

UDK 619(05)

YU ISSN 0350 - 2457

VETERINARSKI glasnik

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 65

BROJ 5 - 6

STRANA 293-460

Beograd 2011.

5-6

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. 5-6 Str. 293 - 460 Beograd, 2011.



IZDAVAČ:
FAKULTET VETERINARSKJE 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

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKE MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 65 Br. 5 - 6 str. 293 - 460 Beograd, 2011.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Vujanac I., Kirovski Danijela, Šamanc H., Prodanović R., Adamović M., Ignjatović Marija:
Koncentracija glukoze i acido-bazni status krvi visokomlečnih krava u uslovima toplotnog stresa
Glucose Concentration and Blood Acid-Basis Status in High-Yielding Dairy Cows During Heat Stress
Концентрация глюкозы и ацидо-базисный статус крови высокомолочных коров в условиях теплового стресса 297
- Davidović Vesna, Joksimović Todorović Mirjana, Hristov S., Stanković B.: Crvena krvna slika u mlečnih krava tokom peripartalnog i ranog laktacionog perioda
Red Blood Count in Dairy Cows in Periparturient Period and in Early Lactation
Красная кровяная картина у молочных коров в течение дородового и раннего лактационного периода 313
- Samardžić J., Savić Kristina, Baltezarević Dragana, Matunović R., Obradović Miljana, Jančić Jasna, Obradović D. I.: Anksiolitički i antidepresivni efekat magnezijuma na pacove i njegov uticaj na opšte bihevioralne parametre
Anxiolytic and Antidepressive Effects of Magnesium in Rats and their Effect on General Behavioural Parameters
Анксиолитический и антидепрессивный эффект магния у крыс и его влияние на общие биехвиоральные параметры 323
- Škrinjar Marija, Jakić-Dimić Dobrila, Šošo Vladislava, Blagojev Nevena, Vesković-Moračanin Slavica, Gerić Tamara: Rezultati mikoloških i mikotoksikoloških ispitivanja hraniva na bazi kukuruza namenjenih za ishranu krava muzara
Results of Mycological and Mycotoxicological Investigations of Corn-Based Feed for Dairy Cow Diet
Результаты микологических и микотоксикологических испытаний кормов на базе кукурузы, предназначенных для кормления дойных коров 333
- Potkonjak A., Kovačević J., Suvajdžić Ljiljana, Tomić Dijana, Lako Bjanka, Milanov Dubravka: Epizootiološke i kliničke karakteristike dermatofitoze goveda izazvane vrstom *Trichophyton verrucosum*
Epizootiological and Clinical Characteristics of Bovine Dermatophytosis Caused by *Trichophyton verrucosum*
Эпизоотологические и клинические характеристики дерматофитоза крупного рогатого скота, вызванного *C trichophyton verrucosum* 349

■ Davidov Ivana, Radinović M., Boboš S., Mašić Z., Lalošević D.: Odnos različitih debljina keratinskog sloja <i>ductus papillaris</i>-a i infiltrata leukocita u parenhimu vimena krava Effect of Different Thickness of Keratin Layer of Ductus Papillaris on State of Parenchyma in Cow Udder Отношение различных толщин кератинового слоя <i>Ductus papillaris</i>-а и инфильтрата лейкоцитов в паренхиме вымени коров	359
■ Radinović M., Boboš S., Pajić Marija, Vidić Branka, Rašić Z., Davidov Ivana, Špegar R.: Krvna slika i broj somatskih ćelija u mleku krava inficiranih sa <i>Coxiella burnetii</i> Blood Count and Number of Somatic Cells in Milk of Cows Infected with <i>Coxiella Burnetii</i> Кровяная картина и число соматических клеток в молоке коров, инфицированных с <i>Coxiella burnetii</i>	367
■ Milijašević M., Babić Jelena, Spirić Aurelija, Jovanović Jelena, Lakićević Brankica, Borović Branka, Baltić M. Ž.: Praćenje promena ukupnog broja mezofilnih bakterija i torimetrijske vrednosti u uzorcima sveže pastrmke upakovane u modifikovanu atmosferu i vakuum Following Changes in Total Number of Mesophilic Bacteria and Torry Meter Readings in Samples of Fresh Trout Packaged in Modified Atmosphere and Vacuum Слелжа изменений совокупного числа мезофильных бактерий и ториметрические стоимости в образчиках свежей форели, упакованной в модифицированную атмосферу и вакуум.	375
■ Prica Nadežda, Baltić M. Ž., Živkov-Baloš Milica, Ćupić Ž., Mihaljev Ž.: Ispitivanje hemijskih parametara kvaliteta viršli sa novosadskog tržišta Investigating Chemical Parameters in Hot Dog Sausages from Novi Sad Market Испытанные химических параметров качества сосисок с нови-садского рынка	385
■ Hristov S., Zlatanović Z., Stanković B., Ostojić-Andrić Dušica, Davidović Vesna, Joksimović-Todorović Mirjana, Plavšić B., Dokmanović Marija: Procena dobrobiti krava u slobodnom sistemu držanja Dairy Cows Welfare Assesment in Loose Stalls Оценка благосостояния коров в свободной системе содержания	399

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

■ Šeguljev Zorica, Vidić Branka, Ilić Svetlana, Petrović V., Petrović M., Ristić M., Prica Nadežda: Epidemije trihineloze u AP Vojvodini u periodu 2000–2009. godine Trichinellosis Epidemics in AP Vojvodina in the Period 2000-2009 Эпидемии трихинеллёза в АК Воеводине в периоде 2000-2009 годах	409
■ Ilić Tamara, Stojanov I., Dimitrijević Sanda: Parazitske infekcije divljih preživara i divljih svinja Parasitic Infections in Wild Ruminants and Wild Boar Паразитарные инфекции диких жвачных и диких свиней.	419
■ Vučinić Marijana, Nedeljković-Trailović Jelena, Trailović S., Ivanović S., Milovanović Mirjana, Krnjaić D.: Karvakrol kao ekološki insekticid i akaricid od značaja za humanu i veterinarsku medicinu Carvacrol Importance in Veterinary and Human Medicine as Ecologic Insecticide and Acaricide Карвакрол как экологический инсектицид и акарицид важный для гуманной и ветеринарной медицины	433

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REVIEW – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

■ Prokić B., Milijević D., Mrvić Verica, Prokić B. B.: Hirurška korekcija polnih organa kuje sa pseudohermafroditizmom Corrective Surgery of External Sexual Organs in Female Pseudo Hermaphrodite Dog Эпизоотологические и клинические характеристики хирургическая коррекция половых органов суки с псевдогермафродитизмом	443
DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE - ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТИ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	451
UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS.	457

KONCENTRACIJA GLUKOZE I ACIDO-BAZNI STATUS KRV VISOKOMLEČNIH KRAVA U USLOVIMA TOPLOTNOG STRESA*

GLUCOSE CONCENTRATION AND BLOOD ACID-BASIS STATUS IN HIGH-YIELDING DAIRY COWS DURING HEAT STRESS

I. Vujanac, Danijela Kirovski, H. Šamanc, R. Prodanović, M. Adamović,
Marija Ignjatović**

Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita uticaj toplotnog stresa na vrednosti glikemije i pH krvi kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se utvrdi da li su promene ovih parametara u takvim uslovima međusobno zavisne. Ogled je izveden na visokomlečnim kravama tokom leta i proleća. Odabrano je četrdeset krava, po dvadeset za oba perioda ispitivanja. Tokom oglada računati su satni toplotni indeksi (THI) za ceo period ispitivanja, a zatim i prosečan dnevni THI, noćnojutarnji THI (prosečna vrednost satnih THI izmerenih u periodu od 22^h prethodnog dana do 10^h ujutro tekućeg dana), kao i dnevno-večernji THI (prosečna vrednost satnih THI izmerenih u periodu od 10^h do 22^h tekućeg dana). U uzorcima krvi uzetim ujutru i posle podne 30, 60. i 90. dana laktacije tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja određivan je pH i koncentracija glukoze. Na osnovu rezultata za THI utvrđeno je da životinje u prolećnom periodu ispitivanja nisu bile izložene delovanju izrazitog toplotnog stresa, dok su tokom leta bile periodično izložene umerenom, ali i izrazitom toplotnom stresu, posebno u poslepodnevnim satima. Iz dobijenih rezultata za pH krvi se može zaključiti da su krave tokom leta bile u respiratornoj alkaloziji 30. dana u jutarnjim i popodnevnim, a 60. i 90. dana laktacije u popodnevnim satima, kao i 90. dana laktacije posle podne tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta nije bilo statistički značajne razlike između pH vrednosti određene u jutarnjim i popodnevnim satima 30. dana laktacije, dok je 60. i 90. dana laktacije popodnevna vrednost za pH bila

* Rad primljen za štampu 11. 07. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, profesor, dr sci. med. vet. Horea Šamanc, profesor, Radiša Prodanović, dr vet. med., asistent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sci. Milan Adamović, naučni savetnik, Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd; Marija Ignjatović, dr vet. med., doktorant, Institut za nuklearne nauke "Vinča", Beograd

značajno veća u odnosu na jutarnju. Nije bilo značajnih razlika između prosečnih vrednosti glikemija tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta prosečne popodnevne vrednosti glikemija 60. i 90. dana laktacije bile su značajno niže u odnosu na jutarnje. Glikemije izmerene 90. dana bile su statistički značajno niže od glikemija 30. i 60. dana laktacije, kako jutarnje tako i poslepodnevne. Glikemija je 90. dana laktacije u letnjem periodu bila značajno niža u odnosu na glikemiju tokom proleća, kako u jutarnjim, tako i u popodnevnim satima. Tokom prolećnog perioda nije bilo značajne korelacije između glikemije i pH krvi, dok je tokom leta postojala negativna korelacija između elektrohe-mijske reakcije krvi i glikemije, a koja je bila značajna samo u po-podnevnim satima. Smanjenje glikemije u popodnevnim satima 60. i 90. dana laktacije u letnjem periodu može se objasniti snažnim utica-jem alkaloze na lučenje insulina, što dovodi do povećanog iskorišća-vanja glukoze u perifernim tkivima, zbog čega se njena koncentracija u krvi tada značajno smanjuje. To je vid prestrojavanja metabolizma u uslovima toplotnog stresa kada organizam prevashodno koristi glu-kozu kao izvor energije u ćelijama jer se njenom oksidacijom oslobađa značajno manje toplotne energije u odnosu na sagorevanje drugih me-tabolita.

Ključne reči: glikemija, krave, pH krvi, toplotni stres

Uvod / Introduction

Stres predstavlja promenjeno stanje organizma koje nastaje pod snažnim uticajem faktora iz spoljašnje sredine koji svojim delovanjem narušavaju aktivnost homeostatskih mehanizama (Yousef, 1985). Poslednjih godina se, zbog globalnog zagrevanja, sve više izučava uticaj toplotnog stresa na proizvodnju, re-produkciju i zdravlje visokomlečnih krava. Toplotni stres kod visokomlečnih krava nastaje pod uticajem snažnog delovanja klimatskih činilaca, pre svega povišene temperature i relativne vlažnosti vazduha. U takvim uslovima u organizmu se pokreću mehanizmi prilagođavanja na svim nivoima, od supćelijskih do organ-skih, u cilju očuvanja stabilnosti unutrašnje sredine (homeostaza) u izmenjenim ambijentalnim uslovima (Shearer i Beede, 1990; Collier i sar., 2006). U slučaju ot-kazivanja adaptacionih sistema dolazi do poremećaja zdravlja i proizvodno-reproduktivnih funkcija životinja. Danas se zna da toplotni stres kod goveda, po-gotovo kod krava u laktaciji, dovodi do smanjenja apetita, smanjenja proizvodnje mleka i poremećaja u reprodukciji (Baumgard i sar., 2006).

Najznačajnije promene u organizmu krave u uslovima toplotnog stre-sa su u metabolizmu elektrolita i acido-baznoj ravnoteži. Naime, poznato je da, u cilju odavanja viška toplotne energije, dolazi do ubrzanog disanja i povećanog

odavanja toplote isparavanjem sa sluzokože gornjih partija organa za disanje (Bianca, 1968). Ubrzano disanje dovodi do pojačanog odavanja ugljen-dioksida u spoljašnju sredinu, čime se smanjuje parcijalni pritisak ugljen-dioksida (pCO_2) u krvi. Posledica toga je povećanje pH krvi. U ranoj fazi toplotnog stresa, nakon kratkotrajnog povećanja pH vrednosti krvi, brzo se aktiviraju kompenzatorni mehanizmi koji su odgovorni za održavanje pH krvi u fiziološkim granicama. U uslovima izrazitog toplotnog stresa, kada visoka ambijentalna temperatura dovodi do porasta telesne temperature, dolazi do dahtanja, čime se uspostavlja drugačiji ritam disanja. Ugljen-dioksid se eliminiše brže nego što se proizvodi, čime se smanjuje pCO_2 , a pH krvi raste. Smanjenje pCO_2 u krvi pokreće mehanizme koji umanjuju izlučivanje kiselih proizvoda putem bubrega, a istovremeno stimuliše proces kompenzatornog izlučivanja HCO_3^- urinom (Vander, 1975). Ranije su Dale i Brody (1954) utvrdili da je u tim uslovima kod krava afinitet krvi za vezivanje CO_2 smanjen. Opadanje afiniteta za vezivanje CO_2 dovodi do porasta pH vrednosti krvi. Stanje organizma koje se karakteriše padom pCO_2 i povećanjem elektrohemijske reakcije krvi naziva se respiratorna alkalozna. Ovo stanje se gotovo uvek može očekivati kod krava izloženih uticaju povišene ambijentalne temperature.

Toplotni stres takođe značajno menja homeostazu glukoze u krvi krava. Korišćenjem testa opterećenja glukozom ustanovljeno je bolje iskorišćavanje glukoze kod krava u uslovima toplotnog stresa, nego kod krava koje su boravile u optimalnim ambijentalnim uslovima (Wheelock i sar., 2006. i 2010). Autori pretpostavljaju da promene u metabolizmu glukoze nastaju na nivou perifernih tkiva (poprečno-prugaste mišićne i masnog tkiva) ili u jetri kao primarnom mestu sinteze glukoze kod preživara. Na osnovu toga može se zaključiti da je kod krava izloženih toplotnom stresu ulazak glukoze u ćelije u potpunosti očuvan, pa čak i pojačan.

Bigner i sar. (1997) su ukazali na mogućnost uticaja pH krvi na sekretornu aktivnost B-ćelija pankreasa kao i na stepen korišćenja glukoze u perifernim tkivima. Naime, oni su pokazali da acidoza krvi dovodi do smanjenja aktivnosti B-ćelija pankreasa, što se može kompenzovati alkalozom posle davanja natrijum bikarbonata.

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj različite spoljašnje temperature na vrednosti glikemije i pH krvi kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se utvrdi da li su promene ovih parametara u takvim uslovima međusobno zavisne.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogled je izveden na visokomlečnim kravama holštajn-frizijske rase na farmi „Mladost“ u Jabučkom Ritu (PKB Korporacija), tokom leta u periodu od 20. juna do 12. septembra 2008. godine, i u proleće u periodu od 20. marta do 10. juna 2009. godine.

Metodom slobodnog izbora za ovaj eksperiment odabrano je četrdeset krava od druge do četvrte laktacije, po dvadeset za oba perioda ispitivanja. Sve životinje uključene u ogled bile su klinički zdrave, što je utvrđeno kliničkim pregledom i uvidom u podatke iz evidencije o zdravstvenom stanju životinja u prethodnim laktacijama. Odabrane životinje su bile u prvoj fazi proizvodno-reproduktivnog ciklusa, odnosno do stotog dana laktacije. Krave su hranjene potpuno izmešanim obrocima (TMR) dva puta dnevno. Seno lucerke u ograničenim količinama je davano kravama pre potpuno izmešanog obroka. Optimizacija obroka za ovu kategoriju životinja vršena je na osnovu dnevne količine proizvedenog mleka. Krave su bile smeštene na vezu u stajama otvorenog tipa.

Tokom izvođenja oglada svakog sata (24^h dnevno) su mereni temperatura i relativna vlažnost vazduha, kao i temperatura suvog i vlažnog termometra. Vrednosti su registrovane u automatskoj stanici Hidrometeorološkog zavoda Republike Srbije, udaljenoj oko 3 km vazdušnom linijom od farme na kojoj su vršena ispitivanja. Na osnovu prikupljenih podataka izračunati su satni toplotni indeksi (THI) za ceo period ispitivanja. Toplotni indeks je računat upotrebom formule $THI = (T_{st} + T_{vt}) \times 0,72 + 40,6$, gde je T_{st} – temperatura suvog termometra, T_{vt} – temperatura vlažnog termometra. Na osnovu dobijenih vrednosti obračunat je prosečan dnevni THI za svaki dan tokom izvođenja oglada. Takođe su prikazane vrednosti za noćnojutarnji THI koji je dobijen određivanjem prosečne vrednosti satnih THI izmerenih u periodu od 22^h prethodnog dana do 10^h ujutro tekućeg dana, kao i za dnevnovečernji THI, koji je dobijen određivanjem prosečne vrednosti satnih THI izmerenih u periodu od 10^h do 22^h tekućeg dana.

Uzorci krvi su uzimani punkcijom vene *jugularis* dva puta dnevno (u 8^h i 15^h) tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja i to 30, 60. i 90. dana laktacije, odnosno na početku, sredinom i na kraju sezone. Za određivanje pH krvi i koncentracije glukoze korišćena je puna krv neposredno nakon uzorkovanja, dok je za određivanje koncentracije glukoze korišćen i krvni serum. Krvni serum je dobijan centrifugiranjem krvi na 3000 obrtaja u minuti tokom petnaest minuta. Dobijeni serum čuvani su na $-20^{\circ}C$.

Uranjanjem specijalne elektrode pH-metra (WTW 330i) u uzorak pune krvi određivana je pH vrednost.

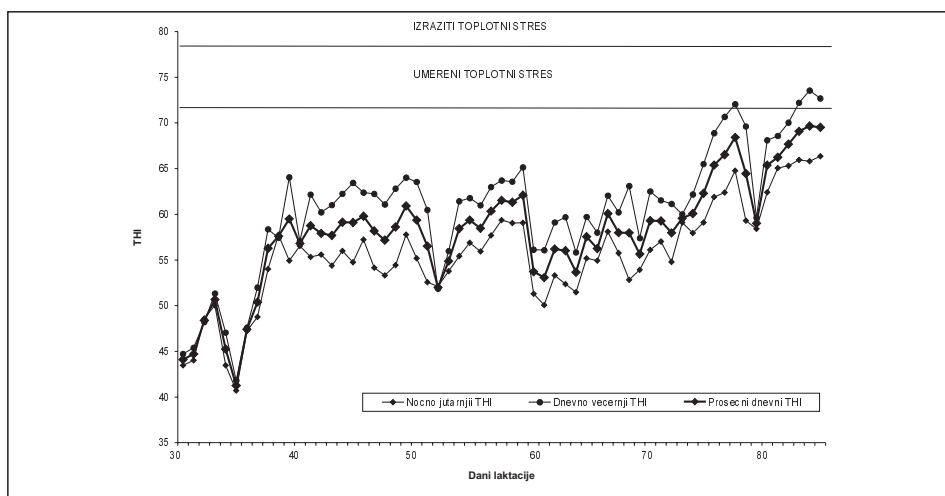
Za određivanje koncentracija glukoze u punoj krvi neposredno nakon uzorkovanja korišćena je enzimska metoda (XceedTM ABBOT laboratory). Za određivanje koncentracije glukoze u krvnom serumu krava korišćen je komercijalni enzimski kolor test, koji se zasniva na oksidaciji glukoze u glukonsku kiselinu pomoću enzima glukozo-oksidade. Intenzitet boje, koja je direktno proporcionalna koncentraciji glukoze u uzorku, meren je na spektrofotometru (Secomam CE, BP 106, France).

Rezultati ispitivanja su predstavljeni grafički i tabelarno, korišćenjem osnovnih parametara deskriptivne statistike. Stepenn značajnosti razlika u srednjim vrednostima procenjen je Studentovim t-testom za stepenn pouzdanosti od

95%, odnosno 99%, dok je stepen korelacije utvrđen Pirsonovim koeficijentom korelacije.

Rezultati / Results

Srednje vrednosti prosečnih dnevnih, kao i večernje-jutarnih i dnevno-večernjih THI tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja date su na grafikonima 1 i 2.



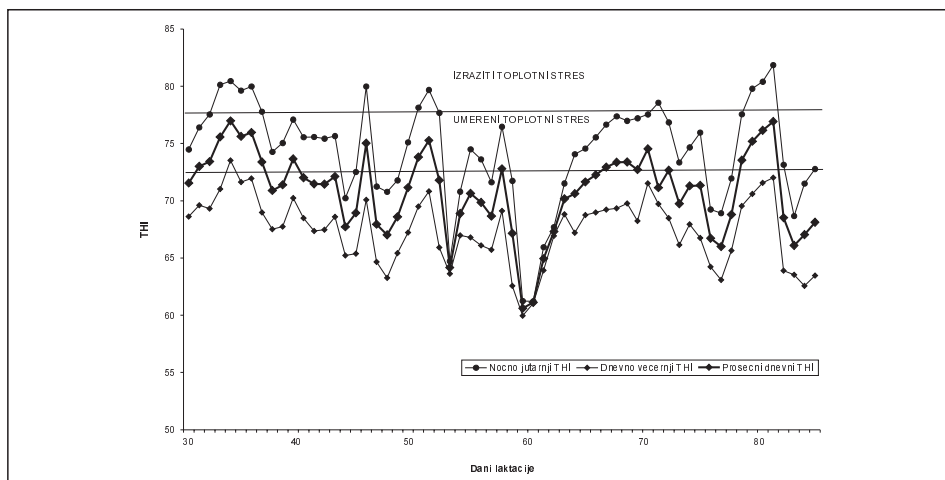
Grafikon 1. Vrednosti THI tokom prolećnog perioda ispitivanja

Graph 1. Values for THI during spring period of investigations

Izraziti toplotni stres – *Extreme heat stress*; Umereni toplotni stres – *Moderate heat stress*; Noćnojutarnji THI – *Nightmorning THI*; Dnevnovečernji THI – *Dailyevening THI*; Prosečni dnevni THI – *Average daily THI*; Dani laktacije – *Day of lactation*

Na grafikonu 1 se zapaža da u prolećnom periodu ispitivanja životinje nisu bile izložene delovanju toplotnog stresa. Prosečni večernjejutarnji THI kretao se u rasponu od 40,72 do 66,35, dok je prosečni dnevnovečernji THI bio od 41,81 do 73,54. Prosečni dnevni THI tokom prolećnog perioda ispitivanja kretao se od 42,64 do 69,75.

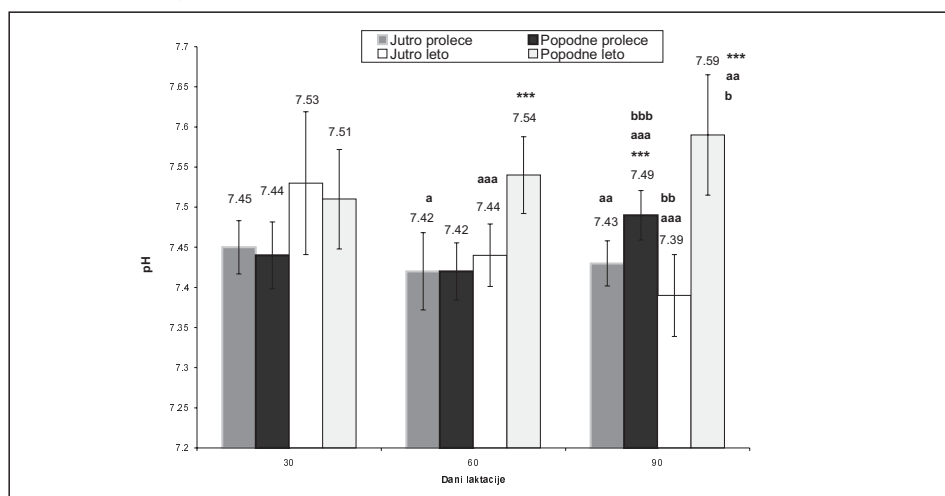
Na grafikonu 2 se zapaža da su životinje u letnjem periodu tokom popodnevničkih časova bile izložene delovanju umerenog, a povremeno i izrazitog toplotnog stresa. Prosečni dvanaestočasovni večernjejutarnji THI za letnji deo oglada kretao se u rasponu od 61,03 do 72,01, dok je prosečni dnevnovečernji THI bio od 61,22 do 81,85. Prosečni dnevni THI tokom letnjeg perioda ispitivanja kretao se od 60,61 do 76,84. Na grafikonu se vidi da su tokom leta u periodu od 21. do 28. jula 2008. godine, odnosno od 61. do 67. dana laktacije, sve vrednosti THI bile niže od 72, odnosno, ogledne životinje nisu ni u jednom delu dana bile izložene toplotnom stresu.



Grafikon 2. Vrednosti THI tokom letnjeg perioda ispitivanja

Graph 2. Values for THI during summer period of investigations

Izraziti toplotni stres – *Extreme heat stress*; Umereni toplotni stres – *Moderate heat stress*; Noćnojutarnji THI – *Nightmorning THI*; Dnevnovečernji THI – *Dailyevening THI*; Prosečni dnevni THI – *Average daily THI*; Dani laktacije – *Day of lactation*



Grafikon 3. Vrednosti elektrohemijske reakcije krvi tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja

Graph 3. Values for electrochemical reaction of blood during spring and summer investigation periods

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost dobijenu u istoj sezoni i istom danu laktacije ujutru; ^{aaa} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu 30. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni; ^b $p < 0,05$ u odnosu na vrednost određenu 60. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni

*** $p < 0,001$ against the value determined during the same season and on the same day of lactation in the morning; ^{aaa} $p < 0,001$ against the value determined on day 30 of lactation during the same time of day and the same season; ^b $p < 0,05$ against the value determined on day 60 of lactation during the same time of day and the same season

Jutro-proleće / *Morning-spring*; Popodne-proleće / *Afternoon-spring*; Jutro-leto / *Morning-summer*; Popodne leto / *Afternoon-summer*; Dani laktacije – *Day of lactation*

Elektrohemijska reakcija krvi u prolećnom i letnjem periodu ispitivanja tokom prepodnevni i poslepodnevni časova prikazana je na grafikonu 3.

Na grafikonu se zapaža da su se prosečne vrednosti pH krvi izmerene u jutarnjim časovima tokom prolećnog perioda značajno smanjivale počevši od 30. dana laktacije. Naime, vrednosti izmerene 60. i 90. dana laktacije bile su značajno niže u odnosu na 30. dan ($p < 0,05$, odnosno $p < 0,01$, pojedinačno). Vrednost izmerena u popodnevni časovima 90. dana laktacije tokom prolećnog perioda ispitivanja bila je značajno veća u odnosu na vrednosti izmerene 30. ($p < 0,001$) i 60. dana laktacije u popodnevni časovima ($p < 0,001$), kao i značajno veća od vrednosti izmerene 90. dana laktacije u jutarnjim časovima ($p < 0,001$). Tokom letnjeg perioda ispitivanja pH krvi u jutarnjim satima se značajno smanjivala od 30. do 90. dana laktacije, dok je u popodnevni satima rasla, pri čemu je porast 90. dana bio značajan u odnosu na 30. ($p < 0,01$) i 60. dan laktacije ($p < 0,05$). Na grafikonu se takođe zapaža da su u letnjem periodu prosečne pH vrednosti krvi u popodnevni časovima bile veće nego u jutarnjim, sa izuzetkom 30. dana laktacije. Ta razlika je bila značajna 60. i 90. dana laktacije ($p < 0,001$, pojedinačno). Veoma je interesantno da se između jutarnje i popodnevne vrednosti pH krvi povećava razlika kako odmiče leto i najveća je 90. dana laktacije. Utvrđena statistička značajnost razlika između prosečnih jutarnjih i popodnevni vrednosti pH krvi 60. i 90. dana laktacije je na nivou $p < 0,001$.

