактации содержал недостаточное количество сухой материи, для трети меньше нижней границы нужд. У всех испытанных групп коров установлен сильный дефицит протеинов и излишек кальция в рационе. Концентрация совокупных протеинов в крови у всех групп коров была на верхней, а концентрация билирубина, каротина, витамина А и совокупных липидов, внутри физиологических границ. Низкие концентрации мочевины у третьей, четвертой и пятой группах коров ($3,1 \pm 0,39$ ммол/л, $2,9 \pm 0,38$ ммол/л и $3,3 \pm 0,43$ ммол/л) указывает на дисбаланс протеинов и энергии в рационе. На дефицит энергии указывает и низкая гликемия у всех групп коров, отдельно второй и пятой группах коров ($2,2 \pm 0,04$ ммол/л и $2,3 \pm 0,07$ ммол/л). Неблагоприятное отношение кальция и фосфора в рационе имело для последствия сужение отношения кальцемии и фосфатемии, что отдельно заметно у коров с продолженным сервис периодом ($2,1 \pm 0,07$ мол/л : $1,9 \pm 0,11$ ммол/л). На основе полученных результатов можно сказать, что на уровне испытанного племенного приплода существуют подклинические расстройства здоровья обусловливаны неадекватным кормлением, которые неблагоприятно влияют на производственные и репродуктивные параметры.

Ключевые слова: корова, биохимические параметры крови, репродуктивный цикл

**ISPITIVANJE PRISUSTVA ALFA HEMOLITIČKIH
STREPTOKOKA, ENTEROKOKA I STREPTOKOKAMA
SLIČNIH BAKTERIJA U RAZLIČITIM MATERIJALIMA
POREKLOM OD SVINJA***

***INVESTIGATION OF PRESENCE OF α HAEMOLYTIC STREPTOCOCCI,
ENTEROCOCCI AND STREPTOCOCCI-LIKE BACTERIA IN DIFFERENT
MATERIALS ORIGINATING FROM PIGS***

**A. Stanojković, Ružica Ašanin, Jelena Ašanin, Ksenija Palić,
Aleksandra Stanojković, Jadranka Žutić****

*Cilj ovog rada je bilo ispitivanje prisustva i zastupljenosti streptokoka, enterokoka i streptokokama sličnih bakterija u različitim materijalima poreklom od zdravih, zaklanih i uginulih svinja različitih kategorija sa nekoliko farmi i klanica u Republici Srbiji. Ukupno je ispitano 226 uzoraka briseva tonzila i nosa od klinički zdrave prasadi u tovu, briseva tonzila prasadi starosti 5-20 dana, delova nazofaringealnih tonzila tovljenika zaklanih na klanici, delova nazofaringealnih tonzila prasadi zaklanih na klanici, briseva sa trupova zaklanih svinja na klanici, briseva sa noževa za evisceraciju organa na klanici, kao i briseva pluća, trbušne duplje i organa naglo uginule prasadi. Ispitivanje prisustva navedenih vrsta bakterija vršeno je primenom standardnih mikrobioloških metoda. Za identifikaciju izolovanih vrsta bakterija korišćeni su komercijalni biohemijski testovi, a za utvrđivanje serotipske pripadnosti izolovanih sojeva *Streptococcus suis* specifični serum i za kapsularne antigene. Ustanovljeno je da najveći broj izolovanih sojeva pripada rodu *Streptococcus*, a u daleko manjem broju izolovane bakterije su pripadale rodovima: *Enterococcus* (6) (10,4%), *Aerococcus* (3) (6,2%), *Lactococcus* (2) (4,2%) i *Globicatella* (2) (4,2%). Od navede-*

* Rad primljen za štampu 04. 05. 2011. godine

** Dr vet. med. Aleksandar Stanojković, Veterinarska stanica „Nutrivet“, Smederevo; dr sci. med. vet. Ružica Ašanin, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; Jelena Ašanin, dr vet. med., Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu; mr sci. med. vet. Ksenija Palić, asistent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; Aleksandra Stanojković, Institut za zemljište; Jadranka Žutić, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

nog broja *Streptococcus* vrsta najveći broj je pripadao vrsti *Streptococcus suis* (23) (64%). U brisevima nazofaringealnih tonzila utvrđeno je prisustvo i ostalih á hemolitičkih streptokoka: *Streptococcus sanguinis* (13,8%), *Streptococcus salivarius* (5,6%), *Streptococcus mitis* (5,6%), *Streptococcus parasanguinis* (2,7%) i *Streptococcus oralis* (2,7%). Takođe, u manjem procentu izolovana je i vrsta *Streptococcus bovis* (5,6%). Najveći procenat izolovanih bakterija iz roda *Enterococcus* pripadao je vrsti *Enterococcus faecalis* (80%), dok je vrsti *Enterococcus faecium* pripadao znatno manji procenat izolata (20%). Od ostalih takozvanih streptokokama sličnih vrsta bakterija izolovane su: *Aerococcus viridans*, *Globicatella sanguinis* i *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*.

Ključne reči: *Streptococcus* vrste, *Streptococcus suis*, svinje, tonzile

Uvod / Introduction

Proizvodnja svinjskog mesa zauzima izuzetno važno mesto u svetском stočarstvu, kako u pogledu obima proizvodnje, tako i u pogledu ekonomskih efekata koji se u ovoj grani stočarstva ostvaruju. Intenzivna proizvodnja svinja podrazumeva držanje velikog broja životinja na relativno malom prostoru. U takvim uslovima masovne proizvodnje i sve većih zahteva u smislu povećanja proizvodnih sposobnosti životinjskog organizma postavljaju se i problemi zdravstvene zaštite. Poznati su brojni, kako patogeni, tako i oportunistički patogeni koji uzrokuju različita oboljenja kod svinja. Od prvih podataka o infekcijama izazvanim vrstom *Streptococcus suis*, koje su izneli Jansen i Van Dorssen (1951) u Holandiji i Field i sar. (1954) u Engleskoj pa do danas *Streptococcus suis* je izolovan i identifikovan u svim zemljama u kojima je proizvodnja svinjskog mesa važan deo ekonomije. Bolesne životinje izlučuju u okolinu veliki broj bakterija koje se aerosolom ili direktnim kontaktom prenose na osetljive domaćine. Uzročnik u leševima uginulih svinja može da preživi 6 nedelja na temperaturi od 4°C i 12 dana na temperaturi 22-25°C, a uzročnika mogu širiti ptice, glodari, mačke i psi. Takođe, uzročnik dobro podnosi temperature do 55°C, kao i temperature zamrzavanja, na kojima može preživeti i do 10 dana. Prevoznim sredstvima uzročnik se može prenositi na relativno kratkim udaljenostima, zatim preko igala i špriceva, kao i kontaminiranim sirovim mesom. Infekcija ovim uzročnikom stavljena je 1983. godine na listu industrijskih bolesti u Francuskoj i Velikoj Britaniji, a od 2005. godine u Hongkongu infekcija izazvana *Streptococcus suis* klasifikovana je kao bolest koja se obavezno prijavljuje. Prema navodima Zhang i sar. (2008) u državama sa razvijenim svinjarstvom, naročito u proteklih 20 godina, kao jedan od značajnijih prouzrokovaca kontagiozne bolesti svinja navodi se i *Streptococcus suis*. Značajnu ulogu u nastanku različitih manifestacija bolesti (septikemije, endokarditisi, meningitisi, različite gnojne infekcije), kod ljudi i životinja ima *Strepto-*

coccus suis, kao i izolovani oportunistički patogeni: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus bovis* i streptokokama slične bakterije (*Globicatella sulfidifaciens*). Dugo vremena infekcije kod ljudi izazvane vrstom *Streptococcus suis* smatrane su sporadičnim pojavama koje su imale nisku prevalenciju i smatralo se da samo ljudi koji rade sa svinjama i proizvodima od svinja oboljevaju. Međutim epidemija bolesti izazvana ovim patogenom 2005 godine u Kini u kojoj je preko 200 ljudi bilo inficirano, a oko 20% obolelih umrlo upozorila je i ukazala na rizik po zdravlje ljudi (Yu i sar., 2006). Zahvaljujući faktorima virulencije (sposobnosti da formira kapsulu, da luči suilizin, fosflipazu C, ekstracelularni faktor i inhibitorne supstance slične bakteriocinu, kao i sposobnosti da formira biofilm u različitim sredinama), koji su istovremeno i njegovi odbrambeni mehanizmi, *S. suis* se veoma dobro prilagođava organizmu domaćina i tako uspeva da opstane u organizmu i izazove infekciju. Iako su faktori virulencije *Streptococcus suis* veoma dobro poznati, tačan mehanizam patogeneze infekcije nije još sasvim razjašnjen i zbog toga se smatra da postoje veoma male razlike između sojeva koji izazivaju infekcije kod svinja i kod ljudi (Berthelot-Hérault i sar., 2002). I navedeni oportunistički patogeni su sposobni da kolonizuju organe i tkiva ljudi i životinja, imaju sposobnost formiranja biofilma, te takođe mogu uzrokovati prethodno navedene infekcije. Poseban problem predstavlja lečenje ljudi i životinja inficiranih oportunističkim patogenima koji su često rezistentni na penicilin i eritromicin. Streptokoke, enterokoke i streptokokama slične bakterije na preparatima bojenim po Gramu vide se kao gram pozitivne pojedinačne ili koke u parovima, a mogu da formiraju duže ili kraće lance. Preliminarnom primenom katalaza testa ova grupa bakterija se može razlikovati od katalaza pozitivnih mikrokoka i stafilokoka. *S. suis* je do nedavno smatran streptokokom D-grupe, zbog unakrsnog reagovanja sa antiserumima protiv antigena D-grupe streptokoka. Međutim, sada se zna da se *S. suis* genetski razlikuje od ostalih članova ovog roda, zbog čega je izdvojen u posebnu grupu streptokoka. Klasifikacija i taksonomija streptokoka i streptokokama sličnih bakterija se radikalno promenila poslednjih godina otkrićem nekoliko novih rodova katalaza negativnih kokoidnih vrsta bakterija. Upotrebom molekularnih metoda kao što su DNK-DNK hibridizacija, DNK-ribozomalna RNK hibridizacija, sekvenciranje male subjedinice ribozomalne RNK omogućeno je kompletno reorganizovanje taksonomije streptokoka (Principalli, 2009). U najnovijem izdanju Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), streptokoke, enterokoke i streptokokama slične bakterije su svrstane u koleno *Firmicutes*, klasu *Bacilli* i red *Bacillales*. Među pomenutim bakterijama koje su bile predmet ispitivanja i u ovom radu, prema podacima iz literature, nalaze se i značajni patogeni, kako za svinje, tako i za ljude (Katarina Westling i sar., 2008). Cilj ovog rada je bio da se ustanovi prisustvo α hemolitičkih pripadnika iz navedenih grupa bakterija u materijalima poreklom od svinja, bez obzira na to da li pripadaju patogenima, oportunističkim patogenima ili apatogenim vrstama.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

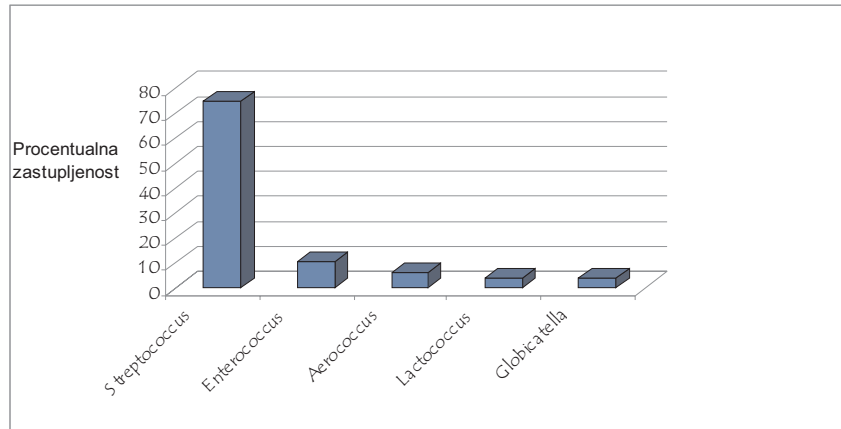
Materijal za ovo ispitivanje predstavljali su brisevi nazofaringealnih tonzila žive, zdrave i bolesne, prasadi starosti od 5 do 20 dana, delovi nazofaringealnih tonzila prasadi zaklanih na klanici, brisevi nazofaringealnih tonzila tovljenika telesne mase od 95 do 110 kg na liniji klanja, briseva sa trupova zaklanih svinja na klanici, briseva sa noževa za evisceraciju organa na klanici, kao i briseva pluća, trbušne duplje i organa naglo uginule prasadi. Ukupno je ispitano 226 uzoraka. Brisevi i delovi ili cele nazofaringealne tonzile svinja, kao i ostali materijali transportovani su do laboratorije u tripton soja bujonu (Oxoid, Engleska) u roku od 2 časa od uzorkovanja. Dostavljeni uzorci su odmah po transportovanju zasejani na hranljivu podlogu Kolumbia agar sa dodatkom 5% ovčije krvi (CBA), (bioMerieux, Francuska). Uzorci nazofaringealnih tonzila svinja su najpre homogenizovani metodom koju su opisali Wisselink i sar. (1999), a potom su zasejavani na CBA podlogu. Sve podloge su inkubirane aerobno 24 časa na temperaturi od 37°C. Izolovani mikroorganizmi su međusobno diferencirani primenom konvencionalnih mikrobioloških metoda, (morfologije kolonija, karakteristika hemolize koje daju na krvnom agaru, mikroskopskom izgledu na preparatima i katalaza i oksidaza testa). Za ispitivanje oksidaze korišćen je reagens proizvođača (Becton Dickinson). Za identifikaciju bakterija korišćeni su preliminarni klasični i komercijalni testovi API 20 Strep i rapid ID32 STREP (bioMerieux, Francuska). Za utvrđivanje serotipske praipadnosti sojeva *S. suis* i njihovog razlikovanja od streptokoka viridans grupe korišćena je serološka reakcija precipitacije poznata kao Neufeld test (Quellung reakcija) sa specifičnim serumima za kapsularne antigene *S. suis*, proizvođača (Statens Serum Institut, Danska).

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Iz 226 uzoraka koji su bili obuhvaćeni ispitivanjem izolovano je ukupno 48 α hemolitičkih sojeva bakterija koje su pripadale sledećim rodovima : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Lactococcus* i *Globicatella*. U ispitivanim uzorcima nisu ustanovljene β hemolitičke vrste streptokoka. Najzastupljeniji izolati pripadali su rodu *Streptococcus* (36) (75%), a u daleko manjem broju izolovane su bakterije iz rodova: *Enterococcus* (6) (10,4%), *Aerococcus* (3) (6,2%), *Lactococcus* (2) (4,2%) i *Globicatella* (2) (4,2%). Procentualna zastupljenost navedenih rodova bakterija u ispitivanim materijalima prikazana je na grafikonu 1.

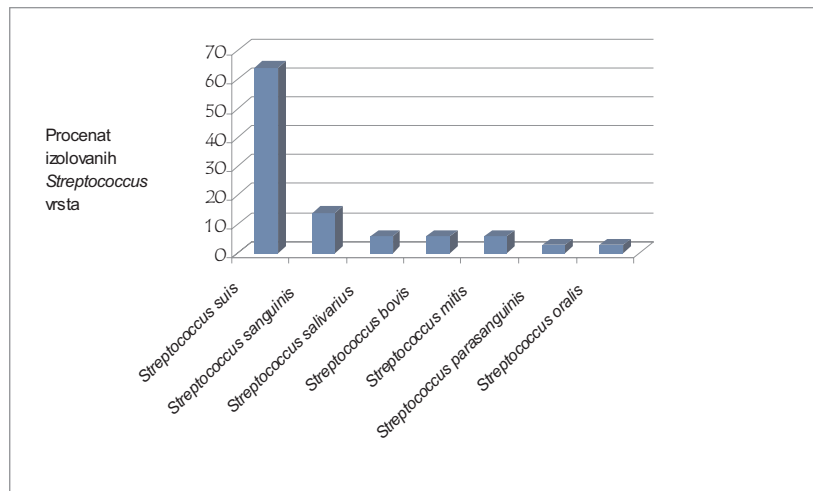
Od navedenog broja *Streptococcus* vrsta najveći broj, 23 vrste, (64%) je pripadao vrsti *Streptococcus suis*. Od ostalih viridans streptokoka u značajnom procentu bile su zastupljene, pre svega *Streptococcus sanguinis* (13,8%), zatim *Streptococcus salivarius* (5,6%), *Streptococcus mitis* (5,6%), *Streptococcus parasanguinis* (2,7%) i *Streptococcus oralis* (2,7%). U manjem procentu izolovan je i

Streptococcus bovis (5,6%). Procentualna zastupljenost izolovanih hemolitičkih streptokoka iz nazofaringealnih tonzila svinja prikazana je na dijagramu 2.



Grafikon 1. Prikaz procentualne zastupljenosti pojedinih rodova bakterija u ispitivanim uzorcima poreklom od svinja /

Figure 1. Percentage of certain genera of bacteria in analyzed samples originating from pigs



Grafikon 2. Prikaz procentualne zastupljenosti izolovanih vrsta streptokoka /

Figure 2. Percentage of isolated species of streptococci

Iz dobijenih rezultata može se uočiti da je *S. suis* prisutan u ispitivanim materijalima, a posebno je značajna njegova prevalencija od 64% u nazofaringealnim tonzilama svinja. Ovakav rezultat može se objasniti i time što se *S. suis*

normalno nalazi u gornjim delovima respiratornog sistema, najčešće u tonzilama i nosnim šupljinama, a njegovo prisustvo prema podacima koje iznose Higgins i sar. (2006) može se utvrditi u genitalnom i digestivnom sistemu svinja.

Međutim, zbog njegovog značaja u humanoj i veterinarskoj medicini dobijeni rezultati ukazuju na potencijalno visok rizik od mogućih infekcija kod radnika na farmama svinja i u klanicama na kojima je vršeno uzorkovanje. Prema podacima iz literature *Streptococcus suis* se serološkom tipizacijom pomoću seruma specifičnih za kapsularne polisaharide, može jasno diferencirati od ostalih streptokoka iz grupe viridans pre svega *S. sanguinis* (Tarradas i sar., 1994; Higgins i sar., 1990; Gottschalk i sar., 1991; Facklam, 2002). Serološka tipizacija *S. suis* je neophodna zbog činjenice da sojevi *S. suis* po svojim biohemijskim osobinama mogu biti identični sa ostalim viridans streptokokama. I u našem ispitivanju serološkom tipizacijom je utvrđeno prisustvo 4 serotipa: 1, 2, 7 i 9 *S. suis*. Rezultati procentualne zastupljenosti sojeva *S. suis* u brisevima nazofaringealnih tonzila klinički zdravih životinja na farmi, kao i u nazofaringealnim tonzilama zaklanih životinja, u saglasnosti su sa podacima koje navode Devriese i sar. (1994). Velika zastupljenost ovog uzročnika u tonzilama u saglasnosti je sa nalazima koje navode Mogollon i sar. (1991), koji su ustanovili da sva prasada do odvajanja od krmače nose neki od serotipova *S. suis* u svojim tonzilama. Slične rezultate su dobili i Mwaniki i sar. (1994), prema kojima se kliconoštvo kod svinja kreće od 0 do 100%, dok Clifton-Hadley i sar. (1986) navode da se *S. suis* iz tonzilarnih kripti može izolovati u gotovo 100% slučajeva. Poznato je da je *S. suis* značajan patogen svinja i ljudi, ali su ustanovljene i bolesti drugih životinja izazvane ovom α hemolitičkom streptokokom. Posebno je značajan podatak izolacije *S. suis* serotipa 2 koji najčešće izaziva oboljenja kod ljudi. Iako postoje neke fenotipske razlike između humanih i sojeva *S. suis* serotipa 2, poreklom od svinja, većina studija tvrdi da su sojevi izolovani od ljudi fenotipski i genotipski slični sojevima izolovanim od svinja u istom geografskom području (Berthelot-Herault i sar., 2002; Pedrolu i sar., 2003; Marois i sar., 2006; Yu i sar., 2006; Rehm i sar., 2007). Smatra se da broj obolelih ljudi zavisi od njihovog kontakta sa neobrađenim svinjskim mesom ili od bliskog kontakta sa svinjama, te su među najugroženijima i onima koji najčešće oboljevaju – farmeri, radnici u klanicama, inspektori na klanicama, mesari i veterinari (Walsh i sar., 1992; Huang i sar., 2005; Tang i sar., 2006). Ukoliko se analizira prisustvo izolovanih α hemolitičkih streptokoka iz nazofaringealnih tonzila svinja, može se uočiti da je *S. suis* serotip 2 najčešće prisutan zbog čega je i razumljiva zabrinutost istraživača za zdravlje lica koja su u bliskom kontaktu sa svinjama ili njihovim proizvodima. Prevalencija svih α hemolitičkih streptokoka u nazofaringealnim brisevima ispitivanih svinja iznosila je 30,6%. Zna se da su viridans streptokoke normalno prisutne u usnoj duplji ljudi, ali o njihovoj kolonizaciji usne duplje i drugih organa životinja manje ima podataka. Međutim, poslednjih godina se sve do sada izolovane viridans streptokoke često navode kao izazivači ozbiljnih oboljenja ljudi. Tako je ustanovljeno da se *S. sanguinis*, *S. salivarius*, *S. mitis* i *S. oralis* izoluju u kliničkim slučajevima bakterijske neutro-

penije, meningitisa, apscesa mozga, pneumonije, endokarditisa i otitisa kod ljudi. Do ovih infekcija najčešće dolazi posle intervencija na zubima, organima trbušne duplje ili izvođenja invazivnih dijagnostičkih metoda (lumbalne punkcije, endoskopije i kateterizacije), a zabeležene su i infekcije kod odojčadi i imunokompromitovanih ljudi (Frandsen i sar., 1991). Zanimljivo je da mi u ovom ispitivanju nismo izolovali viridans streptokoke koje su karakteristične za svinje, pre svega *S. tholaterensis*, *S. hyovaginalis* (genitalni sistem svinja) i *S. hyointestinalis* (gastrointestinalni sistem svinja). Diferenciranje vrste *S. salivarius* od *S. hyointestinalis*, koje su veoma slične po morfološkim osobinama, vrši se na osnovu osobina datih u tabeli koju su izneli Devriese i sar. (1988). Sve navedene viridans streptokoke koje smo izolovali, kao i *S. bovis*, koji je izolovan u manjem broju slučajeva iz materijala poreklom od svinja, smatraju se ili normalnim stanovnicima usne duplje svinja ili se tu nekada nalaze kao kontaminanti. *Enterococcus* vrste su izolovane u 10,4% slučajeva. Najveći procenat je pripadao vrsti *Enterococcus faecalis* (80%), dok je vrsti *Enterococcus faecium* pripadao znatno manji procenat izolata (20%). *Enterococcus* vrste imaju veći značaj u humanoj medicini kao uzročnici oportunističkih infekcija ljudi.

Streptokokama slične bakterije koje su izolovane pripadale su rodovima *Aerococcus*, *Globicatella* i *Lactococcus* i uglavnom nemaju značaja u izazivanju infekcija kod svinja. Ovo se pre svega odnosi na *Aerococcus viridans*, koja je jedina bakterija iz roda *Aerococcus* izolovana iz briseva nazofaringealnih tonzila svinja, a koja se može naći gotovo svuda u okolini. Iako u patologiji ljudi *Aerococcus viridans* može izazvati endokarditis, bakterijemiju, artritis i meningitis, njegova uloga kao specifičnog patogena u nastanku bolesti kod svinja gotovo da ne postoji. Međutim, ovu tvrdnju opovrgli su (Martín V i sar., 2007), kada su u uzorcima poreklom od svinja izolovali *Aerococcus viridans* u čistoj kulturi. *Globicatella sanguinis* izolovana je iz dva brisa tonzila tovljenika i može se smatrati normalnim stanovnikom gornjeg respiratornog sistema svinja. Uloga ove bakterije kod svinja je nepoznata, ali su poznati slučajevi oboljenja ljudi izazvani ovom bakterijom. *Globicatella sanguinis* se lako može diferencirati na osnovu biohemijskih karakteristika od vrste *Globicatella sulfidifaciens*, koja kod svinja izaziva gnojne infekcije (Vandamme i sar., 2001). *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* je jedina vrsta iz ovog roda koja je izolovana iz materijala poreklom od prasadi. Budući da ova vrsta bakterije pripada tzv. „mlečnim streptokokama“ njeno prisustvo je ukazalo na to da je na sluznicu tonzila prasadi koja su ispitivana dospela putem hrane (mlečnih proizvoda).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom istraživanju može se zaključiti da je od streptokoka, enterokoka i streptokokama sličnih bakterija u nazofaringealnim brisevima svinja najzastupljenija vrsta *S. suis* (23) 64%. S obzirom na literaturne podatke po kojima je *S. suis* veoma značajan patogen svinja u poslednjih

20 godina, a da su oboljenja kod ljudi koje ovaj patogen izaziva sve učestalija, bilo bi značajno ispitati prisustvo ove streptokoke na što većem broju farmi svinja u Republici Srbiji. Takođe bi bilo značajno uvesti monitoring ispitivanja osetljivosti, odnosno rezistencije *S. suis* na antibiotike koji se koriste u kliničkoj praksi radi mogućnosti lečenja, kako obolelih svinja, tako i ljudi.

Literatura / References

1. Berthelot-Hérault F, Morvan H, Kéribin AM, Gottschalk M, Kobisch M. Production of muraminidase-released protein (MRP), extracellular factor (EF) and haemolysin by field isolates of *Streptococcus suis* capsular types 2, 1/2, 9, 7 and 3 isolated from swine in France. *Vet Res* 2000; 31: 473-9.
2. Berthelot-Hérault F, Marois C, Gottschalk M, Kobisch M. Genetic diversity of *Streptococcus suis* strains isolated from pigs and humans as revealed by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 615-9.
3. Clifton-Hadley FA, Alexander TJL, Enright MR. Diagnosis of *Streptococcus suis* infection in pigs. *Proceedings of the Pig Veterinary Society* 1986; 14: 27-34.
4. Devriese LA, Hommez J, Pot B, Haesebrouck F. Identification and composition of the streptococcal and enterococcal flora of tonsils, intestines and faeces of pigs. *J Appl Bacteriol* 1994; 77: 31-6.
5. Devriese LA, Kilpper-Balz R, Schlaiffer KH. *Streptococcus hyointestinalis* sp. nov. from the gut of swine. *Int J Syst Bacteriol* 1988; 38: 440-1.
6. Devriese LA, Ot B, Vandamme P i sar. *Streptococcus hyoivaginalis* sp. nov. and *Streptococcus tholartensis* sp. nov. from the genital tract of sows. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 1073-7.
7. Field HI, Buntain, Done JT. Studies on piglet mortality. I. Streptococcal meningitis and arthritis. *Vet Rec* 1954; 66: 453-5.
8. Frandsen EVG, Pedrazzol V, Killian M. Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6: 129-33.
9. Gottschalk M, Higgins R, Jacques M, Beaudoin M, Henrichsen J. Isolation and characterization of *Streptococcus suis* capsular types 9-22. *J Vet Diagn Invest* 1991; 3: 60-5.
10. Higgins R, Gottschalk M, Mittal KR, Beaudoin M. *Streptococcus suis* infection in swine: a sixteen month study. *Can J Vet Res* 1990; 54: 170-3.
11. Huang YT, Teng LJ, Ho SW, Hsueh PR. *Streptococcus suis* infection. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; 38(5): 306-13.
12. Jansen EJ, Van Dorssen CA. Meningoencephalitis bij varkens door streptococci. *Tijdschr Diergeneeskde* 1951; 76: 815-32.
13. Marois C, Le Devendec L, Gottschalk M, Kobisch M. Molecular characterization of *Streptococcus suis* strains by 16S-23S intergenic spacer polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Canadian J Vet Res* 2006; 70: 94-104.
14. Martín VA, Vela AI, Gilbert M, Cebolla J, Goyache J, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JE. Characterization of *Aerococcus viridans* isolates from swine clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45(9): 3053-7.

15. Mogollon JD, Pijoan C, Murtaugh MP, Collins JE, Cleary PP. Identification of epidemic strains of *Streptococcus suis* by genomic fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1991; 29(4): 782-87.
16. Mwaniki CG, Robertson ID, Trott DJ, Atyeo RF, Lee BJ, Hampson DJ. Clonal analysis and virulence of Australian isolates of *Streptococcus suis* type 2. *Epidemiol Infect* 1994; 113: 321-34.
17. Pedrolì S, Kobisch M, Beauchet O, Chaussinand JP, Lucht F. *Streptococcus suis* bacteremia. *Presse Médicale* 2003; 32: 599-601.
18. Princivalli MS, Palmieri C, Magi G, Vignaroli C, Manzin A, Camporese A, Barocci S. Genetic diversity of *Streptococcus suis* clinical isolates from pigs and humans in Italy (2003-2007). *Eurosurveillance* 2009; 14(33): 19310.
19. Rehm T, Baums CG, Strommenger B, Beyerbach M, Valentin-Weigand, Goethe R. Amplified fragment length polymorphism of *Streptococcus suis* strains correlates with their profile of virulence-associated genes and clinical background. *J Med Microbiol* 2007; 56: 102-9.
20. Rnate Kilpper-Ballz, Heinz Schleifer Karl. *Streptococcus suis* sp. nov., nom rev. *Int J Syst Bacteriol* 1987, 37, 2, 160-2.
21. Tang J, Wang C, Feng Y. Streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *PLoS Medicine* 2006; 3(5): e151.
22. Tarradas MC, Arenas A, Maldonado A, Vicente S, Miranda A, Perea A. Susceptibility of *Streptococcus suis* to various antimicrobial agents. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B* 1994; 41: 685-8.
23. Vandamme P, Hommez J, Snauwaert C i sar. *Globicatella sulfidifaciens* sp. nov., Isolated from purulent infections in domestic animals. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 1745-9.
24. Walsh B, Williams AE, Satsangi J. *Streptococcus suis* type 2: pathogenesis and clinical disease. *Rev Med Microbiol* 1992; 3(1): 65-71.
25. Westling K, Julander I, Ljungman P, Vondracek M, Wretling B, Jalal S. Identification of species of viridans group streptococci in clinical blood culture isolates by sequence analysis of the RNase P RNA gene, rnpB. *J Infect* 2008; 56: 204-10.
26. Wisselink HJ, Smith HE, Stockhofe-Zurwieden N, Peperkamp K, Vecht U. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. *Vet Microbiol* 2000; 74: 237-48.
27. Yu H *et al.* Human *Streptococcus suis* outbreak, Sichuan, China. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12: 914-20.
28. Zhang C, Ning Y, Zhang Z, Song L, Qiu H, Gao H. *In vitro* antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* strains isolated from clinically healthy sows in China. *Vet Microbiol*, 2008; 131: 386-92.