U tabeli 1 je prikazana statistička značajnost razlike između pH vrednosti određene tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja.

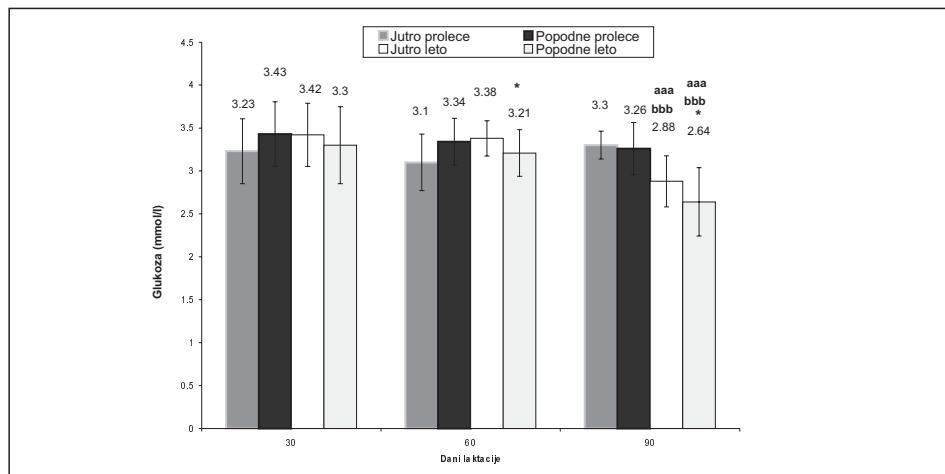
Tabela 1. Statistička značajnost razlike između pH krvi određene tokom letnjeg i prolećnog perioda /

Table 1. Statistical significance of differences between blood pH determined during summer and spring periods

30. dan pre podne / Day 30 morning	30. dan posle podne / Day 30 afternoon	60. dan pre podne / Day 60 morning	60. dan posle podne / Day 60 afternoon	90. dan pre podne / Day 90 morning	90. dan posle podne / Day 90 afternoon
$p < 0,01$	$p < 0,001$	NZ / NS	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$

Poređenjem vrednosti izmerenih u istim periodima laktacije i u istim periodima dana, ali različitim sezonama, utvrđeno je da je pH krvi 30. dana laktacije u prolećnom periodu bila značajno manja u odnosu na leto, i to, kako poređenjem vrednosti izmerenih u jutarnjim ($p < 0,01$), tako i vrednosti izmerenih u popodnevni časovima ($p < 0,001$). Jutarnja vrednost pH krvi 60. dana laktacije u letnjem periodu se nije značajno razlikovala od jutarnje pH vrednosti prolećnog oglada, dok je popodnevna pH vrednost krvi letnjeg oglada bila značajno viša ($p < 0,001$) u odnosu na popodnevnu pH vrednost krvi prolećnog oglada. Jutarnja vrednost pH krvi 90. dana laktacije u letnjem periodu bila je značajno niža ($p < 0,05$) od jutarnje vrednosti pH krvi u prolećnom ogledu, a popodnevna vrednost pH krvi letnjeg oglada bila je značajno viša ($p < 0,001$) u odnosu na popodnevnu vrednost pH krvi prolećnog oglada.

Koncentracija glukoze u krvi krava u prolećnom i letnjem periodu ispitivanja tokom prepodnevni i poslepodnevni časova prikazana je na grafikonu 4.



Grafikon 4. Koncentracija glukoze u krvi tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja

Graph 4. Glucose concentration in blood during spring and summer investigation periods

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost dobijenu u istoj sezoni i istom danu laktacije ujutru; ^{aaa} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu 30. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni; ^b $p < 0,05$ u odnosu na vrednost određenu 60. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni

*** $p < 0,001$ against the value determined in the same season and the same day of lactation in the morning; ^{aaa} $p < 0,001$ against the value determined on day 30 of lactation during the same time of day and the same season; ^b $p < 0,05$ against the value determined on day 60 of lactation during the same time of day and the same season

Jutro-proleće / Morning-spring; Popodne-proleće / Afternoon-spring; Jutro-leto / Morning-summer; Popodne leto / Afternoon-summer; Dani laktacije – Day of lactation

Na grafikonu 4 se zapaža da nije bilo značajnih razlika između prosečnih vrednosti glikemija tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta prosečne popodnevne vrednosti glikemija 60. i 90. dana laktacije bile su značajno manje u odnosu na jutarnje ($p < 0,05$ za oba perioda ispitivanja). Glikemije izmerene 90. dana bile su statistički značajno manje od glikemija 30. i 60. dana laktacije, kako jutarnje ($p < 0,001$, pojedinačno), tako i vrednosti izmerene u popodnevni časovima ($p < 0,001$, pojedinačno).

U tabeli 2 je prikazana statistička značajnost razlike između koncentracija glukoze određenih tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja.

Poređenjem vrednosti izmerenih u istim periodima laktacije i u istim periodima dana, ali različitim sezonama, utvrđeno je da je glikemija 90. dana laktacije u letnjem periodu bila značajno manja u odnosu na glikemiju tokom proleća, kako u jutarnjim ($p < 0,001$), tako i u popodnevni satima ($p < 0,001$).

Tabela 2. Statistička značajnost razlike između koncentracija glukoze određenih tokom letnjeg i prolećnog perioda /

Table 2. Statistical significance of differences between glucose concentration values determined during summer and spring periods

30. dan pre podne / Day 30 morning	30. dan posle podne / Day 30 afternoon	60. dan pre podne / Day 60 morning	60. dan posle podne / Day 60 afternoon	90. dan pre podne / Day 90 morning	90. dan posle podne / Day 90 afternoon
NZ / NS	NZ / NS	NZ / NS	NZ / NS	p<0,001	p<0,001

U tabeli 3 dati su koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracija glukoze u krvi tokom prolećnog perioda ispitivanja.

Tabela 3. Koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracije glukoze u krvi tokom prolećnog perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta

Table 3. Degree of correlation between blood pH values and glucose concentration in blood during spring period of investigations

Period ispitivanja / Period of investigation	Koeficijent korelacije / Correlation coefficient	Stepen signifikantnosti / Degree of significance
30. dan prepodne / Day 30 morning	r = -0,105	NZ / NS
30. dan poslepodne / Day 30 morning	r = -0,200	NZ / NS
60. dan prepodne / Day 60 morning	r = + 0,154	NZ / NS
60. dan poslepodne / Day 60 afternoon	r = + 0,173	NZ / NS
90. dan prepodne / Day 90 morning	r = -0,109	NZ / NS
90. dan poslepodne / Day 90 afternoon	r = -0,379	NZ / NS

Iz tabele se zapaža da nije postojala značajna korelacija između elektrohemijske reakcije krvi i glikemije tokom prolećnog perioda ispitivanja.

U tabeli 4 dati su koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracija glukoze u krvi tokom letnjeg perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta.

Iz tabele se zapaža da je tokom letnjeg perioda postojala negativna korelacija između elektrohemijske reakcije krvi i glikemije, a koja je bila značajna u popodnevrim satima.

Tabela 4. Koeficijent korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracije glukoze u krvi tokom letnjeg perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta /

Table 4. Degree of correlation between blood pH value and glucose concentration in blood during summer period of investigations

Period ispitivanja / Period of investigation	Koeficijent korelacije / Correlation coefficient	Stepen signifikantnosti / Degree of significance
30. dan prepodne / Day 30 morning	$r = -0,368$	NZ / NS
30. dan poslepodne / Day 30 afternoon	$r = -0,496$	$p < 0,05$
60. dan prepodne / Day 60 morning	$r = -0,374$	NZ / NS
60. dan poslepodne / Day 60 afternoon	$r = -0,452$	$p < 0,05$
90. dan prepodne / Day 90 morning	$r = -0,430$	NZ / NS
90. dan poslepodne / Day 90 afternoon	$r = -0,601$	$p < 0,01$

Diskusija / Discussion

Respiratorna alkalozia je jedan od najvažnijih patofizioloških poremećaja, koji nastaje u uslovima toplotnog stresa. Rezultati istraživanja sprovedenih u kontrolisanim uslovima, u termičkim komorama, pokazali su da se pH krvi i urina povećavaju uporedo sa povećanjem temperature u komori (Schneider i sar., 1988). Nasuprot tome, pCO_2 i koncentracija HCO_3^- u krvi progresivno se smanjuju. Ove nalaze su kasnije potvrdili mnogi autori (Baumgard i sar., 2002; 2006; Roads i sar., 2009). Naime, kada se u organizmu visokomlečnih krava u laktaciji proizvodi više toplotne energije i kada je temperatura vazduha viša od $30^\circ C$, oko 15 % viška toplote se oslobađa direktno preko respiratornog trakta (McDowell i sar., 1976), a preostalih 85 % se odaje preko kože isparavanjem (Maia i sar., 2005). Autori smatraju da je povećanje frekvencije disanja jedan od načina odavanja viška toplote. Usled hiperventilacije veoma brzo se narušava kapacitet bikarbonatnog puferskog sistema krvi. Nastala respiratorna alkalozia kompenzuje se preko bubrega, pojačanim izlučivanjem HCO_3^- , ali istovremeno to predstavlja opasnost od nastanka metaboličke acidoze. Respiratorna alkalozia predstavlja samo prolazno stanje u kome se organizam nalazi, ali po svemu sudeći nije jedini poremećaj acido-baznog statusa u uslovima toplotnog stresa.

Rezultati ispitivanja u našem radu pokazali su da pH vrednost krvi manje varira u prolećnom nego u letnjem periodu ispitivanja, izuzev 90. dana laktacije u prolećnom periodu, kada je pH u popodnevrim satima značajno porasla u odnosu na jutarnju vrednost ($p < 0,001$). S druge strane, analizom vrednosti pH krvi u jutarnjim i popodnevrim časovima tokom leta, zapaža se da na početku leta

nije bilo značajne razlike između jutarnjih i večernjih vrednosti, dok je kasnije, kako je leto odmicalo, popodnevna vrednost pH bila značajno veća u odnosu na jutarnju ($p < 0,001$). Najveća numerička razlika između prosečne jutarnje i popodnevne vrednosti pH krvi ustanovljena je na kraju leta ($7,35 \pm 0,051$: $7,59 \pm 0,075$), odnosno 90. dana laktacije. Vrednosti pH određene na početku leta, kada su životinje bile izložene toplotnom stresu samo u popodnevnim časovima (THI = 68,61 u jutranjim, odnosno THI = 74,48 u popodnevnim satima), ukazuju na to da životinje nisu uspele da regulišu acido-baznu ravnotežu i održe pH krvi u fiziološkim granicama, tako da su se tokom celog dana nalazile u stanju respiratorne alkaloze (vrednosti pH su ujutru bile $7,53 \pm 0,089$, odnosno $7,51 \pm 0,062$ posle podne). Na sredini i na kraju leta u jutranjim satima, kada životinje nisu bile izložene toplotnom stresu (THI = 69,11 sredinom leta, odnosno THI = 63,47 na kraju leta), vrednosti pH krvi su se ustalile u granicama fizioloških vrednosti 60. dana laktacije ($7,44 \pm 0,039$), odnosno 90. dana laktacije ($7,39 \pm 0,031$). Nasuprot tome, u popodnevnim satima sredinom i na kraju leta kada su životinje bile izložene toplotnom stresu (THI = 76,46 sredinom leta, odnosno THI = 72,57 na kraju leta), zabeležen je najveći porast pH krvi (60. dana $7,54 \pm 0,048$, odnosno - 90. dana $7,59 \pm 0,075$). Vrednosti pH krvi izmerene posle podne sredinom i na kraju leta ukazuju na to da su se krave tada nalazile u stanju respiratorne alkaloze.

Dobijeni rezultati za pH krvi tokom letnjeg perioda ukazuju na to da se na početku leta, odnosno 30. dana laktacije, krave još uvek nisu adaptirale na uslove toplotnog stresa zbog čega nema brze reakcije regulatornih mehanizama odgovornih za uspostavljanje fiziološke pH krvi u uslovima toplotnog stresa. U takvim okolnostima pH vrednosti krvi tokom dana neznatno variraju i ukazuju na stanje respiratorne alkaloze. Kasnije, kako leto odmiče i životinje svakodnevno, ali samo u popodnevnim časovima, bivaju izložene toplotnom stresu, životinje se sve bolje prilagođavaju, tako da su vrednosti pH krvi u jutarnjim časovima skoro iste kao i u prolećnom delu ispitivanja.

Najnovija ispitivanja su pokazala da se metabolički profil krava koje su izložene toplotnom stresu bitno razlikuje od metaboličkog profila krava koje se drže u optimalnim ambijentalnim uslovima, naročito na početku laktacije, odnosno u uslovima negativnog bilansa energije (Wheelock i sar., 2006; Shwartz i sar., 2009; Roads i sar., 2009). Naime, kada su krave u stanju fiziološkog negativnog bilansa energije (NEB) kao na početku laktacije, dolazi do značajnog povećanja koncentracije viših masnih kiselina u krvi (Bauman i Currie 1980; Bell, 1995). Ovo povećanje, koje je posledica lipomobilizacije neophodne, da bi jedinka obezbedila ododatni izvor energije, istovremeno omogućava korišćenje glukoze prevashodno za sintezu laktoze mleka a ne kao izvor energije u perifernim tkivima (Bauman i Currie 1980; Bell, 1995). Kod krava u uslovima toplotnog stresa takođe nastaje negativan bilans energije, ali je kod njih koncentracija viših masnih kiselina u krvi niža nego kod jedinki koje nisu izložene toplotnom stresu (Rhoads i sar., 2009). Ovo ukazuje na to da toplotni stres direktno utiče na korišćenje prekursora za zadovoljavanje energetske potrebe u uslovima NEB-a

kod krava. Naime, Baumgard i Rhoads (2007) su postavili hipotezu prema kojoj se visokomlečne krave prilagođavaju uslovima toplotnog stresa tako što se umesto β -oksidacije masnih kiselina intenzivira oksidacija glukoze, jer se u tom procesu oslobađa značajno manje toplotne energije.

Poznato je da kod krava u laktaciji, kada nastane deficit energije (usled nedovoljne konzumacije hrane), smanjuje se koncentracija insulina u krvi i osetljivost perifernih tkiva na njegovo delovanje (Bauman i Currie, 1980; Bauman, 1999). Insulinemija je veoma niska kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, sve dok se ne uspostavi energetska ravnoteža. U tom periodu je najveća razlika između koncentracija somatotropnog hormona i insulina u krvnoj plazmi, što jasno pokazuje da su regulatorni mehanizmi podešeni tako da se omogući optimalno korišćenje energetske prekursora, masnih kiselina, iz telesnih depoa.

Wheelock i sar., (2006, 2010) su kod krava koje su bile izložene toplotnom stresu utvrdili da je koncentracija insulina u periodu NEB-a bila značajno veća u odnosu na krave držane u optimalnim ambijentalnim uslovima. Autori su pretpostavili da visoka insulinemija sprečava intenzivnu lipomobilizaciju na početku laktacije i tako ne dovodi do značajnog porasta koncentracije masnih kiselina u krvi krava koje su izložene toplotnom stresu. S obzirom na snažno antilipolitičko delovanje insulina, može se pretpostaviti da je povećanje njegove koncentracije u krvi način da se u uslovima toplotnog stresa kao izvor energije koristi glukoza, a ne masne kiseline (Wheelock i sar., 2010).

Bigner i sar. (1997) su ustanovili da pH krvi utiče na sekretornu aktivnost B-ćelija endokrinog pankreasa. Na osnovu toga se može pretpostaviti da respiratorna alkalozia, koja se javlja u popodnevnom časa tokom letnjeg perioda, utiče na insulinemiju, a time i na koncentraciju glukoze u krvi. Naime, sredinom i na kraju letnjeg perioda kada su životinje bile izložene toplotnom stresu samo u popodnevnom satima ustanovljen je najveći porast pH krvi i značajan pad koncentracije glukoze u krvi kako u odnosu na vrednosti određene u prepodnevnom satima u istom danu ($p < 0,05$ sredinom i na kraju leta), tako i na vrednosti određene 30. dana laktacije ($p < 0,001$ na kraju leta). Takođe, glikemija izmerena na kraju leta u jutarnjim satima je bila značajno niža u odnosu na jutarnju vrednost određenu na početku leta ($p < 0,001$) odnosno sredinom leta ($p < 0,001$). To može jasno da ukaže na to da, kako su životinje duže izložene toplotnom stresu, glukoza se sve više koristi u perifernim tkivima za energetske potrebe organizma. Izostanak značajnog smanjenja koncentracije glukoze u krvi na početku leta može da ukaže na to da tada još uvek nije došlo do takvog prestrojanja metabolizma kada krave izložene toplotnom stresu, odnosno respiratornoj alkaloziji, koriste prevashodno glukozu kao izvor energije. Ovo potvrđuje i činjenica da u u prolećnom periodu ispitivanja 90. dana laktacije poslepodne, kada je ustanovljeno značajno povećanje pH u odnosu na jutarnju vrednost istog dana ($p < 0,001$) odnosno vrednost određenu popodne 30. dana ($p < 0,001$) i 60. dana laktacije ($p < 0,001$), nije došlo do značajnog pada glikemije u odnosu na jutarnju vrednost određenu istog dana.

Zaključak / Conclusion

Tokom letnjeg perioda, pogotovo u popodnevnom časovima, kod visokomlečnih krava u uslovima toplotnog stresa nastaje respiratorna alkalozna. Povećanje vrednosti pH krvi kod krava u uslovima povišene spoljašnje temperature praćeno je smanjenjem glikemije, najverovatnije kao posledica stimulativnog uticaja alkalozne na funkciju B-ćelija endokrinog pankreasa. Povišena insulinemija ima za posledicu pojačano korišćenje glukoze za energetske potrebe organizma, jer se oksidacijom glukoze oslobađa mnogo manje toplotne energije nego kada se koriste drugi energetski izvori. Ovakvo energetsko prestrukturiranje predstavlja jedan od bitnijih mehanizama adaptacije visokomlečnih krava na uslove toplotnog stresa.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran iz sredstava Projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj broj 31003 pod nazivom: „Razvoj proizvoda na bazi mineralnih i organskih sirovina u cilju proizvodnje bezbedne hrane, održivog razvoja i zaštite životne sredine“

Literatura / References

1. Bauman DE. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application, *Domest Anim Endocrinology* 1999; 17: 101-16.
2. Bauman DE, Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 1980; 63: 1514-29.
3. Baumgard LH, Rhoads RP. The effects of hyperthermia on nutrient partitioning. 69th Proc Cornell Nutr Conf, Cornell University, Ithaca, NY, 93-104, 2007.
4. Baumgard LH, Moore CE, Bauman DE. Potential application of conjugated linoleic acids in nutrient partitioning. *Proc Southwest Nutr Conf* 2002; 127-41.
5. Baumgard LH, Odens LJ, Kay JK, Rhoads RP, Van Baale MJ Collier RJ. Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation? *Proc Southwest Nutr Conf* 2006; 181-87.
6. Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci* 1995; 73, 2804-19.
7. Bianca W. Thermoregulation, *Adaptation of Domestic Animals*, Hafez ESE, ed Lea and Febiger, Philadelphia, PA, 97-118, 1968.
8. Bigner DR, Goff JP, Faust MA, Burton JL, Tyler HD, Horst RL. Acidosis effects on insulin respons during glucose tolerance test in Jersey cows. *J Dairy Sci* 1996; 79: 2182-8.
9. Collier RJ, Dahl GE, VanBaale MJ. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1244-53.
10. Dale HE, Brody S. Thermal stress and acid-base balance in dairy cattle. *Univ Missouri Agric Exp Stat Res Bull* 1954; 562.
11. Maia ASC, daSilva RG, Battiston Loureiro CM. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. *International Journal of Biometeorology* 2005; 50, 17-22.

12. McDowell RE, Hooven NW, Camoens JK. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *J Dairy Sci* 1976; 59: 965-73.
13. Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I, Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J Dairy Sci* 2009; 92: 1986-97.
14. Schneider PL, Beede DK, Wilcox CJ. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J Anim Sci* 1988; 66: 112-25.
15. Shearer JK, Beede DK. Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. *Agri-Practice* 1990; 11: 5-17.
16. Shwartz G, Rhoads ML, VanBaale MJ, Rhoads RP, Baumgard LH. Effects of a supplemental yeast culture on heatstressed lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2009; 92: 935-42.
17. Vander AJ. Renal physiology, McGraw-Hill, Inc, New York, NY Page 100, 1975.
18. Wheelock JB, Rhoads RP, VanBaale MJ, Sanders SR, Baumgard LH. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2010; 93: 644-55.
19. Wheelock JB, Sanders SR, Shwartz G, Hernandez LL, Baker SH, McFadden JW, Odens LJ, Burgos R, Hartman SR, Johnson RM, Jones BE, Collier RJ, Rhoads RP, VanBaale MJ, Baumgard LH. Effects of heat stress and rbST on production parameters and glucose homeostasis. *J Dairy Sci* 2006; 89(Suppl.1): 290-1, Abstract.
20. Yousef MK. In: Basic Principles, Stress Physiology in Effect of heat Livestock. CRC Press. Boca Raton FL 1985; 1.

ENGLISH

**GLUCOSE CONCENTRATION AND BLOOD ACID-BASIS STATUS IN
HIGH-YIELDING DAIRY COWS DURING HEAT STRESS**

**I. Vujanac, Danijela Kirovski, H. Šamanc, R. Prodanović, M. Adamović,
Marija Ignjatović**

The objective of this work was to examine the effect of heat stress on glucose and pH values in blood of high-yielding dairy cows in the early stage of lactation, as well as to determine whether the changes in these parameters are interdependent under such conditions. An experiment was performed on high-yielding dairy cows during the summer and the spring periods. Forty cows were selected, twenty each for the two periods under investigation. In the course of the experiment, the temperature humidity index (THI) was determined for the entire period of investigations, and then also the average daily THI, night-morning THI (average value of hourly THI measured from 22^h on the previous day until 10^h of the current day), as well as the day-night THI (average value of hourly THI measured during the period from 10^h to 22^h of the current day). The pH and glucose concentration were determined in blood samples taken in the morning and afternoon of days 30, 60, and 90 of lactation during the spring and summer periods of the investigations. Based on the results for the THI, it was established that the animals were not exposed to the effect of extreme heat stress during the spring period of investigations, while they were periodically exposed

to moderate but also extreme heat stress during the summer, in particular in the afternoon hours. It can be concluded from the results obtained for the blood pH that the cows were in respiratory alkalosis during the summer in the morning and afternoon hours on day 30, in the afternoon hours of days 60 and 90 of lactation, as well as in the afternoon on day 90 of lactation during the spring period of investigations. During the summer period, there were no statistically significant differences between the pH value determined in the morning and afternoon hours on day 30 of lactation, while the pH value was significantly higher in the afternoon hours than in the morning hours on days 60 and 90 of lactation. There were no significant differences between the average values for glucose during the spring period of investigations. During the summer, the average afternoon values for glucose on days 60 and 90 of lactation were significantly lower against the morning values. Glucose concentration measured on day 90 was statistically significantly lower than those for days 30 and 60 of lactation, both in the morning and in the afternoon. Glucose concentration on day 90 of lactation during the summer period was significantly lower against glucose concentration during the spring, both in the morning and in the afternoon hours. During the spring period, there was no significant correlation between blood glucemia and pH, while there was a negative correlation between the electrochemical reaction of blood and glucemia during the summer, but which was significant only in the afternoon hours. The decrease in glucemia in the afternoon hours of days 60 and 90 of lactation during the summer period can be explained by the strong influence of alkalosis on insulin secretion that leads to the increased utilization of glucose in peripheral tissues, which is why its concentration in blood is significantly decreased at that time. This is a form of the metabolism shifting under conditions of heat stress, when it uses glucose predominantly as a source of energy in the cells, as its oxidation releases significantly less heat energy in comparison with the combustion of other metabolites.

Key words: cows, heat stress, glucemia, blood pH

РУССКИЙ

КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЛЮКОЗЫ И АЦИДО-БАЗИСНЫЙ СТАТУС КРОВИ ВЫСОКОМОЛОЧНЫХ КОРОВ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА

И. Вуянац, Даниела Кировски, Х. Шаманц, Р. Проданович, М. Адамович,
Мария Игнатович

Цель этой работы была испытать влияние теплового стресса на стоимости гликемии и pH крови у высокомолочных коров в ранней фазе лактации, словно и утвердить ли изменения этих параметров в таких условиях междусобно зависимые. Опыт выведен на высокомолочных коровах в течение лета и весны. Отобрано сорок коров, по двадцати за оба периода испытания. В течение выведения опыта рассчитываны "часовые" тепловые индексы (ЧТИ) за целый период испытания, а затем и средний дневной ЧТИ, ночью-утренний ЧТИ (средняя стоимость часовых ЧТИ, измеренных в периоде от 22 ч. предыдущего дня до 10 ч. утром текущего дня, словно и дневно-вечерний ЧТИ (средняя стоимость часовых ЧТИ, измеренных в периоде от 10 ч. до 22 ч. текущего дня). В образчиках крови, взятых утром и после полудня 30, 60 и 90 дней лактации в течение весеннего и летнего периода испытания определяван pH и концентрация глюкозы. На основе результата для ЧТИ ут-

верждено, что животные в весеннем периоде испытания не были подвергнуты воздействию выразительного теплового стресса, пока в течение лета были периодически подвергнуты умеренному, но и выразительному тепловому стрессу, особенно в послеполуденных часах. Из полученных результатов за *pH* крови можно сделать вывод, что коровы в течение лета были в респираторном алкалозе 30 дней в утренних и послеполуденных, а 60 и 90 дней лактации в послеполуденных часах, словно и 90 дней лактации после полудня в течение весеннего периода испытания. В течение лета не было статистически значительной разницы между *pH* стоимостью, определенной в утренних и послеполуденных часах 30 дней лактации, пока 60 и 90 дней лактации послеполуденная стоимость за *pH* была значительно больше в отношении утренней. Не было значительных разниц между средними стоимостями гликемий в течение весеннего периода испытания. В течение лета средние послеполуденные стоимости гликемий 60 и 90 дней лактации были значительно ниже в отношении утренних. Гликемии, измеренные 90 дней были статистически значительно ниже гликемий 30 и 60 дней лактации, как утренней, так и после полуденной. Гликемия 90 дней лактации в летнем периоде была значительно ниже в отношении гликемии в течение весны, как в утренних, так и в послеполуденных часах. В течение весеннего периода не было значительной корреляции между гликемией и *pH* крови, пока в течение лета существовала отрицательная корреляция между электрохимической реакцией крови и гликемией, а которая была значительная только в послеполуденных часах. Уменьшение гликемии в послеполуденных часах 60 и 90 дней лактации в летнем периоде можно объяснить сильным влиянием алкалоза на излучение инсулина, приводящий до увеличенного использования глюкозы в периферических тканях, из-за чего её концентрация в крови тогда значительно уменьшается. Это видоизменение метаболизма в условиях теплового стресса, когда организм превосходно пользует глюкозу как источник энмергии в клетках ибо её окислением освобождается значительно меньше тепловой энергии в отношении сгорания других метаболитов.

Ключевые слова: коровы, тепловой стресс, гликемия, *pH* коровы

**CRVENA KRVNA SLIKA U MLEČNIH KRAVA TOKOM
PERIPARTALNOG I RANOG LAKTACIONOG PERIODA***
*RED BLOOD COUNT IN DAIRY COWS IN PERIPARTURIENT PERIOD
AND IN EARLY LACTATION*

Vesna Davidović, Mirjana Joksimović Todorović, S. Hristov, B. Stanković**

U radu su prikazani rezultati ispitivanja crvene krvne slike mlečnih krava u peripartalnom periodu i ranoj fazi laktacije, tokom kojih su krave u stanju izrazitog stresa zbog intenzivnih endokrinih i metaboličkih promena. Istraživanja su obavljena na 20 krava holštajn-frizijske rase koje su bile u različitim fazama laktacije, od druge do pete. Uzorci krvi su uzeti 15 dana pre teljenja, prvog dana po partusu (2-5h) i 15, 30. i 45. dana laktacije. Najveći prosečan broj eritrocita ($7,00 \pm 0,48 \times 10^{12}/L$ krvi), koncentracija hemoglobina ($115,95 \pm 8,49$ g/L krvi) i hematokritska vrednost ($33,11 \pm 2,97\%$) utvrđeni su prvog dana po partusu. Ova vrednost broja eritrocita je bila značajno veća u odnosu na vrednosti zabeležene poslednje dve nedelje graviditeta ($p < 0,01$) i tokom rane faze laktacije ($p < 0,001$). Koncentracija hemoglobina i hematokrit u prepartalnom periodu i neposredno nakon teljenja su bili statistički značajno veći ($p < 0,001$) nego 15, 30. i 45. dana laktacije. Hematološki indeksi – prosečna zapremina eritrocita (MCV), prosečna vrednost hemoglobina u eritrocitima (MCH) i prosečna koncentracija hemoglobina u eritrocitima (MCHC), bili su u granicama referentnih vrednosti. Prvog dana partusa brzina sedimentacije eritrocita je bila značajno veća nego u ranoj laktaciji ($p < 0,01$ 15. i 30. dana i $p < 0,001$ 45. dana). Rezultati analiza ukazali su na smanjenje vrednosti svih ispitivanih hematoloških parametara tokom laktacionog perioda, pri čemu utvrđene razlike nisu bile signifikantne.

Ključne reči: krave, crvena krvna slika, peripartalni i laktacioni period

* Rad primljen za štampu 14. 07. 2011. godine

** Mr sci. med. vet. Vesna Davidović, asistent, dr sci. med. vet. Mirjana Joksimović Todorović, redovni profesor, dr sci. med. vet. Slavča Hristov, mr sci. med. vet. Branislav Stanković, asistent, Poljoprivredni fakultet, Zemun, Univerzitet u Beogradu

Uvod / Introduction

U savremenoj govedarskoj proizvodnji je od velikog značaja ispitivanje metaboličkog profila, odnosno određenih hematoloških i biohemijskih parametara krvi kao indikatora fiziološkog, metaboličkog i kliničkog stanja i hranidbenog statusa mlečnih krava. Promene ovih vrednosti mogu ukazati na određene patološke procese, metaboličke poremećaje i smanjenje odbrambenih sposobnosti organizma, koji negativno utiču na proizvodnu i reproduktivnu sposobnost krava, što dovodi do ekonomskih gubitaka u zapatu (Sattar i Mirza, 2009).

Na sastav krvi pored sezone, ishrane, uzrasta, pola, rase, telesnog napezavanja, proizvodnih sposobnosti (mlečna ili tovna grla) i zdravstvenog stanja jedinki, utiču i graviditet i faza laktacije (Randhawa i sar., 2009; Mirzadeh i sar., 2010). Ispitivanjem promena vrednosti parametara krvi moguće je pratiti zdravstveno stanje mlečnih krava kako na individualnom, tako i na nivou stada (Kumar i Pachauri, 2000; LeBlanc i sar., 2006). Određivanje hematokritske vrednosti i koncentracije hemoglobina na nivou stada preporučuje se kod česte pojave laminitisa, neplodnosti, mlečne groznice i zadržavanja posteljice (Ishler, 2011).

Peripartalni period, odnosno period tranzicije kod mlečnih krava obuhvata vreme od tri nedelje pre i tri nedelje posle partusa. Ovaj prelazni period i rana laktacija su najkritičniji u proizvodno-reproduktivnom ciklusu, jer su krave u stanju izrazitog stresa zbog intenzivnih endokrinih i metaboličkih promena koje prate teljenje i pokretanje laktacije (Grummer i sar., 2004). Prvih nekoliko nedelja nakon partusa mogu se razviti bolesti vezane za poremećaje metabolizma, funkcije digestivnog i reproduktivnog sistema, kao i infekcije mlečne žlezde i smanjenje imunske aktivnosti (Curtis i sar., 1985). Kod visokomlečnih krava, 2–3 nedelje posle partusa moguća je pojava idiopatske hemolitičke anemije koju karakterišu pu-erperalna hemoglobinemija i hemoglobinurija, sa smanjenjem broja eritrocita i do $2 \times 10^{12}/L$. Promene hematoloških vrednosti mogu ukazati na jedinke sa većim rizikom za nastanak metaboličkih i reproduktivnih poremećaja, koji negativno utiču na proizvodne i reproduktivne rezultate, dovode do skraćanja proizvodnog veka i smanjenja proizvodnje mleka kod mlečnih krava (Barnoun i sar., 1997; LeBlanc i sar., 2005).

Tokom rasta, graviditeta i laktacionog perioda javljaju se dinamične fiziološke promene vrednosti svih hematoloških i biohemijskih sastojaka krvi koje ne ukazuju uvek na oboljenje, ali odražavaju fiziološke varijacije. Broj eritrocita, vrednosti hematokrita i koncentracije hemoglobina niske su u peripartalnom periodu, smanjuju se posle porođaja do 3. ili 4. meseca laktacije, a zatim se ponovo povećavaju (Junid i Krad, 1987; Galip i sar., 2002). U toku poslednjih nekoliko nedelja graviditeta mlečna žlezda se priprema za laktogenezu i povećavaju se potrebe fetusa, što uz smanjen unos hrane može dovesti do nutritivnog deficita koji rezultira smanjenjem broja eritrocita i hematokritske vrednosti (Kumar i Pachauri, 2000). Smanjenje ovih vrednosti u periodu kasnog graviditeta nastaje i kao posledica hemodilucije usled povećanja volumena plazme (Mbassa i

Poulsen, 1991; Sattar and Mirza, 2009), pri čemu se smanjuje viskozitet krvi i povećava protok krvi u placentalnim krvnim sudovima, a time poboljšava snabdevanje fetusa nutrijentima i kiseonikom (Guyton i Hall, 1996). Najviše vrednosti svih parametara crvene krvne slike zabeležene su na dan partusa (Jain, 1993; Klinkon i Zadnik, 1999), a kao mogući razlog za to navodi se gubitak plodove vode i prestanak uzimanja vode za vreme partusa.

Sa povećanjem proizvodnje mleka kod krava se javlja tendencija smanjenja broja eritrocita, koncentracije hemoglobina (Kumar i Pachauri, 2000) i hematokrita (Eppard i sar., 1997; Randhawa i sar., 2009). Niže vrednosti parametara crvene krvne slike kod visokomlečnih krava izražene su u periodu laktacije naročito zimi, kada se kod nekih krava može pojaviti anemija (Jain, 1993).

Cilj ovog istraživanja bio je da se ispituju promene parametara crvene krvne slike i brzina sedimentacije eritrocita kod mlečnih krava tokom peripartalnog i ranog laktacionog perioda.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogled je izveden na jednoj farmi u Srbiji kapaciteta oko 2000 grla, na 20 krava holštajn-frizijske rase u prelaznim fazama proizvodno-reproduktivnog ciklusa. Krave odabrane za ispitivanje crvene krvne slike su bile u fazi od druge do pete laktacije. Krv je uzorkovana iz v. jugularis grla u visokoj steonosti (15 dana pre očekivanog termina teljenja), prvog dana po partusu i u ranoj laktaciji (15., 30. i 45. dana laktacije). Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina (Hb), vrednost hematokrita (Ht) i hematoloških indeksa (MCV, MCH i MCHC) određivani su pomoću automatskog hematološkog analizatora Arcus Diatron® (GmbH Wien, Austria). Brzina sedimentacije eritrocita očitavana je na kompletu za određivanje sedimentacije „SEDISPEKT“.

Testiranje značajnosti ustanovljenih razlika između srednjih vrednosti ispitivanih hematoloških parametara izvršeno je Studentovim t-testom.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Rezultati ispitivanja vrednosti parametara crvene krvne loze – broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i vrednosti hematokrita, u krvi krava holštajn frizijske rase u toku peripartalnog i ranog laktacionog perioda prikazani su u tabeli 1.

Najveći prosečan broj eritrocita utvrđen je 1. dana po partusu ($7,00 \pm 0,48 \times 10^{12}/L$ krvi). Ova vrednost bila je značajno veća u odnosu na broj eritrocita zabeležen poslednje dve nedelje graviditeta ($p < 0,01$) i tokom ranog laktacionog perioda ($p < 0,001$). Utvrđen je statistički značajno veći broj eritrocita u prepartalnom periodu u odnosu na 15. i 30. dan laktacije ($p < 0,001$) i 45. dan laktacije ($p < 0,01$), dok razlike u toku laktacionog perioda nisu bile značajne. Prosečna vrednost koncentracije hemoglobina ispitivanih grla kretala se od $115,95 \pm$

8,49 g/L na dan teljenja do $95,25 \pm 8,52$ g/L 30. dana laktacije. Smanjenje koncentracije hemoglobina tokom ranog laktacionog perioda je bilo statistički značajno u odnosu na prepartalni period i 1. dan partusa ($p < 0,001$). Razlike nisu bile signifikantne između ovih vrednosti 2 nedelje pre i na dan partusa, kao i tokom laktacionog perioda, osim između vrednosti zabeleženih 15. i 30. dana laktacije ($p < 0,01$). Prosečne hematokritske vrednosti poslednje 2 nedelje graviditeta i neposredno nakon teljenja bile su statistički značajno veće na nivou značajnosti $p < 0,001$ u odnosu na vrednosti zabeležene 15, 30. i 45. dana laktacije, dok razlike hematokrita u toku laktacionog perioda nisu bile signifikantne.

Tabela 1. Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i vrednost hematokrita /
Table 1. Number of erythrocytes, haemoglobin concentration and haematocrit value

Grupa krava / Group of cows		Broj eritrocita / Number of erythrocytes ($10^{12}/L$)	Koncentracija hemoglobina / Haemoglobin concentration (g/L)	Vrednost hematokrita / Haematocrit value (%)
15 dana pre partusa / 15 days before parturition	$\bar{x}$	6,42	111,90	32,56
	SD	0,51	6,94	2,71
1. dan po partusu / First day postpartum	$\bar{x}$	7,00	115,95	33,11
	SD	0,48	8,49	2,97
15. dan laktacije / Day 15 of lactation	$\bar{x}$	5,59	103,85	26,64
	SD	0,66	7,52	4,25
30. dan laktacije / Day 30 of lactation	$\bar{x}$	5,60	95,25	24,67
	SD	0,72	8,52	3,49
45. dan laktacije / Day 45 of lactation	$\bar{x}$	5,88	99,20	25,22
	SD	0,61	12,98	3,60

Svi ispitivani hematološki parametri bili su u granicama referentnih vrednosti i u saglasnosti sa rezultatima koje je utvrdio Kramer (2000). Međutim, rezultati istraživanja većeg broja autora se razlikuju u pogledu promene vrednosti parametara crvene krvne slike kod mlečnih krava tokom graviditeta i laktacionog perioda. Stirnimann i sar. (1974) su utvrdili da se broj eritrocita smanjuje linearno od inseminacija do nekoliko nedelja pre teljenja i da između stadijuma graviditeta i broja eritrocita postoji značajna negativna korelacija. Istraživanja koja su izveli Pomsel (1980) i Sattar i Mirza (2009) ukazuju na to da se broj eritrocita postepeno smanjuje od 6. nedelje graviditeta do porođaja, kada se blago povećava, i da se povećanje nastavlja i tokom perioda posle teljenja. Galip i sar. (2002) su takođe zabeležili niže vrednosti broja eritrocita u periodu zasušenja nego tokom laktacionog perioda od 48. do 180. dana laktacije. Najviše vrednosti broja eritrocita zabeležene su na dan partusa i to 3–5 h posle teljenja (Junid i Krad, 1987) i 1 h nakon partusa (Klinkon i Zadnik, 1999) što je u skladu sa našim ispitivanjima, kao i rezul-

tati Gāvana i sar. (2010) koji su utvrdili da je broj eritrocita niži u toku prve tri nedelje laktacije u odnosu na vrednosti zabeležene 1 mesec pre partusa i 2–4 meseca nakon partusa.

Veći broj autora (Pomsel, 1980; Steinhardt i sar. 1994; Mirzadeh i sar., 2010) je naveo statistički značajno smanjenje koncentracije hemoglobina u 6. i 7. mesecu graviditeta sa blagim povećanjem u peripartalnom periodu. Hemodilucija bez smanjenja koncentracije hemoglobina u periodu kasnog graviditeta važna je jer difuzija kiseonika iz krvi majke u krvotok fetusa zavisi od razlike u parcijalnom pritisku (Guyton i Hall, 1996), tako da bi značajan pad koncentracije hemoglobina u krvi majke mogao da izazove smanjenje u snabdevanju fetusa kiseonikom. Pomsel (1980) je utvrdio blago povećanje hematokritske vrednosti od 4. meseca graviditeta do teljenja, dok istraživanja koja su izveli Sattar i Mirza (2009) ukazuju na smanjenje hematokrita u periodu kasnog graviditeta. Za razliku od ovih autora, Rajora i Pachauri (1994) nisu utvrdili značajne razlike u vrednosti hematokrita tokom peripartalnog perioda. Najveće vrednosti koncentracije hemoglobina i hematokrita na dan partusa zabeležili su Klinkon (1993) i Klinkon i Zadnik (1999), što je u skladu sa našim rezultatima. Isti autori su utvrdili da niže vrednosti svih parametara crvene krvne slike imaju krave do 4. dana posle porođaja u odnosu na period od 10. dana pre porođaja. Takođe, slično našim istraživanjima, Randhawa i sar. (2009) navode da su vrednosti hemoglobina i hematokrita niže tokom ranog laktacionog perioda u odnosu na period zasušenja. El Nouty i sar. (1986) smatraju da smanjenje vrednosti hemoglobina sa povećanjem proizvodnje mleka nastaje zbog povećane potrebe tkiva mlečne žlezde za hemoglobinom u procesu sinteze mleka i većeg protoka krvi kroz mlečnu žlezu. Klinkon (1993) i Sattar i Mirza (2009) su potvrdili da se sa rastom mlečnosti krava smanjuje koncentracija hemoglobina, ali da se istovremeno povećava broj eritrocita i vrednost hematokrita, jer se ubrzanom eritropoezom i proizvodnjom većeg broja manjih eritrocita kompenzuju nedostatak hemoglobina i hipoksija. Takođe su i Gāvan i sar. (2010) utvrdili da su vrednosti hemoglobina i hematokrita veće mesec dana pre partusa nego kod tek oteljenih krava i u toku prve tri nedelje laktacije kada se smanjuju ispod nivoa referentnih vrednosti, a povećavaju se od 40. do 120. dana laktacije. Statistički značajno povećanje vrednosti koncentracije hemoglobina i hematokrita od 48. do 180. dana laktacije i veće vrednosti u odnosu na period zasušenja zabeležili su Galip i sar. (2002). O niskoj vrednosti hematokrita na vrhuncu laktacije, a visokoj krajem laktacionog perioda izveštavaju Doornenbal i sar. (1988). Uzrok sekvencijalnih promena vrednosti parametara crvene krvne slike kod mlečnih krava u različitim fazama laktacije još uvek nije dovoljno poznat. Negativan energetski i proteinski bilans u ranoj laktaciji može uzrokovati blago smanjenje ovih vrednosti. Kada se krave prilagode metaboličkim zahtevima laktacije i oporave od zahteva kasnog graviditeta, dolazi do povećanja broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita. Međutim, povećanje vrednosti ovih parametara nakon 3. ili 4. meseca laktacije može biti odloženo, ukoliko su u ishrani proteini ne-

adekvatno zastupljeni, jer je ograničena proizvodnja eritropoetina (Manston i sar., 1975).

Srednje vrednosti brzine sedimentacije eritrocita posle 1 h i 2 h prvog dana po partusu i u toku ranog laktacionog perioda mlečnih krava prikazane su u tabeli 2.

Tabela 2. Brzina sedimentacije eritrocita posle 1 h i 2 h /
Table 2. Erythrocytes sedimentation rate after 1hr and 2hr

Grupa krava / Group of cows		Sedimentacija posle 1 h / Sedimentation after 1hr (mm/1h)	Sedimentacija posle 2 h / Sedimentation after 2hr (mm/2h)
1. dan po partusu / First day postpartum	$\bar{x}$	2,64	5,83
	SD	1,53	3,96
15. dan laktacije / Day 15 of lactation	$\bar{x}$	1,44	3,00
	SD	0,51	1,50
30. dan laktacije / Day 30 of lactation	$\bar{x}$	1,33	2,67
	SD	0,49	0,97
45. dan laktacije / Day 45 of lactation	$\bar{x}$	1,22	2,44
	SD	0,43	0,86

Srednja vrednost brzine sedimentacije na dan teljenja iznosila je za 1 h $2,64 \pm 1,53$ mm/h i bila je niža u odnosu na vrednost određenu za 2 h ($5,83 \pm 3,96$ mm/2h). Niže vrednosti sedimentacije 15. i 30. dana laktacije u odnosu na vrednosti zabeležene na dan partusa bile su na nižem nivou značajnosti ($p < 0,01$) od onih zabeleženih 45. dana ($p < 0,001$). Tokom ranog laktacionog perioda ove vrednosti su se smanjivale, ali utvrđene razlike nisu bile signifikantne između vrednosti utvrđenih nakon 1 h, kao ni za 2 h.

U tabeli 3 prikazane su vrednosti osnovnih hematoloških indeksa za MCV (Mean Cellular Volume), MCH (Mean Cellular Haemoglobin) i MCHC (Mean Cellular Haemoglobin Concentration) u toku peripartalnog i ranog laktacionog perioda mlečnih krava.

U grupi visokosteonih krava utvrđene prosečne MCV ($51,01 \pm 5,47$ fl) i MCH vrednosti ($18,74 \pm 1,85$ pg) bile su veće u odnosu na vrednosti zabeležene na dan teljenja (za MCV, $p < 0,05$; veće vrednosti MCH nisu bile i statistički značajne) i za vreme ranog laktacionog perioda (za MCV, $p < 0,05$ petnaestog dana i $p < 0,001$ 30. i 45. dana; za MCH, $p < 0,05$ 15. dana, $p < 0,01$ 30. i $p < 0,001$ 45. dana). Najveća MCHC vrednost utvrđena je na dan partusa ($351,50 \pm 27,37$ g/L), a najniža 15 dana pre partusa ($334,20 \pm 27,87$ g/L). Tokom ispitivanog laktacionog perioda ove vrednosti su se smanjivale, ali utvrđene razlike nisu bile statistički značajne.

Tabela 3. Vrednosti osnovnih hematoloških indeksa (MCV, MCH i MCHC) /
Table 3. Values of elementary haematological indexes (MCV, MCH and MCHC)

Grupa krava / Group of cows		MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (g/L)
15 dana pre partusa / 15 days before parturition	$\bar{x}$	51,01	18,74	334,20
	SD	5,47	1,85	27,87
1. dan po partusu / First day postpartum	$\bar{x}$	47,39	17,58	351,50
	SD	4,21	2,23	27,37
15. dan laktacije / Day 15 of lactation	$\bar{x}$	47,28	17,20	346,20
	SD	6,12	2,14	14,21
30. dan laktacije / Day 30 of lactation	$\bar{x}$	44,19	16,92	342,50
	SD	4,67	1,77	25,10
45. dan laktacije / Day 45 of lactation	$\bar{x}$	42,98	16,57	338,65
	SD	5,07	1,08	19,86

Svi hematološki indeksi bili su u granicama referentnih vrednosti (Kramer, 2000) i odgovarali su nalazima u literaturi. Pomsel (1980) i Klinkon (1993) navode da se MCV vrednosti postepeno povećavaju od osemenjavanja do teljenja, a Klinkonova (1999) je utvrdila da se prosečne vrednosti MCV, MCH i MCHC ne razlikuju značajno tokom peripartalnog perioda (10 dana pre partusa, neposredno nakon teljenja i u toku prva četiri dana posle partusa). Najveće vrednosti MCV i MCH mesec dana pre partusa zabeležili su Kumar i Pachauri (2000), Gāvan i sar. (2010) i Mirzadeh i sar. (2010), što je u skladu sa našim istraživanjima, dok su Sattar i Mirza (2009) utvrdili najveće vrednosti svih hematoloških parametara kod tek oteljenih krava. Randhawa i sar. (2009) ukazuju na to da je MCHC vrednost veća kod krava u laktaciji nego kod zasušenih krava. U ogledima koje su izveli Galip i sar. (2002), Sattar i Mirza (2009) i Gāvan i sar. (2010), vrednosti hematoloških indeksa su se smanjivale tokom postpartalnog, ranog i srednjeg laktacionog perioda, što je ukazalo na deficit gvožđa.

Zaključak / Conclusion

Analizom rezultata dobijenih u radu može se zaključiti sledeće:

1. Smanjenje vrednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita pri kraju gestacije, odražavalo je fiziološke varijacije nastale usled pripreme mlečne žlezde za laktogenezu, povećanih potreba ploda i nutritivnog deficita.
2. Hematološki parametri i indeksi su bili značajno niži tokom ranog laktacionog perioda u odnosu na prepartalni period i prvi dan partusa, ali u granicama referentnih vrednosti, što ukazuje na to da kod ispitivanih grla nije prisutna anemija.

NAPOMENA / *ACKNOWLEDGEMENT*:

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, TR 31086: Optimizacija tehnoloških postupaka i zootehničkih resursa na farmama u cilju unapređenja održivosti proizvodnje mleka.

Literatura / *References*

1. Barnoun J, Chassagne M, Chacornac JP. Circulating monocyte and red cell counts as precalving predictors for retained placenta occurrence in dairy cows under field conditions in France. *Epidemiol Sante Anim* 1997; 31/31:05.21.1-05.21.3.
2. Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Kronfeld DS. Path-Analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1985; 6: 2347-60.
3. Doornenbal H., Tong AKW, Murray NL. Reference values of blood parameters in beef cattle of different ages and stages of lactation. *Can J Vet Res* 1988; 52: 99-105.
4. El Nouty FD, Hassan GA, Salem MH. Effect of season and level of production on haematological values in Holstein cows. *Ind J Anim Sci* 1986; 56: 349-50.
5. Eppard PJ, White TC, Sorbet RH, Weiser MG, Cole WJ, Hartnell GF, Hintz RL, Lanza GM, Vicini JL, Collier RJ. Effect of exogenous somatotropin on hematological variables of lactating cows and their offspring. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1582-91.
6. Galip N, Aydin C, Polat U. The effects of dry period and various lactation stages on some blood parameters in Holstein Cows in the bursa region. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 645-9.
7. Găvan C, Retea C, Motorga V. Changes in the hematological profile of Holstein primiparous in periparturient period and in early to mid lactation. *Anim Sci and Bio-tech* 2010; 43(2): 244-6.
8. Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2004; 20: 447-70.
9. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medicinal Physiology*, 9th ed. Saunders, Philadelphia, PA, 1996: 168-1036.
10. Ishler V. Therapeutic nutrition for dairy cattle. DAS 98-15 Penn State College of Agricultural Sciences Cooperative Extension 2011. <http://www.extension.org/pages/11814/therapeutic-nutrition-for-dairy-cattle>
11. Jain NC. Comparative Hematology of Common Domestic Animals. In: *Essentials of Veterinary Hematology*. 1st Edn., Lea and Febiger Publication, Philadelphia, PA, 1993: 44-6.
12. Junid M, Krad H. Some blood values of pregnant and nonpregnant dairy cattle (Holstein-Friesian) in Syria. *Monatsh Vet Med* 1987; 42: 700-1.
13. Klinkon M. Red blood picture of cattle in Slovenia with regard to breed, sex, age, physiological state and rearing conditions. *Vet Nov* 1993; 19: 129-39.
14. Klinkon M, Zadnik T. Dynamics of red and white blood picture in dairy cows during the periparturient period. *Comparative Haematology International* 1999; 9: 156-61.
15. Kramer JW. Chapter 166: Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats. In Feldman FB et al., ed. *Fifth edition Schalm's Veterinary Hematology*, Copyright © 2000 Lippincott Williams & Wilkins, 2000:1075-84.

16. Kumar B, Pachauri SP. Haematological profile of crossbred dairy cattle to monitor herd health status at medium elevation in Central Himalayas. *Res Vet Sci* 2000; 69: 141-5.
17. LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2005; 88: 159-70.
18. LeBlanc SJ, Lissemore KD, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1267-79.
19. Manston R, Russell AM, Dew SM, Payne JM. The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet Rec* 1975; 96: 497-502.
20. Mbassa GK, Poulsen JSD. Influence of pregnancy, lactation and environment on haematological profiles in Danish Landrace dairy goats of different parity. *Comp Biochem Physiol B* 1991; 100(2): 403-12.
21. Mirzadeh Kh, Tabatabaei S, Bojarpour M, Mamoei M. Comparative study of haematological parameters according strain, age, sex, physiological status and season in Iranian cattle. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(16): 2123-7.
22. Pomsel T. Hämatologische Normalwerte beim Riind in Abhängigkeit von Alter und Trächtigkeit. Berlin, Dissertation 1980.
23. Rajora VS, Pachauri SP. Blood profiles in pre-parturient and post parturient cows and in milk fever cases. *Ind J Anim Sci* 1994; 64: 31-4.
24. Randhawa CS, Pal H, Randhawa SS, Uppal SK. Influence of age, season, lactation on haematology and iron biochemistry of crossbred cattle. *Ind J Anim Sci* 2009; 79(10): 1007-10.
25. Sattar A, Mirza RH. Haematological parameters in exotic cows during gestation and lactation under subtropical conditions. *Pak Vet J* 2009; 29: 129-32.
26. Steinhardt M, Thielscher HH, von Horn T, von Horn R, Ermgassen K, Ladewig J, Smidt D. The hemoglobin concentration in the blood of dairy cattle of different breeds and their offspring during the peripartum period. *Tierarztl Prax*, 1994; 22: 129-35.
27. Stirnimann J, Stämpfli G, Gerber H. Eisen und Kupfer gehalt des Serums und rotes Blutbild der simmentaler Kuh währed Trächtigkeit und Puerperium. *Schweiz Arch Tierheilk* 1974; 116: 231-43.