ENGLISH

INVESTIGATION OF PRESENCE OF α HAEMOLYTIC STREPTOCOCCI, ENTEROCOCCI AND STREPTOCOCCI-LIKE BACTERIA IN DIFFERENT MATERIALS ORIGINATING FROM PIGS

A. Stanojković, Ružica Ašanin, Jelena Ašanin, Ksenija Palić, Aleksandra Stanojković, Jadranka Žutić

The aim of this investigation was to establish the presence and prevalence of streptococci, enterococci and streptococci-like bacteria in various materials originating from healthy, slaughtered and dead pigs belonging to different categories from several farms and slaughterhouses in the Republic of Serbia. The total number of investigated samples comprised 226 swabs of tonsils and noses from clinically healthy breeders, swabs of tonsils from piglets 5-20 days old, parts of nasopharyngeal tonsils from breeders slaughtered in a slaughterhouse, parts of nasopharyngeal tonsils from piglets slaughtered in a slaughterhouse, swabs of slaughtered pig carcasses from a slaughterhouse, swabs from knives for evisceration in a slaughterhouse, as well as swabs of lungs, abdominal cavity and organs from piglets which died suddenly. The standard microbiological methods were used for investigations of the presence of the listed microorganisms. Commercial biochemical tests were used for the identification of the isolated bacteria and specific sera for capsular antigens were used for serological determination of the isolated *S. suis* strains. It was established that the great majority of the isolated strains belonged to the genus *Streptococcus* (36) (75%), and the minority of the strains belonged to the following genera: *Enterococcus* (6) (10.4%), *Aerococcus* (3) (6.2%), *Lactococcus* (2) (4.2%) and *Globicatella* (2) (4.2%). The great majority of *Streptococcus* species belonged to *S. suis*. The presence of other α haemolytic streptococci was established in the swabs of nasopharyngeal tonsils: *Streptococcus sanguinis* (13.8%), *Streptococcus salivarius* (5.6%), *Streptococcus mitis* (5.6%), *Streptococcus parasanguinis* (2.7%) and *Streptococcus oralis* (2.7%). Also, *S. bovis* was isolated in a smaller percentage (5.6%). The greatest number of isolated bacteria from the genus *Enterococcus* belonged to *Enterococcus faecalis* (80%), while the minority of isolated strains belonged to *Enterococcus faecium* (20%). The following from the streptococci-like bacteria were isolated: *Aerococcus viridans*, *Globicatella sanguinis* and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*.

Key words: pigs, tonsils, *Streptococcus* species, *Streptococcus suis*

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ПРИСУТСТВИЯ АЛЬФА ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СТРЕПТОКОККОВ, ЭНТЕРОКОККОВ И СТРЕПТОКОККАМ ПОДОБНЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛАХ ПРОИСХОЖДЕНИЕМ ОТ СВИНЕЙ

А. Станойкович, Ружица Ашанин, Ксения Палич, Александра Станойкович, Ядранка Жутич

Цель этой работы была испытание присутствия и представленности стрептококков, энтерококков и стрептококкам подобных бактерий в различных

материалах происхождением от здоровых, убитых и околелших свиней различных категорий с нескольких ферм и скотобоев в Республике Сербии. Совокупно испытано 226 образчиков мазков тонзилл и носа от клинически здоровых поросят в откорме, мазков тозилл поросят старости от 5-20 дней, частей назофарингальных тонзилл откормочных свиней убитых на скотобойне, частей назофарингальных тонзилл поросят убитых на скотобойне, мазков с туловищей убитых свиней на скотобойне, мазков с ножей для эвисцерации органов на скотобойне, словно и мазков лёгких, брюшной полости и органов поспешно околелших поросят. Испытание присутствия приведённых видов бактерий совершено применением стандартных микробиологических методов. Для идентификации изолированных видов бактерий пользованы коммерческие биохимические тесты, а для утверждения серотиповой принадлежности изолированных штаммов *Streptococcus suis* специфические сыворотки для капсулярных антигенов. Установлено, что самое большое число изолированных штаммов принадлежит роду *Streptococcus*, а в далеко меньшем числе изолированные бактерии принадлежали родам: *Enterococcus* (6) (10,4%), *Aerococcus* (3) (6,2%), *Lactococcus* (2) (4,2%) и *Globicatella* (2) (4,2%). От приведённого числа *Streptococcus* видов самое большое число принадлежало виду *Streptococcus suis* (23) (64%). В маказах назофарингальных тонзилл утверждено присутствие и остальных α гемолитических стрептококков: *Streptococcus sanguinis* (13,8%), *Streptococcus salivarius* (5,6%), *Streptococcus mitis* (5,6%), *Streptococcus parasanguinis* (2,7%) и *Streptococcus oralis* (2,7%). Также, в меньшем проценте изолирован и вид *Streptococcus bovis* (5,6%). Самый большой процент изолированных бактерий из рода *Enterococcus* принадлежал виду *Enterococcus faecalis* (80%), пока виду *Enterococcus faecium* принадлежал значительно меньший процент изолятов (20%). От остальных так называемых "стрептококкам подобных видов бактерий" изолированы суть: *Aerococcus viridans*, *Globicatella sanguinis* и *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*.

Ключевые слова: свиньи, тонзиллы, *Streptococcus* види, *Streptococcus suis*

**REZIDUE NITROFURANA U NAMIRNICAMA ANIMALNOG
POREKLA ******NITROFURANS' RESIDUES IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN*****A. Smajlović, Indira Mujezinović, V. Čupić, M. Muminović****

Nitrofurani su sintetski antimikrobici širokog spektra koji se često koriste u masovnoj animalnoj proizvodnji zbog svojih odličnih antibakterijskih i farmakokinetičkih svojstava. Međutim, nitrofurani i njihovi metaboliti su pokazali da imaju potencijalne kancerogene i mutagene karakteristike, zbog čega je zabranjena njihova upotreba u profilaksi i terapiji životinja koje se koriste za proizvodnju hrane. Metaboliti nitrofurana koji se mogu utvrditi nakon njihove aplikacije su: metabolit furazolidona, metabolit furaltadona, metabolit nitrofurantoina i metabolit nitrofurazona. Prisustvo rezidua nitrofurana u mesu, ribi i škampima, te mleku i jajima poreklom iz zemalja van Evropske unije se prati i beleži putem RASFF sistema Evropske unije. Pošto se nitrofurani još uvek koriste u nekim zemljama kao profilaktička sredstva i promotori rasta, potrebno je sprovoditi stalnu kontrolu različitih vrsta namirnica animalnog porekla. U Bosni i Hercegovini ne postoji stalna kontrola nitrofurana u namirnicama animalnog porekla. U odredbama „Pravilnika o maksimalno dozvoljenim količinama veterinarskih lekova i pesticida u proizvodima životinjskog porekla” objavljenog u Službenom glasniku Bosne i Hercegovine se navodi zabrana primene određenih veterinarskih lekova kod životinja koje se koriste za proizvodnju hrane namenjene ishrani ljudi, među kojima se nalaze i nitrofurani. Evropska Unija je ustanovila i minimalnu potrebnu granicu performace (MRPL) metoda koja iznosi 1 µg/kg nitrofurana za jestiva tkiva životinjskog porekla. Uzevši sve ovo u obzir, trebalo bi izvršiti akreditaciju i validaciju metoda, kako „screening“ tako i konfirmativnih, te nakon toga ponovo

* Rad primljen za štampu 03. 03. 2011. godine

** Ahmed Smajlović, viši asistent, dr sci. med. vet. Indira Mujezinović, docent, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Sarajevu, Bosna i Hercegovina; dr sci. med. vet. Vitomir Čupić, redovni profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija; dr sci. med. vet. Mehmed Muminović, redovni profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Sarajevu, Bosna i Hercegovina

sprovesti daljnja istraživanja prisustva nitrofurana u namirnicama animalnog porekla u Bosni i Hercegovini.

Ključne reči: MRPL, nitrofurani, RASFF sistem, screening i konfirmativne metode

Uvod / Introduction

Nitrofurani su sintetski antimikrobnici širokog spektra koji se često koriste u masovnoj animalnoj proizvodnji zbog svojih odličnih antibakterijskih i farmakokinetičkih svojstava. U prošlosti su također korišteni kao promotori rasta i profilaktička sredstva u uzgoju svinja, peradi i ribe. Glavni razlozi za njihovo korištenje su bili njihova efikasnost i pristupačna cena. Tokom dugogodišnjih istraživanja koja su sprovedena na laboratorijskim životinjama, nitrofurani i njihovi metaboliti su ispoljili kancerogene i mutagene karakteristike, što je dovelo do zabrane njihove upotrebe u profilaksi i u terapijskom tretmanu životinja koje se koriste za proizvodnju hrane. Tako je upotreba furaltadona, nitrofurantoina i nitrofurazona zabranjena kod životinja za proizvodnju hrane u zemljama Evropske unije još od 1993. godine, a od 1995. godine i furazolidona.

Kako kontrola rezidua nitrofurana koja je u prošlosti zasnivana na utvrđivanju koncentracije furazolidona u krvi i tkivima nije dovoljno validna, zaključeno je da se vrši praćenje rezidua na osnovu utvrđivanja „roditeljskih“ nitrofurana, što daje odgovarajuće nalaze stvarnog prisustva nitrofurana odnosno njihovih metabolita u tkivima i organima (Vass i sar., 2008).

Nitrofurani, naročito furazolidon (FZD), furaltadon (FTD), nitrofurantion (NFT) i nitrofurazon (NFZ) spadaju u klasu sintetskih antimikrobnih sredstava širokog spektra, od kojih svi sadrže karakterističan 5-nitrofuranski prsten, a s uspehom se koriste protiv salmonela, koliforma, mikoplazmi, kokcidijskih i nekih drugih protozoa (Ćupić i sar., 2007; Bishop, 2005). Prije su korišteni kao dodaci hrani za promociju rasta naročito kod svinja, goveda i peradi, u akvakulturi (za ribe i škampe), te u profilaktičke i terapijske svrhe kod pčela. Danas im je upotreba ograničena na male životinje (pse i mačke) i konje i to za lečenje urinarnih infekcija uzrokovanih nekim od pomenutih uzročnika (Plumb, 2008; Osweiler, 1996). Evropska komisija 1995. godine potpuno zabranjuje upotrebu nitrofurana u Evropskoj uniji, kod životinja namenjenih za ishranu ljudi. Zabrana je usledila zbog rastuće zabrinutosti u vezi sa potencijalnom kancerogenošću rezidua nitrofurana i mogućim štetnim posledicama po zdravlje ljudi (1442/95/EC).

Mehanizam delovanja nitrofurana se zasniva na inhibiciji enzima uključених u ciklus trikarboksilne kiseline, gde ometaju aerobnu oksidaciju glukoze. Metabolički aktivna tkiva, kao što su mozak, bubrezi i jetra, veoma su ovisna o aerobnom metabolizmu i zbog toga najpodložnija toksičnosti nitrofurana. To je razlog što se i većina kliničkih znakova toksikoze odnosi na pomenute organe (Osweiler, 1996).

U svrhu kontrole nedopuštene upotrebe nitrofurana merenjem nivoa rezidua u tkivima, potrebno je kontrolisati marker rezidue, odnosno metabolite „roditeljskog” leka. Stoga su razvijene nove metode, a sve u cilju razvoja visokosenzitivnih i specifičnih metoda za utvrđivanje nitrofurana. Danas se u ovu svrhu koristi ELISA kao „screening“ metod, te LC/MS/MS kao konfirmativni metod (2002/657/EC).

Analiza rezidua nitrofurana / *Analysis of nitrofuran residue*

S obzirom na to da je u veterinarskoj praksi prisutna zloupotreba nitrofurana i kod životinja koje se koriste za ljudsku ishranu, to je neophodna stalna kontrola njihovih rezidua. Savremena analiza rezidua nitrofurana se zasniva na detekciji samo njihovih metabolita koji su vezani za tkivo. Razlog je to što se nitrofurani veoma brzo metaboliziraju, te se ubrzo nakon tretmana ne mogu utvrditi u tkivima. Ipak, srećna okolnost je da se njihovi metaboliti vezani za tkivo mogu utvrditi dugo nakon aplikacije i zbog toga se koriste u detekciji zloupotrebe nitrofurana. Metaboliti nitrofurana koji se mogu utvrditi nakon njihove aplikacije su:

1. metabolit furazolidona (3-amino-2-oksazolidinon = AOZ),
2. metabolit furaltadona (3-amino- 5-morfolinometil-2-oksazolidinon = AMOZ),
3. metabolit nitrofurantoina (1-amino- hidantoin = AHD) i
4. metabolit nitrofurazona (semikarbazid = SEM).

Prisustvo rezidua nitrofurana u mesu, ribi i škampima, te mleku i jajima poreklom iz zemalja van Evropske unije prati se i beleži putem RASFF sistema Evropske unije. Obaveštavanje o zdravstveno neispravnoj hrani i hrani za životinje kroz evropski RASFF sistem brzog uzbunjivanja (Rapid Alert System for Food and Feed) koristi se u slučajevima direktnog i indirektnog rizika za ljudsko zdravlje koji potiče iz hrane i hrane za životinje. RASFF sistem je osnovni alat za razmenu informacija između kompetentnih institucija u zemljama članicama. U slučajevima kada postoji rizik za ljudsko zdravlje, a zbog kojega su pokrenute određene mere poput povlačenja, zaplene ili zabrane prodaje određenih proizvoda. Od maja 2003. godine Evropska komisija izdaje sedmične izveštaje koji sadrže informacije o zdravstveno neispravnoj hrani i hrani za životinje nađenju na tržištu EU, te o onoj hrani koja je odbijena sa vanjskih granica EU. Tako je u godišnjem izveštaju za 2009. utvrđen značajan rast zastupljenosti rezidua nitrofurana u škampima namenjenim za uvoz u EU, a poreklom iz Bangladeša, Indije i Šri Lanke (RASFF Annual Report 2009). Ovo je dokaz da se nitrofurani još uvijek koriste u nekim zemljama kao profilaktička sredstva i promotori rasta.

Kontrola rezidua / *Residue control*

Zbog svega navedenog, jasno je da je neophodno sprovoditi stalnu kontrolu različitih vrsta namirnica animalnog porekla, gde spadaju: meso (goveda, svinjsko i pileće), njihove iznutrice (jetra), jaja, mleko, te riba i škampi, kako bi se sveli na minimum potencijalni kancerogeni i mutageni efekti ovih susptancija

po zdravlje potrošača. U Bosni i Hercegovini ne postoji stalna kontrola nitrofurana u namirnicama animalnog porijekla. Iako postoji Plan kontrole rezidua nitrofurana Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, koji predviđa kontrolu samo manjeg broja uzoraka animalnog porekla proizvedenih na teritoriji cele države na godišnjem nivou, ipak ne postoji plan kontrole uzoraka iz uvoza.

Kako je već spomenuto da nitrofurani imaju jako kancerogeno i mutageno delovanje, to je neophodno vršiti stalnu kontrolu njihove zastupljenosti i količina u namirnicama animalnog porekla, što treba regulisati odgovarajućom legislativom.

Legislativa / *Legislature*

Nitrofuranski antibiotici su uključeni u Aneks IV Pravilnika Evropske komisije 1442/95 kao jedinjenja koja nisu dozvoljena za upotrebu kod životinja namenjenih za ishranu ljudi. Odredbe ovoga pravilnika su preuzete i uvrštene u „Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama veterinarskih lijekova i pesticida u proizvodima životinjskog porijekla” objavljenog u Službenom glasniku Bosne i Hercegovine broj 6 od 27.01.2009. godine. U Aneksu IV ovog Pravilnika se navodi zabrana primene određenih veterinarskih lekova kod životinja koje se koriste za proizvodnju hrane namenjene ishrani ljudi, među kojima se nalaze i nitrofurani. Evropska Unija je također ustanovila minimalnu potrebnu granicu performance (MRPL) metoda koja iznosi 1 µg/kg za jestiva tkiva životinjskog porekla (Commission Decision, 2003). Kako u Evropskoj uniji tako i u BiH, nedozvoljena upotreba nitrofurana se kontroliše službenim inspekcijским i analitičkim kontrolama, gde se laboratorije zadužene za ispitivanje prisustva rezidua obično susreću sa velikim brojem uzoraka koje treba ispitati na prisustvo velikog broja različitih jedinjenja u kratkom vremenu. Iz ovog razloga, korištenje brzih „screening“ metoda kao što je ELISA može poboljšati efikasnost kontrole. Sve sumnjive uzorke bi trebalo i proveriti nekom od konfirmativnih metoda, što nažalost, kod nas nije moguće uraditi.

Iako je utvrđen MRLP od 1 µg/kg, primena i interpretacija ove legislative pri izvozu u Evropsku uniju je veoma komplikovana, gde prema nekim odlukama Evropske komisije analitička metoda nije zadovoljavajuća ako ne može utvrditi prisustvo vrlo niskih koncentracija metabolita nitrofurana. Prema ovome, potrebno je da metoda može kvantificirati vrijednosti do 1 µg/kg, ali nije specificirana najniža vrednost analita koju treba utvrditi. Ova je vrednost poznata pod nazivom granica ili limit odluke (CC_{α}) i utvrđena je u različitim laboratorijama Evropske unije upotrebom validacijskih procedura. CC_{α} se definiše kao granica gde se za neku supstancu može zaključiti da je pozitivna sa mogućnošću greške od $\alpha = 1\%$. Pored toga, fluktuacija CC_{α} među različitim instrumentalnim metodama i laboratorijama dalje komplikuje upotrebu ovog parametra za potrebe zahteva nulte tolerancije rezidua nitrofurana u hrani animalnog porekla.

Da bi osigurali kvalitet i uporedivost analitičkih rezultata dobivenih u laboratorijama, Evropska komisija je donela niz pravilnika koji se tiču uobičajenih

kriterija delovanja (performansi) za analizu rezidua te utvrdila uputstva za validaciju i „screening“ i konfirmatornih analitičkih metoda (EC 657/2002). Ovakvi pravilnici još uvek nisu usvojeni u Bosni i Hercegovini. Prema ovoj odluci Evropske komisije, karakteristike metode kao što su sposobnost detekcije (CC_{β}), preciznost, selektivnost i upotrebljivost/stabilnost trebaju biti procenjene da bi „screening“ metoda bila klasificirana kao kvantitativna. Za nitrofurane, koji nemaju utvrđenu maksimalnu granicu rezidua (eng. MRL – maximum residue limit) u životinjskim tkivima namenjenim za ishranu ljudi, CC_{β} se definiše kao najniža koncentracija određene supstance koja se može izmeriti određenom metodom za mogućnošću greške od $\beta = 5\%$.

Uzevši sve ovo u obzir, trebalo bi izvršiti akreditaciju i validaciju metoda, kako „screening“ tako i konfirmativnih, te nakon toga ponovo sprovesti daljnja istraživanja prisustva nitrofurana u namirnicama animalnog porekla u Bosni i Hercegovini.

Zaključak / Conclusion

1. Zbog dokazanog potencijalnog kancerogenog i mutagenog delovanja upotreba nitrofurana danas je ograničena na male životinje (pse i mačke) i konje za lečenje urinarnih infekcija uzrokovanih osetljivim uzročnicima.

2. U svrhu kontrole nedopuštene upotrebe nitrofurana merenjem nivoa rezidua u tkivima, potrebno je kontrolisati marker rezidue odnosno metabolite „roditeljskog“ leka. Danas se u ovu svrhu koristi ELISA kao „screening“ metod, te LC/MS/MS kao konfirmativni metod (2002/657/EC).

3. Metaboliti nitrofurana koji se mogu utvrditi nakon njihove aplikacije su: metabolit furazolidona, metabolit furaltadona, metabolit nitrofurantoina, te metabolit nitrofurazona.

4. Pošto je u godišnjem izveštaju Evropske unije za 2009. utvrđen značajan rast količine rezidua nitrofurana u škampima namenjenim za uvoz u EU, a poreklom iz Bangladeša, Indije i Šri Lanke (RASFF Annual Report 2009), potrebno je sprovoditi stalnu kontrolu različitih vrsta namirnica animalnog porekla, gde spadaju: meso (goveđe, svinjsko i pileće), njihove iznutrice (jetra), jaja, mleko, te riba i škampi, kako bi se na minimum sveli potencijalni kancerogeni i mutageni efekti ovih susptancija po zdravlje potrošača.

5. Nitrofuranski antibiotici su uključeni u Aneks IV Pravilnika Evropske komisije 1442/95 kao jedinjenja koja nisu dozvoljena za upotrebu kod životinja namenjenih za ishranu ljudi.

6. Evropska unija je ustanovila i minimalnu potrebnu granicu performance (MRPL) metoda koja iznosi $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ za jestiva tkiva životinjskog porekla.

7. Prema odlukama Evropske komisije niti jedna analitička metoda nije zadovoljavajuća ako ne može utvrditi prisustvo vrlo niskih koncentracija metabolita nitrofurana.

8. Prema odluci Evropske komisije, karakteristike performanci kao što su sposobnost detekcije (CC_{α}), preciznost, selektivnost i upotrebljivost/stabilnot trebaju biti procenjene da bi „screening“ metoda bila klasificirana kao kvantitativna. Za nitrofurane, koji nemaju utvrđenu maksimalnu granicu rezidua (eng. MRL – maximum residue limit) u životinjskim tkivima namenjenim za ishranu ljudi, CC_{β} se definiše kao najniža koncentracija određene supstance koja se može izmeriti određenom metodom za mogućnošću greške od $\beta = 5\%$.

9. Na osnovu svega navedenog, trebalo bi izvršiti akreditaciju i validaciju metoda, kako „screening“ tako i konfirmativnih, te nakon toga ponovo sprovesti daljnja istraživanja prisustva nitrofurana u namirnicama animalnog porekla u Bosni i Hercegovini.

Literatura / References

1. Bishop Y. The Veterinary formulary. 6th edition, Pharmaceutical Press, 2005.
2. Čupić V, Muminović M, Kobal S, Velev R. Farmakologija za studente veterinarske medicine. Heleta. Beograd, Sarajevo, Ljubljana, Skoplje, 2007.
3. Vass M, Hruska K, Franek M. Nitrofurans antibiotics: A review of the application, prohibition and residual analysis. Veterinarni Medicina 2008; 53(9): 469-500.
4. Osweiler GD. Toxicology. Williams and Wilkins, 1996.
5. Plumb DC. Veterinary Drug Handbook. 6th editio, Blackwell Publishing, 2008.
6. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama veterinarskih lijekova i pesticida u proizvodima životinjskog porijekla. Službeni glasnik Bosne i Hercegovine, 06/2009.
7. Commission Decision of implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the implementation of the results. 2002/657/EC.
8. Commission Regulation Commission amending Annexes I, II, III and IV of Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. 1442/95/EC.
9. RASFF Annual Report 2009. European Commission Directorate-General for Health and Consumers, European Union, 2010.

ENGLISH

NITROFURAN RESIDUE IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN

A. Smajlović, Indira Mujezinović, V. Čupić, M. Muminović

Nitrofurans are synthetic broad-spectrum antimicrobial agents that are often used in commercial animal production because of their excellent antibacterial and pharmacokinetic properties. However, nitrofurans and their metabolites have been shown to have potentially carcinogenic and mutagenic characteristics which has led to a ban on the use of nitrofurans in preventive and therapeutic treatment of animals used for food production.

Metabolites of nitrofurans that can be determined after their application are: a metabolite of furazolidone, furaltadone metabolite, a metabolite of nitrofurantoin and nitrofurazone metabolite. The presence of residues of nitrofurans in meat, fish and shrimps, and milk and eggs originating from countries outside the European Union is monitored and recorded by the RASFF system of the European Union. Furthermore, since nitrofurans are used in some countries as prophylactic agents and growth promoters, it is necessary to carry out constant control of various types of food of animal origin, in order to reduce to the minimum potential carcinogenic and mutagenic effects of these substances for the health of consumers. In Bosnia and Herzegovina, there is no permanent control of nitrofurans in food of animal origin. The provisions of the „Regulation on the maximum allowable amounts of veterinary drugs and pesticides in products of animal origin“, published in the Official Gazette of Bosnia and Herzegovina state the prohibiting of the use of certain veterinary drugs in animals intended for human consumption, including nitrofurans. The European Union has established the minimum required limit (MRLP) for performance which is 1 µg/kg of nitrofurans for edible tissues of animal origin. Taking all this into account, methods for nitrofurans detection should be accredited and validated, both for screening and confirmatory methods, and further research into the presence of nitrofurans in food of animal origin in Bosnia and Herzegovina should be performed.

Key words: nitrofurans, RASFF system, MRPL, screening and confirmative methods

РУССКИЙ

ОСТАТКИ НИТРОФУРАНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ АНИМАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А. Смайлович, Индира Муезинович, В. Чупич, М. Муминович

Нитрофураны - синтетические антимикробики широкого спектра, которые часто используются в массовом животноводстве из-за своих отличных антибактериальных и фармакокинетических свойств. Между тем, нитрофураны и их метаболиты показали, что имеют потенциальные канцерогенные и мутагенные характеристики, что привело к запрещению их употребления в профилактике и терапии животных, используемых для производства пищи. Метаболиты нитрофуранов, которые могут образоваться после их аппликации суть: метаболит фуразолидона, метаболит фурализидона, метаболит нитрофурантоина и метаболит нитрофуразона. Присутствие остатков нитрофуранов в мясе, рыбе и раках, и молоке и яйцах происхождения из стран вне Европейской Унии следится и записывается путём РАСФФ системы Европейской Унии. Так как нитрофураны всё ещё используются в некоторых странах как профилактические средства и промоторы роста, нужно проводить постоянный контроль различных видов пищевых продуктов животного происхождения. В Боснии и Герцеговине не существует постоянный контроль нитрофуранов в пищевых продуктах животного происхождения. В определениях "Инструкции о максимально разрешенных количествах ветеринарных лекарств и пестицидов в продуктах животного происхождения" объявленной в Службеном вестнике Боснии и Герцеговины приводится запрещение применения определенных ветеринарных лекарств у животных, используемых для производства пищи, предназначенной для питания людей, между которыми находятся и нитрофураны. Европейская Уния установила и минимальную необходимую границу перформансы

(МНГП) метода која саставља (у сумми) 1 мг/кг нитрофуранова за једобних ткива животног поришодениа. Прињава во внимаиие, нужно было совершити аккредитацију и потврдиение методов, как "*screening*" так и конфирмационных, и после этого снова провести дальние исследовния присутствия нитрофуранова в пищевых продуктах анимального поришодениа в Боснии и Герцеговини.

Ключевые слова: нитрофураны, РАСФФ система, МНГП, *screening* и конфирмативные методы

**PARAZITSKE INFEKCIJE DIGESTIVNOG TRAKTA PASA NA
PODRUČJU BRANIČEVSKOG OKRUGA******PARASITIC INFECTIONS OF DIGESTIVE TRACT OF DOGS IN
TERRITORY OF BRANIČEVO DISTRICT*****B. Đurić, Tamara Ilić, D. Trailović, Z. Kulišić, Sanda Dimitrijević****

U ovom radu su prikazani rezultati dvogodišnjeg istraživanja parazitskih infekcija digestivnog trakta pasa, poreklom sa teritorije osam opština Braničevskog okruga. Istraživanje je sprovedeno kod 345 pasa, različitih rasa i starosnih kategorija, koji su poticali iz seoskih i gradskih sredina. Istraživanjem su obuhvaćeni psi koji se gaje u solidnim higijenskim uslovima, kao i psi koji borave u nehigijenskim uslovima. Pojedini psi obuhvaćeni ovom analizom su bili dehelmintisani, ali je veći deo uzorkovanog materijala vodio poreklo od pasa, koji nisu tretirani antihelminticima.

*Kod ispitivanih pasa sa teritorije Braničevskog okruga dijagnostikovano je osam vrsta parazita digestivnog trakta: *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, kokcidije, *Dipylidium caninum*, *Taenia* spp. i *Alaria alata*.*

Držanje pasa u seoskim sredinama i zabačenim krajevima i danas je neophodno, s obzirom na to da se psi koriste za čuvanje nepokretne imovine i stoke. Interesovanje za držanje pasa već duže vreme je veoma rasprostranjeno i u gradovima. Na osnovu podataka iz velikih gradova, evidentno je da se broj pasa u urbanim sredinama konstantno povećava u celom svetu. Međutim, uslovi za prirodno držanje pasa u gradovima su sve teži i komplikovaniji. Slobodnog prostora i dvorišta je sve manje, tako da su vlasnici pasa prinuđeni da svoje ljubimce drže u stanovima. Promena uslova života i načina ishrane ima za posledicu pojavu složenije i raznovrsnije zdravstvene problematike pasa.

Ključne reči: pas, parazitske infekcije, Braničevski okrug

* Rad primljen za štampu 15. 03. 2011. godine

** Boban Đurić, dr vet. med., Republička veterinarska inspekcija, Uprava za veterinu, Požarevac; dr sci med. vet. Tamara Ilić, docent, Katedra za parazitske bolesti, dr sci med. vet. Dragiša Trailović, redovni profesor, Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači, dr sci med. vet. Zoran Kulišić, redovni profesor, Katedra za parazitologiju, dr sci med. vet. Sanda Dimitrijević, redovni profesor, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Uvod / Introduction

Proučavanje parazitskih infekcija digestivnog trakta pasa je izuzetno važno, ne samo sa stanovišta praćenja zdravstvenog stanja životinja i eventualnih ekonomskih gubitaka, već i sa stanovišta praćenja i zaštite ljudskog zdravlja. U svakodnevnoj praksi česti su nalazi endoparazita pasa na teritoriji Braničevskog okruga, koji je područje od velikog epizootiološkog značaja. Braničevski okrug se graniči sa nekoliko važnih okruga: Južnobanatski, Podunavski, Pomoravski, Borski i susednom zemljom Rumunijom. Neposredna blizina granice sa Rumunijom (opštine Veliko Gradište i Golubac), čini ovaj region epizootiološki još značajnijim. Velika fluktuacija ljudi i robe stvara dodatne mogućnosti i puteve prenošenja parazitskih infekcija domaćih životinja, od kojih mnoge helmintoze predstavljaju biološki i ekološki rizik, gravitirajući ka teritoriji Braničevskog okruga. Poznavanje zastupljenosti i epizootiologije parazitskih infekcija digestivnog trakta pasa je od velikog značaja, jer doprinosi osmišljavanju kvalitetnijih mera borbe protiv parazitskih infekcija pasa, posebno uzročnika parazitskih zoonoza.