ENGLISH

RED BLOOD COUNT IN DAIRY COWS IN PERIPARTURIENT PERIOD AND IN EARLY LACTATION

Vesna Davidović, Mirjana Joksimović Todorović, S. Hristov, B. Stanković

The paper presents results of red blood count studies in dairy cows in the periparturient period and early lactation, when cows are in a state of extreme stress due to intensive endocrine and metabolic changes. Investigations were carried out on 20 cows of the Holstein-Friesian breed which were in their second to fifth lactation. Blood samples were drawn 15 days before calving, on the first day after partus (2-5h) and on days 15, 30, and 45 of lactation. The biggest average number of erythrocytes ($7.00 \pm 0.48 \times 10^{12}/L$ blood), haemoglobin concentration (115.95 ± 8.49 g/L blood) and haematocrit value ($33.11 \pm 2.97\%$) were established on the first day after partus. This erythrocyte count was

significantly higher against the value determined during the last two week of gravidity ($p<0.01$) and during the early stage of lactation ($p<0.001$). Haemoglobin and haematocrit concentration in the prepartal period and immediately after calving were statistically significantly higher ($p<0.001$) than on days 15, 30, and 45 of lactation. Haematological indexes: the average erythrocyte volume (MCV), average haemoglobin value in erythrocytes (MCH) and average haemoglobin concentration in erythrocytes (MCHC) were within the limits of the referent values. On the first day of partus, the erythrocyte sedimentation rate was significantly higher than in early lactation ($p<0.01$ on days 15 and 30, and $p<0.001$ on day 45). The results of the analyses indicated a decrease in all examined haematological parameters during the period of lactation, but the determined differences were not significant.

Key words: cows, red blood count, peripartal and lactation periods

РУССКИЙ

КРАСНАЯ КРОВЯНАЯ КАРТИНА У МОЛОЧНЫХ КОРОВ В ТЕЧЕНИЕ ДОРОДОВОГО И РАННЕГО ЛАКТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Весна Давидович, Миряна Йоксимович Тодорович, С. Христов, Б. Станкович

В работе показаны результаты испытания красной кровяной картины молочных коров в дородовом периоде в ранней фазе лактации, в течение которых коровы в состоянии выразительного стресса из-за интенсивных эндокринных и метаболических изменений. Исследования сделаны на 20 коров холштайн фризи-йской породы, которые были от второй до пятой лактации. Образчики крови взяты 15 дней до отёла, первого дня после родов и 15, 30 и 45 дней лактации. Наибольшее среднее число эритроцитов ($7,00\pm 0,48\times 10^{12}/\text{Л}$ крови), концентрация гемоглобина ($115,95\pm 8,49$ г/Л крови) и гематокритская стоимость ($33,11\pm 2,79\%$) утверждены первого дня после родов. Эта стоимость эритроцитов была значительно больше в отношении стоимостей, записанные последние две недели беременности ($p<0,01$) и в течение ранней фазы лактации ($p<0,001$). Концентрация гемоглобина и гематокрита в дородовом периоде и непосредственно после отёла были статистически значительно более большие ($p<0,001$) чем 15, 30 и 45 дней лактации. Гематологические индексы: средние объёмы эритроцитов (СОЭ), средние стоимости гемоглобина в эритроцитах (СГЭ) и средние концентрации гемоглобина в эритроцитах (СКГЭ) были в границах референтных стоимостей. Первого дня родов быстрота седиментации эритроцитов была значительно более большая, чем в ранней лактации ($p<0,01$) пятнадцатого и тридцатого дня и $p<0,01$ сорок пятого дня. Результаты анализа указали на уменьшение стоимости всех испытанных гематологических параметров в течение лактационного периода, при чём утверждённые разницы не были сигнификантные.

Ключевые слова: коровы, красная кровяная картина, дородовой и лактационный период

**ANKSIOLITIČKI I ANTIDEPRESIVNI EFEKAT
MAGNEZIJUMA NA PACOVE I NJEGOV UTICAJ NA OPŠTE
BIHEJVORALNE PARAMETRE***
*ANXIOLYTIC AND ANTIDEPRESSIVE EFFECTS OF MAGNESIUM IN
RATS AND THEIR EFFECT ON GENERAL BEHAVIOURAL
PARAMETERS*

J. Samardžić, Kristina Savić, Dragana Baltezarević, R. Matunović,
Miljana Obradović, Jasna Jančić, D. I. Obradović**

Magnezijum (Mg) je esencijalni element, neophodan za pravilno funkcionisanje preko 300 enzimskih sistema. Svoje efekte u centralnom nervnom sistemu ostvaruje posredstvom glutamatergičkog neurotransmiterskog sistema i to blokadom aktivnosti N-metil D-aspartat (NMDA) receptora, ali i potenciranjem GABA-ergičke neurotransmisije. Kako su ova dva neurotransmiterska sistema od izuzetnog značaja u finoj regulaciji aktivnosti integrativnih funkcija CNS-a, cilj istraživanja bio je da ispitamo anksiolitičke i antidepresivne efekte magnezijuma posle akutne i ponavljane primene i njegov uticaj na opšte bihevioralne parametre.

U istraživanju su korišćeni mužjaci pacova Wistar soja tretiranih rastućim dozama magnezijum-hlorid 6-hidrata ($MgClO\cdot H_6$ 10, 20, 30 mg/kg). Za ispitivanje anksiolitičkih i antidepresivnih svojstava magnezijuma korišćena su dva testa: uzdignuti plus lavirint (EPM) i test forsiranog plivanja (FST). Praćeni su bihevioralni parametri (mirovanje i aktivnost životinje) tokom akutne i ponavljane primene aktivne supstance.

Testiranjem životinja u EPM nije uočena statistički značajna razlika među grupama, $p > 0,05$. Akutnom primenom rastućih doza magnezijum-hlorid hidrata u FST, dokazana je statistički značajna razlika u vre-

* Rad primljen za štampu 10. 06. 2011. godine

** Dr Janko Samardžić, asistent, dr Kristina Savić, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju; dr Dragana Baltezarević, Farmaceutski fakultet; dr Radomir Matunović, profesor, Vojnomedicinska akademija, Klinika za kardiologiju; dr Miljana Obradović, profesor, Medicinski fakultet, Institut za histologiju i embriologiju; dr Jasna Jančić, docent, Medicinski fakultet, Klinika za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu; dr Dragan I. Obradović, profesor, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Beograd

menu imobilnosti životinja tretiranih magnezijumom u odnosu na kontrolnu grupu, tretiranu rastvaračem (destilovana voda), $p < 0,01$. Prvog dana ispitivanja bihevioralnih parametara pokazana je statistički značajna razlika među grupama koje su tretirane najnižom i srednjom dozom magnezijum hlorid hidrata u odnosu na kontrolnu grupu ($p = 0,020$, $p = 0,010$).

Naše istraživanje pokazalo je da magnezijum-hlorid hidrat, nakon akutne primene, povećava lokomotornu aktivnost, ispoljava antidepresivne, ali ne i anksiolitičke efekte.

Ključne reči: magnezijum, pacovi, test forsiranog plivanja, uzdignuti plus lavirint

Uvod / Introduction

Magnezijum (Mg) je esencijalni element iz grupe zemno-alkalnih metala. Ovaj dvovalentni katjon je kod životinja i ljudi neophodan za pravilno funkcionisanje preko 300 enzimskih sistema (Iannello i Belfiore, 2001). Smatra se izuzetno važnim u procesima stvaranja, skladištenja, ali i iskorišćavanja visokoenergetskih jedinjenja (Gonzalez i sar., 2009). Količina ovog elementa u organizmu regulisana je aktivnošću hormona nadbubrežne žlezde, koji preko gastrointestinalnog sistema utiču na resorpciju, a preko bubrega na njegovu ekskreciju (Iannello i Belfiore, 2001).

Postoji nekoliko teorija vezanih za mehanizam dejstva magnezijuma, kako u perifernim tkivima, tako i u centralnom nervnom sistemu (Murck, 2002; Siwek i sar., 2005). Svoje efekte u centralnom nervnom sistemu ostvaruje posredstvom glutamatergičkog neurotransmiterskog sistema i to blokadom aktivnosti N-metil D-aspartat (NMDA) receptora i potenciranjem GABA-ergičke neurotransmisije, a pri tome su ova dva neurotransmiterska sistema od izuzetnog značaja u finoj regulaciji aktivnosti integrativnih funkcija CNS-a. Pokazano je da magnezijum, blokira kalcijumove kanale vezane za NMDA receptore, pa se smatra da je to ključni mehanizam putem koga ostvaruje svoje centralne efekte (Siwek i sar., 2005; Decollogne i sar., 1997). U perifernim strukturama magnezijum utiče na rad Na^+K^+ ATP-aze, ali i na funkciju kalcijum-zavisne proteinkinaze C (Murck, 2002).

Takođe, elektroencefalografska ispitivanja (EEG) dejstva magnezijuma na san pokazala su da magnezijum ima uticaj na sve komponente osovine limbički sistem – hipotalamus – hipofiza – nadbubrežna žlezda. Magnezijum ima svojstva supresora hipotalamičkih impulsa, redukcije sekrecije adrenokortikotropnog hormona (ACTH) kao i smanjenja osetljivosti nadbubrega na dejstvo ovog hormona (Murck, 2002). Pored toga, ispitivanja pokazuju da sistemska primena magnezijuma ispoljava miorelaksantni efekat, antiaritmjsko delovanje i pospešuje dilataciju koronarnih i perifernih krvnih sudova, a deluje i kao modulator

dejstva kateholamina u centralnom i perifernom nervnom sistemu (Iannello i Belfiore, 2001; Murck, 2002).

S druge strane, klinički značaj nivoa magnezijuma u organizmu pokazuju podaci da se kod pacijenata sa sniženim nivoom magnezijuma u serumu statistički značajno češće pojavljuju ponavljane urinarne infekcije, različite neurološke bolesti, ciroza jetre, cerebrovaskularne bolesti, ali i poremećaji ličnosti i depresija (Hashizume i Mori, 1990). Studija koja je obuhvatila 112 odraslih osoba ženskog pola pokazala je u visokom procentu povezanost jake anksioznosti i depresije i niskog nivoa Mg. Zaključak istraživanja bio je da deficit magnezijuma, ali i poremećaj odnosa kalcijuma i magnezijuma u krvi mogu imati ulogu u patofiziologiji nastanka poremećaja raspoloženja (Jung i sar., 2009). U prilog tome govore i eksperimentalni podaci o tome da magnezijum u testovima za procenu antidepresivnog efekta na miševima, pokazuje rezultate slične klasičnom antidepresivu, imipraminu (Decollogne i sar., 1997).

U literaturi postoji znatno veći broj podataka i studija o efektima magnezijuma na kardiovaskularni sistem i periferna tkiva, dok su efekti na psihičke funkcije i ponašanje najmanje ispitani (Zimmerman i sar., 2000; Swaminathan, 2003). Cilj našeg istraživanja bio je da ispitamo bihevioralne efekte magnezijuma, odnosno uticaj akutne i ponavljane primene magnezijuma na bihevioralne parametre (mirovanje i aktivnost životinje, u smislu propinjanja, njuškanja, timarenja i kretanja), kao i antidepresivne i anksiolitičke efekte magnezijuma kod eksperimentalnih životinja.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

U istraživanju su korišćeni mužjaci pacova soja Wistar albino, telesne mase 180–250 g. Životinje su čuvane u providnim, plastičnim kavezima (6 životinja po kavezu), a hrana i voda bili su im dostupni *ad libitum*. Temperatura prostorije bila je $22 \pm 1^\circ\text{C}$, relativna vlažnost vazduha 40–70% uz dvanaestočasovni dnevni ciklus svetlo-tama, sa početkom svetlog perioda u 6.00 h. Pri eksperimentalnom radu poštovan je kodeks Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu za rad sa eksperimentalnim životinjama. Eksperiment je vršen tokom tamnog perioda dnevnog ciklusa.

Istraživanje je obuhvatilo ukupno 72 životinje, nasumično podeljenje u 3 grupe po 24, a zatim u okviru svake grupe na još po četiri podgrupe. Efekti magnezijuma praćeni su pomoću aktivne supstance magnezijum-hlorid hidrata (proizvođač Hemofarm A.D. Vršac), koji se prema referentnim podacima iz literature najčešće koristi u ovakvim ispitivanjima (Poleszak i sar., 2004). Prva podgrupa svake grupe primala je rastvarač (destilovana voda), a ostale tri rastvor magnezijum-hlorid hidrata u rastućim dozama (10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg). Supstance su aplikovane intra-peritonealno (i.p.) u donji desni kvadrant abdomena.

Uzdignuti plus lavirint / Elevated plus maze

Uzdignuti plus lavirint (engl. Elevated plus maze – EPM) predstavlja najkorišćeniji životinjski model za ispitivanje anksioznosti. Lavirint je uzdignut na stalak visine od 1 m i sastoji se od četiri kraka (dimenzija 50 cm x 10 cm). Dva naspramna kraka su zatvorena, dok su druga dva otvorena. U centru se nalazi platforma (5 cm x 5 cm) na koju se inicijalno postavlja eksperimentalna životinja. Ponašanje životinja registrovano je digitalnom kamerom postavljenom iznad lavirinta. Snimanje aktivnosti životinja, digitalni zapis i obrada podataka dobijenih nakon testiranja obavljaju se putem kompjuterskog softvera ANY-maze Video Tracking System – Stoelting Co., Wood Dale, IL, USA.

U osnovi testiranja je izazivanje konfliktne situacije u pacova na inicijalnoj poziciji lavirinta. Naime, za pacove, kao i za većinu glodara, tama i zatvoreni prostor su prirodni ambijent i u takvom prostoru su najsigurniji. Sa druge strane, eksplorativna priroda ih primorava da istražuju, te se pred njih postavljaju otvoreni kraci lavirinta, koji su ujedno i potencijalno opasna mesta. Pokazano je da supstance sa anksiolitičkim dejstvom povećavaju broj ulazaka u otvorene krake lavirinta, kao i da produžavaju vreme boravka životinje na otvorenom (Samardžić, 2008).

Testiranje je vršeno u okviru prve grupe od 24 životinje, 30 minuta nakon aplikacije odgovarajuće supstance svakoj životinji u 4 podgrupe. Pacovi su puštani u lavirint i njihova spontana aktivnost praćena je 5 minuta.

Test forsiranog plivanja / Forced swim test

Test forsiranog plivanja (engl. Forced swim test-FST) po metodi Porsolta i saradnika (Porsolt i sar., 1997) predstavlja standardni skrining test za procenu antidepresivnih svojstava eksperimentalnih jedinjenja ili lekova. FST, ručne izrade, sastoji se od staklenog cilindra visine 45 cm, prečnika 20 cm. Napunjen je vodom do visine 20 cm, temperature 21–23°C. Testiranje traje 15 minuta od spuštanja životinje u cilindar. Prvih pet minuta je habituacija životinje u vodenoj sredini. U narednih 10 minuta meri se vreme imobilnosti, odnosno vreme koje pacov provodi bespomoćno plutajući po vodi, tako da mu najmanje tri od četiri šapice miruju. Ovakvo stanje smatra se reakcijom očaja i depresivnosti. Supstance sa antidepresivnim potencijalom produžavaju vreme koje životinja provodi u borbi za pronalaženjem izlaza iz cilindra, a smanjuju vreme imobilnosti u odnosu na kontrolnu grupu.

Druga grupa od 24 životinje takođe je podeljena nasumično na 4 podgrupe od po 6 životinja. U ovoj grupi aplikovane su supstance (rastvarač i magnezijum-hlorid 6-hidrat u dozama od 10, 20, 30 mg/kg) 30 minuta pre spuštanja u cilindar sa vodom, a zatim su životinje praćene narednih 15 minuta.

Opšti bihevioralni parametri / General behavioural parameters

Bihevioralni parametri praćeni su kod ponavljane primene magnezijuma tokom četiri dana kod treće grupe od 24 životinje, nasumično podeljene u

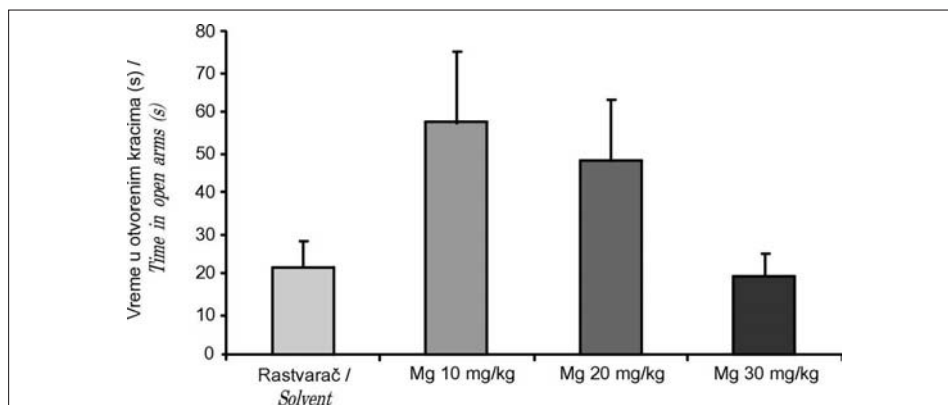
četiri podgrupe, pri čemu je svaka podgrupa dobila odgovarajuću supstancu (rastvarač i MgCl u dozama od 10, 20, 30 mg/kg). Dva sata nakon svake aplikacije mereni su bihevioralni parametri svake životinje pojedinačno pet minuta. Parametri od značaja bili su: mirovanje i ukupna motorička aktivnost životinje, u smislu propinjanja, njuškanja, timarenja i kretanja. Petog dana sve životinje treće grupe podvrgnute su testu forsiranog plivanja (FST) bez prethodne aplikacije supstanci.

Statistička obrada podataka / Statistical processing of data

Za statističku obradu podataka korišćen je kompjuterski program SPSS 15.0, deskriptivne statističke metode, ANOVA sa ponavljanim merenjima i odgovarajući softver (ANY-maze Video Tracking System – Stoelting Co., Wood Dale, IL, USA). U svim testovima razlike na nivou $p < 0,05$ uzimane su kao statistički značajne, a razlike na nivou $p < 0,01$ kao umereno statistički značajne.

Rezultati / Results

Testiranjem životinja u uzdignutom plus lavirintu nije uočena statistički značajna razlika među grupama u pogledu procenata ulazaka životinja u otvorene krake lavirinta, kao i u pogledu vremena provedenog u otvorenim kracima ($F=0,27$, $p=0,766$; $F=1,25$, $p=0,315$). Prosečno vreme koje životinje provode u otvorenim kracima EPM, u sekundama, za rastvarač, Mg (10 mg/kg), Mg (20 mg/kg) i Mg (30 mg/kg) iznosi: 21.67, 57.67, 48.50 i 19.33 (grafikon 1).

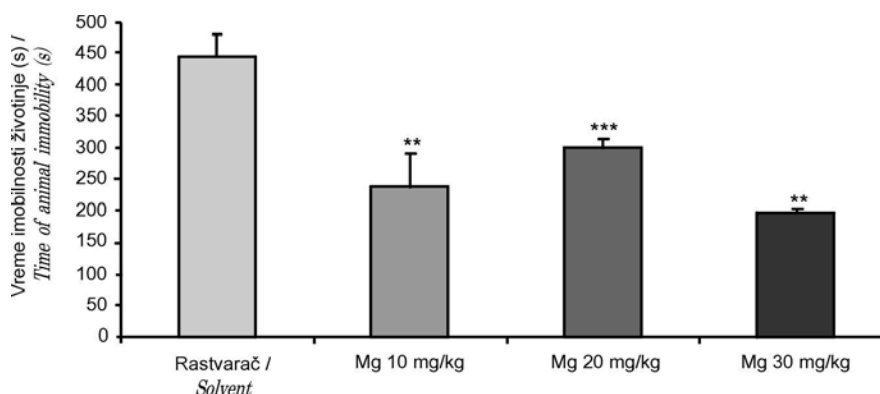


Grafikon 1. Efekti akutne primene magnezijuma na vreme koje životinje provode u otvorenim kracima uzdignutog plus lavirinta (EPM)

Graph 1. Effects of acute application of magnesium on time animals spent in open arms of elevated plus maze (EPM)

Nakon akutne aplikacije, sve tri doze magnezijuma značajno smanjuju vreme imobilnosti životinja u testu forsiranog plivanja, ali ne na dozno-zavisan

način. Prosečno vreme imobilnosti životinja, u sekundama, za rastvarač, Mg (10 mg/kg), Mg (20 mg/kg) i Mg (30 mg/kg) je 445.5, 238.5, 292.5 i 197.5, a razlika između grupa tretiranih magnezijumom u odnosu na kontrolnu grupu tretiranu rastvaračem je umereno statistički značajna, $p < 0,01$ (grafikon 2).



Grafikon 2. Efekti akutne primene magnezijuma na vreme imobilnosti životinja u testu forsiranog plivanja; ** $p < 0.01$ vs. rastvarač – umereno statistički značajna razlika
Graph 2. Effects of acute application of magnesium on time of animal immobility in forced swim test; ** $p < 0.01$ vs. solvent – moderately statistically significant difference

Rezultati testiranja ponavljane primene magnezijuma u modelu forsiranog plivanja, nakon četvorodnevno tretmana, nisu pokazali statistički značajnu razliku između tretiranih grupa i kontrolne grupe ($p = 0,830$, $p = 0,949$, $p = 0,150$).

Statistička analiza podataka dobijenih ispitivanjem bihevioralnih parametara tokom 4 dana pokazala je da prvog dana aplikacije supstanci postoji statistički značajna razlika između grupe koja je dobila eksperimentalnu supstancu u dozama 10 mg/kg ($F = 11,26$, $p = 0,020$) i 20 mg/kg ($F = 15,97$, $p = 0,010$) u odnosu na kontrolnu grupu. Statistički značajna razlika, međutim, nije uočena kod grupe tretirane najvećom dozom (30 mg/kg) u odnosu na kontrolnu grupu ($F = 1,73$, $p = 0,246$). Slični podaci dobijeni su i trećeg dana ispitivanja. Rezultati grupe u kojoj su jedinke tretirane najmanjom i srednjom dozom magnezijuma statistički su se značajno razlikovali u odnosu na rezultate kontrolne grupe ($F = 17,30$, $p = 0,009$ i $F = 7,18$, $p = 0,044$, respektivno). Poređenjem grupe kojoj je aplikovana najveća doza i kontrolne grupe nije pokazana statistički značajna razlika ($F = 3.03$, $p = 0.142$).

Diskusija i zaključak / Discussion and Conclusion

U toku četvorodnevno praćenja opštih bihevioralnih karakteristika kod eksperimentalnih životinja pratili smo parametre ukupne lokomotorne aktiv-

nosti životinja (propinjanje, timarenje, njušenje i kretanje). Naši rezultati ukazuju na to da akutna aplikacija magnezijuma prvog dana ispitivanja značajno utiče na lokomotornu aktivnost životinja. Najmanja i srednja doza magnezijuma, akutno primenjene, značajno povećavaju lokomotornu aktivnost životinja. Izostanak ovakvog trenda četvrtog dana možemo objasniti, s jedne strane, razvijanjem nekog vida tolerancije na supstancu, a s druge strane, moguće je da se nakon ponavljane primene uključuju određeni adaptivni mehanizmi koji najverovatnije putem bubrega olakšavaju izlučivanje viška magnezijuma, te njegovo dejstvo izostaje. Ovim se može objasniti i izostanak antidepresivnog efekta kod eksperimentalnih životinja u FST nakon ponavljane primene magnezijuma tokom četiri dana, što je u skladu sa podacima iz literature (Poleszak i sar., 2004).

Životinje su u našem istraživanju podvrgnute i akutnom testiranju u FST, 30 minuta nakon aplikacije odgovarajuće supstance. Pokazali smo statistički značajnu redukciju vremena imobilnosti kod životinja koje su primale magnezijum u odnosu na grupu tretiranu rastvaračem, što govori u prilog antidepresivnih svojstava magnezijuma. Literatura daje različite podatke o potencijalnim mehanizmima dejstva kojima magnezijum dovodi do izrazitog povećanja aktivnosti životinja u ovim eksperimentima. Na povezanost magnezijuma sa serotonergičkim sistemom ukazuje studija na miševima Cardosa i sar. (2009). Poleszakova i sar. (2007) su dobili slične rezultate, ukazujući na to da je mehanizam dejstva magnezijuma u korelaciji sa serotonergičkim sistemom, ali je još značajnija blokada aktivnosti NMDA receptora. Naime, magnezijum blokira kalcijumske kanale vezane za NMDA receptore i upravo je to ključni mehanizam putem koga ispoljava svoja antidepresivna svojstva kod eksperimentalnih životinja.

Postojeći podaci iz literature govore o mogućoj anksiolitičkoj aktivnosti magnezijuma nakon akutne primene u uzdignutom plus lavirintu (Poleszak i sar., 2004). Smatra se da je anksiolitički efekat posledica potenciranja GABA-ergičke neurotransmisije (Murck, 2002; Poleszak, 2008). Rezultati našeg istraživanja nisu pokazali ovakve efekte. Naime, našim testiranjem životinja u EPM nije uočena statistički značajna razlika između grupa tretiranih magnezijumom i kontrolne grupe. Ovakav rezultat može se, donekle, objasniti razlikom u primenjenim eksperimentalnim supstancama. Anksiolitička svojstva, prema literaturi, pokazuje isključivo magnezijum-hidroaspartat. U našem istraživanju korišćena je supstanca magnezijum hlorid 6-hidrat, za koju u literaturi ne postoje podaci o eventualnom anksiolitičkom dejstvu.

Svi navedeni rezultati iz našeg istraživanja navode na zaključak da magnezijum ispoljava značajne efekte u centralnom nervnom sistemu. Nakon akutne primene, magnezijum pokazuje antidepresivne efekte i povećava lokomotornu aktivnost, dok ponavljana primena magnezijuma ne pokazuje antidepresivna svojstva. Anksiolitička svojstva magnezijuma, ovim ispitivanjem, nisu pokazana.

Literatura / References

1. Cardoso CC, Lobato KR, Binfaré RW, Ferreira PK, Rosa AO, Santos AR *et al.* Evidence for the involvement of the monoaminergic system in the antidepressant-like effect of magnesium. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33(2): 235-42.
2. Decollogne S, Tomas A, Lecerf C, Adamowicz E, Seman M. NMDA receptor complex blockade by oral administration of magnesium: comparison with MK-801. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58: 261-8.
3. González EP, Santos F, Coto E. Magnesium homeostasis. Etiopathogeny, clinical diagnosis and treatment of hypomagnesaemia. *Nefrologia* 2009; 29(6): 518-24.
4. Hashizume N, Mori M. An analysis of hypermagnesemia and hypomagnesemia. *Jpn J Med* 1990; 29(4): 368-72.
5. Iannello S, Belfiore F. Hypomagnesemia. A review of pathophysiological, clinical and therapeutical aspects. *Panminerva Med* 2001; 43(3): 177-209.
6. Jung KI, Ock SM, Chung JH, Song CH. Associations of Serum Ca and Mg Levels with Mental Health in Adult Women Without Psychiatric Disorders. *Biol Trace Elem Res* 2009; 19.
7. Murck H. Magnesium and affective disorders. *Nutr Neurosci* 2002; 5(6): 375-89.
8. Poleszak E. Benzodiazepine/GABA(A) receptors are involved in magnesium-induced anxiolytic-like behavior in mice. *Pharmacol Rep* 2008; 60(4): 483-9.
9. Poleszak E, Szewczyk B, Kedzierska E, Wlaz P, Pilc A, Nowak G. Antidepressant- and anxiolytic-like activity of magnesium in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 78(1): 7-12.
10. Poleszak E, Wlaz P, Kedzierska E, Nieoczym D, Wróbel A, Fidecka S *et al.* NMDA/glutamate mechanism of antidepressant-like action of magnesium in forced swim test in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 88(2): 158-64.
11. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1997; 229: 327-36.
12. Samardžić J. Experimental models of anxiety. Akademski specijalistički rad, Belgrade, Faculty of medicine, University of Belgrade, 2008 (Serbian).
13. Siwek M, Wróbel A, Dudek D, Nowak G, Zieba A. The role of copper and magnesium in the pathogenesis and treatment of affective disorders. *Psychiatr Pol* 2005; 39(5): 911-20.
14. Swaminathan R. Magnesium metabolism and its disorders. *Clin Biochem Rev* 2003; 24(2): 47-66.
15. Zimmerman M, Mcdermut W, Mattia JI. Frequency of anxiety disorders and psychiatric outpatients with major depressive disorder. *Am J Psychiatr* 2000; 157:1337-40.

ENGLISH

ANXIOLYTIC AND ANTIDEPRESSIVE EFFECTS OF MAGNESIUM IN RATS AND THEIR EFFECT ON GENERAL BEHAVIOURAL PARAMETERS

J. Samardžić, Kristina Savić, Dragana Baltezarević, R. Matunović, Miljana Obradović, Jasna Jančić, D. I. Obradović

Magnesium (Mg) is an essential element that catalyses more than 300 enzyme systems. Its effects on the central nervous system are exhibited through the blocking of activity of N-methyl D-aspartate (NMDA) receptors and potentiating of GABA-ergic neurotransmission. Due to the vast importance of these two neurotransmission systems in the fine regulation of the central integrative function activity, the aim of this research was to test the anxiolytic and antidepressive effects of magnesium, after acute and repeated application, and its influence on general behavioural parameters.

In this research Wistar albino rats were treated with increasing doses of Mg chloride 6-hydrate (MgCl 10, 20, 30 mg/kg). In order to determine anxiolytic and antidepressive properties of magnesium two models were used: elevated plus maze (EPM) and forced swim test (FST). Behavioural parameters (stillness and mobility) were recorded during acute and repeated administration of the active substance.

Results of EPM testing showed no significant difference between groups, $p > 0.05$. After acute application of increasing doses of magnesium chloride hydrate in FST, we showed the statistically significant difference in immobility time between the group of animals treated with Mg and the control group treated with the solvent, $p < 0.01$. The statistically significant difference between groups treated with the lowest and the middle dose of magnesium and the controls was observed already on the first day of examining behavioural parameters ($p = 0.020$, $p = 0.010$).

Our research has showed that magnesium, following acute administration, increases locomotor activity, and has an antidepressive but not an anxiolytic effect.

Key words: magnesium, forced swim test, elevated plus maze, rats

РУССКИЙ

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЙ И АНТИДЕПРЕССИВНЫЙ ЭФФЕКТ МАГНИЯ У КРЫС И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОБЩИЕ БИХЕВИОРАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ

Я. Самарджич, Кристина Савич, Драгана Балтезаревич, Р. Матунович, Миляна Обрадович, Ясна Янчич, Д. И. Обрадович

Магний (Mg) - эссенциальный элемент, необходимый для правильного функционирования больше 300 энзимных систем. Свои эффекты в центральной нервной системе осуществляет посредством глутаматергической нейротрансмиттерной системе а именно блокадой активности N-метил D-аспартат (NMDA) рецепторов, но и потенцированием ГАБА-ергической нейротрансмиссии. Как эти две нейротрансмиттерные системы исключительно важные в хорошей регуировке активности интегративных функций ЦНС-ы, цель исследования была испытать анксио-

литические и антидепрессивные эффекты магния, после острого и повторного применения и его влияния на общие биохевиоральные параметры.

В исследовании использованы самцы крыс штамма Wistar, леченные растущими дозами Mg хлорид магния 6-гидрата (MgCl 10, 20 30 мг/кг). Для испытания анксиолитических и антидепрессивных свойств магния использованы два теста: поднятый плюс лабиринт (ППЛ) и тест форсированного плавания (ТФП). Слежены биохевиоральные параметры (покой и активность животного) в течение острого и повторного применения активной субстанции.

Тестированием животных в ППЛ не замечена статистически значительная разница между группами, $p > 0,05$. Острым применением растущих доз хлорид магния гидратов в ТФП, доказана статистически значительная разница в времени иммобильности животных, леченных Mg в отношении контрольной группы, леченной растворителем, $p < 0,01$. Первого дня испытания биохевиоральных параметров показана статистически значительная разница между группами, леченные самой низкой и средней дозой хлорид гидрата магния в отношении контрольной группы ($p = 0,020$, $p = 0,010$).

Наше исследование показало, что хлорид гидрат магния, после острого применения, увеличивает локомоторную активность, проявляет антидепрессивные, но не и анксиолитические эффекты.

Ключевые слова: магний, тест форсированного плавания, воздигнутый плюс лабиринт, крысы

**REZULTATI MIKOLOŠKIH I MIKOTOKSIKOLOŠKIH
ISPITIVANJA HRANIVA NA BAZI KUKURUZA
NAMENJENIH ZA ISHRANU KRAVA MUZARA***
*RESULTS OF MYCOLOGICAL AND MYCOTOXICOLOGICAL
INVESTIGATIONS OF CORN-BASED FEED FOR DAIRY COW DIET*

**Marija Škrinjar, Dobrila Jakić-Dimić, Vladislava Šošo, Nevena Blagojev,
Slavica Vesković-Moračanin, Tamara Gerić****

*U ovom radu utvrđen je stepen fungalne kontaminacije uzoraka stočnih hraniva na bazi kukuruza ($n=35$), koji su prikupljeni sa četiri različite farme u Vojvodini tokom svih godišnjih doba u toku jedne godine, kao i utvrđivanje prisustva i količine aflatoksina B1 (AB1), ohratoksina A (OTA) i zearalenona (ZEA) u navedenim hranivima. Oko 97% uzoraka je bilo kontaminirano plesnima koje su pripadale sledećim rodovima: *Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Mortierella*, *Oidiodendron*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Syncephalastrum*, *Trichoderma*, *Ulocladium* i *Wallrothiella*. Identifikovano je ukupno 58 vrsta. Ukupan broj plesni se kretao od 1,00 (suva kukuruzna silaža – jesen, sveža kukuruzna silaža – leto, i silaža od zrna kukuruza – proleće) do 7,32 log cfu/g (suva kukuruzna silaža – zima). Mikotoksini su detektovani u 28,5% uzoraka: ZEA je nađen u leto (220 i 240 $\mu\text{g/kg}$) i u proleće (240 $\mu\text{g/kg}$) u uzorcima koncentrata, OTA u toku zime u suvoj kukuruznoj silaži (16 $\mu\text{g/kg}$) i proleća (12 $\mu\text{g/kg}$), dok AB1 nije detektovan u ispitivanim uzorcima.*

Ključne reči: aflatoksin B1, ohratoksin A, plesni, stočna hrana na bazi kukuruza, zearalenon

* Rad primljen za štampu 28. 07. 2011. godine

** Dr Marija Škrinjar, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija; dr Dobrila Jakić-Dimić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, Srbija; Vladislava Šošo, dipl. inž., istraživač-pripravnik, Nevena Blagojev, dipl. inž., istraživač-saradnik, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija; dr Slavica Vesković-Moračanin, viši naučni saradnik, dipl. vet. spec. Tamara Gerić, istraživač-pripravnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Srbija

Uvod / Introduction

Kukuruz, kao bogat izvor energije i proteina, predstavlja veoma važnu komponentu stočne hrane širom planete. Poljoprivredna praksa mnogih zemalja podrazumeva obaveznu upotrebu kukuruznog koncentrata i različitih vrsta kukuruzne silaže u ishrani muznih životinja (Richard i sar., 2009). Zahvaljujući svojim nutritivnim osobinama i uslovima u kojima se uzgaja i skladišti, stočna hrana na bazi kukuruza često može da bude kontaminirana različitim vrstama plesni i njihovim ekstracelularnim metabolitima – mikotoksinima (Oruc i sar., 2006). Mikotoksini su jedinjenja niske molekulske mase i predstavljaju sekundarne produkte metabolizma filamentoznih plesni, koje najčešće pripadaju rodovima *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Ovi metaboliti čine toksikološki i hemijski heterogene grupe. Konzumiranjem hrane koja je kontaminirana mikotoksinima, zdravlje preživa izloženo je direktnom riziku (Bennett i Klich, 2003; Kalac i Woolford, 1982), a posredno, konzumiranjem namirnica animalnog porekla dobijenih od životinja koje su hranjene kontaminiranim hranivima, i zdravlje ljudi (Jouany, 2007).

Toksigene plesni mogu da kontaminiraju kukuruz još u polju pre žetve i nakon žetve, tokom manipulacije i skladištenja, kao i tokom prerade u proizvode namenjene animalnoj i ljudskoj ishrani. Tako se toksigene plesni grubo dele na dve grupe: 1) poljske plesni i 2) skladišne plesni (Placinta i sar., 1999). Najčešći predstavnici poljskih plesni pripadaju rodovima *Fusarium* kao i plesnima iz grupe *Hyphomycetes Dematiaceous* (*Alternaria* i *Cladosporium*), dok se vrste rodova *Aspergillus* i *Penicillium* obično javljaju prilikom skladištenja. Rod *Aspergillus* broji preko 200 vrsta od kojih su mnoge štetne po zdravlje ljudi i životinja. Visok nivo mikotoksina *Aspergillus* vrsta je primećen u toplim i vlažnim regionima, ali njihov nalaz je takođe čest i u regionima sa umerenom klimom (Škrinjar i sar., 2006).

Proizvodnja silaže je jedan od najboljih načina konzervisanja stočnog hraniva, jer ga održava svežim i zdravstveno bezbednim, a pri tom čuva njegovu visoku nutritivnu vrednost (Sparo i Mallo, 2001). Kukuruzna silaža se proizvodi tako što se usitnjeni biljni materijal (cela biljka ili samo zrno kukuruza) usitnjava i pakuje, a zatim se skladištenjem u anaerobnim uslovima konzervira. Razvoj bakterija mlečne kiseline u ovim uslovima izaziva prirodnu fermentaciju, čime se pH vrednost snižava do nivoa koji inhibira rast klostridija i drugih bakterija, kao i velikog broja plesni (Richard i sar., 2009), koje se mogu naći u silaži. Na primer, prema Sparo i Mallo (2001), inicijalna pH vrednost opada sa 6,40 na 4,10, pri čemu se broj mezofilnih aerobnih bakterija brzo redukuje, broj enterokoka postepeno, dok sadržaj klostridija na kraju procesa ostaje na vrlo niskom nivou. Međutim, nakupljanje kondenzata, samozagrevanje uskladištenih proizvoda, pročišćavanje skladišta, insekti i drugi štetni faktori tokom procesa siliranja i skladištenja, mogu da podstaknu nepoželjan rast plesni, proizvodnju mikotoksina i smanjenje nutritivnog kvaliteta (Lanier i sar., 2010). Konzumiranje hraniva kontaminiranog mikotoksinima kod preživa može da izazove mikotoksikoze, različitih manifestacija i posledica, uprkos njihovoj mogućnosti da ova jedinjenja

transformišu u manje toksične metabolite, kao na primer aflatoksine u aflatoksikole ili ohratoksine u ohratoksin-alfa (Fink-Gremmels, 2008). Hepatoksični aflatoksin B1 se u telu preživara transformiše u aflatoksin M1, koji se izlučuje kroz mleko i time direktno ugrožava zdravlje ljudi koji to mleko konzumiraju (Corbett i sar., 1988; Richard i sar., 2009).

Visok rizik od izlagnja ljudi štetnom dejstvu mikotoksina posredstvom stočne hrane objašnjava veliki interes prehrambene industrije za prevenciju prodiranja mikotoksina u lanac ishrane, jer postoji svega nekoliko načina, varijabilne efikasnosti, za rešavanje ovog problema kada se mikotoksini već nađu unutar lanca (Oruc i sar., 2006; Jouany, 2007).

Jedan od prvih koraka u borbi protiv dospevanja mikotoksina u hranu je monitoring prisustva toksigenih plesni i mikotoksina u stočnoj hrani. Cilj ovog rada je, stoga, bio ispitivanje stepena kontaminacije plesnima nekoliko vrsta hrane za životinje na bazi kukuruza tokom različitih godišnjih doba, izolovanje plesni i njihova identifikacija, kao i prisustvo aflatoksina B1, ohratoksina A i zearalenona.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

U ovom radu je ispitivana mikološka i mikotoksikološka kontaminacija različitih stočnih hraniva na bazi kukuruza ($n=35$), koja se koriste u ishrani muznih krava. Uzorkovanja su izvedena na području Vojvodine u toku jedne godine, tokom sva četiri godišnja doba. Uzorci su poticali sa četiri farme. Vrste hraniva i njihov broj predstavljeni su u tabeli 1.

Tabela 1. Vrsta hraniva i broj sakupljenih uzoraka po godišnjim dobima /
Table 1. Feed type and number of collected samples per season

Hranivo / <i>Feed</i>	Broj uzoraka / <i>Number of samples</i>			
	Leto / <i>Summer</i>	Jesen / <i>Autumn</i>	Zima / <i>Winter</i>	Proleće / <i>Spring</i>
Koncentrat / <i>Concentrate</i>	4	4	4	4
Kukuruzna silaža, suva / <i>Corn silage, dry</i>	—	3	4	3
Kukuruzna silaža, sveža / <i>Corn silage, fresh</i>	3	—	—	1
Silaža od kukuruznog zrna / <i>Corn grain silage</i>	—	—	2	3

Mikološko ispitivanje. Određivanje ukupnog broja plesni u 1 g uzorka izvedeno je primenom standardnog Kohovog metoda (metod razređenja). Zasejane ploče sa Sabouraud maltoznim agarom (SMA) i streptomycinom (0,01 – 0,02%) inkubirane su tokom 7 do 10 dana na temperaturi od 25°C, nakon čega su

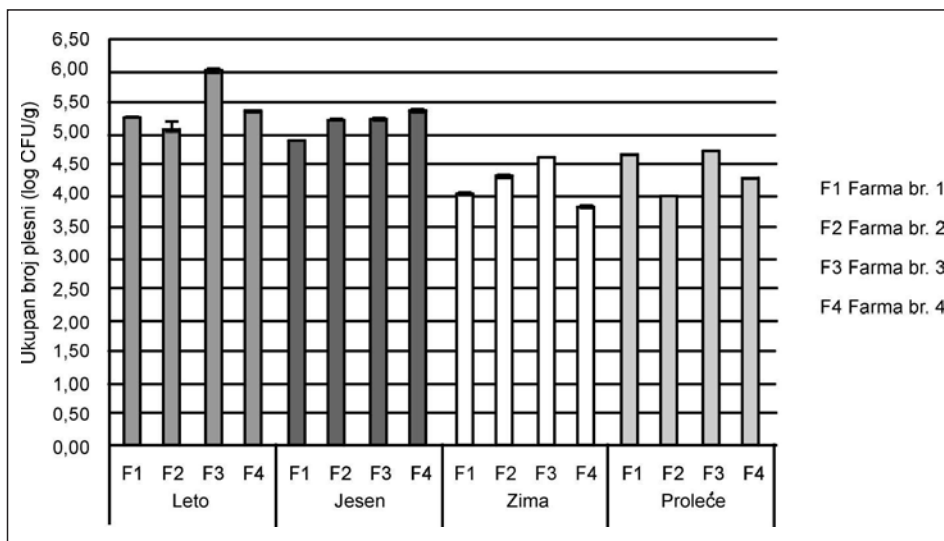
očitavani rezultati. Identifikacija izolovanih vrsta je urađena primenom ključeva za determinaciju gljivica prema sledećim autorima: Ellis (1971; 1976), Pidopličko i Miljko (1971), Nelson i sar. (1983) i Samson i sar. (2004).

Statistička analiza za ukupan broj plesni po 1 g uzorka je izvedena samo za uzorke koncentrata, tokom jedne godine za sva četiri godišnja doba. Podaci su obrađeni analizom varijanse (ANOVA), gde su vrednosti upoređene Dankanovim testom. Analize su izvedene upotrebom StatSoft paketa (STATISTICA 9.1 StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Mikotoksikološka ispitivanja obuhvatala su kvalitativno i kvantitativno određivanje aflatoksina B1 (AB1), ohratoksina A (OTA) i zearalenona (ZEA). Detekcija prisustva i sadržaja AB1, OTA i ZEA je izvedena fluorometrijski, korišćenjem VICAM fluorometrijskih metoda za njihovo utvrđivanje (*Afla BTM*, *Ochra TestTM*, *Zearala TestTM*).

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Mikološka ispitivanja. Kontaminacija uzoraka plesnima je zabeležena tokom celog ciklusa istraživanja. U toku leta, zime i proleća stepen kontaminacije kod uzorkovanih hraniva je bio 100%, dok je u jesen 83,3% uzoraka bilo kontaminirano (grafikon 2). Vrednosti ukupnog broja plesni sa standardnom devijacijom kod uzoraka koncentrata, prikazane su na grafikonu 1. Statistička analiza je pokazala da između farmi tokom jednog godišnjeg doba nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Jedini izuzetak se pojavio tokom leta, kada je primećeno da



Grafikon 1. Ukupan broj plesni izolovan iz koncentrata tokom jedne godine
Graph 1. Total viable mould count in concentrate throughout one year

postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$). Visoka temperatura i vlažnost tokom ovog godišnjeg doba, kao i uslovi skladištenja mogu biti zaslužni za očigledno viši broj plesni izolovan po 1 g stočne hrane, što i potvrđuju rezultati statističke analize (Lanier i sar., 2010). Statistička analiza je takođe izvedena da se uporedi uticaj godišnjeg doba na ukupan broj plesni na svakoj farmi ponaosob. Značajna statistička razlika ($p < 0,05$) zapažena je na dve farme. Ova analiza takođe potvrđuje prethodnu pretpostavku, kojom je utvrđeno da klimatski faktori, promene vlažnosti vazduha imaju uticaj na ukupan broj izolovanih plesni. Do sličnih rezultata došli su i drugi istraživači (Biro i sar., 2009).

Rezultati fungalne kontaminacije ostalih hraniva predstavljeni su u tabeli 2. Najviši stepen kontaminacije suve kukuruzne silaže je bio tokom zime (7,32 log cfu/g), a najniži tokom leta (1,00 cfu/g). Sveža kukuruzna silaža uzorkovana je u leto i proleće. Najniža i najviša vrednost kontaminacije zabeležene su tokom leta, 1,00 cfu/g i 5,38 1,00 cfu/g. Uzorci silaže od kukuruznog zrna su bili najviše kontaminirani u proleće, gde je ukupan broj plesni bio 4,51 log cfu/g, a najmanje u zimu, sa 1,00 log cfu/g.

Tabela 2. Količina plesni po 1 gramu stočne hrane /
Table 2. Total mould count per 1 g of feed

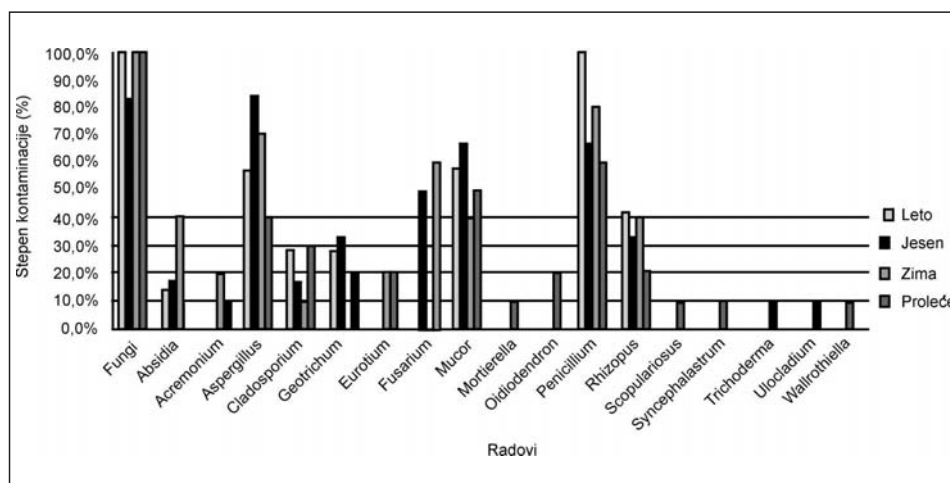
Hranivo / Feed	Količina plesni po 1 g (log cfu/g) / Total mould count per 1 g (log cfu/g)			
	Leto / Summer	Jesen / Autumn	Zima / Winter	Proleće / Spring
Kukuruzna silaža, suva / Corn silage, dry	—	1,00-3,79	1,30-7,32	3,28-4,41
Kukuruzna silaža, sveža / Corn silage, fresh	1,00-5,38	—	—	2,00-3,28
Silaža od kukuruznog zrna / Corn grain silage	—	—	1,00-1,18	1,30-4,51

Nakon utvrđivanja ukupnog broja, usledila je i identifikacija vrste plesni i ispitivanje prisustva i koncentracije mikotoksina. Uzorci su bili kontaminirani sa 17 različitih rodova plesni, iz kojih je izolovano i identifikovano 58 vrsta. Rezultati su prikazani po godišnjim dobima.

Leto – Tokom ovog godišnjeg doba, svi uzorci su bili kontaminirani plesnima (grafikon 2) i to 100% vrstama roda *Penicillium*; 57,1% vrstama rodova *Aspergillus* i *Mucor*; 42,9% vrstama roda *Rhizopus*; 28,6% *Cladosporium* i *Geotrichum* vrstama i, na kraju, 14,3% vrstama roda *Absidia*.

Nakon detaljnog mikološkog pregleda i identifikacije, iz koncentrata su izolovane brojne plesni, koje su svrstane u 8 rodova (*Absidia*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium* i *Rhizopus*) i 20 vrsta (tabela 3). Vrste su: *Absidia corymbifera*, *Aspergillus flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *A. protuberus*, *A. sulphureus*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Eurotium her-*

bariorum, *Geotrichum candidum*, *Mucor hiemalis*, *M. pusillus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. capsulatum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. islandicum*, *P. simplicissimus*, *P. sublateralitium* i *Rhizopus stolonifer*.



Grafikon 2. Stepen kontaminacije (%) plesnima stočne hrane na bazi kukuruza tokom istraživačkog ciklusa

Graph 2. Degree of contamination (%) of corn-based feed with moulds during investigation period

Plesni izolovane iz sveže kukuruzne silaže pripadaju rodovima *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Penicillium*, iz kojih je izolovano 6 različitih vrsta.: *A. fumigatus*, *A. niger*, *C. herbarum*, *P. aurantiogriseum*, *P. brevi – compactum* i *P. claviforme*.

Jesen – Kontaminacija uzoraka sakupljenih u jesen je prikazana na grafikonu 2. Utvrđeno je da je 83,3% uzoraka kontaminirano vrstama roda *Aspergillus*; 66,7% vrstama rodova *Penicillium* i *Mucor*; 50,0% *Fusarium* vrstama; 33,3% *Rhizopus* i *Geotrichum* vrstama i 16,7% vrstama rodova *Absidia* i *Cladosporium*.

Raznovrsni sojevi su tokom ovog perioda izolovani iz pojedinih uzoraka stočne hrane. Iz koncentrata izolovane plesni su svrstane u 8 rodova i 20 vrsta. Rodovi su: *Absidia*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium* i *Rhizopus*. Vrste su: *A. corymbifera*, *Aspergillus carneus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *C. cladosporoides*, *Fusarium lateritium*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *G. candidum*, *Mucor circinelloides*, *M. dimorphosporus*, *M. griseo-cyanus*, *M. hiemalis*, *M. pusillus*, *P. aurantiogriseum*, *P. echinulatum*, *P. commune* i *R. stolonifer*.

Sveža kukuruzna silaža je bila kontaminirana sledećim vrstama: *Aspergillus fumigatus*, *Oidiodendron tenuissimum* i *Penicillium claviforme*.

Tabela 3. Pregled rodova i vrsta plesni izolovanih iz stočne hrane /
Table 3. Review of fungal genera and species of moulds isolated from feed

Hranivo	Godišnje doba			
	Leto	Jesen	Zima	Proleće
Koncentrat	<i>Absidia corymbifera</i>	<i>Absidia corymbifera</i>	<i>Absidia corymbifera</i>	<i>Absidia corymbifera</i>
			<i>Acremonium strictum</i>	<i>Acremonium strictum</i>
	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. protuberus</i> , <i>A. sulphureus</i>	<i>Aspergillus carneus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	<i>Aspergillus candidus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. versicolor</i>	<i>Aspergillus caespitosus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. versicolor</i>
	<i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>C. herbarum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>		<i>Cladosporium herbarum</i>
	<i>Eurotium herbariorum</i>		<i>Eurotium herbariorum</i>	<i>Eurotium herbariorum</i>
		<i>Fusarium lateritium</i> , <i>F. solani</i> <i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Geotrichum candidum</i>		
			<i>Mortierella polycephala</i>	
	<i>Mucor hiemalis</i> , <i>M. pusillus</i>	<i>Mucor circinelloides</i> , <i>M. dimorphosporus</i> , <i>M. griseo</i> - <i>cyanus</i> , <i>M. hiemalis</i> , <i>M. pusillus</i>	<i>Mucor heterosporus</i>	<i>Mucor hiemalis</i> , <i>M. racemosus</i>
			<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	
	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. capsulatum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. islandicum</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. sublateritium</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. echinulatum</i> , <i>P. commune</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. decumbens</i> , <i>P. islandicum</i> , <i>P. miczynskii</i> , <i>P. purpurogenum</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. velutinum</i>
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Rhizopus cohnii</i> , <i>R. stolonifer</i>	
			<i>Syncephalastrum racemosum</i>	

nastavak tabele 3 / cont. Table 3.

Hranivo	Godišnje doba			
	Leto	Jesen	Zima	Proleće
Kukuruzna silaža suva	—		<i>Absidia corymbifera</i>	
			<i>Acremonium strictum</i>	
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. versicolor</i>	<i>Aspergillus niger</i>
				<i>Cladosporium herbarum</i>
				<i>Fusarium moniliforme</i>
				<i>Geotrichum candidum</i>
			<i>Mucor heterosporus</i>	<i>Mucor dimorphosporus</i>
		<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	
		<i>Penicillium claviforme</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. frequentans</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>P. janthinellum</i> , <i>P. velutinum</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. velutinum</i>
			<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	
Sveža kukuruzna silaža	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. niger</i>	—	—	
	<i>Cladosporium herbarum</i>			<i>Cladosporium herbarum</i>
				<i>Geotrichum candidum</i>
				<i>Mucor hiemalis</i>
	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. brevi - compactum</i> , <i>P. claviforme</i>			<i>Penicillium chrysogenum</i>

nastavak tabele 3 / cont. Table 3.