U protekle tri decenije obavljen je veliki broj istraživanja koja su se odnosila na parazitofaunu pasa, poreklom sa područja teritorije Republike Srbije (Simonović, 1974; Dimitrov, 1975; Dragančić, 1976; Marković, 1978; Beuković, 1981; Lepojević i Marković, 1983; Ilić i sar., 1991; Pavlović i Kulišić, 1994; Antanasijević i sar., 1997; Pavlović i sar., 2003).

Praćenjem parazitofaune digestivnog trakta pasa sa šireg područja teritorije Beograda, Kulišić i sar. (1992) su kod kontrolisano držanih pasa i pasa litalica ustanovili infekcije prouzrokovane vrstama *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, *Dipylidium caninum*, *Taenia hydatigena*, *T. pisiformis*, *Mesocestoides lineatus* i *Alaria alata*. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da su primarni nosioci dijagnostikovanih parazita bili psi litalice.

Pavlović i sar. (1995) su objavili rezultate višegodišnjeg istraživanja parazitofaune pasa i mačaka sa teritorije Beograda, kao i podatke o kontaminiranosti otvorenih zelenih površina, parkova, igrališta i bazenčića za pesak. Dokazali su prisustvo askaridida, ankilostomatida, *T. vulpis*, cestoda i kokcidija. Navedeni rezultati potvrđuju da psi i mačke imaju važnu ulogu u kontaminaciji životne sredine, dovodeći druge životinje i čoveka u stalni rizik od moguće infekcije.

Dimitrijević (1996) iznosi podatke o nalazu hidatidnih cista kod ljudi i domaćih životinja, u nekim delovima Srbije. Visok procenat nalaza hidatidnih cista kod životinja i ljudi ukazuje na postojanje široko rasprostranjene ehinokokoze pasa, usled neredovnog sprovođenja režima dehelmintizacije pasa.

U okviru istraživanja helmintoza digestivnog trakta pasa na području Požarevca, Tešić (1998) je kod pasa litalica ustanovio najveću prevalenciju infekcije vrstama *D. caninum* (56,00%), *E. granulosus* (48,00%) i *T. canis* (46%). Kod kontrolisano držanih pasa utvrđena je najveća prevalencija infekcije ankilostomatidama (47,95%), *T. canis* (40,18%) i vrstom *D. caninum* (36,99%).

Dimitrijević i sar. (2005) objavljuju rezultate istraživanja obavljenog u periodu od 1999. do 2004. godine, kada su koprološkom pretragom uzoraka fecesa kućnih ljubimaca dijagnostikovali uzročnike askarididoza, ankilostomatoze, trihurioze, cestodoze prouzrokovane sa *D. caninum*, đardioze i kokcidioze.

Stokić-Nikolić i sar. (2008) izveštavaju da je na teritoriji Braničevskog okruga tokom 2007. godine, najveći broj pasa inficiranih crevnim parazitima bio poreklom sa teritorije opštine Golubac (76,73%) i da je ustanovljena najveća prevalencija infekcije vrstom *A. caninum* (39,21%).

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Istraživanja su sprovedena kod 345 pasa koji potiču sa teritorije osam opština Braničevskog okruga, iz ukupno 186 dvorišta, u ukupno 55 naselja, u periodu koji obuhvata 2006. i 2007. godinu.

Kontrolisani su psi različitih rasa i starosnih kategorija, koji potiču iz seoskih i gradskih sredina. Istraživanjem su obuhvaćeni psi koji se gaje u odgajivačnicama u solidnim higijenskim uslovima, ali i psi koji borave u nehygijenskim uslovima. Pojedini psi obuhvaćeni ovom analizom su bili dehelmintisani, ali je veći deo uzorkovanog materijala vodio poreklo od pasa koji nisu tretirani antihelminticima.

Prilikom kontrole pasa i uzimanja uzoraka fecesa iz bokseva, kućica i dvorišta anketirani su vlasnici pasa. Za svakog psa je vođena evidencija sa sledećim podacima: rasa, pol, starost, uslovi držanja, zdravstveni habitus, da li je vršena dehelmintizacija ili ne, ukoliko je dehelmintizacija sprovedena, prikupljani su podaci o tome kada i kojim preparatom.

Izvršen je makroskopski pregled uzorkovanog materijala, u cilju sprovođenja mikroskopskog pregleda, uzorci su obrađeni kvalitativnim metodama koprološke pretrage, sa koncentracijom parazitskih elemenata (metod flotacije zasićenim vodenim rastvorom NaCl i metod flotacije zasićenim vodenim rastvorom ZnSO₄).

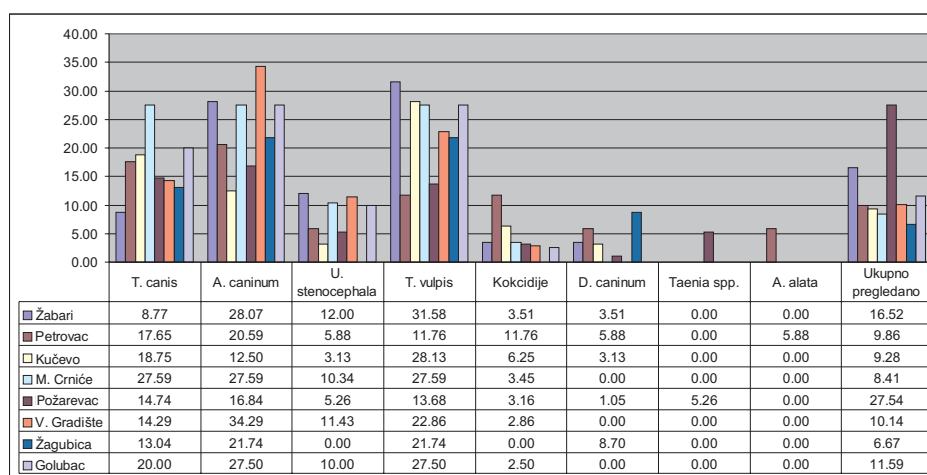
Dobijeni rezultati su statistički obrađeni i tabelarno i grafički prikazani.

Rezultati / *Results*

Koprološkim pregledom 345 uzoraka fecesa kontrolisano držanih pasa, ustanovljen je pozitivan parazitološki nalaz kod 261 psa, odnosno u 75,65% slučajeva u odnosu na ukupan broj pregledanih uzoraka (tabela 1). Dijagnostikovano je osam vrsta parazita digestivnog trakta, sa sledećim ekstenzitetom infekcije: *Toxocara canis* (15,94%), *Ancylostoma caninum* (22,90%), *Uncinaria stenocephala* (6,38%), *Trichuris vulpis* (22,03%), kokcidije (4,06%), *Dipylidium caninum* (2,32%), *Taenia* spp. (1,45%) i *Alaria alata* (0,58%).

Tabela 1. Broj pozitivnih uzoraka fecesa pasa po pojedinim opštinama /
Table 1. Number of positive dog feces samples according to municipalities

Vrsta parazita / Specie of parasite	Žabari	Petrovac	Kučevo	Malo Crniće	Poža- revac	Veliko Gradište	Žagu- bica	Golu- bac	Ukupno / Total
<i>T. canis</i>	5	6	6	8	14	5	3	8	55
<i>A. caninum</i>	16	7	4	8	16	12	5	11	79
<i>U. stenocephala</i>	3	2	1	3	5	4	0	4	22
<i>T. vulpis</i>	18	4	9	8	13	8	5	11	76
Kokcidije / <i>Koccidiae</i>	2	4	2	1	3	1	0	1	14
<i>D. caninum</i>	2	2	1	0	1	0	2	0	8
<i>Taenia</i> spp.	0	0	0	0	5	0	0	0	5
<i>A. alata</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	2
Uk. pregl. / Uk. Exam.	57	34	32	29	95	35	23	40	345
Uk. pozit. / Uk. Posit.	46	27	23	28	57	30	15	35	261



Grafikon 1. Procenat pozitivnih uzoraka u odnosu na broj pregledanih uzoraka iz svake opštine

Graph 1. Percent of positive samples against number of examined samples for each municipality

Na teritoriji opštine Žabari ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije nematodom *T. vulpis* (31,58%), a najniži je bio ekstenzitet infekcije cestodom *D. caninum* i kokcidijama (3,51%).

Na teritoriji opštine Petrovac ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije sa *A. caninum* (20,59%) i najniži ekstenzitet infekcije cestodom *D. caninum* i trematodom *A. alata* (5,88%).

Na teritoriji opštine Kučevo ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije nematodom *T. vulpis* (28,13%) i najmanji ekstenzitet infekcije nematodom *T. canis* (3,13%).

Na teritoriji opštine Malo Crniće ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije nematodama *T. canis*, *A. caninum* i *T. vulpis* (27,59%), dok je najmanji bio ekstenzitet infekcije oocistama kokcidija (3,45%).

Na teritoriji opštine Požarevac ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije nematodom *A. caninum* (16,84%) i najmanji ekstenzitet infekcije cestodom *D. caninum* (1,05%).

Na teritoriji opštine Veliko Gradište ustanovljen je najveći ekstenzitet infekcije nematodom *A. caninum* (34,29%), dok je najniži bio ekstenzitet infekcije kokcijama (2,86%).

Ekstenzitet infekcije na teritoriji opštine Žagubica, bio je najveći nematodama *A. caninum* i *T. vulpis* (21,74%), a najniži nematodom *T. canis* (8,70%).

Ekstenzitet infekcije na teritoriji opštine Golubac, bio je najveći nematodom *A. caninum* i *T. vulpis* (27,50%), a najniži kokcijama (2,50%).

Diskusija / Discussion

Istraživanja parazitskih infekcija digestivnog trakta pasa, intenzivirana su na epizootiološkom području bivše Jugoslavije i Srbije u skladu sa potrebama razvoja stočarstva i povećanjem obima stočarske proizvodnje. Izuzev istraživanja koja je obavio Boko (1934) i Nevenić (1940) u Crnoj Gori, ova ispitivanja su uglavnom sprovedena u velikim gradovima, sa minimalnom koncentracijom domaćih životinja i velikim brojem pasa lualica.

Obavljena ispitivanja su obuhvatila pse držane u kontrolisanim uslovima i od izuzetnog su značaja, ako se zna da čovek i pas dele životni prostor i imaju veoma blizak kontakt, usled čega je mogućnost prenošenja bolesti parazitske etiologije sa psa na čoveka veoma velika.

Rezultati naših istraživanja pokazuju da je infekcija pasa sa *T. canis* bila najzastupljenija na teritoriji opštine Malo Crniće (27,59%), dok je najmanji broj pasa inficiranih ovom askarididom ustanovljen na teritoriji opštine Žabari (8,77%). Nalaz jaja *T. canis* od velikog je značaja s obzirom na to da se kao rezultat migracije larvi ove askaridide kroz somatska tkiva i organe čoveka, obrazuje visceralna larva migrans (VLM). Ona u pojedinim organima (jetra, pluća, mozak, oko) ostaje aktivna bez morfoloških promena više od godinu dana (Fatah i sar., 1986). Dobijeni rezultati veoma su važni i zbog činjenice da su upravo deca najizloženija infekciji, s obzirom na to da se igraju sa mladim psima na čijoj se dlaci mogu naći jaja toksokara (Inana i sar., 2006). Kao rezultat migracije larvi *Toxocara* spp. u oko, razvija se okularna larva migrans (OLM), koja je često zapažena kod dece. Nave-

dena mogućnost predstavlja dodatnu opasnost za decu, jer se klinički manifestuje oštećenjem vida, pojavom strabizma, pa i slepila. U težim slučajevima zapaža se hronični endoftalmitis sa raznim stadijumima odvajanja mrežnjače, a sekundarno i pojava glaukoma (Akdemir, 2010). Direktni kontakt ljudi sa psima koji su inficirani sa *T. canis* može biti potencijalni etiološki faktor toksokaroze ljudi (Wathanakulpanich, 2010). Zato u postupku edukacije stanovništva o parazitskim zoonozama, koje mogu imati teže posledice po zdravlje ljudi, pored ehinokokoze, posebnu pažnju treba obratiti i na toksokarozu.

Razvojni oblici *A. caninum* su u najvećem procentu dijagnostikovani kod pasa sa područja opštine Veliko Gradište (34,29%), a *U. stenocephala* kod pasa sa područja opštine Žabari (12,00%). Nalaz jaja ankilostomatida važan je s obzirom na to da kutana larva migrans (CLM) kod ljudi može biti uzrokovana nematodama *A. caninum*, ređe *U. stenocephala*, kao i zbog postojanja mogućnosti da larve *A. caninum* perzistiraju u tkivima dugo koliko i larve *T. canis* (Bowman, 2010). Prolazne, ali takođe tipične lezije za CLM mogu biti izazvane i nematodom *Strongyloides stercoralis* (Goncalves i sar., 2007; Black, 2010).

Veća sistematska istraživanja crevnih parazitskih infekcija pasa nisu vršena na teritoriji Braničevskog okruga, osim onih sprovedenih u Požarevcu. Istraživanja sprovedena tokom 2002. godine na području Požarevca i Kostolca ukazala su na postojanje kontaminiranosti zelenih površina, parkova i bazenčića za pesak u okviru vrtića jajima *T. canis*, *A. caninum* i *D. caninum* (Pavlović i sar., 2003). Rezultati dobijeni u našim istraživanjima pokazuju da se ova tendencija nastavila, čime je u velikoj meri ugroženo zdravlje ljudi.

U pregledanim uzorcima fecesa svih ispitivanih pasa sa teritorije Braničevskog okruga nisu ustanovljena jaja *Strongyloides* spp. Pošto je strongiloidoza isključivo oboljenje podmlatka, posebnu pažnju smo obratili na uzorkovani materijal iz pet legala štenadi, koji je bio poreklom iz opština Požarevac, Veliko Gradište, Žabari, Malo Crniće i Golubac. Štenad iz ispitivanih legala nisu ispoljavala kliničke simptome bolesti, nisu ustanovljene vidljive lezije na koži preko kojih bi došlo do perkutane infekcije larvama strongiloidesa, niti su konstatovana uginuća. Najpogodnije vreme za razvoj i aktivnost infektivnih larvi, a samim tim i za nastanak infekcije, je toplo godišnje doba. Pošto su uzorci fecesa poreklom od mladih jedinki uzeti u hladnijem periodu godine (januar, februar i mart mesec), očekivan je i opravdan negativan nalaz jaja strongiloidnog tipa u ovim istraživanjima.

Pregledom literature uočeno je da su prve prirodne infekcije pasa strongiloidesom zabeležene u Kini (Fülleborn, 1914) i u Indiji (Ware, 1923). Treći slučaj su dijagnostikovali Donald i sar. (1938) kod šteneta lovačkog psa starog oko pet nedelja, poreklom iz okoline Atelboroa (Masačusec). Mikroskopskim pregledom fecesa ustanovljeno je prisustvo jaja *T. canis*, *T. vulpis* i veliki broj rabditoformnih larvi strongiloidesa, kao i konstantan nalaz velikog broja filariformnih larvi koji je dobijen u koprokulturi fecesa ove jedinice.

Najveći broj pasa inficiranih nematodom *T. vulpis* ustanovljen je na području opštine Žabari (31,58%), a najmanji na području opštine Petrovac (11,76%).

Nalaz jaja *Taenia* spp. zabeležen je samo u uzorcima koji potiču sa teritorije opštine Požarevac (5,26%), što predstavlja 1,45% u odnosu na ukupan broj pregledanih uzoraka. Uzorci fecesa koji su bili pozitivni na prisustvo jaja tenida poreklom su iz prihvatilišta za pse koje se nalazi u Požarevcu i gde su uglavnom stacionirani psi litalice.

Determinacija rodova pantljičara vrši se na osnovu izgleda člančića i jaja izlučenih fecesom. Važno je naglasiti da dijagnostika cestodoza zasnovana na nalazu jaja nije pouzdana, jer se člančići sa jajima eliminišu fecesom sporadično, a ako se i nađu, teško je utvrditi vrstu, jer su jaja tenija i ehinokokusa međusobno veoma slična. Za veterinarsku medicinu su od posebnog značaja rodovi *Taenia* i *Echinococcus*, pri čemu je pravilo da se nalaz tipičnih, okruglih jaja tenida uvek proglašava za nalaz jaja *Echinococcus granulosus* vrste.

Pošto larveni oblici cestoda mesojeda uglavnom parazitiraju kod domaćih životinja, a u slučaju tenida *E. granulosus*, *E. multilocularis* i *E. vogeli* i kod čoveka, veoma je značajno na vreme dijagnostikovati i lečiti, a po mogućnosti i prevenirati cestodoze mesojeda.

Sa epizootiološke tačke gledišta od značaja je činjenica da su pantljičarama najviše inficirani seoski, ovčarski i psi litalice. Ovo je iz razloga, što oni najlakše dolaze do larvenih oblika pantljičara. Najčešći izvori infekcije su nezakopani leševi uginulih životinja, neuklonjeni konfiskati pri preradi mesa u klaničnim industrijama, nekuvano meso ili otpaci nakon klanja u seoskim domaćinstvima. Izuzetak čini *D. caninum*, koji se može pojaviti kod gradskih i kućnih pasa, ukoliko su ovi inficirani buvama. Pas se inficira kada proguta pregrizenu buvu sa cisticercoidima, nakon čega se iz svakog cisticercoida u njegovim crevima razvija po jedna pantljičara. Čovek se može inficirati na isti način, ukoliko slučajno proguta deo buve, što znači da ova cestodoza može predstavljati opasnost i za ljude (Brglez, 1984).

U našim istraživanjima, infekcija pasa cestodom *D. caninum* bila je najzastupljenija na teritoriji opštine Žagubica (8,70%), dok je najmanji broj pasa inficiranih ovim uzročnikom ustanovljen na teritoriji opštine Požarevac (1,05%).

Infekcija trematodom *A. alata* ustanovljena je samo u uzorcima poreklom iz opštine Petrovac (5,88%), što čini 0,58% u odnosu na ukupan broj pregledanih uzoraka.

Na epizootiološkom području Srbije od svih trematoda pasa najzastupljenija je *A. alata*. Kod pasa u Severnoj Americi najčešće parazitiraju *A. americana* i *A. marciana* (Shoop i Corkum, 1981; Papazahariadou i sar., 2007). Značaj ove trematode ogleda se u tome što se njome mogu inficirati ljudi, jedući žabe ili divlje ptice (najčešće divlje patke). Kod ljudi parazit može biti lokalizovan potkožno, formirajući čvoriće koji se mogu hirurški otkloniti. U slučajevima infekcije

sa *A. americana*, zabeležene su sistemske diseminantne infekcije na skoro svim organima, sa fatalnim ishodom (Smyth, 1994).

Međutim, psi koji su inficirani trematodama ne predstavljaju direktan rizik za ljude. Zabeleženi su slučajevi bolesti sa fatalnim ishodom, prilikom sistemske infekcije larvama *Alaria* spp., kao i nekoliko slučajeva okularne infekcije, ali kao posledica ingestije nedovoljno kuvanih žabljih bataka (Quinn, 1997; Möhl, 2009).

Oociste kokcidija dijagnostikovane su u uzorcima fecesa pasa poreklom sa teritorija svih opština Braničevskog okruga, osim opštine Žagubica. Najveći broj pasa inficiranih kokcijama ustanovljen je na području opštine Petrovac (11,76%), a najmanji na području opštine Golubac (2,50%).

Tešić (1998) u vezi sa svojim istraživanjima obavljenim na teritoriji opštine Požarevac izveštava da je infekcija nematodama ustanovljena kod 69,41% kontrolisano držanih pasa, infekcija cestodama kod 61,64%, a infekcija trematodama kod 2,28% pregledanih pasa. Ovakav nalaz u skladu je sa našim rezultatima u pogledu zastupljenosti infekcije trematodama i nematodama. Nalaz cestoda u našim ispitivanjima bio je znatno manji, što se može dovesti u vezu sa činjenicom da je u poslednjih 10 godina postignut napredak u pogledu pravilnog lečenja inficiranih životinja, planskog sprovođenja preventivnih mera i prosvetavanja stanovništva od strane zdravstvene i veterinarske službe.

Stokić-Nikolić i sar. (2008) izveštavaju da je na teritoriji Braničevskog okruga tokom 2007. godine najveći broj pasa inficiranih crevnim parazitima bio poreklom sa teritorije opštine Golubac (76,73%), a najniži u opštini Žabari (37,33%). Od svih ustanovljenih vrsta parazita najviša je bila prevalencija infekcije sa *A. caninum* (39,21%), dok je prevalencija infekcija izazvanih uzročnicima *D. caninum*, *S. stercoralis* i *Isoospora canis* bila veoma niska, što nije u skladu sa rezultatima naših istraživanja u okviru kojih nisu dijagnostikovani razvojni oblici *S. stercoralis*. Očigledno je da su na osnovu nalaza Stokić-Nikolić i sar. (2008) preduzete adekvatne mere, usled čega više ne postoji mogućnost infekcije kuja i posledična laktogena infekcija štenadi.

Niži ekstenzitet pojedinih parazitskih infekcija pasa na području Braničevskog okruga je rezultat boljeg i svestranijeg održavanja zdravstvenog stanja ove populacije od strane vlasnika i veterinarske službe koja radi na ovom području. To je verovatno i razlog što se kod pojedinih rasa nije mogla ustanoviti ni infekcija nematodom *T. canis*. Sigurno da je redovna dehelmintizacija doprinela dobijenim rezultatima.

Prisustvo i dalje visokog procenta izvesnih helmintoza digestivnog trakta pasa posledica je uslova u kojima se gaje, odnosno žive psi u pojedinim opštinama teritorije Braničevskog okruga. U brojnim slučajevima neadekvatne kućice, odnosno boksevi, kvalitativno i kvantitativno nezadovoljavajuća ishrana, loša nega, samovoljno tretiranje životinja antiparaziticima, prepuštanje doskorašnjih ljubimaca ulici i prisustvo veoma brojne populacije pasa lualica, sigurno pogoduju pojavi, održavanju i širenju mnogih parazitskih infekcija.

Većina ovde pomenutih parazitskih infekcija kod pasa prolaze asimptomatski i ne nanose veće ekonomske štete, pošto su psi neekonomska kategorija kućnih ljubimaca. Ukoliko se dijagnostika, lečenje i prevencija ovih oboljenja ne sprovode ispravno i na vreme, inficirani psi mogu predstavljati veliku opasnost po zdravlje ljudi, a naročito dece. Zbog epidemiološko-epizootiološkog značaja pojedinih vrsta nematoda mesojeda (familije *Ascarididae*, *Ancylostomatidae* i *Rhabditidae*), kao i cestoda (rodovi *Taenia* i *Echinococcus*), veoma je važno adekvatno suzbijanje parazitskih infekcija digestivnog trakta pasa. To znači da je neophodno obavljati koprološki pregled četiri puta godišnje, sprovoditi ciljane dehelmintizacije bar dva puta u toku godine i vršiti proveru njene efikasnosti.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima projekta br. TR 31084 Ministarstva prosvete i nauke, Republike Srbije.

Literatura / References

1. Akdemir C. Visceral larva migrans among children in Kütahya (Turkey) and an evaluation of playgrounds for *T. canis* eggs. Turk J Pediatr 2010; 53: 158-62.
2. Antanasijević S, Petrović M, Ignjatović R, Kulišić Z, Pavlović I. Echinococcosis and hydatidosis od domestic animals in Niš area - socio-economic aspects. Archivos internacionales de la hydatidosis, Vol XXXII, XVIII International Congress of Hydatilgy. Lisboa 1997; 286.
3. Beuković D. Helmini digestivnog trakta pasa na teritoriji opštine Indija. Specijalistički rad, Beograd, 1981.
4. Black DM, Grove ID, Butcher RA, Warren JL. Cutaneous larva migrans in infants in the Adelaide Hills. Austral J Dermatol 2010; 51(4): 281-4.
5. Bowman DD, Montgomery SP, Zajac AM, Eberhard ML, Kazacos KR. Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. Trends Parasitol 2010; 26(4): 162-7.
6. Brglez J. Priručnik za laboratorijsku dijagnostiku. Savez veterinara i veterinarskih tehničara Jugoslavije, Beograd, 1984.
7. Dimitrijević S, Ilić T, Nikolić A, Bečkei Ž. Zastupljenost parazitskih infekcija mesojeda na teritoriji grada Beograda. Zbornik radova VII simpozijuma „Clinica Veterinaria“, Ohrid, 2005; 326.
8. Dimitrijević S. Hydatidosis in humans and domestic animals in selected areas of Serbia. Zbornik referata i kratkih sadržaja radova interfakultetskog sastanka veterinarskih akulteta Beograda i Soluna, Kopaonik 1996; 220-3.
9. Dimitrov Z. Značajnije crevne helmintoze pasa s posebnim osvrtom na nalaz u pasa gradskog područja Pančeva. Specijalistički rad, Beograd, 1975.
10. Donald LA, Davey GD. Observations on a Natural Infection with *Strongyloides* in the Dog. J Parasitol 1939; 25(2): 117-9.
11. Dragančić A. Helmitološka fauna creva pasa na teritoriji Socijalističke Republike Srbije bez autonomnih pokrajina. Doktorska disertacija, Beograd, 1976.
12. Fattah D, Maizels R, McLaren D, Spry C. *Toxocara canis*, Interaction of human blood eosinophils with the infective larvae. Experim Parasitol 1986; 61(3): 421-31.

13. Fulleborn F. Untersuchungen über den Infektionsweg bei *Strongyloides* und *Ancylostomum* und die Biologie dieser Parasiten. Arch Schiff Tropenhyg 1914; 18: 182-236.
14. Gonçalves ALR, Machado GA, Gonçalves-Pires MRF, Ferreira-Júnior A, Silva DAO, Costa-Cruz JM. Evaluation of strongyloidiasis in kennel dogs and keepers by parasitological and serological assays. Vet Parasitol 2007; 147 (1-2): 132-9.
15. Ilić G, Jovanović D, Nešić D, Pavlović I. Parazitofauna koza i njen patološki značaj kod koza u timočkom regionu u periodu 1986-1989. godine. Zbornik radova I međunarodne letnje konferencije za unapređenje ovčarske i kozarske proizvodnje, Ohrid 1991; 391-5.
16. Inana M, Sakrub N, Vatanseverc U, Selcuk B. Visceral larva migrans presenting as acute abdomen in a child. J Ped Surg 2006; 41(3): 7-9.
17. Kassai T. Veterinary helminthology, Reed educational professional publishing Ltd, London, 1999.
18. Kulišić Z, Pavlović I, Nikolić A, Veljović T, Kokoškov N, Sikimić P, Bojkovski J. Paraziti digestivnog trakta pasa na području Beograda. Zbornik kratkih sadržaja V Savetovanja veterinara Srbije. Kopaonik 1992; 90.
19. Lepojević O, Marković R. Helmini digestivnog trakta pasa sa područja SO Valjevo. Vet glasnik 1983; 37(4): 291-6.
20. Marković R. Ehinokokoza domaćih životinja i ljudi na području SO Valjevo. Specijalistički rad, Beograd, 1978.
21. Möhl K, Grosse K, Hamedy A, Wuste T, Kabelitz P, Lucker E. Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to alaria mesocercariae. Parasitol Res 2009; 105 (1): 1-15.
22. Nevenić V. Endo-paraziti pasa na teritoriji Srbije i južne Srbije. Glas Central Hig Zav 1940; 23: 233-44.
23. Paunović V, Savin Ž, Kulišić Z. Helmitoze pasa na području opštine Zrenjanin. Vet glasnik 1993; 48(10): 905-8.
24. Pavlović I, Nešić D, Kulišić Z. Rezultati parazitološkog ispitivanja dečijih bazenčića za pesak u urbanom delu Beograda. Zbornik rezimea VII kongresa mikrobiologa Jugoslavije. Herceg Novi, 1995; 163-4.
25. Pavlović I, Kulišić Z. Prevalencija askarida kod lisica i pasa na području Beograda. Zbornik kratkih sadržaja VII savetovanja veterinara Srbije. Zlatibor, 1994; 28.
26. Pavlović I, Teodor B, Stojanović D. Rezultati parazitološkog pregleda parkova i bazenčića za pesak u vrtićima Požarevca i Kostolca. Zbornik radova stručnog skupa „Kontrola štetnih organizama u urbanoj sredini“, VI beogradska konferencija sa međunarodnim učešćem, Beograd, 2003; 1632.
27. Papazahariadou M, Founta A, Papadopoulos E, Chliounakis S, Antoniadou-Sotiriadou K, Theodorides Y. Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres prefecture Northern Greece. Vet Parasitol 2007; 148: 170-3.
28. Quinn PJ. Microbial and Parasitic diseases of the Dog and cat WB Saunders Company Ltd.London, 1997.
29. Simonović J. Prilog izučavanju raširenosti ehinokokoze na epizootiološkom području Zaječara. Magistarski rad, Beograd, 1974.
30. Shoop LW, Corkum CK. Epidemiology of *Alaria marciana* mesocercariae in Louisiana. J Parasitol 1981; 67(6): 928-31.
31. Smyth JD. Introduction to animal parasitology, The Cambridge University, The Cambridge University Press, London, 1994.

32. Stokić-Nikolić S, Pavlović I, Dobrosavljević I, Rogožarski D, Živojinović M, Lazić M. Raširenost crevnih parazitih infekcija pasa u Braničevskom okrugu - E.P. VSI „Požarevac“. Zbornik radova i kratkih sadržaja X epizootiološki dani. Tara, 2008; 287-9.
33. Tešić S. Helmintoze digestivnog trakta pasa na području Požarevca. Specijalistički rad, Beograd, 1998.
34. Ware F, Ware M. *Strongyloides stercoralis* in a dog. J Comp Path 1023; 36: 104-8.
35. Watthanakulpanich D. Diagnostic trends of human toxocariasis. J Trop Med Parasitol 2010; 33: 44-52.

ENGLISH

PARASITIC INFECTIONS OF DIGESTIVE TRACT OF DOGS IN TERRITORY OF BRANIČEVO DISTRICT

B. Đurić, Tamara Ilić, D. Trailović, Z. Kulišić, Sanda Dimitrijević

This paper presents the results of two-year investigations of parasitic infections of the digestive tract of dogs originating from the territories of eight municipalities of Braničevo District. Investigations were performed on 345 dogs of different breeds and age categories, originating from rural and urban environments. The investigations encompassed dogs bred in decent hygiene conditions, as well as dogs living in unhygienic conditions. Some of the dogs covered by these analyses were dewormed, but the bulk of the sampled material originated from dogs that were not treated with antihelminthics.

Eight species of parasites of the digestive tract were diagnosed in the examined dogs from the territory of the Braničevo District: *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, coccidia, *Dipylidium caninum*, *Taenia* spp. and *Alaria alata*.

Today, it is still necessary to keep dogs in rural environments and isolated areas, since these animals are used to guard real estate and cattle. For quite some time now, there has also been wide-spread interest in keeping dogs in urban areas as well. It is evident on the grounds of data from big towns that the number of dogs in urban environments has been increasing constantly all over the world. However, the conditions for naturally maintaining dogs in towns have become increasingly more difficult and complicated. The amount of free space and the number of yards are constantly being reduced, so that dog owners are compelled to keep their pets in apartments. These altered living and diet conditions have resulted in more complex and varied health problems of dogs.

Key words: dog, parasitic infections, Braničevo District

ПАРАЗИТАРНЫЕ ИНФЕКЦИИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА СОБАК НА ПОДВЕДОМСТВЕННОЙ ОБЛАСТИ БРАНИЧЕВСКОГО ОКРУГА

Б. Джурич, Тамара Илич, Д. Траилович, З. Кулишич, Санда Димитриевиц

В этой работе показаны результаты двухгодичного исследования паразитарных инфекций пищеварительного тракта собак, происхождением с территории восемь общин Браничевского округа. Исследование проведено у 345 собак, различных пород и возрастных категорий, происшедших из деревенских и городских сред. Исследованием охвачены собаки, разводимые в солидных гигиенических условиях, словно и собаки, пребывающие в негигиенических условиях. Некоторые собаки охвачены этим анализом были дегельминтизованы, но большая часть образцов материала происходила от собак, которые не третированы антигельминтиками.

У испытанных собак с территории Браничевского округа диагностировано восемь видов паразитов пищеварительного тракта: *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, кокцидии, *Dipylidium caninum*, *Taenia* spp. и *Alaria alata*.

Содержание собак в деревенских сред и заброшенных краях и в настоящее время необходимо, с учётом, что собаки пользуются для хранения недвижимого имущества и скота. Интерес для содержания собак уже надолго очень распространён и в городах. На основе данных из больших городов, очевидно, что число собак в градостроительных средах постоянно увеличивается в целом мире. Между тем, условия для природного содержания собак в городах всё более тяжёлые и более сложные. Свободного пространства и дворов всё меньше, так, что владельцы собак принуждены, своих любимцев держать в квартирах. Изменение условий жизни и способа кормления имеет для последствия явление более сложной и более разнородной здравоохранительной и проблематике собак.

Ключевые слова: собака, паразитарные инфекции, Браничевски округ

***Arcanobacterium pyogenes* – FAKTORI VIRULENCIJE,
ZNAČAJ U ETIOLOGIJI MASTITISA I TERAPIJSKE
(NE)MOGUĆNOSTI***

***Arcanobacterium pyogenes* – VIRULENCE FACTORS, IMPORTANCE IN
MASTITIS ETIOLOGY AND THERAPEUTIC (IM)POSSIBILITIES**

Dubravka Milanov, Jelena Petrović, M. Kapetanov, Ljiljana Suvajdžić**

Arcanobacterium pyogenes je oportunistički patogen, uzročnik supurativnih infekcija različitih organa i tkiva kod ekonomski važnih vrsta domaćih životinja. Najčešće se ova bakterija izoluje iz zapaljenjskih lezija pluća svinja i goveda, uzoraka materične sluzi krava sa endometritisom i mleka krava sa kliničkim mastitisom. *A. pyogenes* poseduje brojne faktore virulencije: holesterol zavisni citolizin (piolizin), dve neuraminidaze, više proteaza, ekstracelularne matriks-vezujuće proteine, dezoksiribonukleaze, fimbrije. Faktori virulencije su dobro izučeni u laboratorijskim uslovima, ali njihova jasna uloga u patogenezi infekcija izazvanih ovom bakterijom i dalje nije u potpunosti rasvetljena. U novije vreme se sposobnost *A. pyogenes* da formira biofilm *in vivo*, takođe razmatra kao faktor virulencije i mogući razlog za terapijski neuspeh. Iako beta laktamski antibiotici i tetraciklini u niskim koncentracijama pokazuju dobar inhibitorski efekat na izolate *A. pyogenes* iz mleka krava sa mastitisom, klinička iskustva pokazuju da je terapija retko uspešna, prognoza loša i da infekcija uobičajeno rezultira gubitkom sekrecije obolele četvrti vimena.

Ključne reči: Arcanobacterium pyogenes, faktori virulencije, mastitis, terapija

Uvod / Introduction

Arcanobacterium pyogenes prvi je izolovao Glage 1903. godine i nazvao ga *Bacillus pyogenes*. Zbog sličnosti sa korineformnim mikroorganizmima,

* Rad primljen za štampu 04. 03. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Dubravka Milanov, dr sci. med. vet. Jelena Petrović, dr sci. med. vet. Miloš Kapetanov, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr sci med. vet. Ljiljana Suvajdžić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

isti autor je u saradnji sa Ebersonom 1918. predložio naziv *Corynebacterium pyogenes*, a promena u genus *Actinomyces* predložena je 1981. godine. Na osnovu analize sekvenci 16S rRNA, reklasifikovan je u genus *Arcanobacterium*, što je i trenutna taksonomska pozicija ove bakterijske vrste (Ramos i sar., 1997).

Arcanobacterium pyogenes je komensal sluzokože respiratornog i genitalnog trakta goveda, svinja, ovaca, ptica i drugih ekonomski važnih vrsta životinja. Može se izolovati iz tonzila, retrofaringealnih limfnih čvorova i vimena zdravih životinja (Jost i sar., 2002/a). Moguće prirodno stanište ove bakterije je i sluzokoža buraga goveda i želuca svinja (Narayanan i sar., 1998; Jost i sar., 2002/a). Ona nije deo normalne mikroflore sluzokoža čoveka (Jost i sar., 2005). Patogeni potencijal *A. pyogenes* godinama je bio predmet diskusije, ali danas je poznato da kao primarni uzročnik izaziva supurativne infekcije različitih vrsta tkiva i organa ili se nadovezuje na prethodne infekcije izazvane drugim patogenima. Lezije su apscesi, empijemi i piogranulomi, a infekcije mogu biti lokalne, regionalne i metastatske. Do kasnih 70-ih godina potcenjivana je njegova uloga u izazivanju bolesti kod ljudi. Predrasuda da je on patogen samo za životinje, navela je naučnike da kasnih 50-ih godina njemu srodnu vrstu *A. haemolyticum* proglase za *A. pyogenes* varijanta hominis (Suvajdžić, 2000).

I pored značaja koji ova bakterijska vrsta ima u veterinarskoj medicini, do danas nisu u potpunosti poznati mehanizmi patogeneze bolesti koje izaziva. U ovom radu prikazujemo nama poznate činjenice o faktorima virulencije *A. pyogenes*, značaju ove bakterije u etiologiji mastitisa krava i moguće razloge za neuspeh terapije uprkos dobroj osetljivosti izolata na antibiotike, *in vitro*.

Patogeneza i patologija / *Patogenesis and pathology*

A. pyogenes još nedovoljno poznatim mehanizmima izaziva različite nespecifične purulentne infekcije: apscese jetre i bubrega goveda (Ertas i sar., 2005), endokarditis krava, akutni purulentni i hronični apscedirajući mastitis krava, ovaca i koza (Al-Graibawi i sar., 1986; Hillerton i Branley, 1989; Somer i sar., 1996), abortuse (Lewis, 1997), vezikulitis, puerperalni endometritis krava (Földi i sar., 2006), supurativne pneumonije goveda i svinja, septični poliartritis svinja (Hariharan i sar., 1992), umbilikalne infekcije, osteomijelitis ćuraka (Brinton i sar., 1993). U našim laboratorijama, ova bakterija se relativno često izoluje iz zapaljenjskih lezija pluća svinja i goveda, uzoraka materične sluzi krava sa endometritisom i mleka krava sa kliničkim mastitisom (Suvajdžić, 2000; Suvajdžić i sar., 2001). Ređe uzrokuje infekcije kod ljudi (Gahrn-Hansen i Frederiksen, 1992). Često infekcije kod ljudi nastaju kao posledica profesionalne izloženosti ovoj bakteriji. Brojni faktori virulencije ove bakterije mogu objasniti kako je *A. pyogenes* sposoban da kolonizira različita tkiva domaćina i izazove bolest. Ipak, većina aspekata patogeneze infekcija izazvanih ovim važnim oportunističkim patogenom i dalje je slabo poznata (Jost i Billington, 2005).

Faktori virulencije *A. pyogenes* / *A. pyogenes virulence factors*

A. pyogenes proizvodi više potencijalnih faktora virulencije, uključujući egzoenzime (neuraminidaze, dezoksiribonukleaze, više proteaza), hemolitički endotoksin pilozin, ekstracelularne matriks vezujuće proteine (kolagen-, fibrinogen- i fibronektin-vezujući proteini), fimbrije i dr. Ovi faktori su važni za kolonizaciju tkiva domaćina, odbranu od efektora imunskog sistema i izazivanje oštećenja inficiranog tkiva.

Neuraminidaze i ekstracelularni matriks vezujući proteini / *Neuraminidase and extracellular matrix-binding proteins*

U adheziji *A. pyogenes* na tkiva domaćina, važna uloga pripada neuraminidazama (ili sialidazama – *sialidases*). Generalno, neuraminidaze olakšavaju adheziju bakterija na sluzokožu smanjujući viskoznost sluzi, ali one deluju i na lokalni imunski odgovor povećavajući osetljivost sekretornih IgA na bakterijske proteaze (Jost i Billington, 2005). Kod *A. pyogenes* su identifikovana dva proteina koja imaju aktivnost neuraminidaza – NanH i NanP, i oba se nalaze u sastavu ćelijskog zida. NanH je nađen kod svih izolata *A. pyogenes*, a NanP kod 77,4% izolata poreklom od goveda i 29,4% poreklom od svinja (Jost i sar., 2002/b). NanH mutant nije bitno oštećen u pogledu sposobnosti kolonizacije, zbog aktivnosti druge neuraminidaze NanP. Dupli mutanti bez NanP i NanH neuraminidaza imaju redukovanu, ali ne i izgubljenu sposobnost adhezije, što ukazuje na to da je aktivnost neuraminidaza neophodna za kompletnu adheziju, ali i da su druge komponente uključene u proces vezivanja za ćelije domaćina. To se odnosi na proteine ćelijskog zida *A. pyogenes* kao što su: kolagen-, fibronektin- i fibrin-vezujući proteini koji omogućavaju vezivanje za komponente ekstracelularnog matriksa tkiva domaćina. Ta klasa adhezina koja se vezuje za komponente ekstracelularnog matriksa (ECM) domaćina, pripada MSCRAMM familiji proteina (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*). Ovi proteini se vezuju za jednu ili više komponenti ekstracelularnog matriksa ćelija domaćina, kao što su kolagen, fibronektin, laminin i dr.

Kolagen-vezujući protein CpbA (*collagen-binding protein A*) je jedan 124.7 kDa protein ćelijskog zida *A. pyogenes*, koji se vezuje za kolagen tipa I, II i IV (Esmay i sar., 2003). Kolagen nije ekspresioniran u intaktnom tkivu, za razliku od receptora na epitelnim ćelijama za bakterijske neuraminidaze. Zato prethodna oštećenja tkiva, zapaljenski procesi i traume pogoduju nastanku infekcija sa *A. pyogenes*. Vezivanje za kolagen može biti signal koji povećava patogeni potencijal ove bakterije, što dovodi do invazije tkiva i posledičnog hematogenog širenja, te nastanka apscesa jetre, septičnih artritisa i osteomijelitisa (Jost i Billington, 2005). CpbA je ustanovljen kod 48% izolata *A. pyogenes* koji su izazvali infekcije mekih tkiva ili koji su bili deo normalne mikroflore sluzokože, ali je nađen kod svih sojeva izolovanih kod osteomijelitisa čuraka (Esmay i sar., 2003). Različita zastupljenost adhezivnih molekula, kao što je i CpbA, sugerira mogućnost da su ovi

adhezivni molekuli faktori virulencije specifični za bolest (Esmay i sar., 2003). Zato se ovaj adhezivni protein razmatra generalno kao faktor virulencije specifičan za nastanak infekcija koštanog tkiva. Kod *Staphylococcus aureus* je dokazano da mutanti bez ovog proteina imaju znatno redukovanu sposobnost izazivanja osteomijelitisa (hematogenog) na modelu infekcije miševa (Elasri i sar., 2002). Kolagen-vezujući proteini su veoma važni u adheziji za koštana i hrskavičava tkiva koja su bogata kolagenom.

Fibronektin-vezujući protein značajno povećava fagocitozu *A. pyogenes* od strane govedih polimorfonukleara. Međutim, kako *A. pyogenes* preživljava unutar fagocita, ova povećana fagocitoza može doprineti hematogenoj diseminaciji uzročnika po organizmu.

Hemolitični egzotoksin – piolizin (PLO) / *Hemolytic exotoxin – pyolysin (PLO)*

Hemolitični egzotoksin *A. pyogenes* – piolizin (PLO), jeste ekstracelularni toksin koji izaziva lizu eritrocita više vrsta životinja. Odgovoran je za karakterističnu hemolizu koju ova bakterija izaziva dok raste na agaru sa dodatkom ovčije krvi. Specifična antitela dobijena na prečišćeni, rekombinantni PLO, kompletno neutrališu hemolitičku sposobnost *A. pyogenes*, što sugerise da je ovo jedini hemolizin ove bakterije (Billington i sar., 1997). PLO se smatra glavnim faktorom virulencije *A. pyogenes* i njega proizvode svi izolati ove bakterije. Smatra se da je ključan za *in vivo* preživljavanje i da štiti *A. pyogenes* tokom ranih faza infekcije (Jost i sar., 1999).

Piolizin pripada grupi TACYs (*thiol activated cytolysins*), familije holesterol-zavisnih toksina (*cholesterol-dependent cytolysin CDCs*) (Billington i sar., 2000). Ove toksine proizvode više od 20 vrsta gram pozitivnih bakterija. TACY toksini su hidrosolubilni, jednolančani polipeptidi molekulske mase od 47 do 60 kDa. PLO ima 30-40% sličnosti u aminokiselinskim sekvencama sa drugim CDCs (Billington i sar., 1997). CDCs su uključeni u mehanizam patogeneze infekcija izazvanih *Clostridium perfringens* (perfringolizin O – PFO), *Listeria monocytogenes* (listeriolizin O – LLO), *Streptococcus pneumoniae* (pneumolizin – PLY) i *Streptococcus pyogenes* (streptolizin O – SLO). Iako su TACY originalno opisani kao hemolizini, zato što pokazuju litičku aktivnost prema eritrocitima životinja, njihova osnovna meta u patogenezi infekcije su ćelije uključene u odbranu od infekcije (Billington i sar., 2000). PLO ima citolitički efekat na polimorfonukleare i makrofage goveda i ovaca, a direktna toksičnost na imune ćelije utiče i na ćelijsku signalizaciju, ekspresiju citokina i drugih medijatora zapaljenja (Billington i sar., 1997; Jost i sar., 1999). Tokom ranih faza infekcije, ovaj toksični uticaj na ćelije imunskog sistema onemogućava efikasno uklanjanje patogena i rezultira njegovom invazijom do ciljnog mesta u organizmu.

TACY toksini deluju litički na ćelije domaćina formirajući velike pore na eukariotskim ćelijskim membranama, dijametra preko 30 nm, koje omogućavaju prolaz jona i makromolekula. Holesterol je inicijalni i jedini receptor na eukariotskim ćelijskim membranama za TACY toksine (Billington, 2000). Citolitička aktiv-

nost TACY toksina inhibirana je malim količinama slobodnog holesterola. Naziv grupe potiče iz zapažanja da ovi enzimi reverzibilno gube aktivnost oksidacijom i da im dodatak redukujućih agenasa, kao što je tiol, vraća aktivnost. U prečišćenoj formi ovi toksini nisu osetljivi na oksidaciju i uprkos njihovom nazivu, danas je poznato da tiol aktivacija ovih enzima nije njihova najvažnija osobina. PLO se razlikuje od drugih toksina ove familije po tome što njegova hemolitička aktivnost nije tiol-aktivirana (Billington i sar., 1997). Još jedan član ove grupe toksina nije tiol aktiviran – ILY toksin *Staphylococcus intermedius*, citolizin specifičan za humane ćelije (Billington i sar., 2000). Zato se predlaže oznaka za ovu grupu toksina: holesterol vezujući pore-formirajući toksini CHOP (*cholesterol binding, pore-forming toxins*).

Piolizin deluje letalno i dermonekrotično na laboratorijske životinje, nakon intravenske i intraperitonealne aplikacije. Antitela na ovaj toksin nađena su u krvi i prirodno i veštački inficiranih životinja. Pasivno preneti antitela kompletno štite miševе od letalnog ćelindža sa *A. pyogenes*, sugerišući da je PLO, slično drugim TACYs, jedan važan faktor virulencije u patogenezi infekcije izazvane ovom bakterijom (Billington i sar., 1997). Na modelu infekcije miševa, dokazano je da *A. pyogenes* sa PLO mutacijom ima smanjenu virulenciju u odnosu na divlji soj (Jost i sar., 1999). Moguće je da PLO omogućava lizu polimorfonukleara ili makrofaga i izbegavanje fagocitoze (Billington i sar., 1997). I pored toga, jasna uloga ovog toksina u patogenezi infekcije i dalje je nepoznata.

Drugi faktori virulencije *A. pyogenes* uključuju ekstracelularne proteine (enzime) kao što su proteaze i DNase. Proteaze su važne u invaziji i destrukciji tkiva, izbegavanju odbrane organizma i modulaciji imunskog sistema tokom infekcije i inflamacije. DNase izazivaju depolimerizaciju DNA oslobođenih iz dez-integriranih ćelija domaćina u inflamatornim lezijama.

Fimbrije / *Fimbria*

Fimbrije su proteinske filamentozne strukture koje produkuje veliki broj gram-negativnih bakterija, ali su retko prisutne kod gram-pozitivnih bakterija (imaju ih *Actinomyces* spp., neke oralne streptokoke, više vrsta *Corynebacterium* i *Arcanobacterium pyogenes*). Poznata su dva gena koja kodiraju biosintezu fimbrija kod *A. pyogenes* (*fimA* i *fimB*), ali oni nisu zastupljeni kod svih izolata (Jost i Billington, 2005). Izolati imaju oba ili nijedan od ovih gena. Tačna uloga ovih proteinskih struktura u patogenezi infekcije nije poznata, ali je pretpostavka da učestvuju u procesima adhezije na tkivo domaćina, verovatno vezivanjem za fibronektin.

Intracelularno preživljavanje / *Intracellular survival*

Iako se *A. pyogenes* smatra ekstracelularnim patogenom, dokazano je da ima sposobnost invazije epitelnih ćelija. U epitelnim ćelijama preživljava 72h, ali se broj bakterija u tom periodu smanjuje, što ukazuje na to da se intracelularno

ne razmnožava. Takođe, *A. pyogenes* može preživeti unutar fagocita. Za razliku od *L. monocytogenes* koja koristi LLO za preživljavanje unutar makrofaga, *A. pyogenes* ne zahteva PLO za intracelularni opstanak i mutanti bez ovog gena imaju isti stepen preživljavanja kao i divlji sojevi (Jost i Billington, 2005).

Jedna od karakteristika virulencije *A. pyogenes* može biti i njegova sposobnost da formira biofilm in vivo, jer je formiranje biofilma regulisano zajedničkim regulatorom gena virulencije (Jost i Billington, 2005). Biofilmovi su posebne strukturne i funkcionalne zajednice koje bakterije formiraju nakon ireverzibilnog vezivanja za žive ili nežive površine (Milanov i sar., 2007; Milanov i sar., 2008). U biofilmu su kolonije bakterija prekrivene ekstracelularnom polimeričnom supstancijom koja je bakterijski produkt i koja ih štiti od antibiotika i efektoru imunog sistema organizma domaćina. Smatra se da formiranje biofilma ima važnu ulogu kod mastitisa krava izazvanih *A. pyogenes* i ova pretpostavka je potkrepljena činjenicom da su ovi mastitisi hroničnog toka i da je terapija uglavnom bez uspeha (Waage i sar., 2000; Gröhn i sar., 2004). Slično se i neuspeh u terapiji mastitisa izazvanih *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, pripisuju njihovoj sposobnosti da u tkivu vimena perzistiraju u formi biofilma (Milanov i sar., 2010/a; Milanov i sar., 2010/b). Rezistencija bakterija koje rastu u biofilmu u suštini predstavlja povećanu otpornost bakterija prema ubijanju ili povećanu sposobnost preživljavanja. Ona se objašnjava smanjenim prodorom antibiotika u biofilm, smanjenom brzinom (vrednostima) rasta bakterija u biofilmu, ekspresijom mogućih gena rezistencije i povećanom vrednošću genetskog transfera.

***A. pyogenes* kao uzročnik mastitisa krava /**

A. pyogenes as cause of mastitis in cows

Prema rezultatima bakteriološkog pregleda mleka u našoj laboratoriji, *A. pyogenes* je uzročni agens 2-4% infekcija mlečne žlezde krava, što je slično podacima iz drugih zemalja. Zbog niske incidencije mastitisa izazvanih njome, bakterija *A. pyogenes* se ne svrstava u grupu glavnih patogena ("major pathogens") za mlečnu žlezdu, ali je od velikog značaja zbog težine kliničkih manifestacija infekcije i problema u terapiji. *A. pyogenes* može da se izoluje i kod rekurentnih ili hroničnih slučajeva blažih kliničkih mastitisa kod krava sa istorijom koliformnih mastitisa ili mastitisa izazvanih drugim vrstama bakterija (Divers and Peek, 2007). Oštećenje parenhima mlečne žlezde, što je česta posledica infekcija izazvanih koliformnim uzročnicima, stvara dispoziciju i za razvoj infekcije sa *A. pyogenes*. Kako je *A. pyogenes* komensal kože i sluzokože, infekcija mlečne žlezde ovom bakterijom najčešće nastaje kao posledica mehaničkih oštećenja epitela sisnog kanala, što otvara vrata za infekciju. *A. pyogenes* ima dobra invazivna svojstva i prodire duboko u žlezdani parenhim, slično kao *S. aureus* i *Streptococcus uberis* (Milanov i Stojanović, 2010/c). Prodor patogena u tkivo mlečne žlezde praćen je snažnom inflamatornom reakcijom, obilnom purulentnom eksudacijom,

formiranjem apscesa, nakupljanjem tkivnog detritusa, leukocita, fibrina i okluzijom mlečnih kanala sekretornog tkiva.

A. pyogenes ima posebnu ulogu u nastanku tzv. letnjeg mastitisa. Letnji mastitis je aerobno-anaerobna supurativna infekcija mlečne žlezde junica i krava u zasušenju, a naziv je dobio po tome što se tipično javlja tokom letnjih meseci (od juna do septembra). O pojavi ovog tipa mastitisa postoje brojni izveštaji iz zemalja severne Evrope, Grčke, Japana, USA, Australije, Brazila... Epidemiologija bolesti je u korelaciji sa geografskom distribucijom muva vrste *Hydrotaea irritans*, koja se generalno smatra vektorom. Prenošenje *A. pyogenes* muvama sa krave na kravu je mehaničko, a *H. irritans* ne spada u prave vektore, jer se ova bakterija u njoj ne umnožava i eliminiše se iz digestivnog sistema ovog insekta za 4 dana. Pojavljivanje infekcije dovodi se u vezu sa držanjem goveda na peščanim terenima ili niskim šumovitim područjima sa slabom drenažom. Letnji mastitis je dijagnostikovao u 39-54% zapata mlečnih krava, a incidenca u proseku iznosi 2,1 do 4,1 slučaja po zapatu (Berry, 1998). Većina, ali ne i sve infekcije, javljaju se tokom prve dve nedelje zasušenja. Moguće su epidemije, kada više od 25% zasušenih krava može biti inficirano. Bakteriološki pregled sekreta vimena krava sa letnjim mastitisom pokazuje da je u infekciju uključeno više patogenih bakterija. Uobičajeno se izoluju *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus dysgalactiae*, Stjuart-Švanove mikroaerofilne koke i anaerobne nesorulirajuće bakterije: *Peptostreptococcus indolicus* i *Fusobacterium necrophorum* (Sommer i sar., 1996; Berry, 1998).

Faktori rizika za pojavu letnjeg mastitisa uključuju izostanak tretmana krava u zasušenju, izloženost muvama, teljenje u jesenjim mesecima i oštećenja sisnog kanala. Letnji mastitis je klinički manifestna infekcija. Akutno inficirana četvrt je otečena, tvrda i bolna. Mastitis može biti praćen sistemskim znacima kao što su febra i inapetencija. Sekretija obolele četvrti je jako promenjena, vodenasta, sa krpicama i ugrušcima. Krave sa subakutnom ili hroničnom infekcijom nemaju sistemske znake bolesti, ali je mlečna žlezda veoma otečena, tvrda, a sekret po konzistenciji nalik pastu za zube, gnojan i neprijatnog mirisa. Tok bolesti je brz i progresivan sa formiranjem apscesa i destrukcijom tkiva obolele četvrti (Thomas i sar., 1987). Sekretorna funkcija inficirane četvrti uobičajeno je izgubljena. Bez adekvatnog tretmana, bolest rezultira febrim, septikemijom, edemom zadnjih nogu, abortusom ili perinatalnim mortalitetom (Berry, 1998). Infekcije se mogu javiti i kod junica. Prevencija podrazumeva higijenu smeštaja zasušenih krava u čistim i suvim štalama, redovan pregled vimena zasušenih krava, uništavanje muva i aseptičnu aplikaciju lekova u zasušenju.

Lečenje mastitisa izazvanog sa *A. pyogenes*, uglavnom ne daje zadovoljavajuće rezultate. Situacija je još teža u slučaju mešane infekcije sa anaerobnim bakterijama. Problemi terapije vezani su za farmakokinetiku određenih lekova, brz metabolizam lekova kod preživara, obilno nakupljanje gnoja, ćelijskog detritusa i inkapsulaciju inficiranog područja. Iako je prognoza loša, uspeh terapije moguće je očekivati kod blagovremenog prepoznavanja infekcija mlečne žlezde izazvanih *A. pyogenes*, a pre formiranja apscesa. Pre primene antibiotika, neop-

hodno je kompletno izmisti vime (što s obzirom na konzistenciju sekreta, može biti veliki problem).

In vitro ispitivanje osetljivosti bakterijskih vrsta izolovanih kod pojava letnjeg mastitisa – *A. pyogenes*, *S. dysgalactiae*, i anaeroba – *P. indolicus*, *F. necrophorum*, *Bacteroides* spp., potvrdilo je njihovu dobru osetljivost na penicilin, amoksicilin i amoksicilin-klavulonsku kiselinu. Penicilin i ampicilin su aktivni protiv izolata *A. pyogenes*, uprkos njihove upotrebe poslednjih 25 godina u veterinarskoj medicini (Yoshimura i sar. 2000). Međutim, u vodenim solucijama, beta-laktamski antibiotici se brzo eliminišu iz organizma. Penicilin se takođe sporo distribuira u mlečnoj žlezdi jer je slaba kiselina (Somer i sar., 1996). Penicilin treba aplikovati sistemski (22 000 U/kg, dva puta dnevno), minimalno tokom jedne nedelje, u inficiranu četvrt, jednom ili dva puta dnevno. Većina slučajeva zahteva 7-14 dana dug tretman antibioticima (Divers and Peek, 2007). Postepeno omekšavanje inficirane četvrti je povoljan prognostički znak, kao i smanjenje otoka i smanjenje viskoznosti sekreta.

Alternativa penicilinu su makrolidi, na koje izolati *A. pyogenes* poreklom od krava pokazuju dobru osetljivost (Yoshimura i sar., 2000). Većina makrolidnih antibiotika ima dobru farmakokinetiku kod krava u laktaciji zato što su rastvorljivi u lipidima i postižu dobru koncentraciju u mleku. Međutim, primena makrolida u terapiji letnjeg mastitisa nije uspešna, zato što su anaerobi iz roda *Fusobacterium* učestalo rezistentni na makrolide kao što je eritromicin (Somer i sar., 1996). Oksitetraciklin je najčešći lek koji se koristi u tretmanu mešoviti i anaerobnih infekcija krava. Osetljivost izolovanih sojeva *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella* i *Peptostreptococcus* na tetracikline je dobra, ali povremeno aerobni izolati pokazuju rezistenciju. Oksitetraciklin nije idealan zato što je teško održati dovoljnu koncentraciju i zato što kazein iz mleka interferira sa njegovom aktivnošću. Kod sojeva *A. pyogenes* izolovanih kod krava i svinja ustanovljen je visok stepen rezistencije na streptomycin i oksitetraciklin (Yoshimura i sar. 2000).