Hranivo	Godišnje doba			Proleće
	Leto	Jesen	Zima	
Kukuruzna silaža od zrna kukuruza	—	—		<i>Chaetomium globosum</i>
			<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>
				<i>Fusarium moniliforme</i>
				<i>Geotrichum candidum</i>
				<i>Mucor dimorphosporus</i>
			<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	
				<i>Rhizopus stolonifer</i>
				<i>Ulocladium botrytis</i>

Zima – U toku zime 100% uzoraka je bilo kontaminirano plesnima, i to: 80% uzoraka *Penicillium* vrstama, 70% *Aspergillus* vrstama, 40% *Absidia*, *Mucor* i *Rhizopus* vrstama, 30% vrstama roda *Fusarium*, 20% *Acremonium*, *Eurotium* i *Oidiodendron* vrstama, i 10% vrstama rodova *Cladosporium*, *Mortierella*, *Scopulariopsis*, *Syncephalastrum* i *Wallrothiella*.

Izolovane plesni su svrstane u 11 rodova (*Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Oidiodendron*, *Penicillium*, *Rhizopus* i *Syncephalastrum*) i 20 vrsta: *Absidia corymbifera*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus candidus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *E. herbariorum*, *F. moniliforme*, *Mortierella polycephala*, *Mucor heterosporus*, *O. tenuissimum*, *P. aurantiogriseum*, *P. decumbens*, *P. islandicum*, *P. miczynskii*, *P. purpogenum*, *Rhizopus cohni*, *R. stolonifer* i *Syncephalastrum racemosum*.

Iz suve kukuruzne silaže izolovano je 6 rodova i 13 vrsta. Izolovani rodovi: *Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Oidiodendron* i *Penicillium*. Izolovane vrste su: *Absidia ramosa*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *M. heterosporus*, *O. tenuissimum*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. frequentans*, *P. funiculosum*, *P. janthinellum*, *P. velutinum* i *Wallrothiella subiculosa*.

Silaža od zrna kukuruza je bila kontaminirana *Scopulariopsis brevicaulis*, *Cladosporium herbarum* i *Penicillium aurantiogriseum* vrstama.

Proleće – Na grafikonu 1 je prikazan stepen kontaminacije uzoraka obrađenih u prolećnom periodu. Uzorci su plesnima različitih rodova bili kontaminirani u sledećim procentima: 60% uzoraka je bilo kontaminirano *Fusarium* i *Penicillium* vrstama, 50% vrstama roda *Mucor*, 40% *Aspergillus* vrstama, 30% *Cladosporium* vrstama, 20% vrstama rodova *Geotrichum*, *Eurotium* i *Rhizopus* i 10% vrstama rodova *Absidia*, *Acremonium*, *Trichoderma* i *Ulocladium*.

Koncentrat je bio kontaminiran plesnima svrstanim u 8 rodova (*Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor* i *Penicillium*) i 20 vrsta (*Absidia corymbifera*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus caespitosus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *Eurotium herbariorum*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Mucor hiemalis*, *M. racemosus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. claviforme*, *P. expansum* i *P. velutinum*).

Plesni izolovane iz suve kukuruzne silaže su: *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Geotrichum candidum*, *Mucor dimorphosporus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. claviforme*, *P. expansum* i *P. velutinum*.

Iz sveže kukuruzne silaže izolovane su 4 različite vrste: *Cladosporium herbarum*, *Geotrichum candidum*, *Mucor hiemalis* i *Penicillium chrysogenum*.

Kukuruzna silaža od zrna kukuruza je bila kontaminirana sledećim vrstama plesni: *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Geotrichum candidum*, *Mucor dimorphosporus*, *Rhizopus stolonifer* i *Ulocladium botrytis*.

Tabela 4. *Fungalne vrste izolovane iz hraniva na bazi kukuruza u toku istraživačke godine / Table 4. Fungal species isolated from corn-based feed in one research year*

Rod	Vrsta	Rod	Vrsta
<i>Absidia</i>	<i>Absidia corymbifera</i> (Cohn) Sacc. & Trotter	<i>Oidiodendron</i>	<i>Oidiodendron tenuissimum</i> (Peck) Hughes
<i>Acremonium</i>	<i>Acremonium strictum</i> Gams	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx <i>P. brevi - compactum</i> Dierckx <i>P. capsulatum</i> Raper and Fennell <i>P. claviforme</i> Bain <i>P. chrysogenum</i> Thom <i>P. commune</i> Thom <i>P. decumbens</i> Thom <i>P. echinulatum</i> Fassatiava <i>P. expansum</i> Link ex Gray <i>P. frequentans</i> Westling <i>P. funiculosum</i> Thom <i>P. islandicum</i> Sopp <i>P. janthinellum</i> Biourge <i>P. miczynskii</i> Zaleski <i>P. purpurogenum</i> Stoll <i>P. simplicissimum</i> (Oudemans) Thom <i>P. sublateralium</i> Biourge <i>P. velutinum</i> van Beyma
<i>Aspergillus</i>	<i>A. caespitosus</i> Raaper and Thom <i>A. candidus</i> Link <i>A. carneus</i> (van Tiegh.) Blochwitz <i>A. clavatus</i> Desm. <i>A. flavus</i> Link <i>A. fumigatus</i> Fresen <i>A. niger</i> van Tiegh <i>A. ochraceus</i> Wilhelm <i>A. parasiticus</i> Speare <i>A. protuberus</i> Muntanola - Cvetković <i>A. sulphureus</i> (Fres.) Thom and Church <i>A. terreus</i> Thom <i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi		
<i>Chaetomium</i>	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Fries	<i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus cohnii</i> Berl. et de Toni <i>R. stolonifer</i> Ehrenb
<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fr.) de Vries <i>C. herbarum</i> (Pres.) Link ex Gray	<i>Scopulariopsis</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Sacc.) Bainier
<i>Eurotium</i>	<i>Eurotium herbariorum</i> (Wiggers) Link	<i>Syncephalastrum</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex Schroet
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium lateritium</i> Ness <i>F. moniliforme</i> Sheldon <i>F. solani</i> (Mart) Sacc. <i>F. oxysporum</i> Berk. & Curt	<i>Ulocladium</i>	<i>Ulocladium botrytis</i> Preuss
<i>Geotrichum</i>	<i>Geotrichum candidum</i> Link ex Pres.	<i>Wallrothiella</i>	<i>Wallrothiella subiculosa</i> Höhn
<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella polycephala</i> Coem.		
<i>Mucor</i>	<i>M. circinelloides</i> van Tiegh <i>M. dimorphosporus</i> Lendin. <i>M. griseo - cyanus</i> Hagem <i>M. heterosporus</i> Fisch. <i>M. hiemalis</i> Wehmer <i>M. pusillus</i> Lindt. <i>M. racemosus</i> Fres.		

Mikotoksikološke analize su sprovedene takođe na svim uzorcima tokom jedne godine. Rezultati su predstavljeni u tabeli 5. Svi uzorci su bili negativni na nalaz AB1. OTA je detektovan u zimu u svim uzorcima suve kukuruzne silaže (n=4) u koncentraciji od 16,00 µg/kg dok je u proleće samo jedan uzorak suve kukuruzne silaže bio pozitivan na nalaz OTA u manjoj koncentraciji u odnosu na zimu (12,00 µg/kg). Ostali uzorci su bili negativni na OTA. ZEA je nađen samo u koncentratu u koncentracijama od 220,00 i 240,00 µg/kg u letnjem periodu (n=2) i u proleće u količini od 240,00 µg/kg (kontaminirana su bila 3 uzorka od 4, sa podjednakim količinama ZEA).

Tabela 5. Nalaz mikotoksina u stočnoj hrani /
Table 5. Findings of mycotoxins in feed

Hranivo / Feed	AB1 (µg·kg ⁻¹)				OTA (µg·kg ⁻¹)				ZEA (µg·kg ⁻¹)			
	L	J	Z	P	L	J	Z	P	L	J	Z	P
Koncentrat / Concentrate	—	—	—	—	—	—	—	—	220.00 240.00	—	—	240.00
Kukuruzna silaža, suva / Corn silage, dry	—	—	—	—	—	—	16.00	12.00	—	—	—	—
Sveža kukuruzna silaža / Fresh corn silage	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kukuruzna silaza od zrna kukuruza / Corn grain silage	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

L - leto, J - jesen, Z - zima, P - proleće / L - Summer, J - Autumn, Z - Winter, P - Spring

Sumiranjem rezultata u toku jedne istraživačke godine, može se uočiti da je stepen fungalne kontaminacije tokom cele godine bio znatno visok i da je tokom leta, zime i proleća bio čak 100%. Od izolovanih plesni, svakako najinteresantniji su rodovi *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*, jer su zastupljeni sa po nekoliko vrsta od kojih je većina toksigena (Marasas i sar., 1984; Ožegović i Pepeljnjak, 1995; Samson i sar., 2004).

Interesantno je da su *Aspergillus* vrste najčešće registrovane u toku jeseni, kada su niže temperature vazduha u odnosu na leto ili proleće, jer su one poznate po tome da im pogoduju više temperature za razmnožavanje i rast, a pogotovo za stvaranje sekundarnih metabolita (Samson i sar., 2004).

Dejstvom metabolizma nekih vrsta od izolovanih rodova (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* i *Geotrichum*) nastaju lako isparljiva organska mikrobna jedinjenja (MVOCs) koja daju specifičan plesnivi miris stočnoj hrani, koji uzrokuje smanjenje unosa hrane ili produžuje vreme obroka (Fink-Gremmels, 2008).

Prema navodima iz literature (Marasas i sar., 1984; Ožegović i Pepeljnjak, 1995; Samson i sar., 2004; i dr.), mikotoksine ispitivane u ovom radu potencijalno proizvode neke od plesni koje su izolovane tokom ovog istraživanja:

- AB1 *Aspergillus flavus* (31,42% uzoraka je bilo kontaminirano ovom vrstom) i *A. parasiticus* (2,85%),
- OTA *Aspergillus niger* (17,14%) i *A. ochraceus* (2,85%) i
- ZEA *Fusarium moniliforme* (31,42%), *F. oxysporum* (5,71%) i *F. solani* (2,85%).

Iako je veliki broj uzoraka bio kontaminiran plesnima potencijalnim proizvođačima AB1, do sinteze tog toksičnog metabolita nije došlo. Ovi rezultati pokazuju da uslovi skladištenja, vlažnost vazduha, a pre svega genetička predispozicija za stvaranje određene vrste toksina, imaju značajan uticaj na metabolizam mikotoksigenih plesni. Aflatoksini predstavljaju mnogo manji problem u našoj zemlji nego u suptropskim i tropskim delovima Afrike i Amerike, gde postoje izuzetno povoljni klimatski uslovi za razvoj aflatoksigenih plesni i aflatoksina. To potvrđuju dobijeni rezultati, kao i rezultati istraživanja Kordić i sar. (1996), koji su utvrdili prisustvo AB1 samo kod 2% prirodno osušenih uzoraka kukuruza, za razliku od ZEA, koji je konstatovan u čak 61% uzoraka, nezavisno od načina sušenja.

S obzirom na to da su vrste roda *Fusarium* takođe poznate kao i „poljske plesni”, nastanak toksičnih metabolita, zearalenona, moguć je već u polju, u toku uzgoja kukuruza. Metaboliti se zadržavaju na biljci, a razvoj plesni i toksina se nastavlja i kasnije, tokom skladištenja (Krnjaja i sar., 2007; Bagi i sar. 2008; Lević, 2008).

Zaključak / Conclusion

Stočna hrana na bazi kukuruza ispitana u ovom radu bila je kontaminirana plesnima tokom celog perioda istraživanja. Najzastupljeniji rodovi su bili *Aspergillus* (12 vrsta), *Fusarium* (4 vrste), *Mucor* (7 vrsta) i *Penicillium* (20 vrsta). Mnoge izolovane plesni su potencijalno patogene. Ohratoksin je detektovan u suvoj kukuruznoj silaži u 5 uzoraka tokom godine, a zearalenon u koncentratu u 5 uzoraka tokom istraživačkog perioda. Osim klimatskih faktora, na stepen kontaminacije su veoma uticali i uslovi skladištenja i higijena svake farme ponaosob, što je pokazano statističkom analizom, gde je za jedno isto stočno hranivo bilo razlike u stepenu kontaminacije u istom godišnjem dobu. Prevencija kontaminacije plesnima, kako u toku uzgoja, tako i u periodu skladištenja stočne hrane je od najveće važnosti jer efikasnih metoda za dekontaminaciju i detoksikaciju ima veoma malo.

ZAHVALNOST / ACKNOWLEDGEMENT

Ovo istraživanje je realizovano uz finansijsku podršku Ministarstva za Nauku Republike Srbije, u sklopu projekta III46009.

These investigations were realized with the financial support of the Ministry for Science of the Republic of Serbia within Project III46009.

Literatura / References

1. AFLA B TEST™, Instruction Manual, VICAM, Watertown, USA, 1997.
2. Bagi F, Balaž F, Jajić I, Stojšin V. Mycotoxin content in different parts of *Fusarium* infected weath heads. Cereal Res Commun 2008; 36: 341-2.
3. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol 2003; 16: 497-516.
4. Bíro D, Juráček M, Kačániová M, Šimko M, Gálik B, Michálková J, Gyöngyová E. Occurrence of microscopic fungi and mycotoxins in conserved high moisture corn from Slovakia. Ann Agric Environ Med 2009; 16: 227-32.
5. Black RD, McVay DS, Oehme FW. Immunotoxicity in the bovine animal. Vet Hum Toxicol 1992; 34: 438-42.
6. Castegnaro M, Barsch H, Chernozemsky I. Endemic nephropathy and urinary tract tumors in Balkans. Cancer Res 1987; 47: 3606-9.
7. Corbett WT, Brownie CF, Hagler SB, Hagler Jr WM. An epidemiological investigation associating aflatoxin M1 with milk production in dairy cattle. Vet Hum Toxicol 1988; 30: 5-8.
8. Dänicke S, Matthaus K, Lebzien P, Valenta H, Stemme K, Ueberschar KH, Razzazi-Fazeli E, Böhm J, Flachowsky G. Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat grain on nutrient turnover, microbial protein synthesis and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone in the rumen of dairy cows. J Anim Physiol An N 2005; 89: 303-15.
9. Ellis MB. *Dematiaceous Hyphomycetes*, Commonwealth Mycological institute, Kew, Surrey, England, 1971.
10. Fink-Gremmels J. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. Vet J 2008; 176: 84-92.
11. Hult K, Palestina R, Habazin-Novak V, Radić B, Čeović S. Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy. Arch Toxicol 1982; 51: 313-7.
12. Jouany JP. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. Anim Feed Sci Tech 2007; 137: 342-62.
13. Kalac P, Woolford MK. A review of some aspects of possible associations between the feeding of silage and animal health. Bov Vet J 1982; 138: 305-20.
14. Kordić B, Panin M, Kandić S, Lončarević A, Muntanjola-Cvetković M. Rezultati višegodišnjeg mikrobilološkog i mikotoksikološkog istraživanja stočne hrane u SR Srbiji. Posebna izdanja ANU BiH, LXXX. Odeljenje medicinskih nauka 1986; 12: 17-28.
15. Krnjaja V, Lević J, Tomić Z, Nešić Z, Stojanović Lj, Trenkovski S. Dynamics and incidence and frequency of populations of *Fusarium* species on stored maize grain. Biotechnology In Animal Husbandry 2007; 5-6: 589-600.
16. Lanier C, Richard E, Heutte N, Picquet R, Bouchart V, Garon D. Airborne molds and mycotoxins associated with handling of corn silage and oilseed cakes in agricultural environment. Atmos Environ 2010; 44: 1980-6.
17. Lević J. Vrste roda *Fusarium*. Beograd: Cicero, 2008.
18. Macgerorge KM, Mantle PG. Nephrotoxic fungus in a Yugoslavian community in which Balkan endemic nephropathy is hyperendemic. Mycol Res 1991; 95: 660-4.
19. Marasas WFO, Nelson PE, Toussonn TA. Toxigenic *Fusarium* species. University Park and London: The Pennsylvania State University Press, USA, 1984.

20. Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO. *Fusarium* species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London, 1983.
21. OCHRA TEST™, Instruction Manual, VICAM, Watertown, USA, 1997.
22. Oruc HH, Cengiz M, Kalkanli O. Comparison of aflatoxin and fumonisin levels in maize grown in Turkey and imported from the USA. *Anim Feed Sci Tech* 2006; 128: 337-41.
23. Ožegović L, Pepeljnjak S. Mikotoksikoze. Zagreb: Školska knjiga, 1995.
24. Pidopličko NM, Miljko AA. Atlas mukoraljnih gribov. Kijev: Naukova dumka, 1971.
25. Placinta CM, D'Mello JPF, Mac Donald AMC. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim Feed Sci Tech* 1999; 78: 21-37.
26. Richard E, Heute N, Bouchart V, Garon D. Evaluation of fungal contamination and mycotoxin production in maize silage. *Anim Feed Sci Tech* 2009; 148: 309-20.
27. Samson RAE, Hoekstra S, Frisvad JC. Introduction to food- and airborne fungi. 7th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2004.
28. Samson RA, Frisvad JC. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands 2004.
29. Sparo MD, Mallo RA. Evaluation of the bacterial flora in natural corn silage. *Rev Argent Microbiol* 2001; 33(2): 75-80.
30. Škrinjar M, Könyves T, Ač M. Frequency of *Aspergillus fumigatus* fres. - a toxigenic and allergenic fungal species in milking cows feeds throughout one research year. *Matica Srpska Novi Sad. Proc Nat Sci* 2009; 116: 101-12.
31. ZEARALA TEST™, Instruction Manual, VICAM, Watertown, USA, 1997.

ENGLISH

RESULTS OF MYCOLOGICAL AND MYCOTOXICOLOGICAL INVESTIGATIONS OF CORN-BASED FEED FOR DAIRY COW DIET

Marija Škrinjar, Dobrila Jakić-Dimić, Vladislava Šošo, Nevena Blagojev, Slavica Vesković-Moračanin, Tamara Gerić

In this study, fungal contamination was determined as well as total aflatoxin B1(AB1), ochratoxin A (OTA) and zearalenon (ZEA) levels in corn-based feed samples obtained from four different farms in Serbia (n=35) during one year. Mycotoxins were detected in feed using the VICAM fluorometric method. It was determined that 97.14% of all samples were contaminated with moulds which belonged to following genera: *Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Mortierella*, *Oidiodendron*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Syncephalastrum*, *Trichoderma*, *Ulocladium* and *Wallrothiella*. A total of 58 different species were identified. Total mould count per 1 g ranged from 1.00 log cfu/g (dried corn silage – autumn, fresh corn silage - summer and corn grain silage - spring) to 7.32 log cfu/g (dried corn silage - winter). Mycotoxins were isolated from 28.5% of samples: ZEA was found in summer (220-240 µg/kg)

and in spring (240 µg/kg) in concentrate samples; OTA was detected in winter in dried corn silage (16 µg/kg) and in spring (12 µg/kg); all samples were AB1 free.

Key words: corn based feed, moulds, aflatoxin B1, ochratoxin A, zearalenon

РУССКИЙ

РЕЗУЛЬТАТЫ МИКОЛОГИЧЕСКИХ И МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ КОРМОВ НА БАЗЕ КУКУРУЗЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ КОРМЛЕНИЯ ДОЙНЫХ КОРОВ

**Мария Шкриняр, Добрила Якич-Димич, Владислава Шошо, Невена Благоев,
Славица Вескович-Морачанин, Тамара Герич**

В этой работе совершено утверждение степени фунгальной контаминации, образчиков кормов для скота на базе кукурузы (n=35), собранные с четырёх различных ферм в Воеводине в течение всех времён года в течение одного года, словно и утверждение присутствия и количества афлатоксина В1 (AB1), охратоксина А (ОТА) и зеараленона (ЗЕА) в приведённых кормах. Около 97% образчиков было контаминировано плеснями, которые принадлежали следующим родам: *Ab-sidia*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Mortierella*, *Oidiodendron*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Syncephalastrum*, *Tri-choderma*, *Ulocladium* и *Wallrothiella*. Идентифицировано совокупно 58 видов. Совокупное число плесней двиглось от 1,00 (сухого кукурузного силосования - осень, свежее кукурузное силосование - лето и силосоване от зерна кукурузы - весна) до 7,32 лог цфу/г (сухое кукурузное силосование-зима). Микотоксины детектованы в 28,5% образчиков: ЗЕА найден в лето (220 и 240 мг/кг) и весной (240 мг/кг) в образчиках концентрата, ОТА в течение зимы в сухом кукурузном силосовании (16 мг/кг) и весна (12 мг/кг), пока AB1 не детектован в испытанных образчиках.

Ключевые слова: корм для скота на базе кукурузы, плесни, афлатоксин В1, охратоксин А, зеараленон

**EPIZOOTIOLOŠKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE
DERMATOFITOZE GOVEDA IZAZVANE VRSTOM
TRICHOPHYTON VERRUCOSUM^{*}
*EPIZOOTIOLOGICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF BOVINE
DERMATOPHYTOSIS CAUSED BY TRICHOPHYTON VERRUCOSUM***

**A. Potkonjak, J. Kovačević, Ljiljana Suvajdžić, Dijana Tomić,
Bjanka Lako, Dubravka Milanov^{**}**

Dermatofitoze predstavljaju česta, kontagiozna gljivična oboljenja kože kod ljudi i životinja. Kod životinja su skoro uvek prisutne zoolofilne vrste dermatofita. Dominantna vrsta dermatofita kod goveda i drugih preživara je Trichophyton verrucosum iz familije Arthrodermataceae.

U ovom istraživanju ukupno je epizootiološki i klinički pregledano 566 jedinki holštajn-frizijske rase. Primenjene su metode epizootioloških, kliničkih i laboratorijskih ispitivanja. Kao materijal za laboratorijska ispitivanja koja su obuhvatala direktni mikroskopski pregled sa izolacijom i identifikacijom uzročnika, korišćeni su uzorci dlake i skarifikati kože goveda sumnjivih na infekciju.

Primenom opisanih metoda, utvrdili smo i opisali sličnu infekciju goveda izazvanu vrstom T. verrucosum na jednoj farmi u Južnobačkom okrugu, u Republici Srbiji. Ustanovljena je prevalencija infekcije kože goveda izazvanu vrstom T. verrucosum od 29,5%. Pored ispoljenih karakterističnih eflorescencija koje odgovaraju kliničkoj slici dermatofitoza, registrovali smo pojavu hemoragija, supuracija i nekroza.

Neophodna su dalja epizootiološka istraživanja u cilju eliminacije izvora infekcije.

*Ključne reči: dermatofite, dijagnostika, infekcija, goveda,
Trichophyton verrucosum*

* Rad primljen za štampu 29. 06. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Aleksandar Potkonjak, docent, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; Jovan Kovačević, dr. vet. med., "Castro-cop", Kulpin; dr sci. med. vet. Ljiljana Suvajdžić, docent, Medicinski fakultet, Zavod za farmaciju, Novi Sad; dr med. spec. Dijana Tomić, Vojnomedicinska akademija, Institut za mikrobiologiju, Beograd; Bjanka Lako, dr med., Vojnomedicinski centar, "Slavija", Beograd; dr sci. med. vet. Dubravka Milanov, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Uvod / Introduction

Dermatofitoze predstavljaju česta, kontagiozna gljivična oboljenja kože kod ljudi, životinja i, retko, ptica. Ova oboljenja su raširena širom sveta. Kod životinja su dominantno prisutne zoofilne vrste dermatofita, mada se ponekad registruje i prisustvo geofilnih i antropofilnih dermatofita. Dermatofite predstavljaju keratinofilne askomicete koje pokazuju keratinolitičke osobine. Dominantna vrsta dermatofita kod goveda i drugih preživara je *Trichophyton verrucosum* iz familije *Arthrodermataceae* (Chermette i sar., 2008). Kod goveda je utvrđeno prisustvo i drugih dermatofita poput *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* i *Trichophyton simii* (Yildirim i sar., 2010).

Od dijagnostičkih metoda primenjuje se direktni pregled dlake i skarifkata kože, kultivacija i imunodijagnostika. Primena Wood-ove lampe u dijagnostici infekcije goveda izazvane *Trichophyton verrucosum* nema značaj, jer metaboliti ove dermatofite ne fluoresciraju kao što je to slučaj kod infekcije izazvane *Microsporum canis* (Chermette i sar., 2008).

Poseban problem za javno zdravlje predstavlja sposobnost gljivice *Trichophyton verrucosum* da inficira ljude (Papini i sar., 2009).

U našoj zemlji postoji malo podataka o infekciji *T. verrucosum* kod goveda, ali i životinja uopšte. Podatke o zastupljenosti dermatomikoza izazvanih zoofilnim dermatofitima – 4,1% u Srbiji, 60,6% u Hrvatskoj i 75,4% u Sloveniji, kao i da je infekcija kod goveda *T. verrucosum* potencijalno važan izvor infekcije za ljude u Jugoslaviji navode Ozegovic i Grin (1963). Prvi slučaj inficiranosti ovaca *T. verrucosum* koje su bile u kontaktu sa inficiranim govedima navode Pavlovic i sar. (1983).

S obzirom na to da u našoj zemlji postoji malo podataka u dostupnoj literaturi o ovoj čestoj infekciji kod goveda, nakon pojave kliničke slike dermatomikoze na jednoj farmi goveda u Južnobačkom okrugu, u Republici Srbiji, sprovedli smo epizootiološka, klinička i laboratorijska istraživanja sa ciljem da postavimo etiološku dijagnozu i prikažemo epizootiološke i kliničke karakteristike infekcije.

Materijal i metode rada / Material and methods

Istraživanje je obavljeno na jednoj farmi u Južnobačkom okrugu, u Republici Srbiji, sa intenzivnim konvencionalnim sistemom uzgoja čistokrvnih crno-belih goveda holštajn-frizijske rase. Sva goveda vode poreklo sa ove farme. U istraživanje je bilo uključeno 566 jedinki, odnosno sva goveda na farmi. Od jedinki sa kliničkim promenama sumnjivim na gljivičnu infekciju, prikupljeni su uzorci dlake i skarifikati kože sa ruba eflorescence, uz prethodnu obradu 70% rastvorom alkohola. Uzorkovanje je izvršeno nakon ispoljavanja kliničke slike dermatofitoze u februaru 2010. godine.

Epizootiološkim istraživanjem prikupljeni su podaci koji se odnose na pol i starost jedinki koje su uključene u ovo istraživanje. Kliničkim pregledom, jedinki koje su uključene u ovo ispitivanje, prikupljeni su podaci koji se odnose na prisustvo, broj, oblik, veličinu, lokalizaciju i izgled eflorescenci na koži.

Od laboratorijskih ispitivanja, prvo je obavljen direktni mikroskopski pregled uzoraka dlake i skarifikata kože. Preparati ovih materijala su pripremljeni u 10% rastvoru kalijum-hidroksida, kao i hlorklorkofenolu, uz višestruko kratkotrajno zagrevanje na plamenu. Pregled pripremljenih preparata je izvršen pri uveličanju svetlosnog mikroskopa 400x u cilju identifikacije eventualno prisutnih artrokonidija. Istovremeno je obavljeno kultivisanje uzoraka dlake i skarifikata kože na Saburo dektroznom agaru sa hlorklorkofenolom (Himedia Laboratory), pri različitim temperaturama (25°C i 37°C) u toku četiri nedelje. Identifikacija izraslih kolonija je obavljena na osnovu brzine rasta, makroskopskih i mikroskopskih osobina, ureaza testa, kao i specifičnih nutritivnih zahteva. Za ispitivanje mikroskopskih osobina izraslih kolonija i bojenje dermatofita korišćen je rastvor laktokofenol pamuk plavo (Himedia Laboratory), dok je za ispitivanje specifičnih nutritivnih zahteva za rast gljivice korišćen Trihofiton agar 1-7 (Difco™) inkubisan na sobnoj temperaturi tokom dve nedelje.