Iako izolati *A. pyogenes* iz mleka krava sa mastitisom pokazuju dobru osetljivost na većinu antibiotika koji se koriste u tretmanu mastitisa, posebno beta laktamske preparate, ova osetljivost nije u korelaciji sa kliničkim uspehom u terapiji. Terapija je retko uspešna, a infekcije često rezultiraju gubitkom funkcije inficirane četvrti. Jasno je da standardni difuzioni i dilucioni testovi nisu pouzdan kriterijum za odabir antibiotika, zbog sposobnosti *A. pyogenes* da u tkivu vimena perzistira u formi biofilma. Tako je primena CBD (*Calgari Biofilm Device*) pokazala da efikasno uništavanje izolata *A. pyogenes* koji rastu u biofilmu, zahteva mnogo više koncentracije antibiotika u odnosu na one koje su dovoljne za uništavanje istih izolata primenom standardnog dilucionog testa. Dok za penicilin G, kloksacilin, ceftiofur, ampicilin i tetraciklin, minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) iznosi manje od 2 µg/mL, minimalna biofilm eradikaciona koncentracija (MBEC) iznosi za ampicilin 500 µg/mL, a za ostale navedene antibiotike i više od 1024 µg/mL (Olson i sar., 2002). Za više bakterijskih infekcija u veterinarskoj medicini je potvrđeno da određivanje minimalne inhibitorne koncentracije za pojedine antibio-

tike nije u korelaciji sa uspehom kod njihove kliničke primene. To je potvrđeno i za *Staphylococcus aureus* izolate iz mleka krava sa mastitisom (Olson i sar., 2002). Određivanje MBEC i primena CBD u odnosu na standardne dilucione i difuzione testove, predstavlja adekvatniju metodologiju za efikasan odabir antibiotika u lečenju ovih infekcija, kao i za razvoj novih lekova efikasnih protiv bakterija koje rastu u biofilmu.

Literatura / References

1. Al-Graibawi MA, Sharma VK, Al-Shammari AJ. Microbial pathogens from goat mastitis and phage-typing of *Staphylococcus aureus* isolates. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1986; 9(1): 23-8.
2. Berry E. Update on summer mastitis, Proceedings of the British Mastitis Conference, Axient/Institute for Animal Health, Milk Development Council/Novartis Animal Health, 1998; 46-53.
3. Billington SJ, Jost BH, Cuevas WA, Bright KR, Songer JG. The *Arcanobacterium* (*Actinomyces*) *pyogenes* Hemolysin, Pyolisin, Is a Novel Member of the Thiol-Activated Cytolysin Family. *J Bacteriol* 1997; 179: 6100-6.
4. Billington SJ, Jost BH, Songer JG. Thiol-activated cytolysins: structure, function and role in pathogenesis. *FEMS Microbiology Letters* 2000; 182: 197-205.
5. Brinton MK, Schelberg LC, Johnson JB, Frank RK, Halworson DA, Newman JA. Description of osteomyelitis lesions associated with *Actinomyces pyogenes* infection in the proximal tibia adult male turkeys. *Avian Dis* 1993; 37: 259-62.
6. Divers TJ, Peek SF. Diseases of Body Systems In: Mastitis in Diseases of dairy cattle, 2007; 366-7. ([http://books.google.com/books?Arcanobacterium+pyogenes+milk+mastitis & source](http://books.google.com/books?Arcanobacterium+pyogenes+milk+mastitis&source))
7. Elasar MO, Thomas JR, Skinner RA, Blevins JS, Beenken KE, Nelson CL, Smelter MS. *Staphylococcus aureus* collagen adhesin contributes to the pathogenesis of osteomyelitis. *Bone* 2002; 30: 275-80.
8. Ertas HB, Kilic A, Özbey G, Muz A. Isolation of *Arcanobacterium* (*Actinomyces*) *pyogenes* from abscessed cattle kidney and identification by PCR. *Turk J Vet Anim Sd* 2005; 29: 455-9.
9. Esmay PA, Billington SJ, Link MA, Songer JG, Jost BH. The *Arcanobacterium pyogenes* Collagen-Binding Protein, CbpA, Promotes Adhesion to Host Cells. *Infection and Immunity* 2003; 71: 4368-74.
10. Földi J, Kulcsar M, Petesi A, Hayghe B, de Sa C, Lohuis JACM, Cox P, Huszenicza G. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci* 2006; 96: 265-81.
11. Gahrn-Hansen B, Frederiksen W. Human infections with *Actinomyces pyogenes* (*Corynebacterium pyogenes*). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15: 349-54.
12. GröhnYT, Wilson DJ, Gonzalez RN, Hertl JA, Schulte H, Bennett G, Schukken YH. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3358-74.
13. Hariharan H, MacDonald J, Carnat B, Bryenton J, Heaney S. An investigation of bacterial causes of arthritis in slaughter hogs. *J Vete Diag Invest* 1992; 4: 28-30.

14. Hillerton JE, Bramley AJ. Infection following challenge of the lactating and dry udder of dairy cows with *Actinomyces pyogenes* and *Peptostreptococcus indolicus*. *British Vet J* 1989; 145: 148-59.
15. Jost BH, Songer JG, Billington SJ. An *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* mutant deficient in production of the pore-forming cytolysin pyolysin has reduced virulence. *Infect Immun* 1999; 67(4): 1723-8.
16. Jost BH, Post KW, Songer JG, Billington SJ. Isolation of *Arcanobacterium pyogenes* from the porcine gastric mucosa. *Vet Res Communicat* 2002/a; 26: 419-25.
17. Jost BH, Songer JG, Billington SJ. Identification of a second *Arcanobacterium pyogenes* neuraminidase and involvement of neuraminidase activity in host cell adhesion. *Infect Immun* 2002/b; 70(3): 1106-12.
18. Jost BH, Billington SJ. *Arcanobacterium pyogenes*: molecular pathogenesis of an animal opportunist. *Antonie van Leeuwenhoek* 2005; 88(2): 87-102.
19. Lewis GS. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80, 984-94.
20. Milanov D, Ašanin R, Mišić M, Vidić B, Ratajac R. Investigation of biofilm formation in vitro ability of *Listeria monocytogenes* strains isolated from animals. *Acta Veterinaria* 2007; 57(5-6): 429-40.
21. Milanov D, Ašanin R, Vidić B, Petrović J, Krnjajić D. Biofilm-organizacija života bakterija u prirodnim ekosistemima. *Arhiv veterinarske medicine* 2008; 1(2): 3-13.
22. Milanov D, Lazić S, Vidić B, Petrović J, Bugarski D, Šeguljev Z. Slime production and biofilm forming ability by *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates. *Acta Veterinaria* 2010/a; 60(2-3): 217-26.
23. Milanov D, Petrović J, Suvajdžić L, Čubrak N. Produkcija biofilma kod bakterijskih vrsta *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa* izolovanih iz mleka krava sa mastitisom. Zbornik kratkih sadržaja simpozijuma "Stočarstvo, veterinarska medicina i ekonomika u ruralnom razvoju i proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane", Divčibare, 2010/b: 28.
24. Milanov D, Stojanović D. O uzročnicima mastitisa krava (uz neke nedoumice iz prakse). Zbornik radova naučnog simpozijuma "Oboljenja mlečne žlezde", Divčibare, Beograd, Naučna KMD, 2010/c: 93-101.
25. Narayanan S, Nagaraja TG, Wallace N, Staats J, Chengappa MM, Oberst RD. Biochemical and ribotypic comparison of *Actinomyces pyogenes* and *Actinomyces pyogenes*-like organisms from liver abscesses, ruminal wall and ruminal contents of cattle. *Am J Vet Res* 1998; 59: 271-6.
26. Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 2002; 66: 86-92.
27. Ramos CP, Foster G, Collins MD. Phylogenetic Analysis of the Genus *Actinomyces* Based on 16S rRNA Gene Sequences: Description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1997; 47(1): 46-53.
28. Somer JH, Pyörälä S, Kanervo A. Susceptibilities of bovine summer mastitis bacteria to antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996; 40(1): 157-60.
29. Suvajdžić Lj. Izučavanje karakteristika *Actinomyces pyogenes* i sličnih mikroorganizama izolovanih iz pluća teladi i prasadi sa pneumonijom. Doktorska disertacija; Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2000.

30. Suvajdžić Lj, Milanov D, Lalić M, Bugarski D, Pušić I, Suvajdžić Z. *Arcanobacterium* (actinomyces) *pyogenes* izolovan iz mleka krave sa mastitisom. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2001; 1: 115-8.
31. Thomas G, Oliver HJ, Vecht U, Nansen P. Summer mastitis. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands 1987; 90-7.
32. Waage S, Skei HR, Rise J, Rogdo T, Sviland S, Ødegaard SA. Outcome of Clinical Mastitis in Dairy Heifers Assessed by Reexamination of Cases One Month After Treatment. J Dairy Sci 2000; 83(1): 70-6.
33. Yoshimura H, Kojima A, Ishimari M. Antimicrobial susceptibility of *Arcanobacterium pyogenes* isolated from cattle and pigs. J Vet Med 2000; 47: 139-43.

ENGLISH

***Arcanobacterium pyogenes* – VIRULENCE FACTORS, IMPORTANCE IN MASTITIS ETIOLOGY AND THERAPEUTIC (IM)POSSIBILITIES**

Dubravka Milanov, Jelena Petrović, M. Kapetanov, Ljiljana Suvajdžić

Arcanobacterium pyogenes is an opportunistic pathogen, a causative agent of suppurative infections of organs and tissues in economically important livestock species. Most frequently this bacteria is isolated from inflamed lung lesions in pigs and cattle, in samples of uterine mucus of cows with endometritis and milk from cows with clinical mastitis. *A. pyogenes* possesses a number of virulence factors: cholesterol-dependent cytolysin (pyolysin), two neuraminidases, several proteases, extracellular matrix-binding proteins, DNases, fimbriae. The virulence factors are well studied in laboratory conditions, but the role of these factors in the pathogenesis of *A. pyogenes* infections remains to be elucidated. Lately, the ability of *A. pyogenes* to form biofilm *in vivo* has also been implicated as a virulence factor and a possible cause of therapeutic failure. Despite the fact that *A. pyogenes* milk isolates in cows with mastitis *in vitro* are very sensitive to β -lactam drugs and tetracycline, experience has shown that therapy is usually ineffective, prognosis is poor and the affected quarter is lost for milk production.

Key words: *Arcanobacterium pyogenes*, virulence factors, mastitis, antimicrobial therapy

РУССКИЙ

***Arcanobacterium pyogenes* – ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ, ЗНАЧЕНИЕ В ЭТИОЛОГИИ МАСТИТА И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ (НЕ)ВОЗМОЖНОСТИ**

Дубравка Миланов, Елена Петрович, М. Капетанов, Лиляна Сувайджич

Arcanobacterium pyogenes оппортунистический патоген, возбудитель гнойных инфекций различных органов и тканей у экономически важных домашних животных. Наиболее учащённо эта бактерия изолируется из воспалительных поражений лёгких свиней и крупного рогатого скота, образчиков маточной слизи коров с эндометритом и молока коров с клиническим маститом. *A. pyogenes* имеет в

собственности численные факторы вирулентности: холестрин зависимый цитолизин (пиолизин), две нейраминидазы, больше протеаз экстрацеллюлярные матрикс-связывающие протеины, дезоксирибонуклеазы, фимбрии. Факторы вирулентности хорошо изучены в лабораторных условиях, но их ясная роль в патогенезе инфекций, вызванных этой бактерией и дальше не полностью освещена. В более новое время способность *A. pyogenes* формировать биофильм *in vivo*, также рассматривает как фактор вирулентности и возможная причина для терапевтического неуспеха. Хотя бета лактамные антибиотики и тетрациклины в низких концентрациях показывают хороший ингибиторный эффект на изоляте *A. pyogenes* из молока коров с маститом, клинические опыты показывают, что терапия редко успешна, прогноз плохой и что инфекция рпывично проистекает убытком секреции заболевшей четверти вымени.

Ключевые слова: *Arcanobacterium pyogenes*, факторы вирулентности, мастит, терапия

ANTIOKSIDATIVNA ODBRANA* *ANTIOXIDATIVE DEFENSE*

Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, S. Jović, I. Ignjatović**

Slobodni radikali neprekidno nastaju tokom metabolizma i učestvuju u brojnim fiziološkim procesima, kao što su: unutarćelijska i međućelijska signalizacija, genska ekspresija, uklanjanje oštećenih i ostarelih ćelija i kontrola tonusa krvnih sudova. Međutim, količina slobodnih radikala je pojačana u stanju tzv. oksidativnog stresa, kada izazivaju ozbiljna oštećenja ćelijskih membrana (peroksidaciju njihovih lipida, oštećenje membranskih proteina i sl.), unutarćelijskih proteinskih molekula, kao i molekula DNA i ugljenih hidrata. Upravo zbog toga, organizam ima razvijene brojne mehanizme za uklanjanje slobodnih radikala i/ili sprečavanje njihove proizvodnje. Neki od njih su enzimski a obuhvataju superoksid-dismutazu, katalazu, glutathion-peroksidaze i sl. Drugi, neenzimski mehanizmi, podrazumevaju antioksidativno delovanje vitamina E i C, provitamina A, koenzima Q, redukovano glutathiona i dr. S obzirom da slobodni radikali mogu da napuste ćeliju koja ih je proizvela i raznesu se po telu, osim antioksidativne odbrane koja funkcioniše unutar ćelijskih struktura razvila se i vanćelijska odbrana antioksidanasa. Nju obavljaju: transferin, laktoferin, haptoglobin, hemopeksin, ceruloplazmin, albumini, ekstracelularna izoforma SOD, ekstracelularna glutathion-peroksidaza, glukoza, bilirubin, urati i mnogi drugi molekuli.

Ključne reči: slobodni radikali, antioksidativni enzimi, neenzimski antioksidansi

Uvod / Introduction

Slobodni radikali nastaju čak i u zdravom organizmu, neprekidno tokom metabolizma. Oni učestvuju u brojnim fiziološkim procesima, kao što su: unutarćelijske i međućelijske signalizacije, genska ekspresija, uklanjanje ošteće-

* Rad primljen za štampu 15. 04. 2011. godine

** Dr sci med. vet. Jelka Stevanović, redovni profesor, dr sci Sunčica Borozan, vanredni profesor, dr sc. Slavoljub Jović, asistent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; mr sc. Igor Ignjatović, spec. hirurg, asistent, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Klinika za digestivnu hirurgiju, I hirurška klinika, Beograd

nih i ostarelih ćelija i kontrola tonusa krvnih sudova. (Movat, 1985; Barnes, 1990; Lansing i sar., 1991; Gilmour, 1993; Kehrer, 1993; Duarte i sar., 1994; Halliwell i Gutteridge, 1999; Finkel i Halbrook, 2000; Stamler i Meissner, 2001; Droge, 2002; Stevanović i sar., 2002; 2010; Borozan i sar., 2002, 2004; Božić i sar., 2003; Radovanović i sar., 2004; Han i Liao, 2005; Stevanović i sar., 2011). Međutim, u stanju tzv. oksidativnog stresa njihova proizvodnja je pojačana i/ili je odbrana od njih nedovoljna, tako da izazivaju oštećenja ćelijskih membrana (peroksidaciju njihovih lipida, oštećenje receptorskih, transportnih i enzimskih proteina membrane i sl.), unutarćelijskih proteinskih molekula, kao i molekula DNA i ugljenih hidrata (Božić i sar., 2003; Evereklioglu i sar., 2003; Aleksić i sar., 2004; 2004a; Stevanović i sar., 2005; Valko, 2005; Domitrović i sar., 2006; Jović i sar., 2009; 2010; Stevanović i sar., 2010).

Neprekidno izlaganje najrazličitijim izvorima oksidativnog stresa nateralo je organizam da pokuša da se zaštiti. Tako su se postepeno razvili brojni mehanizmi antioksidativne odbrane. Kako se kiseonik fiziološki metaboliše unutar ćelija, tako mehanizmi antioksidativne odbrane deluju specifično i selektivno sa redukovanim kiseoničnim međuproizvodima (ROS) koji oštećuju različite ćelijske molekule i strukture. Antioksidansi mogu da odlože ili spreče oksidaciju supstrata, odnosno deluju tako što sprečavaju nastanak ROS (smanjenjem lokalne koncentracije kiseonika, prekidanjem lanca stvaranja novih radikala, vezivanjem metalnih jona i sl.), da inaktiviraju reaktivne kiseonične vrste (npr. razlaganjem peroksida), da smanje njihove efekte ili deluju tako što omogućavaju oporavak od oksidativnih oštećenja, uklanjanjem izmenjenih molekula i popravljanjem oštećenja nastalih njihovim delovanjem (Halliwell i Gutteridge, 1999). Najzastupljeniji su upravo tamo gde i nastaje najviše slobodnih radikala, odnosno u mitohondrijama, mada ih ima u citosolu i drugim ćelijskim strukturama, pa i van ćelija.

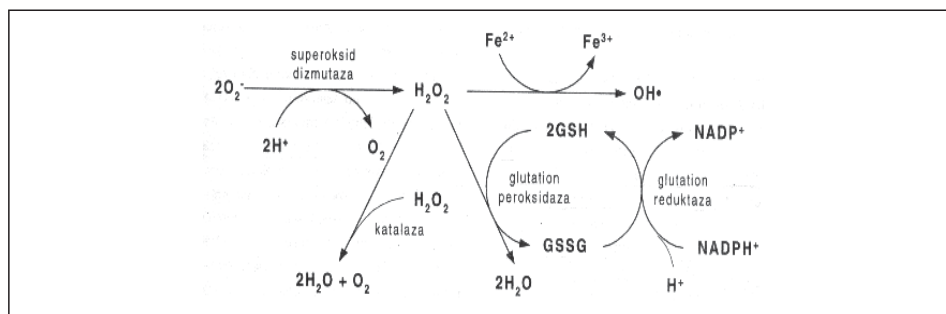
Brojni mehanizmi za uklanjanje slobodnih radikala i/ili sprečavanje njihove proizvodnje mogu se grupisati na različite načine. Jedan od njih je svrstavanje u prvi, drugi i treći nivo odbrambenih mehanizama za savladavanje ROS, njihovo uklanjanje i posledično smanjenje štetnih efekata. Prvi (primarni) nivo zaštite čine enzimski i neenzimski sistemi koji u potpunosti sprečavaju nastajanje slobodnih radikala unutar ćelija. Drugi (sekundarni) nivo antioksidativne zaštite formiraju sistemi koji deluju u uslovima normalnog i pojačanog nastanka radikala. U njih spadaju: protein-specifične oksidoreduktaze (tiol-transferaze), protein-ADP-ribozil-transferaze, ATP i Ca-nezavisne proteaze. Treći (tercijarni) nivo antioksidativne zaštite čine enzimski sistemi koji učestvuju u popravku oksidativno oštećenih makromolekula.

Osim u primarne, sekundarne i tercijarne, antioksidansi su, radi lakšeg razmatranja, svrstani i u enzimske, neenzimske i vanćelijske. Nadalje će biti detaljnije opisana upravo ovakva podela antioksidanasa.

Enzimске komponente antioksidativne odbrane /
Enzyme components of antioxidative defense

Enzimskim komponentama primarne antioksidativne zaštite pripadaju antioksidativni molekuli koji neutrališu slobodne radikale. To su: superoksid-dismutaza (SOD), katalaza (CAT), enzimi glutation redoks ciklusa (glutation-peroksidaza, glutation-S-transferaza, glutation-reduktaza, fosfolipid-hidroperoksid i sl.), zatim citohrom-oksidge, kao i tioredoksin i familija peroksiredoksin proteina – funkcionišu kao sakupljači superoksid-anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$) i vodonik-peroksida (Guemouri i sar., 1991; Evereklioglu i sar., 2003; Margaritis i sar., 2003). Navedeni antioksidansi deluju tako što blokiraju započinjanje lančane reakcije slobodnih radikala i, samim tim, onemogućavaju prateću peroksidaciju lipida (Beckman i Ames., 1998; Evereklioglu i sar., 2003), jer svaki od njih detoksikuje nekog pripadnika ROS (Benzi, 1993).

Superoksid-dismutaza je metaloenzim. Kod ljudi su za sada identifikovane njene tri izoenzimске forme (Fridovich, 1997): citosolna (Cu,Zn-SOD), mitohondrijalna (Mn-SOD) i ekstracelularna (EC-SOD). Sve učestvuju u dismutaciji superoksid-anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$) do O_2 i H_2O_2 (katalitički uklanjaju $O_2^{\bullet-}$). Na njihovo delovanje se nastavlja aktivnost enzima katalaze i glutation-peroksidaze (shema 1).



Shema 1. Inaktivacija nekih slobodnih radikala /
 Diagram 1. Inactivation of certain free radicals

Katalaza (CAT) razlaže vodonik-peroksid do vode (H_2O) i molekuskog kiseonika (O_2), dok ga *glutation-peroksidaze (GSH-Px; GPx)*, sa izuzetkom hepatocitne glutacion-S-transferaze, prevode u H_2O i oksidovini glutation (glutacion-disulfid, GSSG) (shema 1) (Chance i sar., 1979; Evereklioglu i sar., 2003; Margaritis i sar., 2003). Osim toga, glutacion-peroksidaze uklanjaju i organske hidroperokside i lipidne perokside, uz oksidaciju glutationa kao kosupstrata ($2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$).

Citohrom-oksidge sprečavaju oslobađanje aktivnih kiseoničnih vrsta tokom redukcije O_2 u H_2O_2 .

Neenzimske komponente / Nonenzyme components

Neenzimske komponente antioksidativnog zaštitnog sistema dele se na supstance rastvorljive u mastima – liposolubilne, i na supstance rastvorljive u vodi – hidrosolubilne (tabela 1). Liposolubilne supstance koje učestvuju u antioksidativnoj zaštiti su: vitamin E (α -tokoferol), provitamin A (β -karoten) i koenzim Q (ubihinon). Hidrosolubilni učesnici antioksidativne zaštite su: vitamin C (askorbinska kiselina), redukovani glutation (GSH), mokraćna kiselina, albumin, transferin, ceruloplazmin, feritin, bilirubin, biliverdin, cistein, histidin i laktoferin. Osim njih, u neenzimske antioksidanse spadaju još i: melatonin, piruvat, α -ketoglutarat, estrogeni, liponska kiselina, dihidroliponska kiselina, karnozin, homokarnozin, anserin i melanin (Jenkins, 1988; Chow i sar., 1991; Margaritis i sar., 2003).

Tabela 1. Neenzimski antioksidansi i njihova uloga /
Table 1. Non-enzyme antioxidants and their role

ANTIOKSIDANS / <i>ANTIOXIDANTS</i>	ULOGE / <i>ROLES</i>
Vitamin E (α -tokoferol) / <i>Vitamin E (α-tocopherol)</i>	- uklanja slobodne radikale / <i>eliminates free radicals</i> - prekida lančane reakcije peroksidacije membranskih lipida / <i>severs chain reactions of membrane lipid peroxidation</i>
Provitamin A (β -karoten) / <i>Provitamin A (β-carotene)</i>	- hvatač singletnog kiseonika / <i>captures singlet oxygen</i> - sprečava lančane reakcije radikala / <i>prevents chain reactions of radicals</i> - inhibira lipooksigenazne aktivnosti / <i>inhibits lipoxygenase activities</i>
Vitamin C / <i>Vitamin C</i>	- prekida lančane reakcije radikala / <i>severs chain reactions of radicals</i> - sakuplja hidrofilne peroksil-radikale / <i>gathers hydrophilic peroxy radicals</i> - sprečava proksidaciju lipida / <i>prevents peroxidation of lipids</i> - regeneriše vitamin E (α -tokoferol) / <i>regenerates vitamin E (α-tocopherol)</i> - održava integritet LDL / <i>maintains LDL integrity</i>
Redukovani glutation / <i>Reduced glutathione</i> (GSH)	- zaštita od vodonik-peroksida i hidroperoksida / <i>protection from hydrogen peroxide and hydroperoxide</i> - zaštita od hipohlorita / <i>protection from hypochlorite</i> - zaštita od hidroksil-radikala / <i>protection from hydroxyl-radicals</i> - zaštita od organskih-radikala / <i>protection from organic-radicals</i> - zaštita od peroksil-radikala / <i>protection from peroxy-radicals</i> - učestvuje u regeneraciji vitamina E (α -tokoferola) / <i>participates in regeneration of vitamin E (α-tocopherol)</i>
Koenzim Q (CoQ) / <i>Coenzyme Q (CoQ)</i>	- sprečava peroksidaciju lipida / <i>prevents lipid peroxidation</i> - uklanja superoksid-anjon-radikal / <i>eliminates superoxide-anion-radical</i>
Albumin / <i>Albumin</i>	- vezuje Cu^{2+} i hem / <i>binds Cu^{2+} and haem</i> - uklanja hipohlorastu kiselinu / <i>eliminates hypochloric acid</i>
Ceruloplazmin / <i>Ceruloplasmin</i>	- vezuje hem, Cu^{2+} i Fe^{2+} / <i>binds haem, Cu^{2+} and Fe^{2+}</i> - uklanja hipohloraste kiseline / <i>eliminates hypochloric acid</i> - reaguje sa superoksidnim-radikalom i vodonik-peroksidom / <i>reacts with superoxide-radical and hydrogen-peroxide</i>
Transferin i laktoferin / <i>Transferrin and lactoferrin</i>	- direktno vezuju slobodno gvožđe / <i>directly bind free iron</i>
Haptoglobin / <i>Haptoglobin</i>	- vezuje slobodni hemoglobin / <i>binds free haemoglobin</i>
Hemopeksin / <i>Hemopexin</i>	- vezuje slobodni hem / <i>binds free haem</i>

Vitamin E (α -tokoferol) uklanja slobodne radikale i učestvuje u prekidanju lančanih reakcija peroksidacije membranskih lipida zato što reaguje sa peroksilnim radikalima brže nego što oni uspeju da reaguju sa nezasićenim masnim kiselinama i membranskim proteinima (Halliwell i sar., 1991). *Provitamin A* (β -karoten) je antioksidans zbog toga što vezuje singletni kiseonik (Halliwell i Gutteridge, 1999), sprečava lančane reakcije radikala i inhibira lipooksigenazne aktivnosti. *Vitamin C* direktno reaguje sa superoksid-anjon-radikalom, hidroksilnim radikalom i hipohlorastim kiselinama, prekidajući lančane reakcije radikala. On je i snažan redukujući agens koji prekida lančane reakcije peroksidacije lipida i sakuplja hidrofilne peroksil-radikale (Halliwell i Gutteridge, 1999), regeneriše vitamin E (α -tokoferol) i održava integritet LDL molekula. *Redukovani glutation (GSH)* je važan u zaštiti ćelija od vodonik-peroksida i hidroperoksida, hidroksil-radikala, organskih-radikala i peroksil-radikala. On je i kofaktor glutation-peroksidaza (GSH-Px) i glutation-S-transferaza. Osim toga, glutation reaguje i sa α -tokoferil radikalom, kako bi regenerisao α -tokoferol. *Koenzim Q (CoQ)* sprečava peroksidaciju lipida (Halliwell i Gutteridge., 1999) i reaguje sa superoksid-anjon-radikalima, produkujući vodonik-peroksid.

Vanćelijski antioksidansi / *Extracellular antioxidants*

Osim antioksidativne odbrane koja funkcioniše unutar ćelijskih struktura, postoji i vanćelijska odbrana od antioksidanasa, jer se veliki broj slobodnih radikala lako raznosi sa mesta nastanka do ostalih ćelija i delova tela. Činioci ove odbrane su uglavnom metaloproteini koji zadržavaju gvožđe i bakar u nereaktivnom obliku (u nižem oksidacionom stanju) i tako sprečavaju njihovo delovanje sa vodonik-peroksidom i superoksidnim-radikalom (Marklaud i sar., 1982; 1984). Ovo je važno zato što u prisustvu jona gvožđa ili bakra lipidni peroksidi stvaraju mnogobrojne razgradne produkte, pa i aktivne radikale.

U vanćelijske antioksidanse spadaju i brojni proteini, kojima antioksidativna odbrana nije jedina uloga, mada uz brojne druge uloge, obavljaju i nju. To su, na primer: transferin, laktoferin, haptoglobin, hemopeksin, ceruloplazmin, albumini, ekstracelularna izoforma SOD, ekstracelularna glutation-peroksidaza, glukoza, bilirubin i urati.

Transferin i *laktoferin* učestvuju u antioksidativnoj odbrani tako što direktno vezuju gvožđe, dok *haptoglobin* vezuje hemoglobin a *hemopeksin* prikuplja hem i tako zapravo indirektno vezuju gvožđe. *Ceruloplazmin* i *albumini* su antioksidansi jer vezuju bakar i hem, a uklanjaju i hipohlorastu kiselinu (HOCl). *Ceruloplazmin* ima još i sposobnost uklanjanja fero-jona (Fe^{2+}) iz plazme, uz istovremenu redukciju kiseonika u vodu. Osim toga, reaguje i sa superoksidnim-radikalom i vodonik-peroksidom (Bannister i sar., 1980; Gutteridge, 1987; Gutteridge i Smith, 1988). *Ekstracelularna SOD* (EC-SOD) uklanja superoksidni-anjon-radikal, *ekstracelularna glutation-peroksidaza* (EC-GSH-Px) odstranjuje hidroperokside,

dok *glukoza* uklanja hidroksilni radikal. *Bilirubin* je antioksidans jer učestvuje u borbi protiv peroksilnih-radikala, a *urati* vezuju metale i uklanjaju ROS.

Zaključak / Conclusion

Neprekidna sinteza slobodnih radikala naterala je organizam da razvije moćne mehanizme zaštite od njihovih brojnih neželjenih dejstava (peroksidacije membranskih lipida, oštećenja različitih proteinskih molekula, DNA i ugljenih hidrata). Postoje brojni mehanizmi za uklanjanje slobodnih radikala i/ili sprečavanje njihove proizvodnje. Mogu se grupisati na različite načine, a najčešće ih svrstavamo u enzimске, neenzimске i ekstracelularne. U enzimске mehanizme zaštite od slobodnih radikala spadaju: superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-peroksidaze i sl. Neenzimski mehanizmi obuhvataju: vitamine E i C, provitamin A, koenzim-Q, redukovani glutation i dr. Budući da se slobodni radikali lako prenose sa mesta nastanka do drugih delova tela, razvijena je i vanćelijska odbrana od njih. Ona obuhvata veliki broj, pre svega, proteina kojima je učešće u antioksidativnoj zaštiti samo jedna od brojnih drugih uloga. To su: transferin, lakroferin, haptoglobin, hemopeksin, ceruloplazmin, albumini, ekstracelularna izoforma superoksid-dismutaze, vanćelijska glutation-peroksidaza, glukoza, bilirubin, urati i mnogi drugi molekuli.

Iako organizam poseduje veliki broj moćnih antioksidativnih molekula, treba imati na umu da u situacijama pojačanog prisustva slobodnih radikala, mehanizmi antioksidativne zaštite ne mogu da ih uklone u potpunosti, pa se pristupa dodatnim načinima za povećanje efikasnosti antioksidativne odbrane, u smislu pojačanog unosa antioksidanasa putem hrane i dr.

ZAHVALNICA / ACKNOWLEDGEMENTS :

Rezultati rada su deo naučno istraživačkog projekta u oblasti osnovnih istraživanja, evidencioni broj 173034 finansiran od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. / *The results in this paper are part of the scientific research project in the area of elementary research, Number 173034, financed by the Ministry for Science and Technology of the Republic of Serbia.*

Literatura / References

1. Aleksić J, Lukić S, Jović S, Kovacević-Filipović M, Vlaški M, Stevanović J, Božić T, Popović D. Investigation of oxidative stress in sheep bred in areas exposed to depleted uranium (du) ammunition, Oxidative stress and mechanisms of protection; 2004 May 28-29; Kragujevac: 2004.
2. Aleksić J, Lukić S, Jović S, Kovacević-Filipović M, Vlaški M, Stevanović J, Božić T, Popović D. Investigation of oxidative stress in sheep bred in areas exposed to depleted uranium (DU) ammunition. Jugoslav Physiol Pharmacol Acta 2004a; 40(1-3): 139-44.
3. Bannister JV, Bannister WH, Hill HAO, Mahood JF, Willson RL, Wolfenden BS. Does caeruloplamin dismutate superoxide? No, FEBS Lett, 1980; 118: 127-9.

4. Barnes PJ. Reactive oxygen species and airway inflammation, *Free Radical Biology and Medicine* 1990; 9: 235-43.
5. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures, *Physiol Rev*, 1998; 78: 547-81.
6. Benzi G. Aerobic performance and oxygen free-radicals, *J Sports Med Phys Fitness*, 1993; 33: 205-22.
7. Borozan SZ, Gadjanski-Omerovic GN, Stajkovic SS. Effects of ionizing radiation on anti-oxidant system in human erythrocytes, *Central European Journal of Occupational and Environmental Health* 2004; 10(1): 12-7.
8. Borozan S, Djurdjić V, Stajković S. Slobodni radikali i antioksidativna odbrana. Zbornik predavanja XXIII seminara za inovacije znanja veterinarara. Beograd 2002, 121-31.
9. Božić T, Stevanović J, Kovačević M, Jović S, Lukić S, Petakov M, Borozan S, Mijačević Z, Knežević M, Bulajić Snežana. Toluene mediated oxidative stress and granulocytopenia. *Acta Veterinaria* 2003; 53(4): 201-10.
10. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-605.
11. Chow CK. Vitamin E and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 11: 215-32.
12. Domitrović R, Tota M, Milin Č. Oxidative stress in mice: effects of dietary corn oil and iron. *Biol Trace Elem Res* 2006; 113(2): 177-91.
13. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
14. Duarte JA, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM, Appell HJ. Do invading leucocytes contribute to the decrease in glutathione concentrations indicating oxidative stress in exercised muscle, or are they important for its recovery? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994; 68(1): 48-53.
15. Evereklioglu C, Hamdi E, Doganay S, Cekmen M, Turkoz Y, Otlu B, Ozerol E. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration, *Documenta Ophthalmologica*, 2003; 106: 129-36.
16. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-47.
17. Fridovich I. Superoxide anion radical (O_2^-), superoxide dismutases, and related matters. *J Biol Chem* 1997; 272(30): 18515-7.
18. Gilmour MI, Park P, Selgrade MK. Ozone-enhanced pulmonary infection with *Streptococcus zooepidemicus* in mice. *American Review of Respiratory Diseases* 1993; 147: 753-60.
19. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood, *Clin Chem* 1991; 37: 1932-7.
20. Gutteridge JM, Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem-stimulated lipid peroxidation. *Biochem J* 1988; 256: 861-85.
21. Gutteridge JM. The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin stimulated lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 1987; 917: 219-23.
22. Halliwell B, Kaur H, Ingelman-Sundberg M. Hydroxylation of salicylate as an assay for hydroxyl radicals: a cautionary note. *Free Radic Biol Med*, 1991; 10(6): 439-41.

23. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine* 3rd ed., New York: Oxford University Press, Oxford, 1999; 140-84.
24. Han TH, Liao JC. Erythrocyte nitric oxide transport reduced by a submembrane cytoskeletal barrier. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1723: 135-42.
25. Jenkins RR. Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Med*, 1988; 5: 156-70.
26. Jović S, Aleksić J, Krsić A, Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Borozan S, Božić T, Popović D. A study on oxidative stress and complete blood count of sheep breed in the area exposed to depleted uranium (du) ammunition. *Acta Veterinaria* 2009; 59(5-6): 481-8.
27. Jović S, Stevanović J, Borozan S, Jović S, Trailović D. Značaj azot-monoksida tokom fizičkog opterećenja trkačkih konja. I Regionalno savetovanje »Uzgoj, reprodukcija i zdravstvena zaštita konja«; 2010 Oct. 1-3; Novi Sad.
28. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease, *Crit Rev Toxicol* 1993; 23(1): 21-48.
29. Lansing MW, Mansour E, Ahmed A, Cortes A, Garcia L, Lauredo IT, Wanner A, Abraham WM. Lipid mediators contribute to oxygen-radical-induced airway responses in sheep. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(6): 1291-6.
30. Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A. Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *J Am Coll Nutr* 2003; 22(2): 147-56.
31. Marklund SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chim Acta* 1982; 125: 41-51.
32. Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoforms in tissues from nine mammalian species. *Biochem J* 1984; 222(3): 649-55.
33. Movat HZ. *The inflammatory Reaction*, Amsterdam, Oxford: Elsevier Scientific Publications, 1985.
34. Radovanović A, Stevanović J, Gledić D. Apoptoza kao način prirodnog odumiranja ćelija jajnika, *Vet. glasnik* 2004; 58 (1-2): 43-54.
35. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 209-37.
36. Stevanović J, Radovanović A, Merćep D. Apoptoza kao način umiranja ćelije; signali, biohemijske i morfološke karakteristike. 23. seminar za inovacije znanja veterinaru. Beograd, 13-14 Februar 2002.
37. Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Vlaški M, Popović D, Borozan S, Jović S, Božić T. A study on oxidative stress and peripheral blood parameters of cows bred in the area exposed to depleted uranium ammunition. *Acta Veterinaria* 2005; 55(4): 269-78.
38. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Trailović D. Oksidativni stres kod trkačkih konja. I Regionalno savetovanje »Uzgoj, reprodukcija i zdravstvena zaštita konja«, 2010 Oct. 1-3, Novi Sad.
39. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. *Vet glasnik* 2011; 65 (1-2).
40. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *Int J Biochem C Biol* 2007; 39, 44-84.

ENGLISH

ANTIOXIDATIVE DEFENSE

Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, S. Jović, I. Ignjatović

Free radicals occur constantly during metabolism and take part in numerous physiological processes, such as: intra-cellular and inter-cellular signalization, gene expression, removal of damaged or senescent cells, and control of the tone of blood vessels. However, there is an increased quantity of free radicals in situations of so-called oxidative stress, when they cause serious damage to cellular membranes (peroxidation of their lipids, damage of membrane proteins, and similar), to interior cellular protein molecules, as well as DNA molecules and carbohydrates. This is precisely why the organism has developed numerous mechanisms for removing free radicals and/or preventing their production. Some of these are enzyme-related and include superoxide-dismutase, catalase, glutathione-peroxidase, and others. Other, non-enzyme mechanisms, imply antioxidative activities of vitamins E and C, provitamin A, coenzyme Q, reduced glutation, and others. Since free radicals can leave the cell that has produced them and become dispersed throughout the body, in addition to antioxidative defense that functions within cellular structures, antioxidant extra-cellular defense has also been developed. This is comprised by: transferrin, lactoferrin, haptoglobin, hemopexin, ceruloplasmin, albumins, extra-cellular isoform SOD, extracellular glutathione-peroxidase, glucose, bilirubin, urates, and many other molecules.

Key words: free radicals, antioxidative enzymes, nonenzyme antioxidants.

РУССКИЙ

АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ЗАЩИТА

Елка Стеванович, Сунчица Борозан, С. Йович, И. Игнатович

Свободные радикалы непрерывно возникают в течение метаболизма и участвуют в численных физиологических процессах, как суть: внутриклеточная и междуклеточная сигнализация, генная экспрессия, убиение повреждённых и постаревших клеток и контроль тонуса кровяных сосудов. Между тем, количество свободных радикалов усилено в состоянии т.наз. окислительного стресса, когда вызывают серьёзные повреждения клеточных мембран (перокисление их липидов, повреждение мембранных протеинов и т.п.), внутриклеточных протеиновых молекул, словно и молекул ДНА и углеводов. Как раз вследствие этого, организм имеет развитые численные механизмы для убиения свободных радикалов и/или предупреждение их производства. Некоторые из них энзимные, а охватывают суперокись-дисмутазу, каталазу, глютатион-пероксидазы и т.п. Другие, неэнзимные механизмы подразумевают антиокислительное действие витаминов E и C, провитамин A, коэнзима Q, редуцированного глютатиона и пр. С учётом, что свободные радикалы могут покинут клетку, которая их произвела и разнесутся по телу, кроме антиокислительной защиты, функционирующая внутри клеточных структур развилась и внеклеточная защита антиокислителей. Её обвивают: трансферин, лакро-

ферин, хаптоглобин, гемопексин, церулоплазмин, альбумины, экстрацеллюлярная изоформа СОД, экстрацеллюлярная глутатионпероксидаза, глюкоза, билирубин, ураты и многие другие молекулы.

Ключевые слова: свободные радикалы, антиоксидательные ферменты, неферментативные антиоксиданты

BOLEST SRČANOG CRVA: PRIKAZ SLUČAJA KOD PSA*
HEARTWORM DISEASE: CASE STUDY IN DOG PATIENT

Ljubica Spasojević Kosić, Vesna Lalošević, D. Lalošević, A. Naglić**

Dirofilaria immitis parazitira u *a. pulmonalis* kod domaćih i divljih karnivora. Delimičan razvoj i prenošenje ovog parazita među karnivorima odvija se preko komaraca, čime se omogućava održavanje i širenje parazita među populacijom prijemčivih jedinki. Bolest srčanog crva, koju izaziva *Dirofilaria immitis*, manifestuje se najčešće promenama respiratornog i kardiovaskularnog sistema. U ovom radu prikazan je slučaj bolesti srčanog crva kod jednog psa. U terapiji ovog oboljenja kod psa korišćena je kombinacija doksiciklina i ivermektina. Rezultati pregleda krvi ukazivali su na brzo smanjenje broja mikrofilarija i snižavanje nivoa antigena odraslog parazita. Sprovedenim opštim i specijalnim kliničkim pregledima respiratornog i kardiovaskularnog sistema registrovano je poboljšanje kliničkog stanja pacijenta.

Ključne reči: dirofilarioza, bolest srčanog crva, pas

Uvod / Introduction

Srčani crv (*Dirofilaria immitis*) je filaroidna nematoda koja izaziva bolest srčanog crva kod pasa u mnogim zemljama sveta. Adulti *D. immitis* parazitiraju u *a. pulmonalis*, ređe u desnoj komori. Sa povećanjem broja parazita, oni mogu da dopru do desne pretkomore, a potom da migriraju do *v. cava caudalis* izazivajući opstrukciju krvnog suda (kavalni sindrom). Odrasli parazit ima životni vek kod pasa od 5 do 7 godina. Pas se zarazi ujedom inficiranog komarca, koji u supkutis psa unese larve (L3 razvojni stadijum). Mladi odrasli oblici (L5 razvojni stadijum) dospevaju do desnog srca 90 - 100 dana nakon infekcije. Period od 6 do 7 meseci je potreban da bi se mikrofilarije pojavile u cirkulaciji. Infestacija parazitom bez postojanja mikrofilarija označena je kao okultna infekcija. Postojanje mikrofilarija u krvi je siguran znak postojanja odraslog parazita. Psi sa mikrofilari-

* Rad primljen za štampu 04. 03. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Ljubica Spasojević Kosić, docent, dr. sci. med. Vesna Lalošević, vanredni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad; dr sci. med. Dušan Lalošević, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad; dr vet. med. Aleksandar Naglić, Veterinarska stanica Novi Sad a.d, Novi Sad

jama u krvi su izvor infekcije za druge pse, jer se daljim ujedima komaraca nose mikrofilarije (L1 stadijum larve), čime se nastavlja razvojni put parazita u komarcu (od L1 do L3) (Dunn i sar., 2000; Ware, 1998; Kittleson, 1998). Dirofilarioza je i zoonoza. Ujedom infestiranog komarca moguće je prenošenje parazita i na čoveka, ali parazit ne dostiže svoj puni razvoj, već se završava stadijumom u kome infektivne larve dospevaju do pluća, gde bivaju inkapsulirane i uginjavaju (Genchi i sar., 2009).

U našoj zemlji obavljena ispitivanja nisu obuhvatila čitavu teritoriju (Milošavljević i Kulisić, 1989; Dimitrijević i sar., 2007; Tasić i sar., 2008; Savić i sar., 2009). Dovoljni su, međutim, i ovi podaci kao upozorenje veterinarima da bolest postoji, da je neophodno da sprovedu dijagnostiku na ovo oboljenje kod simptomatskih ili kod asimptomatskih pasa, odnosno da predlože terapiju i profilaksu za pse. Cilj ovog rada je da na prikazu slučaja oboljenja srčanog crva kod psa ukaže na značajnost dijagnostičkog postupka, ali i da prikaže nov metod lečenja ovog oboljenja.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

U ambulantu za male životinje doveden je na pregled pas Mališa (mužjak, mešanac, t.m. 22 kg, star 7 godina) zbog hromosti leve prednje šape. Uz to, vlasnik se žali da pas pokazuje zamaranje i dahtanje, vlasnik negira pojavu kašlja, ali ističe da je godinu dana ranije pas imao suv kašalj i da je lečen. Iz anamneze se saznaje da se pas redovno vakciniše i da se uredno sprovede dehelmintizacije (Drontal tbl.), a da se kao zaštita od ektoparazita koristi samo ogrlica protiv buva. Pas živi u stanu tokom zime, a period od marta do novembra provodi na imanju kraj Dunava (Kamenjar), gde se nalazi porodična vikendica.

Izvršeni pregledi kod psa obuhvatili su opšti klinički pregled, parazitološki pregled, rendgenski i elektrokardiografski pregled. Uzorkovanje krvi za parazitološki pregled obavljeno je iz v. cephalica antebrahii. Parazitološki pregled je obuhvatio nativni pregled krvi, Knotov test, kao i pregled na antigen odraslog parazita *D. immitis*.

Mikrofilarijemija / Mikrofilariemia

Detekcija mikrofilarija sprovedena je u nativnom pregledu krvi i pomoću Knotovog testa, dok je brojanje mikrofilarija izvršeno korišćenjem modifikovanog Knotovog testa prema Bazzocchi i sar. (2008). Uzorak venske krvi u količini od 1 ml pomešan je sa 10 ml 2% puferizovanog formalina i centrifugovan tokom 5 minuta na 200 x g. Sediment u količini od 100 μ l je pomešan u jednakom odnosu sa metilenskim plavim (1:1000). Na kraju je 20 μ l obojenog sedimenta postavljeno na mikroskopsku pločicu i pod mikroskopom je pregledan i izbrojan broj mikrofilarija. Broj mikrofilarija je pomnožen sa 10, kako bi se dobio broj mikrofilarija u 1 ml krvi (mf/ml).

Antigenemija / Antigenemia

Serološko ispitivanje cirkulirajućeg antigena *D. immitis* je izvršeno korišćenjem komercijalnog kita SNAP Heartworm RT Test (Idexx Laboratories).

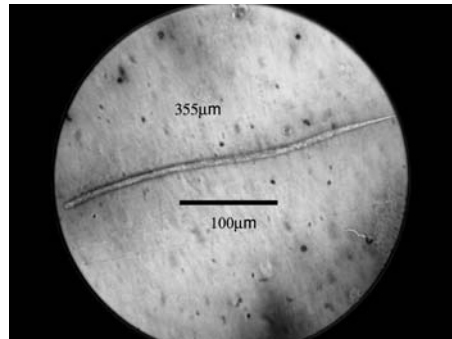
Rendgenski pregled grudnog koša psa obavljen je na osnovu snimaka snimljenih iz dve projekcije (LL i DV projekcija). Elektrokardiografski pregled izvršen je postavljanjem životinje u standardni položaj (desni lateralni ležeći položaj).

Rezultati / Results

Opštim kliničkim pregledom psa nisu registrovane promene trijasa. Kliničkim pregledom respiratornog sistema ustanovljeno je postojanje pooštrenog osnovnog šuma disanja, bez postojanja sporednih šumova disanja. Auskultacijom srca utvrđeno je postojanje spore srčane frekvencije, prvi i drugi srčani ton, bez postojanja srčanih šumova. Nalaz kliničkog pregleda ostalih organskih sistema bio je normalan.

Parazitološki pregled / Parasitological examination

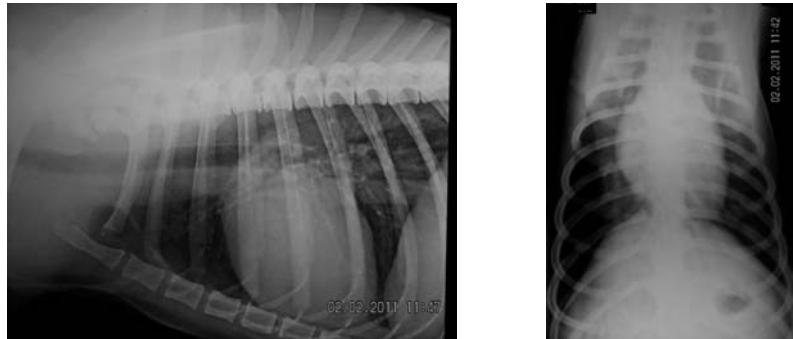
Nativnim mikroskopskim pregledom ustanovljeno je postojanje mikrofilarija, dok je brojanjem mikrofilarija na opisan način kod ovog psa ustanovljen broj od 7500 mf/ml krvi. Sprovođenjem pregleda krvi prema preporuci proizvođača testa, utvrđeno je postojanje visokog nivoa antigena kod ovog psa.



Slika 1. Mikrofilarija *D. immitis* (Knotov test) /
Figure 1. *Microfilaria D. immitis* (Knott's test)

Radiografija / Radiography

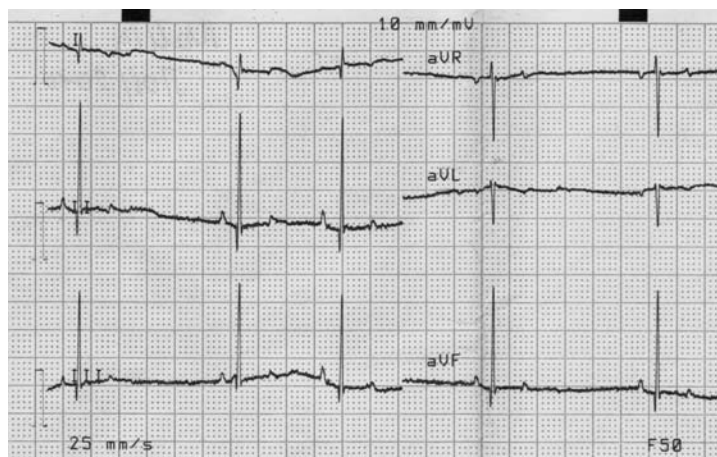
Na rendgenskom snimku psa uočava se blaga izraženost pulmonalne arterije, vidljivost obe kranijalne lobarne arterije, intersticijalni plućni crtež (LL projekcija), kao i vidljivost desne kaudalne lobarne arterije (DV projekcija). Takođe se uočava povećanje kontakta srca sa sternumom (LL projekcija) i silueta srca u obliku obrnutog slova D (DV projekcija) što govori o uvećanju desne komore.



Slika 2. Rendgenski snimak grudnog koša psa u LL i DV projekciji /
Figure 2. Roentgenogram of dog chest in LL and DV projection

Elektrokardiografija / Electrocardiography

Pregledom elektrokardiograma psa utvrđano je postojanje spore srčane frekvencije, sinusnog ritma (sinusna bradikardija), normalna vrednost srednje električne osovine (SEO) srca, produženje QT intervala.



Slika 3. Snimak perifernih odvoda EKG-a psa /
Figure 3. Results of peripheral leads of dog ECG

Na osnovu izvršenih pregleda i njihovih rezultata utvrđeno je postojanje oboljenja srčanog crva kod psa i to u srednje ozbiljnom stadijumu. Po ustanovljenoj dijagnozi, pristupljeno je terapiji oboljenja. Terapija koja je sprovedena kod ovog psa trajala je 6 meseci, a sastojala se od aplikacije doksiciklina p/o 10 mg/kg i ivermektina p/o u dozi od 6–14 μ g/kg. Šema davanja lekova odvijala se na sledeći način: doksiciklin je aplikovan do 6. nedelje, 10–12 nedelje, 16–18 nedelje

i 22–24 nedelje, dok je ivermektin aplikovan svake druge nedelje od početka do kraja terapije. Pas je terapiju dobro podnosio, a vlasnici su već posle mesec i po dana uočili poboljšanje tolerancije fizičke aktivnosti. Kontrola terapije sastojala se u sprovođenju povremenih parazitoloških pregleda (tabela 2). Već pri prvoj kontroli krvi nije ustanovljeno postojanje mikrofilarija. Pas je takođe bio negativan na mikrofilarije i prilikom svake dalje kontrole. Tri provere krvi na prisustvo antigena odraslog parazita pokazale su postojanje niskog nivoa antigena odraslog parazita *D. immitis*.

Tabela 1. Vrednosti parametara EKG-a kod psa Mališe prikazane uporedo sa referentnim vrednostima /

Table 1. Values of ECG parameters in patient Mališa shown in parallel with reference values

Parametri EKG-a / <i>ECG parameters</i>	Pas Mališa / <i>Patient Mališa</i>	Normalne vrednosti / <i>Normal values</i>
SF / <i>SF</i>	56,09/min	70 – 160/min
Ritam / <i>Rhythm</i>	sinusni / <i>sinus</i>	NSR, SA, lutajući pejsmejker / <i>NSR, SA, roaming pacemaker</i>
SEO / <i>SEO</i>	≈ +90°	+40° - +100°
P / <i>P</i>	0,04 s x 0,2 mV	0,04 s x 0,4 mV
PR / <i>PR</i>	0,10 s	0,06 – 0,13 s
QRS x R / <i>QRS x R</i>	0,05 s x 2,0 mV	0,06 s x 3,0 mV
ST / <i>ST</i>	elevacija / <i>elevation</i> 0,1mV	elevacija, depresija / <i>elevation, depression</i> <0,2 mV
T / <i>T</i>	pozitivan u II odvodu / <i>positive in II lead</i> visina < ¼ visine R talasa / <i>height < ¼ height of R wave</i>	pozitivan, negativan, bifazičan / <i>positive, negative, biphasal</i> ; visina < ¼ visine R talasa / <i>height < ¼ height of R wave</i>
QT / <i>QT</i>	0,29s	0,15 – 0,25 s

SF – srčana frekvencija, NSR – normalni sinusni ritam, SA – sinusna aritmija, SEO – srednja električna osovina /

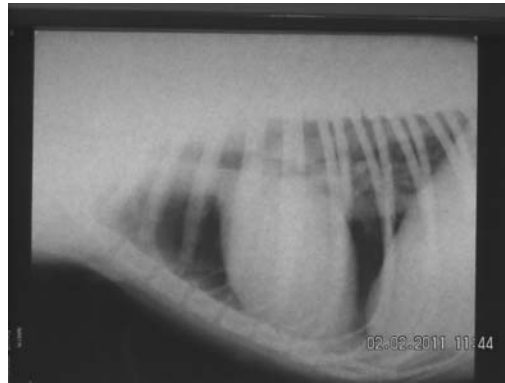
SF – heart frequency NSR – normal sinus rhythm; SA – sinus arrhythmia, SEO – mean electric axis

Tabela 2. Hronološki pregled rezultata parazitoloških pregleda kod psa Mališe /

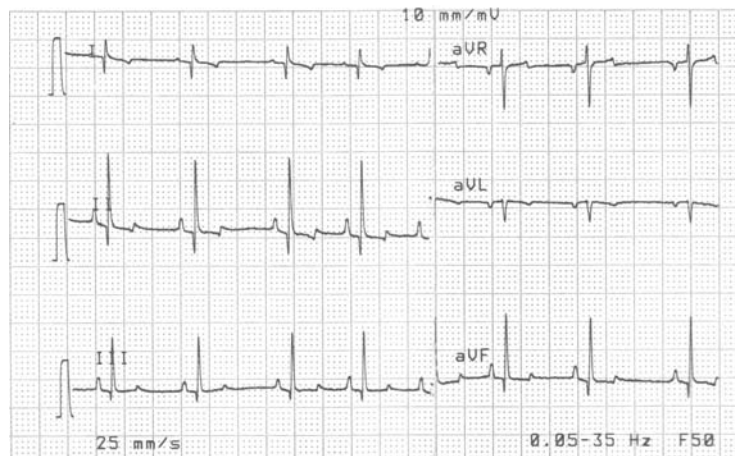
Table 2. Chronological presentation of parasitological examination results for patient Mališa

Datum / <i>Date</i>	Nativni krvni razmaz / <i>Native blood smear</i>	Knotov test / <i>Knott's test</i>	Snap Heartworm RT Test / <i>Snap Heartworm RT Test</i>
5. 05. 2010. / <i>May 5, 2010</i>	+	+ (7500 mf/ml)	++
6. 05. 2010. / <i>May 6, 2010</i>	–	– (0 mf/ml)	nije izvršen / <i>not performed</i>
15. 07. 2010. / <i>July 15, 2010</i>	–	– (0 mf/ml)	+
1. 09. 2010. / <i>September 1, 2010</i>	–	– (0 mf / ml)	+
4. 11. 2010. / <i>November 4, 2010</i>	–	– (0 mf / ml)	+

Kontrolni Rg snimak LL projekcije i EKG snimak izvršeni su po okončanju terapije, punih 6 meseci od započinjanja terapije.



Slika 4. Rendgenografski snimak LL projekcije pokazuje manju izraženost pulmonalne arterije, kranijalne lobarne arterije se ne uočavaju i smanjena je izraženost intersticijalnog plućnog crteža u kaudodorzalnom delu snimka /
Figure 4. Roentgenogram in LL projection showing smaller expression of pulmonary artery, Cranial lobe arteries are not observed, and there is smaller expression of interstitial lung lines in caudodorsal part of image



Slika 5. EKG psa Mališe je normalni EKG psa sa normalnim sinusnim ritmom i normalnim parametrima EKG-a /
Figure 5. ECG of patient Mališa is a normal dog ECG with a normal sinus rhythm and normal ECG parameters

Po okončanju sprovedenog režima terapije preporučena je profilaksa imidaklopid/moksidektin (Advocate, Bayer).

Diskusija / Discussion

Bolest srčanog crva je direktno zavisna od broja parazita, dužine infestacije i odgovora domaćina. Paraziti izazivaju oštećenja intime krvnog suda i omogućavaju stvaranje arterijskih tromba. Cirkulirajuća antitela opkoljavaju mikrofilarije u pulmonalnoj arteriji, dovodeći do infarkta zahvaćenih krvnih sudova i konsolidacije tkiva u okolini. Navedene promene povećavaju otpor proticanja krvi u pulmonalnoj arteriji dovodeći do pulmonalne hipertenzije. Kao kompenzatorni mehanizam na povećanje naknadnog opterećenja desne komore javlja se hipertrofija desne komore i znaci insuficijencije desnog srca (cor pulmonale). Osim ovoga, mikrofilarije u krvi predstavljaju cirkulirajuće antigene i stvaraju osnovu za pojavu glomerulonefritisa i reaktivnog poliartritisa pasa (Ware, 1998; Atkins, 2009; American Heartworm Society Canine Guidelines, 2010).

Simptomi koje obolele životinje ispoljavaju najčešće su u vezi sa simptomima oboljenja respiratornog i kardiovaskularnog sistema. Bolest može proticati asimptomatski, dok se u krajnjem stadijumu može javiti ascites. Dijagnostika infestacije parazitom *D. immitis* (difilarioza) je specifična i dostupna je izvođenju u svakodnevnoj kliničkoj praksi preko postojanja visoko specifičnih i osetljivih testova koji detektuju u krvi postojanje antigena adulta *D. immitis*. Osim ovoga potrebno je uraditi i pregled krvi (Knotov koncentracioni test ili filtracioni test) pomoću kojih se registruje postojanje mikrofilarija u krvi. Ukoliko bi se dijagnostika svodila samo na utvrđivanje mikrofilarinemije mogući su lažno pozitivni ili lažno negativni rezultati. Naime, mikrofilarije ne moraju poticati od *D. immitis*, već mogu biti posledica infestacije sa *D. repens* (Kittleson, 1998; Dunn i sar., 2000). Lažno negativni rezultati mogu postojati u slučaju okultne infestacije, ukoliko su paraziti sterilni ili su samo jednog pola, kao i u slučaju imunološke destrukcije mikrofilarija od strane domaćina (Kittleson, 1998). Dijagnostika oboljenja (bolest srčanog crva) kod pasa se sporovodi najčešće na osnovu kombinacije rezultata antigenemije, mikrofilarijemije i rendgenskog snimka.