Rezultati / Results

Nakon sprovedene epizootiološke ankete ustanovljeno je da 167 grla (29,50%) ima kliničke promene sumnjive na dermatofitozu od 566 ispitanih jedinki. Sve jedinke u ispitanoj grupi su bile ženskog pola. U starosnoj grupi teladi identifikovano je 15 (34,88%) grla sa kliničkim promenama od 43 jedinke, dok je u grupi junica bilo 90 (46,63%) grla sa kliničkim promenama od 193 jedinke. U starosnoj kategoriji karava, kliničke promene koje podsećaju na dermatofitozu registrovane su kod 72 (21,88) od ukupno 330 pregledanih krava (tabela 1).

Tabela 1. Epizootiološke karakteristike infekcije sa *T. verrucosum* /
Table 1. Epizootiological characteristics of infection with *T. verrucosum*

Starosna kategorija / <i>Age category</i>	Broj izloženih / <i>Exposed</i>	Broj inficiranih / <i>Infected</i>	Broj inficiranih % / <i>Infected %</i>
Telad / <i>Calves</i>	43	15	34,88
Junice / <i>Heifers</i>	193	90	46,63
Krave / <i>Cows</i>	330	72	21,88
Ukupno / <i>Total</i>	566	167	29,50

Na telu inficiranih životinja prosečno je bilo između 10 i 30 promena sumnjivih na dermatofitozu sa najčešćom lokalizacijom na glavi i vratu (slika 1). Kliničkim pregledom je, osim toga, ustanovljeno da su promene najčešće bile

ovalnog oblika i veličine od 10 do 50 mm. Ustanovljena je deskvamacija na promenama kod 108 pregledanih grla. Kod 40 jedinki većina promena se karakterisala pojavom ljuspi. Kod manjeg broja klinički pregledanih jedinki registrovana je pojava hemoragija, supuracija i nekroze (tabela 2).

Tabela 2. Kliničke karakteristike infekcije izazvane vrstom *T. verrucosum* /
Table 2. Clinical characteristics of infection with *T. verrucosum*

Broj / Number		Oblik / Shape		Veličina (mm) / Size (mm)		Lokalizacija / Localization		Izgled / Appearance	
≤ 10	20	Okrugle / Round	14	≤ 10	29	Glava / Head	88	Deskvamat / Desquamate	108
10-30	108	Ovalne / Oval	131	10-50	98	Vrat / Neck	35	Ljuspe / Flakes	40
30-50	30	Nepravilne / Irregular	0	50-75	33	Prednji deo / Front area	14	Hemoragije / Hemorrhages	7
50-100	9	Konfluirane / Converging	20	75-100	5	Zadnji deo / Back area	18	Supuracija / Suppuration	11
≥ 100	0	Drugo / Other	2	≥ 100	2	Celo telo / Entire body	12	Nekroza / Necrosis	1



Slika 1. Prikaz izgleda eflorescence na glavi govečeta koje su izazvane *T. verrucosum* /
Figure 1. Appearance of efflorescence on calf head caused by *T. verrucosum*

Primenom direktnog mikroskopskog pregleda uzoraka dlake i skarifikata kože utvrđeno je prisustvo velikih artrokonidija u lancima tipa ektotriks. Nakon 12 dana inkubacije na temperaturi od 37°C izrasle su krupnije, okrugle, beličaste, paučinaste kolonije, uvučene u podlogu, koje odgovaraju vrsti trihofi-

ton, dok su slične sitnije kolonije izrasle tek nakon treće nedelje kultivisanja na temperaturi od 25°C (slika 2). Mikroskopskim pregledom preparata iz kulture obojenog rastvorom hlorklaktofenol pamuk plavo identifikovane su nepravilne i septirane hife (slika 3). Kod izolovanih trihofiton vrsta test ureaze je bio negativan. Trihofiton agar broj 1 i 2 su bili bez porasta, dok je slab rast identifikovan u epruvetama 4, 6 i 7. Dobar porast ispitivane kulture je bio u trihofiton agaru broj 3, sa dodatkom inozitola i tiamina. Izrasle kolonije na Saburo dekstroznom agaru sa hloramfenikolom identifikovane su kao *Trichophyton verrucosum*.



Slika 2. Prikaz izgleda kolonija *T. verrucosum* izraslih na Saburo dekstroznom agaru sa hloramfenikolom /

Figure 2. Appearance of *T. verrucosum* colonies grown on Saburo dextrose agar with chloramphenicol



Slika 3. Prikaz izgleda hifa *T. verrucosum* obojenih rastvorom laktofenol pamuk plavo /

Figure 3. Appearance of *T. verrucosum* hifa stained with lactophenol cotton blue

Diskusija / Discussion

Dermatofitoze predstavljaju česta, kontagiozna gljivična oboljenja kože kod ljudi, životinja i, retko, ptica (Chermette i sar., 2008). Zoofilne dermatofite predstavljaju značajan problem u humanoj i veterinarskoj medicini i posebno su prisutne kod goveda. Najučestalija dermatofita kod goveda je *T. verrucosum* (Aghamirian i Ghiasian, 2011). Osim ovog saopštenja, postoje i druga koja se odnose na prevalenciju dermatofitoza životinja širom sveta. Khosravi je ustanovio da je 31,8% životinja zarazeno *T. verrucosum*, kao i da se ova infekcija nalazi na drugom mestu po učestalosti pojavljivanja, odmah iza infekcije *Microsporum canis*. Isti autor navodi da je kod preživara najčešća infekcija *T. verrucosum* (Khosravi i Mahmoudi, 2003). Papini navodi da je infekcija kod goveda *T. verrucosum* široko rasprostranjena u centralnoj Italiji sa prevalencijom od 87,7%. Ovaj autor navodi da je vrsta *T. verrucosum* bila prisutna na svim farmama goveda (Papini i sar., 2009). Ming navodi da je 20% od 1000 pregledanih krava inficirano *T. verrucosum* na farmama u zapadnoj Kini (Ming i sar., 2006). Al-Ani navodi 34 (47,8%) izolacije *T. verrucosum* iz materijala poreklom od klinički obolelih goveda. Druge izolovane vrste bile su *T. mentagrophytes*, *T. terrester*, *T. schoenleinii* i *T. violaceum* (Al-Ani i sar., 2002). Yildirim je u Turskoj ustanovio prevalenciju infekcije kod goveda izazvane *T. verrucosum* (38%) i *T. mentagrophytes* (6%) (Yildirim i sar., 2010). Rajesh je u svojim istraživanjima utvrdio da je infekcija kod goveda *T. verrucosum* samo od 1,4% za region Hisar u Indiji (Rajesh i Rajesh, 2005). U našem istraživanju ustanovljena je učestalost infekcije kod goveda *T. verrucosum* od 29,5%. Ova vrednost je u skladu sa istraživanjima drugih autora širom sveta i registrovana je kod jedinki ženskog pola, holštajnske rase koje su držane u intenzivnom konvencionalnom uzgoju. Pored toga, ustanovili smo da je infekcija češća kod junica. Chermette navodi da je infekcija *T. verrucosum* češća kod jedinki mladih od godinu dana (Chermette i sar., 2008). Aghamirian i Ghiasian (2011) saopštavaju prevalenciju infekcije *T. verrucosum* kod goveda mladih od godinu dana od 57,5%. Oldenkamp (1979) takođe ukazuje na to da su mlađa goveda podložnija za ovu infekciju, a kao razloge navodi viši pH kože i nerazvijeni imunitet. Yildirim i sar. (2010) iznose slične podatke i navode vrednosti prevalencije infekcije *T. verrucosum* kod jedinki ženskog pola starijih od 6 meseci, holštajnske rase, koje su bile uzgajane u poluintenzivnom konvencionalnom uzgoju. Slične podatke iznose i Papini i sar. (2009), ističući da je infekcija goveda *T. verrucosum* češća kod mladih jedinki ženskog pola, uzgajanih u čistoj rasi za proizvodnju mesa u konvencionalnom sistemu odgoja. Jani i saradnici (2000) navode da je infekcija *T. verrucosum* bila prisutna kod mladih grla (od 4 do 16 meseci) sa većom incidencijom od 73% kod jedinki ženskog pola. Češću inficiranost *T. verrucosum* muške teladi mlađe od 6 meseci ustanovili su Rajesh i Rajesh (2005). Drugi autori nisu ustanovili razliku u incidenciji infekcije *T. verrucosum* u odnosu na pol jedinki (Haab i sar., 1994; Aghamirian i Ghiasian, 2011). Mi smo ustanovili da je klinička slika infekcije bila manifestna kod svih jedinki kod kojih smo izolovali *T. verruco-*

sum. Papini i sar. (2009) navode da prevalencija infekcije *T. verrucosum* kod goveda sa ispoljenom kliničkom slikom dermatofitoze iznosi 95,7%. Jani i saradnici (2000) su izolovali *T. verrucosum* kod 26 goveda sa izraženom kliničkom slikom infekcije. U našem istraživanju infekcija krava uzrokovana gljivicom *T. verrucosum* klinički se ispoljila u februaru 2010. godine. Chermette i sar. (2008) navode da je pojava klinički manifestne infekcije *T. verrucosum* kod goveda češća u toku zimskih meseci jer se životinje drže zatvorene u štalama.

Prosečno 12 eflorescenci na telu goveda inficiranih *T. verrucosum*, koje su bile tipične i najčešće lokalizovane na glavi, grebenu i toraksu ustanovili su Jani i sar. (2000). Promene na koži kao sivo-bele, okrugle, sa krustama, uzdignute, ograničene, lokalizovane na glavi oko očiju, vratu i na prednjim ekstremitetima opisali su Rajesh i Rajesh (2005). Al-Ani i sar. (2002) opisuju skoro identične lezije sa pojavom alopecije. Rao i sar. (2008) su ustanovili da su eflorescence na koži prisutne u velikom broju kao i da su najčešće prečnika 1 cm. Eflorescence tipične za infekciju *Trichophyton verrucosum*, veličine 10 do 50 mm sa tankim slojem brašnog deskvamata ili debelim lamelarnim ljuspama koje se teško odvajaju od kože, najčešće prisutne na glavi, vratu i sapima životinje opisuju Chermette i sar. (2008). Sličan opis daju i Aghamirian i Ghiasian (2011) i navode da se može javiti i eritem, kao i ponekad pruritus. Na telu životinje autori su ustanovili od 3 do 30 eflorescenci. Rezultati naših kliničkih istraživanja su u saglasnosti sa opisanim eflorescencama na površini kože goveda inficiranih *T. verrucosum*. Kod manjeg broja klinički pregledanih jedinki registrovali smo pojavu hemoragija, supuracija i nekroza.

Direktnim mikroskopskim pregledom materijala ustanovili smo velike artrokonidije u lancima tipa ektotriks, što odgovara navodima i drugih autora (Aghamirian i Ghiasian, 2011). Izolacija i identifikacija vrste *T. verrucosum* u ovom istraživanju je u saglasnosti sa opisima ove vrste od strane drugih autora. Maslen (2000) navodi brži rast na temperaturi od 37°C sa pojavom malih okruglih, uvučenih, sivo-belih kolonija. Hife opisuje kao septirane, iregularne sa retkim hlamidokonidijama. Isti autor navodi bolji rast *T. verrucosum* na podlozi sa dodatkom inozitola i tiamina, kao i da ova karakteristika može da se primeni u diferencijalnoj dijagnostici u odnosu na *T. schoenleinii*. Ispitani izolati *T. verrucosum* na prisustvo ureaze bili su negativni, mada Robert i Pihet (2008) navode da rezultati ovog testa mogu biti varijabilni.

Zaključak / Conclusion

U veterinarskoj praksi, dermatofitoze predstavljaju najčešće infektivne bolesti kože sisara širom sveta. U ovom istraživanju je identifikovano prisustvo infekcije goveda *T. verrucosum* na jednoj farmi goveda u Južnobačkom okrugu, u Republici Srbiji. S obzirom na to da je ustanovljena prevalencija infekcije od 29,5%, da bi se eliminisao izvor infekcije neophodna su dalja epizootiološka istraživanja, jer se radi o kontagioznoj i zoonoznoj infekciji kože.

Literatura / References

1. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Dermatophytes as a cause of epizoonoses in dairy cattle and humans in Iran: epidemiological and clinical aspects. *Mycoses* 2011; 54: e52-e6.
2. Al-Ani FK, Younes FA, Al-Rawashdeh OF. Ringworm infection in cattle and horses in Jordan. *Acta Veterinaria Brno* 2002; 71: 55-60.
3. Chermette R, Ferreira L, Guillot J. Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia* 2008; 166: 385-405.
4. Haab C, Bertschinger HU, von Rotz A. Epidemiology of trichophytosis in fattening calves in regard to the prevention of leather defects. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1994; 136: 217-26.
5. Jani RG, Dhangar MR, Jani BM, Patel PR. Epidemiological and clinico-pathological study of *Trichophyton verrucosum* infection in calves. *Intas Polivet* 2000; 1: 102-5.
6. Khosravi AR, Mahmoudi M. Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses* 2003; 46: 222-5.
7. Maslen MM. Human cases of cattle ringworm due to *Trichophyton verrucosum* in Victoria, Australia. *Australas J Dermatol* 2000; 41: 90-4.
8. Ming PX, Ti YL, Bulmer GS. Outbreak of *Trichophyton verrucosum* in China transmitted from cows to humans. *Mycopathologia* 2006; 161: 225-8.
9. Oldenkamp EP. Natamycin treatment of ringworm in cattle in the United Kingdom. *Vet Rec* 1979; 105: 555-6.
10. Ozegovic L, Grin EI. Epidemiological significance of animal dermatomycoses in Yugoslavia. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 1963; 50: 1037-44.
11. Papini R, Nardoni S, Fanelli A, Mancianti F. High infection rate of *Trichophyton verrucosum* in calves from Central Italy. *Zoonoses Public Health* 2009; 56: 59-64.
12. Pavlovic R, Ozegovic L, Lalic M, Bobos S, Slavnic I. First cases of *Trichophyton* infection of sheep in Yugoslavia. *Veterinaria, Yugoslavia* 1983; 32: 521-7.
13. Rajesh K, Rajesh K. Prevalence of dermatophytosis in cattle farms at Hisar. *Haryana Veterinarian* 2005; 44: 39-42.
14. Rao TB, Prasad DR, Srinivasulu T, Rao MS. Some observations on the incidence and treatment of trichophyton infection in bovines in East Godavari district of Andhra Pradesh. *Intas Polivet* 2008; 9: 266-8.
15. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia* 2008; 166: 295-306.
16. Yildirim M, Cinar M, Ocal N, Yagci BB, Askar S. Prevalence of Clinical Dermatophytosis and Oxidative Stress in Cattle. *J Anim Vet Adv* 2010; 9: 1978-82.

ENGLISH

EPIZOOTIOLOGICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF BOVINE DERMATOPHYTOSIS CAUSED BY *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM*

A. Potkonjak, J. Kovačević, Ljiljana Suvajdžić, Dijana Tomić, Bjanka Lako, Dubravka Milanov

Dermatophytoses present frequent contagious fungal skin diseases in humans and animals. Zoophyllic types of dermatophytes are almost always present in animals. The dominant dermatophyte specie in cattle and other ruminants is *Trichophyton verrucosum* of the Family *Arthrodermataceae*.

In the course of this investigation, a total of 566 animals of the Holstein-Friesian breed were examined epizootiologically and clinically. Methods of epizootiological, clinical and laboratory examinations were applied. The material used for laboratory investigations that included direct microscopic examinations including the isolation and identification of the cause, were hair samples and skin scars of cattle suspected of having the infection.

Using the described methods, we established and described cattle infection with *T. verrucosum* in a farm in the district Južnobački okrug, in the Republic of Serbia. A prevalence of cattle skin infection with *T. verrucosum* of 29.5% was established. In addition to the exhibited characteristic efflorescences that correspond to the clinical picture of dermatophytoses, we also registered the occurrence of hemorrhages, suppurations and necroses.

Further epizootiological investigations are necessary in order to eliminate the source of infection.

Key words: *Trichophyton verrucosum*, dermatophytes, infection, cattle, diagnostics

РУССКИЙ

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕРМАТОФИТОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВЫЗВАННОГО С *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM*

А. Потконяк, Й. Ковачевич, Лиляна Сувайджич, Дияна Томич, Бянка Лако, Дубравка Миланов

Дерматофитозы представляют собой частые контагиозные грибковые заболевания кожи у людей и животных. У животных почти всегда присутствующие зоофильные виды дерматофитов. Доминантный вид дерматофитов у крупного рогатого скота и других жвачных - *Trichophyton verrucosum* из семейства *Arthrodermataceae*.

В этом исследовании совокупно эпизоотологически и клинически осмотрено 566 единичных животных Холштайн-фризийской породы. Применены методы эпизоотологических, клинических и лабораторных испытаний. Как материал для лабораторных испытаний, охватываемые прямой микроскопический осмотр с

изоляцией и идентификацией возбудителей, использованы образчики шерсти и скарафикаты кожи крупного рогатого скота подозрительных на инфекцию.

Применением описанных методов, мы утвердили и описали инфекцию крупного рогатого скота с *T. verrucosum*.

На одной ферме в Южнобачком округе, в Республике Сербии. Установлена превалентность инфекции кожи крупного рогатого скота с *T. verrucosum* от 29,5%. Возле проявленных характерных элюминесценцы, отвечающие клинической картине дерматофитов, мы регистрировали явление геморагий, гноений и некрозов.

Необходимы дальние эпизоотологические исследования с целью элиминации источника инфекции.

Ключевые слова: *Trichophyton verrucosum*, дерматофиты, инфекция, крупный рогатый скот, диагностика

**ODNOS RAZLIČITIH DEBLJINA KERATINSKOG SLOJA
DUCTUS PAPILLARIS-a I INFILTRATA LEUKOCITA U
PARENHIMU VIMENA KRAVA***

***EFFECT OF DIFFERENT THICKNESS OF KERATIN LAYER OF
DUCTUS PAPILLARIS ON STATE OF PARENCHYMA IN COW UDDER***

Ivana Davidov, M. Radinović, S. Boboš, Z. Mašić, D. Lalošević**

Ductus papillaris predstavlja prvu liniju odbrane mlečne žlezde od prodora mikroorganizama u mlečnu cisternu i parenhim mlečne žlezde. Specifičnost građe ductus papillaris-a je u stratum corneum-u koji oblaže ductus papillaris. To je jedan fini sloj sličan vosku različite debljine. Debljina stratum corneum-a zavisi od starosti i rase jedinke, kao i od broja laktacije. Stratum corneum odnosno keratinski sloj ductus papillaris-a ima bakteriostatsko i baktericidno dejstvo i onemogućava ascedentni prodor mikroorganizama u mlečnu žlezdu.

Merenjem debljine keratinskog sloja ductus papillaris-a svake četvrti vimena krava, ustanovljeno je da debljina keratinskog sloja nije ista kod svake ispitivane jedinke. Histološkim pregledom isečaka parenhima svake četvrti vimena krava uočen je različit stepen leukocitarne infiltracije. Stepene leukocitarne infiltracije ukazuje na postojanje različitih inflamatornih procesa u parenhimu koji su nastali kao slabost odbrane prve linije mlečne žlezde od prodora mikroorganizama.

Ključne reči: ductus papillaris, krava, patohistologija, vime

Uvod / Introduction

Patomorfološke promene u mlečnoj žlezdi najčešće nastaju interakcijom makroorganizma, mikroorganizama i spoljašnje sredine. Veoma važan proces u mehanizmu nastajanja intramamarnih infekcija je penetracija mikroorganizama u cisternu papile. Prva linija odbrane od prodora uzročnika u mlečnu žlezdu

* Rad primljen za štampu 07. 07. 2011. godine

** Mr sci med. vet. Ivana Davidov, asistent, mr sci med. vet. Miodrag Radinović, asistent, dr sci med. vet. Stanko Boboš, redovni profesor, dr sci med. vet. Zoran Mašić, redovan profesor, dr sci med. vet. Dušan Lalošević, vanredni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

je *ductus papillaris*, prosečne dužine 8,6 mm i prečnika 1,2 mm sa završetkom u vidu zadebljanja od nekoliko milimetara. Unutrašnjost *ductus papillaris*-a je ispunjena masom sličnom vosku, koja sadrži duge lance masnih kiselina i bazične proteine. Utvrđeno je da ove materije *in vitro* pokazuju baktericidni efekat prema ambijentnoj mikroflori, a bakteriostatski prema specifičnim uzročnicima mastitisa. Ranije se smatralo da je *musculus sphincter papillae* najvažnija prepreka za prodor mikroorganizama u mlečnu žlezdu. Danas se zna da je prva linija odbrane mlečne žlezde *ductus papillaris* (Davidov, 2010).

Ductus papillaris predstavlja longitudinalno-cilindrični kanal, koji je prekriven epitelom kože ispod kojeg se pruža mišićno-elastični sistem, koji ima funkciju da otvara i zatvara kanal. Čelijski detritus se iz kanala izbacuje tokom muže i odmah nakon izbacivanja dolazi do zamene novim ćelijama (Paulrud, 2005). Pounden i Grossman (1950) objašnjavaju da cilindričan oblik *ductus papillaris* ima nakon zatvaranja.

Među prvim podacima iz 1972. Giesecke i sar. su naveli da je epitel *ductus papillaris*-a višeslojan, a debljina mikronska. Višeslojni epitel prelazi naglo u dvoslojni epitel u lumen Fisterbergove rozete. Ispod epitelnog sloja nalaze se razvijeni papilarni i retikularni slojevi.

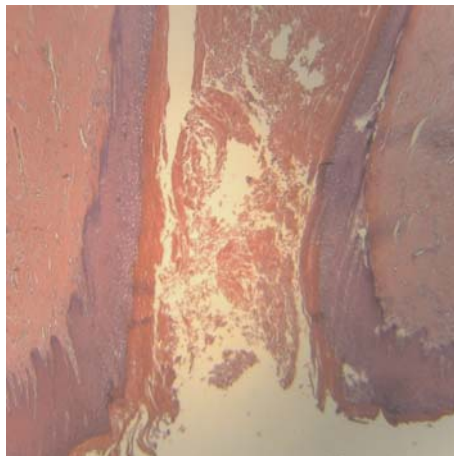
Materijal i metode rada / Material and methods

Ispitivana su vimena 26 krava holštajn-frizijske rase, različite etiologije, koje su isključene iz proizvodnje. Uzorci tkiva parenhima mlečne žlezde i vrha papile su uzete sa svih četvrti mlečne žlezde, odmah nakon klanja. Svi uzorci su fiksirani u puferizovanom 10% rastvoru formalina, potom dehidrirani kroz seriju rastvora etanola rastuće koncentracije i prožeti ksilolom i uklopljeni u parafin. Parafinski kalupi su sečeni na mikrotomu na isečke debljine 5 μ m, koji su zatim deparafinisani i bojeni hematoksilin eozinom. Tokom mikroskopskog ispitivanja preparati su posmatrani u celini i fotografisani digitalnim fotoaparatom Canon.

Rezultati / Results

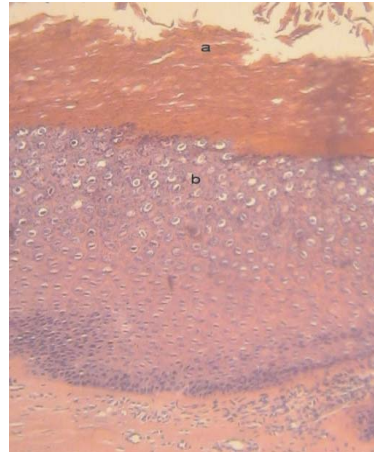
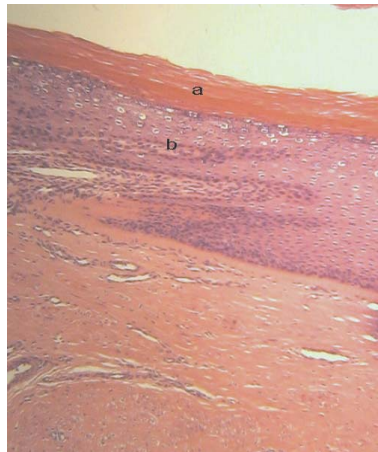
Ductus papillaris (slika 1) predstavlja vezu između spoljašnje sredine i unutrašnjosti mlečne žlezde. Obložen je slojem keratina, koji potpomaže zatvaranje lumena *ductus papillaris*-a. Središnji mišićni sloj, a pogotovo pri njegovom vrhu, sastavljen je iz glatkih mišića i kolagenih vlakana, koja oko *ductus papillaris*-a postaju sve razvijeniji da bi se konačno formirao *musculus sphincter papillae*, koji steže i zatvara *ductus papillaris*. Otvor *ostium papillae* je širok i najčešće začepljen masom deskvamisanog pokrovnog epitela. Debljina *stratum corneum*-a je neujednačena, na 8 (7,70%) papila vimena krava, sloj je tanak i debljina je do 100 μ m (slika 2 desno), a na 34 (32,69%) papile vimena krava je širi i debljina je 400 μ m (slika 2 levo).

Broj papila vimena krava koji je imao debljinu od 201 μm do 300 μm , iznosi 39 (37,5%) od ukupno 104 histološki pregledanih papila, a samo 8 (7,7%) histološki pregledanih papila ima debljinu do 100 μm (tabela 1, slika 2).



Slika 1. *Ductus papillaris* sa ostium papillae, uočljiv keratinski sloj, višeslojan pločast epitel *ductus papillaris*-a (HE 4x)

Figure 1. *Ductus papillaris* with ostium papillae, visible keratinous layer, stratified squamous epithelium of ductus papillaris (HE 4x)



Slika 2. *Ductus papillaris*: a) stratum corneum, b) stratum epithelialis (HE 10x).

Slika desno stratum corneum debljine do 100 μm .

Slika levo stratum corneum debljine od 301 do 400 μm /

Figure 2. *Ductus papillaris*: a) stratum corneum, b) stratum epithelialis (HE 10x).

Figure on right: stratum corneum up to 100 μm in thickness.

Figure on left: stratum corneum 301-400 μm thick

Tabela 1. *Debljina keratinskog sloja u papilama vimena krava /*
Table 1. Thickness of keratinous layer in cow udder papillae

Debljina keratinskog sloja / <i>Thickness of keratinous layer</i>	0-100 μm	101-200 μm	201-300 μm	301-400 μm	Ukupno / <i>Total</i>
Broj papila / <i>Number of papilla</i>	8	23	39	34	104
%	7,70	22,11	37,50	32,69	100%

Debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a koja je do 100 μm predstavlja najtanji sloj *lactosebum*-a, koji je uslovio pojavu patohistoloških promena parenhima mamarnih kompleksa (tabela 2).