Na osnovu anamneze i izvršenih pregleda oboljenje psa Mališe se može klasifikovati u drugi stadijum oboljenja srčanog crva (srednji stepen oboljenja). Pas je pokazao kliničke manifestacije u vidu smanjenja fizičke aktivnosti, promene uočene na rendgenskom snimku bile su umerene, a kod psa je bio prisutan visok nivo antigena u serumu. Pregled kompletne krvne slike i biohemijske analize seruma, pregled urina, ehokardiografija kod ovog psa nisu sprovedene. Sprovođenje navedenih pregleda kod pacijenata omogućava otkrivanje sekundarnih oboljenja ili komplikacije (eozinofilija i bazofilija, anemija sa hemoglobinemijom i hemoglobinurijom, nekroza jetre, proteinurija i hipoalbuminemija kod glomerulonefritisa), odnosno direktnu vizualizaciju parazita i morfološke i funkcionalne karakteristike srca (pri ehokardiografskom pregledu).

Za uništavanje odraslih oblika parazita *D. immitis* koriste se preparati na bazi arsena (tiacetarsemid, melarsomin). Doziranje i režim davanja leka zavise od stadijuma bolesti u kojem se pas nalazi, kao i od koncentracije antigena u se-

rumu. Osim ovoga, oba leka su povezana sa nizom neželjenih efekata (tromboembolične komplikacije zbog uginjavanja parazita, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost, nekroze tkiva pri paravenskoj aplikaciji tiacetarsemida, odnosno pri intramuskularnoj injekciji melarsormina). Mikrofilarična terapija se sastoji u davanju niskih ili visokih doza ivermektina ili aplikaciji milbemicina (Atkins, 2009; Kittleson, 1998). Navedeni lekovi nisu registrovani u našoj zemlji za upotrebu u veterini (tiacetarsemid, melarsomin), ni kod pasa (ivermektin). Nedavno sprovedena ispitivanja su utvrdila da antibiotska terapija doksiciklinom uništava filarije i kod ljudi i kod životinja (Debrah i sar., 2007; Gilbert i sar., 2005). Kombinacija doksiciklina i ivermektina se pokazala još efikasnijom (Bazzocchi i sar., 2008; Grandi i sar., 2010). Tačan mehanizam sinergičnog efekta ova dva leka nije utvrđen, ali se pretpostavlja da je u pitanju uništavanje *Wolbachia* sp. (bakterijski endosimbiont parazita) od strane doksiciklina i somatske degeneracije nastale delovanjem ivermektina (Grandi i sar., 2010). Protokol koji je primenjen kod ovog pacijenta predstavlja modifikaciju do sada publikovanih radova (Bazzocchi i sar., 2008; Grandi i sar., 2010). Terapiju je sprovodio vlasnik prema instrukcijama, peroralnim davanjem medikamenata. Nije bilo potrebe za hospitalizacijom pacijenta. Takođe nije sprovedeno ograničavanje fizičke aktivnosti. Pas je dovođen periodično na preglede. Terapija je završena sa nalazom niskog nivoa antigena odraslog parazita, bez mikrofilarija.

Tabela 3. Klasifikacija oboljenja prema stepenu ozbiljnosti (Ware, 1998; Kittleson, 1998; American Heartworm Society Canine Guidelines, 2010) /
Table 3. Disease classified according to gravity of condition (Ware, 1998; Kittleson, 1998; American Heartworm Society Canine Guidelines, 2010)

Stadijum I / Stage I	Stadijum II / Stage II	Stadijum III / Stage III	Stadijum IV (kavalni sindrom) / Stage IV (caval syndrome)
- bez simptoma / <i>no symptoms</i> - povremeni kašalj / <i>occasional cough</i> - [Ag]s <1,7 µg/ml	- blagi kl. simptomi / <i>mild cl. symptoms</i> - kašalj / <i>cough</i> - smanjenje fizičke aktivnosti / <i>reduced physical activity</i> - blage ili umerene Rg promene / <i>mild or moderate Rg changes</i> - [Ag]s 1,7 µg/ml	- perzistentni kašalj / <i>persistent cough</i> - dispnoja / <i>dyspnoea</i> - tahipnoja u mirovanju/ <i>tachypnoea at rest</i> - gubitak t.m. / <i>loss of b.m.</i> - insuficijencija desnog srca (ascites) / <i>insufficiency of right heart (ascites)</i> - ozbiljne Rg promene / <i>serious Rg changes</i> - niska [Ag]s / <i>low [Ag]s</i>	- iznenadni kolaps / <i>sudden collapse</i> - respiratorne smetnje / <i>respiratory failure</i> - hemoglobinurija / <i>haemoglobinuria</i> - ozbiljne Rg promene / <i>serious Rg changes</i> - šum TR / <i>murmur TR</i>

[Ag]s – koncentracija antigena u serumu, Rg – rendgenografija, TR – trikuspidalna regurgitacija /
[Ag]s – antigen concentration in serum, Rg – roentgenogram, TR – tricuspid regurgitation

Na osnovu eksperimentalnih istraživanja efikasnost terapije doksiciklinom/ivermektinom iznosi 78,3% (Bazzocchi i sar., 2008). U ispitivanju koje je obuhvatilo 11 spontano infestiranih pasa, 5 pasa je 6 meseci od započinjanja terapije bilo negativno na postojanje antigena *D. immitis*, dok su kontrolni pregledi nakon 4 meseca od završetka terapije pokazala nepostojanje odraslih još kod 3 psa (Grandi i sar., 2010). U našem ispitivanju pas je završio lečenje sa niskim nivoom antigena. Pošto je korišćena metoda merenja antigenemije semikvantitativna (Atkins, 2003) možemo aproksimativno uzeti da je kod psa Mališe, po okončanju protokola terapije, broj prisutnih parazita bio ≥ 2 . Budući da je pas u isto vreme bio bez mikrofilarija, može da se zaključi da je terapija kombinacijom doksiciklina i ivermektina dovela do negativnog delovanja na oogenezu i embriogenezu filarija.

Svaki pas po obavljenoj terapiji dirofilarioze, kao i psi u endemskim područjima treba da budu podvrgnuti profilaktičkim merama. Različiti lekovi, kao što su dietilkarbamazin, ivermektin, milbemicin, moksidektin, selamektin, imidakloprid/moksidektin se koriste u profilaksi bolesti srčanog crva (Atkins, 2009).

Zaključak / Conclusion

Dijagnostika bolesti srčanog crva (dirofilarioza) je specifična, a podrazumeva upotrebu brzih dijagnostičkih testova na antigen odraslog parazita, dok se pri sprovođenju pregleda krvi na mikrofilarije neophodno utvrditi njihovu pripadnost vrsti *D. immitis*. Rendgenska dijagnostika, elektrokardiografija i ehokardiografija pružaju uvid u stepen oštećenja respiratornog i kardiovaskularnog sistema, pa time omogućavaju kliničaru procenu uvođenja dopunske terapije (pored specifične terapije koja je usmerena protiv uzročnika) za podršku funkcija kardiovaskularnog i respiratornog sistema. Terapija kombinacijom doksiciklina i ivermektina može se preporučiti u našim uslovima, s obzirom na nedostatak registrovanih lekova koji se koriste i terapiji dirofilarioze i bolesti srčanog crva. Potrebne su, međutim, dalje kliničke studije koje bi uporedile efikasnost i podnošljivost različitih protokola lečenja dirofilarioze kod pasa. Prevencija bolesti srčanog crva je očigledan cilj i dostižna mera veterinarske profesije.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Ovaj rad je realizovan u okviru projekta MNT "Razvoj imunoloških metoda za dijagnostiku retkih parazitoza", evidencioni broj 23032 /
The work was realised within project MNT "Development of immunological methods for diagnostics of rare parasitoses", Number 23032

Literatura / References

1. American Heartworm Society Canine Guidelines <http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/canine-guidelines.html#3>

2. Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burden. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 222: 1221-3.
3. Atkins CE. Heartworm disease: an update for practitioners who do not commonly see heartworm. *Proceedings of the European Veterinary Conference – Voorjaarsdagen*. Amsterdam, Netherlands, 2009; 65-6.
4. Bazzocchi C, Mortarino M, Grandi G, Kramer LH, Genchi C, Bandi C, Genchi M, Sacchi L, McCall JW. Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int J Parasitol* 2008; 38: 1401-10.
5. Debrah AY, Mand S, Marfo-Debrekyei Y, Batsa L, Pfarr K, Buttner M, Adjei O, Buttner D, Hoerauf A. Macrofilaricidal effect of 4 week treatment with doxycycline on *Wuchereria bancrofti*. *Trop Med Int Health* 2007; 12: 1433-41.
6. Dimitrijević S, Tasić A, Tasić S, Adamović V, Ilić T, Miladinović – Tasić N. Filariasis in dogs in Serbia. In: Genchi C, Rinaldi L, Cringoli G, editors. *Proceedings of the first European Dirofilaria days*, Zagreb, Croatia, 2007: 201 .
7. Dunn JK, Elliot J, Herrtage ME. Diseases of the cardiovascular system. In: Dun JK, editor. *Textbook of small animal medicine*. Philadelphia: WB Saunders, 2000: 255-345.
8. Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Cringoli G. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet Parasitol* 2009; 163: 286-92.
9. Gilbert J, Nfon CK, Makepeace BL, Njongmeta LM, Hastings IM, Pfarr KM, Renz A, Tanya VN, Trees AJ. Antibiotic chemotherapy of onchocerciasis: in bovine model, killing of adult parasites requires a sustained depletion of endosymbiotic bacteria (*Wolbachia* species). *J Infect Dis* 2005; 192: 1483-93.
10. Grandi G, Quintavalla C, Mavropoulou A, Genchi M, Gnudi G, Bertoni G, Kramer L. A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*dirofilaria immitis*). *Veterinary Parasitology* 2010; doi:10.1016/j.vetpar.2010.01.025
11. Kittleson MD: Heartworm infestation and disease (*dirofilariasis*). In Kittleson MD, Kienle RD, editors. *Small Animal cardiovascular medicine*. StLouis: Mosby, 1998: 370-402.
12. Milosavljević P, Kulušić Z. Prvi slučajevi dirofilariaze kod pasa u Jugoslaviji. *Vet Glasnik* 1989; 43: 71-6.
13. Savić S, Grgić Ž, Vujkov B, Fenjac I, Pajković D, Žekić M. Utvrđivanje dirofilarioze pasa primenom elisa metoda i modifikovanog Knott-ovog testa. *Arhiv veterinarske medicine* 2009; 2(2): 71-9.
14. Tasić A, Rossi L, Tasić S, Miladinović – Tasić N, Ilić T, Dimitrijević S. Survey of canine dirofilariasis in Vojvodina, Serbia. *Parasitol Res* 2008; 103: 1297 - 302.
15. Ware WA. Heartworm disease. In: Nelson RW, Couto CG, editors. *Small animal internal medicine*. St Louis: Mosby,1998: 162-80.

ENGLISH

HEARTWORM DISEASE: CASE STUDY IN DOG PATIENT

Ljubica Spasojević Kosić, Vesna Lalošević, D. Lalošević, A. Naglič

Dirofilaria immitis is a parasite in *a. pulmonalis* in domestic and wild carnivora. Partial development and the transfer of this parasite among carnivora takes place through the mosquito, which makes possible the maintaining and spreading of this parasite among populations of susceptible animals. Heartworm disease, which is caused by *Dirofilaria immitis*, is most often manifested as changes in the respiratory and cardiovascular systems. This paper presents the case of heartworm disease in a dog. The therapy used to treat this disease in the dog was a combination of doxycycline and ivermectin. The blood test results indicated a rapid decrease in the number of microfilaria and lowering of the antigen level of the adult parasite. The conducted general and special clinical examinations of the respiratory and cardiovascular systems registered an improvement in the clinical condition of the patient.

Key words: dirofilariasis, heartworm disease, dog

РУССКИЙ

БОЛЕЗНЬ СЕРДЕЧНОГО ЧЕРВЯ: ПОКАЗ СЛУЧАЯ У СОБАКИ

Любича Спасоевич Косич, Весна Лалошевич, Д. Лалошевич, А. Наглич

Dirofilaria immitis паразитирует в *a. pulmonalis* у домашних и диких мясоядных. Частичное развитие и переноска этого паразита среди мясоядных развивается через комаров, чем даётся возможность сохранение и расширение паразита между популяцией приемлемых единичных животных. Болезнь сердечного червя вызывающую *Dirofilaria immitis*, проявляется чаще всего изменениями респираторной и сердечно-сосудистой системы. В этой работе показан случай болезни сердечного червя у одной собаки. В терапии этого заболевания у собаки пользована комбинация доксициклина и ивермектина. Результаты осмотра анализа крови указывали на быстрое уменьшение числа микрофилярий и снижение уровня антигенов взрослого паразита. Проведённым общими и специальными клиническими осмотрами респираторной и сердечно-сосудистой системы зарегистрировано улучшение клинического состояния пациента.

Ключевые слова: диروفилариоз, болезнь сердечного червя, собака

OKULARNA MANIFESTACIJA LAJŠMANIOZE PSA*
OCULAR MANIFESTATION IN CANINE LEISHMANIASIS

M. Ralić, M. Jovanović**

U ovom radu je prikazan slučaj okularnih promena kod lajšmanioze psa, koji je doveden u ordinaciju zbog vidljivih promena na očima.

Okularna manifestacija lajšmanioze može biti bilateralna ili unilateralna. Najčešće promene su na vežnjači i prednjem segmentu oka, rožnjači i irisu. Od 70 do 80% obolelih pasa od lajšmanioze imaju prednji uveitis, a čest je nalaz i suvog oka, keratoconjunctivitis sicca.

Na osnovu kliničke slike i pozitivnog imunohromatografskog brzog testa ustanovljeno je da je pas oboleo od lajšmanioze.

Ključne reči: lajšmanioza, oko, uveitis

Uvod / Introduction

Lajšmanioza je bolest čoveka i životinja, prouzrokovana protozom iz roda *Leishmania*. Najčešće oboljevaju domaći psi, a sporadično i drugi sisari. Smatra se da su psi glavni rezervoari za visceralni oblik lajšmanioze kod čoveka (Puzderliska, 2010).

Prenosioci bolesti su insekti roda *Phlebotomus* spp (poznati pod nazivom papatači, nevidi ili peščane mušice). Bolest je raširena u čitavom svetu, posebno u bazenu Sredozemlja, južnoj Evropi kao i u Kini, Indiji i na Bliskom istoku, severnoj Africi. Lajšmanioza pasa se teško dijagnostikuje i to može biti problem za veterinare koji sprovode lečenje.

Leishmania infantum je najčešća vrsta zastupljena u mediteranskom pojasu. Prenosioci su sitne flebotomine veličine 2 do 3 mm. To su tihi leteći insekti čije ženke sisaju krv čoveku i životinjama uglavnom noću, a zastupljene su na nadmorskoj visini od 100 do 800 m.

* Rad primljen za štampu 14. 02. 2011. godine

** Dr vet. - spec. Marjan Ralić, Kumanovo, Makedonija; dr sci. med. vet. Milan Jovanović, asistent, Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija

U mediteranskom pojasu od ukupnog broja pasa samo su 5 do 15% seropozitivni na lajšmaniozu, od kojih je 20 do 40% asimptomatsko i predstavljaju rezervoar infekcije za druge životinje i čoveka.

Ne postoje starosna granica i rasna i polna predispozicija za infekciju lajšmaniozom. Primećeno je da manje oboljevaju minijaturne rase pasa zbog njihovog čuvanja u zatvorenim prostorima. U endemskim krajevima bolest se retko sreće kod veoma mladih i starijih pasa, zbog dugog perioda inkubacije koji iznosi od 3 meseca do 7 godina. U 90% slučajeva kod inficiranih pasa prisutne su i visceralne i kutane lezije (Aleksić, 2009).

Čovek oboljeva od istog uzročnika – parazita, ali znatno ređe nego psi. Većina inficiranih ljudi ima neku prethodnu imunosupresivnu bolest kao što su HIV infekcija ili recidivirajuća antitumorska hemioterapija (Rosynol, 2005).

Direktni prenos parazita sa psa na čoveka je nemoguć, jer se parazit prenosi isključivo putem flebotomina. Prenos bolesti preko oštećene sluzokože sa direktnim kontaktom nije zabeležen.

Nakon prodiranja uzročnika lajšmanioze u potkožno tkivo, a pod dejstvom određenih toksina, po koži se obrazuju pojedinačni čvorići koji kasnije u svom centru ulcerišu. Nakon toga, ti čvorići poprimaju oblik otvorenih čireva (ulkusa), čiji rubovi prominiraju formirajući nepravilan oblik. Dolazi do hipertrofije stratuma corneuma sa hiperplazijom papila. Tkivo je infiltrirano sa džinovskim, plazmatskim i limfoidnim ćelijama (Koičev, 1996).

Dolazi do opadanja dlaka i obrazuju se crvene papule u oblasti oka, usana, nosa, vrata, kao i po prstima i došaplju.

Najčešće se pojavljuju sekundarna infekcija i kraste sa ulepljenim dlakama i sekretom.

U dijagnosticiranju lajšmanioze pasa koriste se sledeće dijagnostičke metode:

Parazitološka tehnika – punkcija uvećanih površinskih limfnih čvorova, punkcija kostne srži, punkcija granuloma; serološki testovi – indirektna imunofluorescencija antitela, ELISA, test direktne aglutinacije, Western Blot; molekularni testovi – PCR (senzitivnost 92 - 99%); imunohromatografski brzi testovi; kultura na NNN medijumima (Puzderliska, 2010).

Prikaz slučaja

Pas rase aljaski malamut, muškog pola, starosti dve godine i sedam meseci lečen je od promena po koži u predelu došaplja i spoljašne strane lakta. Doveden je u ordinaciju zbog promene na očima i oslabljenog vida.

Pas je bio držan u dvorištu i nije imao kontakte sa drugim psima. Redovno je bio dehelmintisan i nije menjao mesto boravka (van Skoplja). Prethodno nije imao nikakve druge zdravstvene probleme.

Prilikom kliničkog pregleda pas je bio u dobroj kondiciji, dobrog raspoloženja. Nije bilo promena na limfnim čvorovima. Promene na koži bile su

ovalnog oblika, u vidu crvenila sa brojnim sitnim papulama, a promenjeno mesto bilo je bez dlaka.

Nakon mesec dana vlasnik je primetio da su oba oka psa postala bledomlečno zamućena i da pas često škilji na oba oka.

Metode rada / Methods

S obzirom na to da je od vlasnika dobijen podatak da pas škilji povremeno (fotofobija), urađene su probe vida i refleksa. Testirani su puplirani i kornealni refleksi.

Pregled konjunktive i prednjeg dela oka urađen je pomoću mikrodigitalne kamere (uvećanje 80x), za pregled rožnjače korišćeni su bluminator lupa, fluorescin i roze bengal test trake, kao i oftalmoskop sa lupom na +20D.

Intraokularni pritisak oba oka meren je pomoću Šioc tonometra, sa prethodnom aplikacijom lokalnog anestetika – proparacain.

Za širenje zenica korišćene su kapi Mydriacil 0,5%, a za pregled očnog fundusa oftalmoskop za direktnu oftalmoskopiju.

Rezultati / Results

Urađen je oftalmološki pregled oba oka. Vizuelnim pregledom nisu ustanovljene promene na pomoćnim delovima oba oka. Na periokularnoj koži i na samim očnim kopcima nisu bile vidljive promene u vidu krasta, alopecije ili slepljenih dlaka. Nije zabeležen očni sekret ili pojačano suzenje.

Kornealni i pupilarni refleks oba oka bili su pozitivni. Konjunktiva oba oka bila je hiperemična i edematozna (hemosis).

Rožnjača je bila avaskularna sa superficijalnom promenom u vidu mlečno beličastog zamućenja u svom centralnom delu na oba oka i prozirnim perifrenim rubom. Bojenje fluorescinom i roze bengal ostali su negativni na oba oka, što ukazuje na očuvan integritet površine rožnjače.

Prednja očna komora mogla je samo delimično da se pregleda (usled zamućenja rožnjače) i ustanovljeno je da nema stranog sadržaja u njoj (krvarenja, priraslica). Pupila na oba oka bila je sužena (mioza). Srednja vrednost intraokularnog pritiska (IOP) desnog oka iznosila je 10 mmHg a levog oka 15 mmHg (normalna vrednost IOP za psa izmeren Šioc tonometrom iznosi 15 do 25 mmHg).

Zbog centralne zamućenosti rožnjače, nije bio moguć detaljan pregled irisa kao i fundusa oba oka.

Na osnovu izvršenog oftalmološkog pregleda i nalaza (fotofobija, edem sa zamućenjem rožnjače, mioza pupile, nizak IOP desnog oka, edem konjunktive) postavljena je oftalmološka dijagnoza: *Uveitis anterior, Conjunctivitis catarrhalis infectiosa*.

Imajuću u vidu da su promene na koži hroničnog karaktera, kao i nalaz na očima, posumnjalo se na nekoliko infektivnih bolesti; diferencijalno dija-

gnostički u obzir su došle lajšmanioza i erlihioza te je uzeta krv za serološki pregled.

Brzim testom za dijagnostiku (Rapid test Kit Leishmania Ab – Bi-onote®), dobijen je pozitivan rezultat da je pas bio inficiran lajšmanijom.

Hronične promene na koži, nalaz na očima, serološki nalaz i činjenica da R Makedonija pripada endemskom području za lajšmaniozu, postavljena je dijagnoza da se radi o lajšmaniozi.

Propisana je sledeća terapija kako lokalna za lečenje prednjeg uveitisa, tako i sistemska za tretiranje osnovne bolesti.

1. prednizolon kapi 3x1 kap u oba oka,
2. atropin sulfat kapi 1%, 1x dnevno u oba oka po jednu kap,
3. alopurinol tablete u dozi 10 mg/kg p.o. na 12h u narednih 6 meseci.

Nakon sedam dana terapije, došlo je do vidljivog poboljšanja na oba oka, konjunktiva nije bila edematozna, rožnjača je postala prozirna i u svom centralnom delu. IOP desnog oka je stabilizovan i izmerena srednja vrednost iznosila je 20 mmHg.

Dalje praćenje uspešnosti terapije nije bilo moguće, zato što vlasnik nije dovodio psa na redovne kontrole.

Diskusija / Discussion

Lajšmanioza pasa je bolest koja progresira lagano. Ostali simptomi ove bolesti su smanjeni apetit, smanjenje telesne težine, lokalizovana ili generalizovana limfadenopatija, hepatosplenomegalija. Bolest se može pojaviti kao visceralni i kožni oblik.

Promene na očima i pojava suvog oka su posledica direktne destrukcije lakrimalnog kanala i Meibove žlezde, kao i opstrukcija samog izvodnog kanala sa gnojnim granulomima, a kao reakcija uvelanog trakta na velike imunokomplekse pojavljuju se uveitis sa svim propratnim simptomima (Aroch, 2008).

Neki od simptoma lajšmanioze pasa istovetni su simptomima nekih drugih bolesti, te se ne može sa sigurnošću tvrditi da znaci ukazuju na lajšmaniozu.

U početku bolesti klinički znaci su povećanje telesne temperature, povećanje površinskih limfnih čvorova, letargija, krvarenje iz nosa ili anusa. Promene su uglavnom po koži i na očima.

Okularna manifestacija može biti bilateralna ili unilateralna, zastupljena je kod 16 do 50% pasa, a kožne promene se mogu naći kod 75 do 89% pasa sa simptomatskom manifestacijom (Kommenou, 2007).

Promene na očima mogu se podeliti po segmentima oka koji su zahvaćeni na: prednji i zadnji segment i pomoćne delove oka.

Očni kapak – pojavljuje se periokularno opadanje dlake sa deskvamacijom koja je karakteristična pojava za ovu bolest. Alopecija nastupa oko oba oka, što se označava kao "lunettes" ili "spectacles" – naočare (Fisher, 2006). U ređim

slučajevima mogu se videti i granulomi na gornjem kapku, u kojem se može pronaći veliki broj uzročnika bolesti.

Vežnjača i beonjača – u toku oftalmološkog pregleda uočljiva je konjunktivalna hiperemija i pojava otoka konjunktive (hemosis). Kod dubljih upalnih procesa zahvaćena je i beonjača, a na limbusu se mogu pojaviti i multifokalni ružičasti granulomi koji su karakteristični za ovu bolest (Roye, 2004).

Rožnjača – ređe se mogu videti promene samo na rožnjači. Uglavnom su istovremeno zahvaćeni i konjunktiva i rožnjača, kada govorimo o keratokonjunktivitisu ili keratouveitisu.

Keratitis može biti površinski sa epitelnim erozijama, ulkusima i neovaskularizacijom (Folio, 2004). U krajnjem slučaju može doći i do tamne pigmentacije rožnjače, što je čest nalaz.

Intersticijalni keratitis karakteriše se sa fokusnim zamućenjima (otok ili inflamatorne ćelije koje su infiltrirane). Duboki (profundni) keratitis se manifestuje promenama na endotelu rožnjače.

Prednji uvealni trakt – 70 do 80% obolelih pasa od lajšmanioze imaju prednji uveitis. Ponekada je prednji uveitis i jedini simptom kod obolelog psa i bez obzira na hronični tok bolesti, karakteriše se edemom uvee, miozom, fibrinskim nitima u prednjoj komori oka, a mogu se naći i multipne nodule na stromi irisa (Aroch, 2008).

Zadnji segment oka – retko se mogu dijagnosticirati promene i to samo kod 9% obolelih pasa. Zastupljene su promene kao što su multifokalni horioretinitis sa malim hipertrofičnim fokusima, ablacija mrežnjače, hemoragije u tapetnom delu fundusa.

U slučaju da postoji i prednji uveitis, zamućenje prednjeg segmenta može biti prepreka za pregled zadnjeg segmenta oka. Uveitisi se teško mogu kontrolisati pa i pored terapije može doći do komplikacija kao što su sekundarni glaukom (u 10% slučajeva), panoftalmitis i trajni gubitak vida. Moguće je da se pojave i atrofija irisa ili atrofija bulbusa (phthisis bulbi), kao i gore pomenuta tamna pigmentacija rožnjače.

Druge manifestacije na oku – keratoconjunktivis sicca može da bude i jedini simptom lajšmanioze pasa (2,60 - 86% inficiranih pasa). Klinički se manifestuje hemozom vežnjače, hiperemijom, gnojnim iscetkom, kornealnim edemom i uveovaskularizacijom. Ovo je posledica direktno destrukcije Meibove žlezde i lakrimalnog kanala, kao i opstrukcije izvodnog suznog kanala sa piogranulomima (Komneou, 2007).

Ređi znaci oboljenja – egzoftalmus, strabizam, distrofija rožnjače, krvarenje u prednjoj očnoj komori ili u staklastom telu veoma su retki nalazi.

Diferencijalno dijagnostički u obzir dolaze demodikoza, pemfigus, episkleritis, hronični superficijalni pigmentni keratitis kod nemačkih ovčara, hronični horioretinitis – može se sresti kod hronične bubrežne slabosti (Koičev, 1996).

Usled nedostatka prave terapije bolesti (primena samo alopurinola) često dolazi do progresije bolesti ukoliko vlasnik samovoljno prekine terapiju.

Terapija lajšmanioze psa je kompleksna i podrazumeva više specifičnih i nespecifičnih lekova za ovu bolest. Lajšmanioza pasa se mora tretirati urgentno, kako ne bi došlo do komplikacija. Promene na pomoćnim delovima oka dobro reaguju na terapiju.

U tretmanu prednjeg uveitisa treba koristiti kortikosteroide sa kratkim delovanjem (prednizolon), atropin kapi – da bi se sprečile moguće sinehije irisa sa zadnjim zidom rožnjače kao i da bi se relaksirao cilijarni mišić, a time umanjio trigeminalni bol.

Treba sistemski davati nestereoidne antiinflamatorne lekove, a u težim slučajevima i kortikosteroid pronizon u dozi od 0,16 mg/kg dnevno. Od drugih sistemskih preparata koriste se:

Meglumin antimonat u dozi od 50 mg/kg u periodu od 20 do 40 dana; potkožno na 12 sati, ili u dozi od 100 mg/kg u periodu od 30 dana; potkožno na svaka 24 sata.

Alopurinol u dozi 10- 30 mg/kg u periodu od 9 do 12 meseci svakih 12 sati na usta sa dosta vode (Kommenou, 2007). Alopurinol ima samo parazitostat-sko dejstvo i kao monoterapija protiv ove bolesti nije uspešan.

Zato je potrebno koristiti specifične lekove za ovu bolest (natrium stiboglukonat, pentamidin izotionat). Međutim, zbog njihove nefrotoksičnosti nije ih moguće koristiti u dužem vremenskom periodu (Deblie, 2005).

Zaključak / Conclusion

Republika Makedonija pripada mediteranskom pojasu i lajšmanioza je prisutna na terenu. Sve je više pasa sa klinički manifestnom lajšmaniozom. Otežavajuća je činjenica da nema registrovanih lekova koji su specifični za lečenje bolesti pa je i sam tok lečenja neizvestan.

Ovim radom želimo da skrenemo pažnju kolegama, posebno onima sa juga Srbije, da je bolest i te kako prisutna na terenu. Takođe, želimo da istaknemo da treba raditi na uvozu i registraciji specifičnih lekova za lečenje lajšmanioze.

Imajući u vidu da se radi o zoonozu, velika je odgovornost veterinara i na edukaciji vlasnika i odgajivača pasa da preduzmu posebne mere zaštite svojih ljubimaca korišćenjem repelenata protiv insekata i da svakog psa uvozenog iz mediteranskog pojasa pregledaju serološki na lajšmaniozu.

Literatura / References

1. Aleksić J, Kukolj V, Popović N. Lajšmanioza psa – prikaz slučaja. Veterinarski glasnik 2009; 63(3-4): 251-7.

2. Aroch J, Ofri R, Sutton AG. Ocular Manifestation of systemic disease. In: Slatter's; fundamentals of Veterinary Ophthalmology 4th edition, Canine Parasitic Disease: Visceral leishmaniosis, 2008; 392-3.
3. Chiara Noli. Canine leishmaniosis. Waltham Focus 1999; 9(2):16-23.
4. Deblie DJ i sar. IN:Veterinary Clinical Pathology, Clearshp Program, An overview of Leishmaniosis, 2005.
5. Fisher M, McGarzz J. Focus on Small Animal Parasitology. Bayer health centre 2006:51.
6. Folio Luiz da Cumha Brito i sar. Uveitis associated yo the infection by Leishmania chagasi in dog from the Olinda city, Brazil. Ciencia Rural, Santa Maria 2004; 34(3): 925-9.
7. Koičev K i sar. Bolesti pri kučeto. Parazitni bolesti, Lajšmanioza. Agropres Sofija 1996: 537-41.
8. Kommenou A, Koutinus AF. Ocular manifestation of same canine infections and parasitic disease commonly encountered in the Mediterranean. EJCAP 2007; 17(3): 271-6.
9. Puzderliska L. Serološka dijagnostika na Leishmania Donovanii so indirektna imunofluorescentna metoda. Vox medici, Skopje 2010; 68:108-9.
10. Rosynol A. Characterization of canine Leishmaniasis in the United State: Pathogenesis, Immunological responses and transmission of an American Isolate od L.infantum. Dissertation 2005; 6-12.
11. Roye M. Ocular Manifestation of Canine Leishmaniosis, Diagnosis and treatment. Proceeding 29th World Congress of the WSAVA; 2004 May 11- 14; Mexico City, Mexico.

ENGLISH

OCULAR MANIFESTATION IN CANINE LEISHMANIASIS – CASE STUDY

M. Ralić, M. Jovanović

This paper presents a case of ocular changes in leishmaniasis in a dog brought in for examination because of visible changes in the eyes.

An ocular manifestation in leishmaniasis can be bilateral or unilateral. Changes most often occur on the conjunctive and the front segment of the eye, the cornea and iris. From 70 to 80% of dogs diseased with leishmaniasis exhibit frontal uveitis, and dry eye, keratoconjunctivitis sicca, is also a frequent finding.

Based on the clinical picture and the positive immunochromatographic rapid test it was established that the dog was diseased with leishmaniasis.

Key words: leishmaniasis, eye, uveitis

ОКУЛЯРНАЯ МАНИФЕСТАЦИЯ ЛЕЙШМАНИОЗА СОБАКИ - ПОКАЗ СЛУЧАЯ

М. Ралич, М. Йованович

В этой работе показан случай окулярных изменений у лейшманиоза собаки, приведённой в ординация из-за видимых изменений на глазах.

Окулярное проявление лейшманиоза может быть двухстороннее или унилатеральное. Наиболее частые изменения на сосудистой оболочке и переднем сегменте глаза, роговице и радуге. От 70-80% заболевших собак лейшманиозом имеют передний увеит, а частые результаты и сухого глаза, кератоконъюнктивит *sicca*.

На основе клинической картины и положительного иммунохроматографического быстрого теста установлено, что собака заболевшая лейшманиозом.

Ключевые слова: лейшманиоз, глаз, увеит

**TROVANJE PSA FURADANOM 35-ST
(KARBAMATNI INSEKTICID)***
DOG POISONING WITH FURADAN 35-ST (CARBAMATE INSECTICIDE)

Jelena Aleksić, Drinka Merćep, Z. Aleksić, M. Jovanović**

U radu je opisan prvi slučaj akutnog trovanja psa u Srbiji Furadanom 35-ST. Aktivna supstanca ovog preparata je karbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil methylcarbamate) karbamatni insekticid, akaricid i nematicid. Svetska zdravstvena organizacija ga je klasifikovala u klasu 1b, kao visoko toksičan otrov. U Srbiji je prema Listi otrova svrstan u I grupu otrova, pod rednim brojem 485, sa važenjem registracije do 2014. godine.

Patomorfološki su ustanovljene hiperemija i degenerativno-nekrotične promene u jetri, bubrežima i srcu. U ventralnim rogovima kičmene moždine ustanovljeno je liziranje jedara motornih neurona, gubitak tigroidne supstance i pericelularni edem, kao i akutni pankreatitis. Uz nespecifične promene (hiperemija, degenerativne i nekrotične promene u parenhimatoznim organima), nalaz promena u ventralnim rogovima kičmene moždine i akutni pankreatitis mogu da pobude sumnju na trovanje karbamatima.

Postavljena dijagnoza trovanja psa karbamatnim insekticidom bazirana je na makroskopskom, mikroskopskom nalazu, kao i toksikološko-hemijskoj potvrdi prisustva karbofurana primenom metode gasno-masene spektrometrije u uzetim uzorcima tkiva želuca i jetre, čime je potvrđena sumnja da je sporni pas otrovan.

U ovom slučaju sprovedene dijagnostičke procedure bile su osnov za pokretanje krivične odgovornosti.

Ključne reči: trovanje karbofuranom, pas, akutni pankreatitis, distrofija neurona

* Rad primljen za štampu 21. 03. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Jelena Aleksić, asistent, Katedra za sudsku veterinarsku medicinu i zakonske propise, dr sci. med. vet. Drinka Merćep, Katedra za patološku morfologiju, dr sci. med. vet. Zoran Aleksić, Katedra za sudsku veterinarsku medicinu i zakonske propise, redovni profesor, dr sci. med. vet. Milijan Jovanović, redovni profesor, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Uvod / Introduction

Poslednjih godina sve su brojniji zahtevi vlasnika ili organizacija za brigu o životinjama za potvrdom sumnje trovanja životinja, pod različitim okolnostima. Odgovor na ovo pitanje je posebno aktuelizovan donošenjem novog Krivičnog zakonika Republike Srbije, koji je članom 269. sankcionisao postupak ubijanja životinja, predviđenom kaznom zatvora u trajanju do godinu dana (Krivični zakonik, Službeni glasnik, 85/05).

Iako kod nas u prometu postoji veliki broj hemijskih preparata koji sadrže potencijalno toksične supstance za životinje, izvršioци ovog krivičnog dela uglavnom kao otrove izbora koriste antikoagulantne rodenticide, kreozan, organofosfatne i karbamatne insekticide. Njihovim unošenjem u organima i tkivima životinja nastaju patološke promene, čiji je stepen makroskopskog uočavanja i specifičnosti različit. Iz ovih razloga, kao i za potrebe sudskog procesuiranja neophodna je toksikološko-hemijska potvrda uzroka uginuća.

Furadan 35-ST

Aktivna supstanca preparata Furadan 35-ST je karbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil methylcarbammat), koji spada u grupu karbamatnih insekticida, akaricida i nematicida (Evert, 2007). Svetska zdravstvena organizacija ga je klasifikovala u klasu 1b, kao visoko toksičan otrov (Kiyoshi i sar., 2001; Evert, 2007).

U Srbiji je prema Listi otrova (objavljena 29. 09. 2008. godine) svrstan u I grupu otrova, pod rednim brojem 485, sa važenjem registracije do 2014. godine (Lista otrova razvrstanih u grupe, Službeni list SRJ, br. 12/2000). Akutna oralna doza LD 50 za pse je 15 mg/kg telesne mase (Tomlin, 2000), a za pčele je 0,16 µg po pčeli (Eisler, 1985).

Klinički znaci trovanja karbamatima su posledica stimulacije nikotinskih i muskarinskih receptora. Muskarinski receptori se nalaze u glatkoj muskulaturi, srcu i egzokrinim žlezdama, a nikotinski receptori u poprečno-prugastoj muskulaturi, vegetativnim ganglijama i srži nadbubrežne žlezde. U skladu sa tim, efekti trovanja karbamatima se dele na muskarinske, nikotinske i centralne. Efekti nastali usled stimulacije nikotinskih receptora su kontrakcije skeletne muskulature (leđa, glave, ekstremiteta) i nakostrešenost dlake. Muskarinski efekti nastaju kao posledica vezivanja Ach za muskarinske receptore. Oglledaju se u hipersalivaciji, hipersekreciji HCl u želucu, pojačanoj kontrakciji svih glatkih mišića, izuzev mišića zidova krvnih sudova koji su relaksirani, hipotenziji, dijareji, čestom uriniranju, edemu pluća, povraćanju. Centralni efekti nastaju usled inhibicije Ach-esteraze u CNS-u, a praćeni su ekscitacijom, a zatim i depresijom CNS-a. Javlja se uznemirenost, tonično-klonični grčevi, kasnije kontinuirani grčevi, patološko Čein-Stoksovo disanje, depresija vazomotornog i respiratornog centra (pad krvnog pritiska i uginuće) (Ćupić i sar., 2007; Jezdimirović, 2000).

Nisu svi navedeni znaci trovanja prisutni kod životinja i oni variraju u zavisnosti od toksičnosti jedinjenja, doze, načina izlaganja, stepena trovanja i životinjske vrste. U slučajevima lakših trovanja javljaju se samo blagi muskarinski efekti, a pri težem trovanju simptomi od CNS-a.

U lečenju trovanja karbamatnim insekticidima oksimi nisu efikasni antidoti. U slučajevima trovanja karbamatima, pored atropina treba primeniti i tiaziidne diuretike, da bi se ubrzala njihova eliminacija iz organizma (Čupić, 1999; Jezdimirović, 2000).

Za identifikaciju i kvantifikaciju karbamata u upotrebi su brojne metode, uključujući hromatografiju tankog sloja (Osselton i Snelling, 1986; Kiyoshi i sar., 2001,) tečnu hromatografiju pod pritiskom (Osselton i Snelling, 1986; Kwon i sar., 2004), gasnu hromatografiju (Klys i sar., 1989; Kiyoshi i sar., 2001) i gasnomasenu spektrometriju (GC-MS) (Kiyoshi i sar., 2001; Kwon i sar., 2004).

U radu je opisan prvi slučaj trovanja visokovrednog psa Furadanom 35-ST kod nas, kod koga je posle kratkog kliničkog toka došlo do letalnog ishoda.

Prikaz slučaja / Case report

Pas rase nemački oštrodlaki ptičar, ženskog pola, starosti sedam meseci je tokom obuke aportiranja pronašao kost koju je uhvatio zubima, ubrzo pokazao simptome i istog dana uginuo. Na površini sporne kosti zapažene su mestimično prebojene površine svetlocrvenom bojom. Tragom otisaka obuće u snegu policija je u obližnjoj kući pronašla originalno flaširano pakovanje crvene tečnosti sa natpisom Furadan 35-ST.

Leš je dostavljen Katedri za sudsku veterinarsku medicinu i zakonske propise radi utvrđivanja uzroka uginuća, sa sumnjom da je pas otrovan karbamatnim insekticidom.

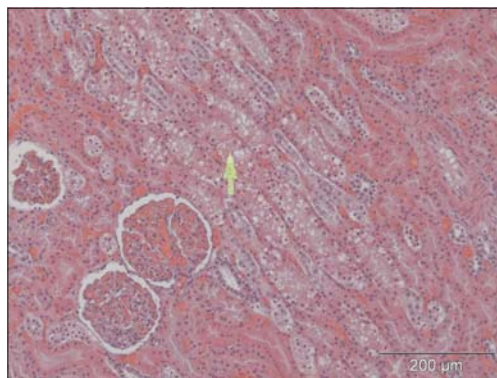
Postmortalni nalaz / Postmortem findings

Obdukcioni i histopatološki nalaz / Autopsy and histopathological findings

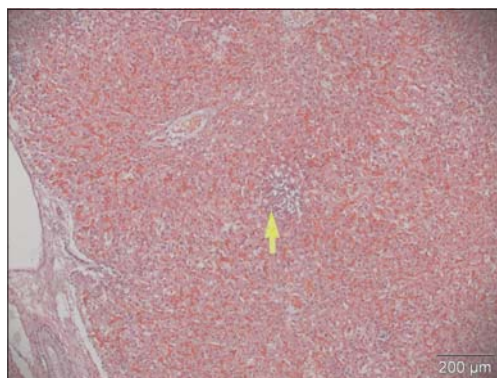
Promene na obdukciji su bile nespecifične, a dominantan nalaz bila je kongestija svih parenhimatoznih organa. U lumenu traheje na mestu račvanja konstatovana je penušava tečnost svetlocrvene boje. Pluća su bila tamnocrvene boje, zaobljenih rubova i povećana. U ždrelu je uočena izvesna količina povraćenog želudačnog sadržaja. Jetra je bila povećana, tamnocrvene boje, zaobljenih rubova sa brojnim, okruglastim beličastim poljima po površini, dijametra nekoliko milimetara, koja su se prostirala u parenhim.

Za patohistološka ispitivanja uzorkovani su delovi tkiva pluća, srca, jetre, bubrega, pankreasa i lumbalnog dela kičmene moždine. Uzorci su fiksirani u 10% formalinu i procesuirani rutinskom parafinskom tehnikom. Mikrotomski isečci debljine 5 µm, nakon deparafinizacije bojeni su standardnom hematoksilin eozin metodom.

Histopatološke promene su bile raznovrsne i obuhvatale su kongestiju pluća, hiperemiju i degenerativne promene pojedinačnih ćelija miokarda, hiperemiju bubrega i degeneraciju epitela bubrežnih kanalića (slika 1), kao i hiperemiju i nekrotična polja u parenhimu jetre (slika 2). Pregledom isečaka tkiva pankreasa dijagnostikovano je akutni pankreatitis sa širim poljima nekroze, koja je zahvatala parenhim i interlobularno vezivno tkivo (slika 3). U ventralnim rogovima lumbalnog dela kičmene moždine konstovano je liziranje jedara motornih neurona, gubljenje tigroidne supstance i pericelularni edem (slika 4). Senzitivni neuroni u dorzalnim rogovima kičmene moždine bili su morfološki očuvani.



Slika 1. Hiperemija i degenerativne promene u bubrežnim kanalićima, (HE, 200x) /
Figure 1. Hyperaemia and degenerative changes in renal tubules (arrow), (HE, 200x)

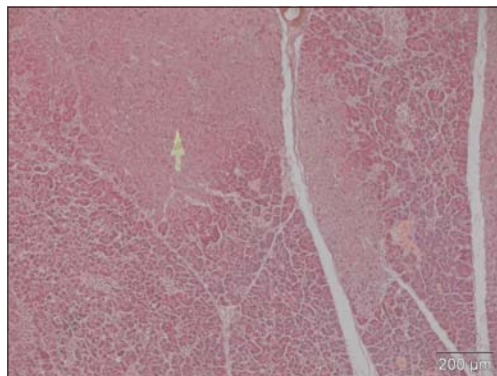


Slika 2. Hiperemija i nekrotična polja u parenhimu jetre, (HE, 100x)
Figure 2. Hyperaemia and necrotic areas in liver parenchyma (arrow), (HE, 100x)

Za toksikološku analizu uzorkovan je podvezan želudac i deo jetre.

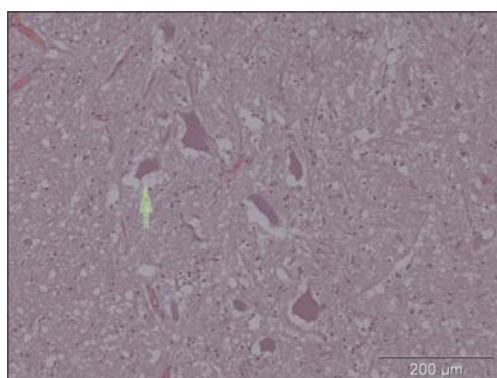
Toksikološko-hemijskom analizom obavljenom na Odeljenju za toksikološku hemiju Centra za kontrolu trovanja Vojnomedicinske akademije u Beo-

gradu primenom metode gasno-masene spektrometrije u tkivu želuca i jetre ustanovljeno je prisustvo karbofurana, čime je potvrđena sumnja da je sporni pas otrovan.



Slika 3. Nekroza parenhima (strelica) i interlobularnog vezivnog tkiva pankreasa, (HE, 100x)

Figure 3. Necrosis of parenchyma (arrow) and interlobular connective tissue of pancreas, (HE, 100x)



Slika 4. Liziranje jedara motornih neurona, gubitak tigroidne supstance i pericelularni edem, (HE, 200x)

Figure 4. Lysis of nuclei in motor neurons, loss of tigroid substance and pericellular oedema (arrow), (HE, 200x)

Diskusija / Discussion

Ovaj slučaj predstavlja primer akutnog trovanja psa karbamatnim pesticidom. Znaci i simptomi trovanja javljaju se za nekoliko minuta, jer karbofuran deluje direktno na enzim acetilholinesterazu, bez aktiviranja metabolizma (Tobin, 1970). Inhibiranje enzima acetilholinesteraze dovodi do povećane aktivnosti ace-

tilholina na nikotinskim i muskarinskim receptorima (Kandalajt i sar., 1991; Weizman i Sofer, 1992; Goodale i sar., 1993; Moritz i sar., 1994). Za razliku od ireverzibilnog blokiranja ovog enzima u slučaju trovanja organofosfatima (Moritz i sar., 1994), karbamati indukuju prolaznu inhibiciju acetilholinesteraze.

Patomorfološke promene kod akutnog trovanja karbamatnim insekticidima prilično su nespecifične i rezultat su hipoksije i cirkulatornih poremećaja, jer u najvećem broju slučajeva egzitus nastaje usled respiratorne disfunkcije. Naši nalazi na obdukciji govore u prilog ovoj činjenici i saglasni su sa nalazima drugih autora (Srebočan i sar., 2003).

Značajan (usputni) nalaz u slučajevima trovanja organofosfatnim i karbamatnim insekticidima jeste razvoj akutnog pankreatitisa (Dressel i sar., 1979; Marsh i sar., 1988; Lee, 1989; Lankisch i sar., 1990; Kandalajt i sar., 1991; Weizman i Sofer, 1992; Goodale i sar., 1993; Moritz i sar., 1994; Panieri i sar., 1997; Sahin i sar., 2002; Singh i sar., 2003). U ovom slučaju akutni pankreatitis se karakterisao enzimskom nekrozom, koja nastaje kao posledica karbamatske stimulacije ćelija egzokrinog dela na pojačanu sekreciju (Dressel i sar., 1982; Kandalajt i sar., 1991; Weizman i Sofer, 1992; Goodale i sar., 1993; Moritz i sar., 1994).

U dorzalnim rogovima lumbalnog dela kičmene moždine, tela neurona (senzitivni neuroni) bila su očuvana, za razliku od tela neurona u ventralnim rogovima (motorni neuroni), što potvrđuje afinitet karbamata ka motornim neuronima. Srebočan i sar., (2003) takođe opisuju vakuolarnu degeneraciju neurona u lumbalnom segmentu kičmene moždine.

Zaključak / Conclusion

Prilikom procene eventualne odgovornosti fizičkih i pravnih lica u forenzičkim slučajevima neophodno je obdukcijom i toksikološkom analizom prikupiti nesporne dokaze koji ukazuju na uzročno-posledičnu vezu između štetnog događaja i štete nastale trovanjem životinje.

Uz nespecifične promene kao što su hiperemija, degenerativne i nekrotične promene u parenhimatoznim organima, nalaz promena u ventralnim rogovima kičmene moždine i akutni pankreatitis mogu da pobude sumnju na trovanje karbamatima.

U cilju sprečavanja pojava namernih ili slučajnih trovanja životinja neophodno je što hitnije doneti propise kojima će se zabraniti slobodan promet preparata koji sadrže visokotoksične supstance.

U ovom slučaju sprovedene dijagnostičke procedure bile su osnov za pokretanje krivične odgovornosti.

Literatura / References

1. Ćupić V, Muminović M, Kobal S, Velev R. Farmakologija za studente veterinarske medicine. Beograd, Sarajevo, Ljubljana, Skoplje, 2007.

2. Ćupić V. Najčešća trovanja u veterinarskoj medicini. Stručna knjiga, Beograd, 1999.
3. Dressel TD, Goodale RL, Arneson MA, Borner JW. Pancreatitis as a complication of anticholinesterase insecticide intoxication. *Ann Surg* 1979; 189: 199-204.
4. Dressel TD, Goodale RL Jr, Zweber B, Borner JW. The effect of atropine and duct decompression on the evolution of Diazinon-induced acute canine pancreatitis. *Ann Surg* 1982; 195: 424-34.
5. Eisler R. Carbofuran Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 1985; 85(1.3): 36.
6. Evert S. 2007; Environmental fate of carbofuran. Environmental monitoring branch, Department of pesticide regulation, retrieved March 13, 2008. (<http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/carbofuran.pdf>).
7. Goodale RL, Manivel JC, Borner JW, Liu S, Judge J, Li C, Tanaka T. Organophosphate sensitizes the human pancreas to acinar cell injury: an ultrastructural study. *Pancreas* 1993; 8: 171-5.
8. Jezdimirović BM. Veterinarska farmakologija. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, 2000.
9. Kandalaf K, Liu S, Manivel C, Borner JW, Dressel TD, Sutherland DE, Goodale RL. Organophosphate increases the sensitivity of human exocrine pancreas to acetylcholine. *Pancreas* 1991; 6: 398-403.
10. Kiyoshi A, Sang-Ki L, In Sang W, Yang Ja, Yoo Young C, Ameno S, Kubota T, Kinoshita H, Ijiri I. Blood carbofuran concentrations in suicidal ingestion cases. *Forensic Sci Int* 2001; 116: 59-61.
11. Klys M, Kosun J, Pach J, Kamenczak A. Carbofuran poisoning of pregnant woman and fetus per ingestion. *J Forensic Sci* 1989; 34(6): 1413-6.
12. Krivični zakonik. Službeni glasnik, 85/05.
13. Kwon YK, Wee SH, Kim JH. Pesticide poisoning events in wild birds in Korea from 1998 to 2002. *J Wildl Dis* 2004; 40(4): 737-40.
14. Lankisch PG, Muller CH, Niederstadt H, Brand A. Painless acute pancreatitis subsequent to anticholinesterase insecticide (Parathion) intoxication. *American Journal Gastroenterology* 1990; 85: 872-5.
15. Lee HS. Acute pancreatitis and organophosphate poisoning. A case report and a review. *Singapore Medical Journal* 1989; 30: 599-601.
16. Lista otrova razvrstanih u grupe. Službeni list SRJ, br. 12/2000.
17. Marsh WH, Vukov GA, Conradi EC. Acute pancreatitis after cutaneous exposure to an organophosphate insecticide. *American Journal Gastroenterology* 1988; 83: 1158-60.
18. Moritz F, Droy JM, Dutheil G, Melki J, Bonmarchand G, Leroy J. Acute pancreatitis after carbamate insecticide intoxication. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 49-50.
19. Osselton MD, Snelling RD. Chromatographic identification of pesticides. *Journal of Chromatography* 1986; 368: 265-71.
20. Panieri E, Krige JE, Bornman PC, Linton DM. Severe necrotizing pancreatitis caused by organophosphate poisoning. *Journal of Clinical Gastroenterology* 1997; 25: 463-5.
21. Sahin I, Onbasi K, Sahin H, Karakaya C, Ustun Y, Noyan T. The prevalence of pancreatitis in organophosphate poisonings. *Human Experimental Toxicology* 2002; 21: 175-7.

22. Singh S, Parthasarathy S, Sud A, Wanchu A, Bambery P. Acute pancreatitis following propoxyfur (Baygon) ingestion. *Journal of Association of Physicians India* 2003; 51: 78-9.
23. Srebočan E, Hrlec G, Grabarević Ž, Popme-Gotal J, Sabočanec R. Poisoning with acetylcholinesterase inhibitors in dogs: two case reports. *Veterinarni Medicina* 2003; 48(6): 175-6.
24. Tobin JS. Carbofuran: a new carbamate insecticide. *Journal of Occupation Medicine and Toxicology* 1970; 12: 16-9.
25. Tomlin C. *The Pesticide Manual. A World Compendium*, Crop Protection Publication. 12th ed. The Royal Society of Chemistry 2000; 152-3; 200-1.
26. Weizman Z, Sofer S. Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. *Pediatrics* 1992; 90: 204-6.

ENGLISH

**DOG POISONING WITH FURADAN 35-ST (CARBAMATE INSECTICIDE) –
CASE REPORT**

Jelena Aleksić, Drinka Merćep, Z. Aleksić, M. Jovanović

The first case of poisoning of a dog with Furadan 35-ST in Serbia is described. The active ingredient of Furadan 35-ST is carbofuran (2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methyl carbamate), a carbamate insecticide, acaricide and nematocide. This highly poisonous substance is classified by the World Health Organisation into Class 1 b and in Serbia into Group 1 of The List of Poisons.

Pathological assessment revealed hyperaemia and degenerative and necrotic changes in the liver, kidneys and heart. In addition, lysis of the nuclei in the motor neurons, loss of tigroid substance and pericellular oedema in the ventral horns of the spinal cord, and acute pancreatitis were found. In addition to the non-specific changes (hyperaemia, degenerative and necrotic changes in the parenchymal organs), the ones in the ventral horns of the spinal cord and acute pancreatitis may lead to carbamate poisoning being suspected.

The diagnosis was established on the grounds of toxicological-chemical confirmation of carbofuran by means of GC-MS in addition to the macroscopic, microscopic findings in tissue samples taken from the stomach and the liver, which confirmed the suspicion of the dog having been poisoned with the carbamate insecticide.

In the current case the results of the diagnostic procedures provided foundations for the initiation of criminal proceedings.

Key words: carbofuran poisoning, dog, acute pancreatitis, neurodystrophy

ОТРАВЛЕНИЕ СОБАКИ ФУРАДАНОМ 35-СТ (КАРБАМАТНЫЙ ИНСЕКТИЦИД) - ПОКАЗ СЛУЧАЯ

Елена Алексич, Дринка Мерчеп, З. Алексич, М. Йованович

В работе описан первый случай острого отравления собаки в Сербии Фураданом 35-СТ. Активная субстанция этого препарата карбофуран (2,3-дигидро-2,2-диметил-7-бензофуранил метилкарбонат) карбаматный инсектицид, акарицид и нематодцид. Всемирная организация здравоохранения его классифицировала в класс Ib, как высоко токсический яд. В Сербии по Листу ядов распределен в I группу ядов, под порядковым числом 485, с сроком действия регистрации до 2014 года.

Патоморфологически установлены гиперемия и дегенеративно-некротические изменения в печени, почках и сердцу. В вентральных рогах спинного мозга установлено лизирование ядер моторных нейронов, потеря тигроидной субстанции и перичеллюлярный отёк, словно и острый панкреатит. При неспецифических изменениях (гиперемия, дегенеративные и некротические изменения в паренхиматозных органах), результаты изменений в вентральных рогах спинного мозга и острый панкреатит могут побудить сомнение на отравление карбаматами.

Поставленный диагноз отравления собаки карбаматным инсектицидом базируется на макроскопические, микроскопические результаты, словно и токсикологическо-химическом подтверждении присутствия карбофурана применением метода газово-массовой спектрометрии в взятых образчиках тканей желудка и печени, чем подтверждено сомнение, что спорная собака отравлена.

В этом случае проведённые диагностические процедуры были основа для возбуждения уголовной ответственности.

Ключевые слова: отравление карбофураном, собака, острый панкреатит, дистрофия нейронов

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE U BEOGRADU 2010-2011. GODINE

Marjanović Jelena

Rođena 11. 10. 1976. u Beogradu
Diplomirala 16. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Kučevo
Žike Popovića 17

Matić Marina

Rođena 17. 09. 1982. u Beogradu
Diplomirala 18. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kuzmanovića vinogradić, Belo Polje

Đurić Nemanja

Rođen 13. 09. 1982. u Kragujevcu
Diplomirao 16. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Kragujevac
Tankosićeva 12

Pavlović Marko

Rođen 02. 09. 1983. u Beogradu
Diplomirao 16. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kralja Milutina 27/a

Stanojević Danijela

Rođena 21. 01. 1977. u Vranju
Diplomirala 17. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Vranje
Partizanski put 12/23

Jovanović Milica

Rođena 28. 03. 1982. u Paraćinu
Diplomirala 16. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Paraćin
Stefana Prvovenčanog 22

Đurđević Jovo

Rođen 19. 12. 1973. u Ljuboviji
Diplomirao 14. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Sremčica
Obrenovačka 23

Ristić Miloš

Rođen 21. 04. 1981. u Kragujevcu
Diplomirao 14. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Kragujevac
27. marta 7

Đorđević Dejan

Rođen 21. 08. 1982. u Kragujevcu
Diplomirao 14. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Kragujevac
Stragari, Kotražica

Ivanić Boriša

Rođen 27. 08. 1984. u Bijeljini,
R. Srpska, BiH
Diplomirao 10. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Strnjaci
Dazdarevo 125

Vidaković Milan

Rođen 14. 11. 1980 u Dubrovniku,
R. Hrvatska
Diplomirao 07. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Trebinje
Obala Luke Vukasovića 21, R. Srpska

Novaković Gordana

Rođena 15. 04. 1978. u Bijeljini, BiH,
R. Srpska
Diplomirala 07. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Strugarska 1/28

Crnomarković Dragana

Rođena 05. 11. 1966. u Kninu,
R. Hrvatska
Diplomirala 07. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Ban. Novo Selo
1. maja 26

Pandurović Milan

Rođen 02. 12. 1980. u Šapcu
Diplomirao 09. 12. 2010.
Stalno mesto boravka Beograd
Vojvode Brane 31/25

Aleksić Goran

Rođen 20. 06. 1983. u Pirotu

Diplomirao 28. 01. 2011.
Stalno mesto boravka Babušnica
Draginac 115

Dončić Ida

Rođena 02. 05. 1980. u Smederevu
Diplomirala 19. 01. 2011.
Stalno mesto boravka Smederevo
Miloša Velikog 20/12

Nikolić Nikola

Rođen 17. 03. 1983. u Surdulici
Diplomirao 28. 12. 2010.
Stalno mesto boravka Beograd
Partizanski put 1

Douka Leoni

Rođen 18. 04. 1979. u Atini,
R. Grčka
Diplomirao 15. 12. 2010.
Stalno mesto boravka Višnjička banja
Višnjički venac 15e

Radosavljević Miloš

Rođen 29. 12. 1983. u Beogradu
Diplomirao 10. 01. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Sime Lozanića 2

UPUTSTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RUKOPISA

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

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

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

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

OPŠTA UPUTSTVA

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

NASLOVNA STRANA

Na posebnoj prvoj stranici treba napisati sledeće:

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

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

- Tačan naziv ustanove (i mesta u kojima se nalazi) u kojima autori rade, treba navoditi onim redosledom koji odgovara redosledu autora u radu.
- Na dnu stranice treba navesti ime i prezime (adresu, broj telefona, faksa ili e-mail) jednog od autora, radi korespondencije

KRATAK SADRŽAJ

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

PISANJE TEKSTA

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

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

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

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

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

POGLAVLJA RADA

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

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

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

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

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

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

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

Primeri:

1. Članak u časopisu:

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

2. Knjige i druge monografije:

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

3. Poglavlja u knjizi:

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

4. Rad ili abstrakt u Zborniku radova:

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

NAPOMENA

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

ADRESA ČASOPISA

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