Tabela 2. *Količina leukocitarnog infiltrata u odnosu na debljinu keratinskog sloja papila /*
Table 2. Pathomorphological changes in parenchyma against thickness of papilla keratinous layer

Debljina keratinskog sloja <i>ductus papillaris</i> -a / <i>Thickness of keratinous layer of ductus papillaris</i>	Leukocitarni infiltrat / <i>Leukocytary infiltrate</i>				Ukupno / <i>Total</i>
	0-25%	25,1-50%	50,1-75%	75,1-100%	
do 100 μm / <i>up to 100 μm</i>					
Broj mamarnih kompleksa / <i>Number of mammary complexes</i>	7	10	41	23	81
% mamarnih kompleksa / <i>% mammary complexes</i>	6,73%	9,61%	39,42%	22,11%	77,87%
do 200 μm / <i>up to 200 μm</i>					
Broj mamarnih kompleksa / <i>Number of mammary complexes</i>	5	7	2	2	16
% mamarnih kompleksa / <i>% mammary complexes</i>	4,81%	6,73%	1,93%	1,93%	15,4%
do 300 μm / <i>up to 300 μm</i>					
Broj mamarnih kompleksa / <i>Number of mammary complexes</i>	2	1	1	0	4
% mamarnih kompleksa / <i>% mammary complexes</i>	1,93%	0,96%	0,96%	0%	3,85%
do 400 μm / <i>up to 400 μm</i>					
Broj mamarnih kompleksa / <i>Number of mammary complexes</i>	1	1	1	0	3
% mamarnih kompleksa / <i>% mammary complexes</i>	0,96%	0,96%	0,96%	0%	2,88%
Ukupan broj mamarnih kompleksa / <i>Total number of mammary complexes</i>	15	19	45	25	104
Ukupan % / <i>Total %</i>	14,42%	18,27%	43,27%	24,04%	100%

Od ukupno 104 histološki pregledana mamarna kompleksa u 81 (77,87%) sa dužinom *ductus papillaris*-a do 100 μm je najveća leukocitarna infiltracija u parenhimu, a u 3 (2,88%) mamarna kompleksa sa dužinom *ductus papillaris*-a od 301 do 400 μm je najmanja leukocitarna infiltracija mase (tabela 2).

Statističkom obradom podataka u tabeli 3 se uočava da postoji negativna korelacija, koja ukazuje na to da sa povećanjem debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a dolazi do pada mase leukocitarnog infiltrata.

Tabela 3. Testiranje korelacije debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a i leukocitarnog infiltrata parenhima mlečnih žlezda /
Table 3. Testing correlation between thickness of keratinous layer of *ductus papillaris* and leukocytary infiltrate in mammary gland parenchyma

Leukocitarni infiltrat / <i>Leukocytary infiltrate</i>	0-25%	25,1-50%	50,1-75%	75,1-100%	Ukupno / <i>Total</i>
Debljina keratinskog sloja 0-100 μm / <i>Thickness of keratinous layer 0-100 μm</i>	7	10	41	23	81
Debljina keratinskog sloja 101-200 μm / <i>Thickness of keratinous layer 101-200 μm</i>	5	7	2	2	16
Debljina keratinskog sloja 201-300 μm / <i>Thickness of keratinous layer 201-300 μm</i>	2	1	1	0	4
Debljina keratinskog sloja 301-400 μm / <i>Thickness of keratinous layer 301-400 μm</i>	1	1	1	0	3
	-0,9845	-0,94673	-0,78739	-0,81793	-0,85512

Diskusija / Discussion

Ductus papillaris je glavna barijera infekcijama. On ima posebno značenje u okvirima nespecifične odbrane od infekcije vimena. Inače, on je glavno i najčešće ulazno mesto mikroorganizama, tj. galaktogenog puta infekcije. To je organ koji na svojstven način koči razmnožavanje bakterija, pri čemu posebnu ulogu ima epitel koji ga pokriva. Prva prepreka na koju naiđu bakterije je keratin epitelnog sloja – *stratum corneum seu lactosebum*, koji služi kao fizička barijera i odlikuje se posebnim sastavom i postepeno se menja u fosfolipid. Keratinski sloj *ductus papillaris*-a (*stratum corneum*) ili *lactosebum* predstavlja barijeru prodoru mikroorganizmima iz spoljašnje sredine u samu mlečnu žlezdu. Merenjima na 104 papile vimena krava ustanovili smo varijacije debljine keratinskog sloja – *lactosebum*-a, što je prikazano u tabeli 1.

Deskvamacijom epitela unutar *ductus papillaris*-a stvara se masni talog, koji ima baktericidni efekat u sprečavanju širenje mikroorganizama unutar papile (Avdić, 2007; Paulrud, 2005). Smanjivanje debljine keratinskog sloja doводи do mogućnosti prodora mikroorganizama. Bakteriostatska moć se verovatno odnosi ili na lipide ili na protein keratina (Seykora i McDaniel, 1985). Gubitak

keratina dovodi do invazije bakterija i kolonizacije *ductus papillaris*-a, čemu prethodi proces njihove adherencije za epitelne ćelije. Zahvaljujući sposobnosti adherencije, bakterije uspevaju da opstanu u mlečnoj žlezdi i da se suprotstave procesu ispiranja tokom muže (Sutra i Poutrel, 1994). Millar i sar. (1992) su ispitivali da li se komponente keratina razlikuju između mamarnih kompleksa sa infekcijom i bez nje. Takođe su poredili i količinu keratina između kliničkih i supkliničkih mastitsa sa neinfektivnim mamarnim kompleksima. Oni su zaključili da ne postoji razlika u komponentama između supkliničkih mastitsa i neinfektivnih mamarnih kompleksa, a količina keratina je neznatno bila manja kod supkliničkog mastitisa u odnosu na neinfektivne mlečne žlezde. U našim istraživanjima debljina keratinskog sloja od 201 do 300 μm je bila u 39 (37,50%) papila, što se smatra optimalnom debljinom keratinskog sloja *ductus papillaris*-a.

Pobrić i sar. (1998) su istraživali debljinu keratinskog sloja kod poželjnih i nepoželjnih oblika završetaka vrhova papile. Utvrdili su da je debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a kod junica bila u proseku 203,67 μm , kod poželjnih oblika papila krava na mašinskoj muži u proseku je bio 243,46 μm , a kod ručno muženih 215,88 μm , što odgovara i rezultatima naših istraživanja. Uppal i sar. (1994) su merili debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a i došli su do zaključka da je prosečna debljina keratinskog sloja $327,25 \pm 5,91 \mu\text{m}$ kod muznih krava. Našim istraživanjima utvrdili smo variranja u debljini keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 30 do 396 μm , gde je najveći procenat 37,50% imao debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 201 do 300 μm , a samo 7,70% je imalo debljinu keratinskog sloja *ductus papillaris*-a manju od 100 μm .

Patomorfološke promene mlečne žlezde muznih krava nastaju kad se probije barijera papile i kad patogeni mikroorganizmi dospeju do cisterne ili parenhima mlečne žlezde. Tu dolazi do narušavanja histološke građe cisterne i parenhima. Prema Trinidad-u i sar. (1990) histološka ispitivanja su dragocena u otkrivanju stepena oštećenja tkiva mlečne žlezde krava. Histomorfološka ispitivanja su zabeležene u radovima više autora (Chander i Reid, 1973; Heald, 1979; Nickerson i Head, 1981; Sordillo and Nickerson, 1988). Rezultati navedenih autora odgovaraju našim rezultatima istraživanja, tako da je nalaz leukocitarnog infiltrata bio najveći u parenhimima mlečne žlezde čija je debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a bila od 0 do 100 μm (tabela 2).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja utvrđeno je da:

1. debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a nije ista kod svih ispitivanih jedinki,
2. debljina keratinskog sloja *ductus papillaris*-a od 0 do 100 μm u papilama uslovljava prisustvo leukocitarnog infiltrata od 75 do 100% u 23 (22,11%) parenhimima mlečnih žlezda,

3. postoji negativna korelacija, koja ukazuje na to da sa povećanjem debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a dolazi do pada leukocitarnog infiltrata.

Literatura / References

1. Avdić R. Morfološke karakteristike Fürstenbergove rozete i sisnog kanala kod krava. *Veterinaria* 2007; 56: 7-16.
2. Chander RL, Reid IM. Ultrastructure and associated observations in clinical cases of mastitis in cattle. *J Comp Pathol* 1973; 83: 233.
3. Davidov I. Značaj dužine i debljine keratinskog sloja *ductus papillaris*-a na pojavu patomorfoloških promena vimena krava. Magistarska disertacija, Novi Sad, 2010.
4. Giesecke WH, Gerneke WH, van Rensburg IBJ. The morphology of bovine teat canal – A preliminary report. *J S Afr Vet Ass* 1972; 43: 351-4.
5. Heald CW. Morphometric study of experimentally induced *Staphylococcus aureus* in the cow. *Am J Vet Res* 1979; 40: 1249.
6. Miller RH, Bitman J, Bright SA, Wood DL, Capuco AV. Effect of clinical and subclinical mastitis on lipid composition of teat canal keratin. *J Dairy Sci* 1992; 75: 1436-42.
7. Paulrud CO. Basic Concept of the Teat Canal. *Vet Res Communicat* 2005; 29: 215-45.
8. Pobrić H, Babić Lj, Filipović-Panić M, Podžo M, Fejzić N. Patološka građa sisnog kanala s obzirom na debljinu keratina i njegova uloga u nastanku oboljenja vimena krava. *Veterinaria* 1998; 47: 89-101.
9. Pounden WD, Grossman JD. Wall structure and closing mechanisms of the bovine teat. *Am J Vet Res* 1950; 41: 349-54.
10. Seykora AJ, McDaniel BT. Udder and teat morphology related to mastitis resistance. *J Dairy Sci* 1985; 68: 2087-93.
11. Sordillo LM, Nickerson SC. Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *Amer J Vet Res* 1988; 49: 1112.
12. Sutura L, Poutrel B. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1994; 40: 79-89.
13. Trinidad P, Nickerson SC, Adkinson RW. Histopathology of Staphylococcal Mastitis in Unbred Heifers. *J Dairy Sci* 1990; 73(3) 639-47.
14. Uppal SK, Singh KB, Nauriyal DC, Bansal BK. Natural defence mechanisms against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. *Bufalo J* 1994; 2, 125-31.

ENGLISH

EFFECT OF DIFFERENT THICKNESS OF KERATIN LAYER OF *DUCTUS PAPILLARIS* ON STATE OF PARENCHYMA IN COW UDDER

Ivana Davidov, M. Radinović, S. Boboš, Z. Mašić, D. Lalošević

Ductus papillaris presents the frontline of defense of the mammary gland against the penetration of microorganisms into the milk cystem and the mammary gland

parenchyma. The specific structure of *ductus papillaris* is in the *stratum corneum* which lines the *ductus papillaris*. It is a fine layer similar to wax of various thickness. The thickness of the *stratum corneum* depends on the age and breed of the animal, as well as on the number of past lactation periods. The *stratum corneum* or the keratin layer of the *ductus papillaris* has a bacteriostatic and bactericidal effect and prevents the ascendent penetration of microorganisms into the mammary gland.

Measurements of the thickness of the keratin layer of *ductus papillaris* of each udder quarter revealed the existence of different thickness of the keratin layer. Histological examinations of parenchyma sections of each udder quarter showed different degrees of leukocytary infiltration. The degree of the leukocytary infiltration indicates the existence of various inflammatory processes in the parenchyma that occurred due to the weak frontline defense of the mammary gland against the penetration of microorganisms.

Key words: *ductus papillaris*, pathohistology, udder, cow

РУССКИЙ

ОТНОШЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТОЛЩИН КЕРАТИНОВОГО СЛОЯ *DUCTUS PAPILLARIS*-а И ИНФИЛЬТРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ В ПАРЕНХИМЕ ВЫМЕНИ КОРОВ

Ивана Давидов, М. Радинович, С. Бобош, З. Машич, Д. Лалошевич

Ductus papillaris представляет собой первую линию обороны молочной железы от прорыва микроорганизмов в молочную цистерну и паренхиму молочной железы. Специфика строения *ductus papillaris*-а в *stratum corneum*-у, обкладывающий *ductus papillaris*. Это один тонкий слой подобный воску различной толщины. Толщина *stratum corneum*-а зависит от старости и породы единичного животного, словно и от числа лактации. *Stratum corneum* то есть кератиновый слой *ductus papillaris*-а имеет бактериостатическое и бактериоцидное действие и делает невозможный растущий прорыв микроорганизмов в молочную железу.

Измерением толщины кератинового слоя *ductus papillaris*-а каждой четверти вымени коров, установлено существование различных толщин кератинового слоя. Гистологическим осмотром вырезок паренхим каждой четверти вымени коров замечена различная степень лейкоцитарной инфильтрации. Степень лейкоцитарной инфильтрации указывает на существование различных воспалительных процессов в паренхиме, возникшие как слабость обороны первой линии молочной железы от прорыва микроорганизмов.

Ключевые слова: *ductus papillaris*, патогистология, вымя, корова

**KRVNA SLIKA I BROJ SOMATSKIH ČELIJA U MLEKU
KRAVA INFICIRANIH SA *COXIELLA BURNETII* ***
**BLOOD COUNT AND NUMBER OF SOMATIC CELLS IN MILK
OF COWS INFECTED WITH *COXIELLA BURNETII***

**M. Radinović, S. Boboš, Marija Pajić, Branka Vidić, Z. Rašić,
Ivana Davidov, R. Špegar****

Cilj rada je bio da se ispita intenzitet lokalnog imunskog odgovora mlečne žlezde i promena u diferencijalnoj krvnoj slici kod hronično inficiranih krava. Ogled je sproveden na grupi krava kod kojih je serološki dokazana Q groznica. Za serološku dijagnostiku bolesti korišćen je ELISA test (IDEXX). Na osnovu rezultata ELISA testa formirana je ogledna grupa od deset inficiranih krava. Od krava u ogledu uzimani su uzorci krvi i zbirni uzorci mleka. Određivanje broja eritrocita vršeno je spektrofotometrijski, a broja leukocita metodom po Bürker – Türk-u. Analizom uzoraka krvi ustanovljen je povećan broj eritocita, dok je broj leukocita bio u granicama fizioloških vrednosti.

Uzorci mleka korišćeni su za određivanje broja somatskih ćelija metodom protočne citometrije. Obradom uzoraka mleka određen je prosečan broj somatskih ćelija od 853.000 /mL mleka.

Ključne reči: Coxiella burnetii, krava, krvna slika, somatske ćelije

Uvod / Introduction

Q groznica je zoonoza koju izaziva obligatni intracelularni mikroorganizam, *Coxiella burnetii*. Bolest se prvi put pojavila kod radnika na klanici u Australiji da bi danas bila prisutna u celom svetu izuzev Novog Zelanda (Kazar, 2005).

* Rad primljen za štampu 07. 07. 2011. godine

** Mr sci med. vet. Miodrag Radinović, asistent, dr sci med. vet. Stanko Boboš, redovni profesor, Marija Pajić, dr vet., asistent, Katedra za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu; dr sci med. vet. Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“; dr sci med. vet. Zoran Rašić, docent, mr sci med. vet. Ivana Davidov, asistent, Katedra za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu; Rade Špegar, Matematička gimnazija Beograd

Kao najvažniji izvor infekcije ljudi su označene domaće životinje i to psi i mačke koji su odgovorni za pojavu bolesti pre svega u urbanim sredinama i preživari koji su i najznačajniji izvor infekcije za ljude (Arricau-Bouvery i Rodolakis, 2005; Vidić i sar., 2008).

Za nastajanje infekcije kod domaćih životinja značajan je primarni ciklus u prirodi te oboljevaju pre svih ovce, goveda i koze. Bolest kod njih često protiče asimptomatski a jedini simptom koji može da ukaže na ovu infekciju je pojava abortusa. Mada postoje izveštaji o pojavi respiratornih oboljenja uzrokovanih sa *C. burnetii* jedini simptom kod eksperimentalno inficiranih životinja i to pre svega ovaca i koza, a ređe kod goveda, jeste abortus. Kod životinja koje su imale pobačaj dolazi do retencije sekundina i smanjene plodnosti (Guatteo i sar., 2007).

Hronični tok bolesti se može dovesti u vezu sa izlučivanjem uzročnika putem mleka (Guatteo i sar., 2006), ali i sa postojanjem poremećaja sekrecije mleka. Na ovakvo stanje ukazuje dugoročno povećanje broja somatskih ćelija u mleku inficiranih krava (Barlow i sar., 2008).

Na vezu između prisustva infekcije sa *Coxiella burnetii* i povećanja broja somatskih ćelija u mleku ukazali su Sharma i sar. (2011). Oni ističu značaj pre svega zoonotskih agenasa na povećanje broja somatskih ćelija. Pored uzročnika Q groznice autori ukazuju i na uzročnike bruceloze, tuberkuloze i leptospiroze.

Povećanje broja somatskih ćelija u mleku inficiranih krava govori u prilog pojačanog lokalnog imunskog odgovora mlečne žlezde. U radu smo ispitali promene u lokalnom imunskom odgovoru i u sistemske cirkulaciji kod inficiranih krava.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Na farmi muznih krava su uzeti uzorci krvi venepunkcijom vene jugularis. Nakon uzorkovanja, uzorci krvi su čuvani na sobnoj temperaturi da bi se izdvojio serum, a zatim su centrifugovani. Ukupno je pregledano 200 uzoraka krvnog seruma.

Serumi su pregledani primenom CHEKIT Q-fever ELISA test kita („IDEXX laboratories“) po uputstvu proizvođača. Od životinja koje su bile seropozitivne na Q groznicu, formirana je ogledna grupa krava sa deset životinja.

Prateći proizvodni ciklus oglednih životinja uzimani su uzorci mleka radi određivanja broja somatskih ćelija i uzorci krvi radi kontrole krvne slike. Uzorci mleka su uzimani za vreme jutarnje muže krava postavljanjem trutestera na muznu jedinicu prilikom muže inficiranih krava.

Uzorak mleka iz trutestera sa odlivao u obeležene plastične bočice sa predhodno dodatim konzervansom koga čini natrijum-azid. Nakon nalivanja uzoraka u bočice sa konzervansom oni su stavljani u ručni frižider i tako se transportovali do laboratorije. Ispitivanje broja somatskih ćelija u uzorcima mleka obavljeno

je u Laboratoriji za kontrolu sirovog mleka na aparatu, fosomatic metodom protočne citometrije.

Za uzorkovanje krvi je korišten vakutajner (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions UK) sa dodatim antikoagulansom K3E u količini od 0,072 mL. U vakutajner se uzimala mala količina krvi, do 3 mL da bi se antikoagulans dobro rasporedio u uzorku. Nakon uzorkovanja svaki vakutajner se označavao sa ID brojem krave i ostavljao na sobnoj temperaturi. Ovako uzeti uzorci krvi sa antikoagulansom korišćeni su za pravljenje krvnih razmaza i za određivanje krvne slike i leukocitarne formule.

Brojanje eritrocita je vršeno spektrofotometrijski a leukocita metodom po Burkert-Turk-u. Za određivanje leukocitarne formule rađeno je mikroskopiranje.

Nakon pravljenja krvnih razmaza rađeno je mikroskopiranje da bi se utvrdio procenat nezrelih eritrocita.

Radi jasnijeg prikazivanja rezultata definisane su faze laktacije.

Tabela 1. *Faze laktacije* /
Table 1. Lactation phases

Prva faza / <i>First phase</i>	Druga faza / <i>Second phase</i>	Treća faza / <i>Third phase</i>
10-60 dana / <i>days</i>	60-180 dana / <i>days</i>	preko 180 dana / <i>over 180 days</i>

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Od ukupno 200 pregledanih uzoraka krvnih seruma krava ELISA testom nalaz specifičnih antitela za *Coxiella burnetii* utvrđen je u 10 seruma (5%).

Analizom rezultata za broj somatskih ćelija u zbirnim uzrocima mleka, ustanovili smo kod seropozitivnih krava povećan broj somatskih ćelija iznad standarda za higijensku ispravnost. U tabeli 2 su prikazani rezultati broja somatskih ćelija po fazama laktacije.

Statističkom obradom podataka primenom t-testa utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u broju somatskih ćelija između pojedinih faza laktacije.

Od ukupnog broja uzoraka u 40% broj somatskih ćelija je bio $>10^6$, što predstavlja veoma povećanu vrednost (Boboš i Vidić, 2005). U svega 25% uzoraka broj somatskih ćelija je bio u okviru standarda za higijensku ispravnost. U istom periodu broj somatskih ćelija u stadnom mleku svih krava na farmi nije prelazio 300.000/mL. Inficirane životinje su činile 5% zapata. Iz tabele 2 se vidi da postoji neznatan uticaj faze laktacije na kretanje broja somatskih ćelija, te je broj somatskih ćelija kod inficiranih krava povećan kroz sve faze laktacije. U prvoj fazi laktacije 30% uzoraka mleka su bili sa brojem somatskih ćelija preko milion, u drugoj 38%, a u trećoj fazi 55%. Infekcija krava sa *Coxiella burnetii* utiče na pojavu

poremećaja sekrecije (Barlov i sar., 2008). Kod hronično inficiranih krava mlečna žlezda i pripadajući limfni čvorovi su predilekciono mesto za *Coxiella burnetii* i ona može biti izolovana pre svega iz vimena i mleka (Vidić i sar., 2005). Ovo je posebno značajno zbog mogućnosti izlučivanja *C. burnetii* mlekom i uticaja na zdravlje ljudi (Rodolakis i sar., 2007). Broj somatskih ćelija u uzorcima mleka se kretao u intervalu od 103.000 do 2.000.000/mL (tabela 2). Prosečan broj somatskih ćelija u svim uzorcima je bio 853.000/mL. Na povezanost između prisustva infekcije sa *Coxiella burnetii* i povećanja broja somatskih ćelija ukazali su Guateo i sar. (2006) koji su ustanovili kod inficiranih životinja broj somatskih ćelija u mleku od 229.000 do 762.000/mL, što su nešto niže vrednosti od dobijenih rezultata naših ispitivanja.

Tabela 2. Broj somatskih ćelija u zbirnim uzorcima mleka po fazama laktacije /
Table 2. Somatic cell count in cumulative milk samples in lactation phases

Mleko / Milk	Prva faza / First phase	Druga faza / Second phase	Treća faza/ Third phase
SCC x 10 ³ /mL	526	147	1024
	1795	778	103
	900	2277	2000
	588	1004	1193
	169	419	836
	685	1092	236
	743	113	1236
	1485	361	1048
	130		981
	1240		
Prosek Average	826 ± 171,25	773 ± 251,44	961 ± 186,27

Analiza broja leukocita pokazala je da nema značajnih promena u broju leukocita. U nekim uzorcima broj ćelija je varirao od $3,24 \times 10^9/L$ do $11,08 \times 10^9/L$ (tabela 3). Prosečan broj leukocita u svim uzorcima je iznosio $6,60 \times 10^9/L$. Dobijene vrednosti za broj leukocita su u okviru referentnih vrednosti (Jain, 1993). Kod hronično inficiranih krava nije izražen sistemski imunološki odgovor kroz povećanje broja leukocita.

Analiza rezultata krvne slike za broj eritrocita pokazuje povećanje broja u tri od ukupno četiri uzorkovanja. Prosečan broj eritrocita je iznosio $10,17 \times 10^{12}/L$. Dobijeni prosečan broj eritrocita je nešto iznad referentne vrednosti (Jain, 1993). U pojedinim uzorcima prelazi vrednost od $10 \times 10^{12}/L$ pa vrednost broja eritrocita iznosi i do $15 \times 10^{12}/L$ (tabela 4). Procenat uzoraka sa povećanim brojem eritrocita izvan referentne vrednosti je bio 41,6%. Povećanje broja eritrocita se

može pripisati postojanju granuloma u koštanoj srži (Guateo i sar., 2007; Siegman-Igra i sar., 1997). Kako životinje sa povećanim brojem eritrocita nisu imale spoljnih znakova dehidracije pretpostavljamo da je povećan broj eritrocita isključivo posledica njihove povećane produkcije.

Tabela 3. Broj leukocita u krvi hronično inficiranih krava sa *Coxiella burnetii* /
Table 3. Number of leucocytes in blood of chronically infected cows with *Coxiella burnetii*

Broj leukocita / Number of leucocytes $\times 10^9/L$	Prva faza / First phase	Druga faza / Second phase	Treća faza / Third phase
	6,85	8,85	4,56
	5,41	6,52	6,57
	5,22	5,37	9,25
	6,52	7,48	5,42
	8,10	5,92	3,24
	5,43	4,85	8,84
	6,79	3,38	5,65
	6,94	8,15	9,15
	6,58	4,76	5,31
	4,38	7,60	5,52
Prosek / Average	6,22 $\pm$ 0,34	6,28 $\pm$ 0,55	6,35 $\pm$ 0,65

Tabela 4. Broj eritrocita u krvi hronično inficiranih krava sa *Coxiella burnetii* /
Table 4. Number of erithrocytes in blood of chronically infected cows with *Coxiella burnetii*

Broj eritrocita / Number of erithrocytes $\times 10^{12}/L$	Prva faza / First phase	Druga faza / Second phase	Treća faza / Third phase
	8,10	12,46	9,13
	11,98	7,12	7,60
	10,90	10,75	11,6
	10,10	9,94	11,0
	9,18	9,57	14,60
	10,70	9,69	10,0
	11,10	10,45	9,24
	7,76	9,36	10,17
	10,20	15,09	10,99
Prosek / Average	10,0 $\pm$ 0,46	10,05 $\pm$ 0,74	10,48 $\pm$ 0,65

Posmatranjem obojenih razmaza krvi ispitivanih životinja ustanovili smo povećan udeo nezrelih formi eritrocita-retikulocita. U tabeli 5 prikazani su rezultati brojanja eritrocita.

Tabela 5. Rezultati brojanja zrelih i nezrelih oblika eritrocita u bojenim razmazima krvi /
Table 5. Results of counting mature and immature forms of erithrocytes in blood smears

Bbroj eritrocita / Number of erithrocytes											Prosek / Average
Zreli / Mature	65	72	68	40	38	73	35	133	62	82	66,8±28,41
Nezreli / Immature	175	185	158	126	95	153	115	150	220	185	156,2±37,25

Prosečan udeo zrelih eritrocita u uzrocima krvi je iznosio 42,7% odnosno bilo je 57,3% nezrelih eritrocita.

Zaključak / Conclusion

Nalaz povećanog broja somatskih ćelija u mleku krava kod kojih izostaju klinički simptomi, a dokazana su antitela na *Coxiella burnetii* treba da ukaže na potrebu za dalja ispitivanja da bi se utvrdilo prisustvo *Coxiella burnetii* u mleku.

Promene u krvnoj slici kod inficiranih krava ne govore u prilog postojanja pojačanog imunskog odgovora. Povećan broj eritrocita je posledica prisustva nezrelih formi, tako je procenat retikulocita prelazio 50%.

Povećanje broja somatskih ćelija u mleku i nalaz nezrelih formi eritrocita u krvi kod krava seropozitivnih na *Coxiella burnetii* ukazuje na postojanje hronične infekcije.

Literatura / References

1. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? Vet Res 2005; 36: (327-49).
2. Barlow J, Rauch B, Welcome F, Kim SG, Dubovi E, Schukken Y. Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. Vet Res 2008; 39: 23.
3. Boboš S, Vidić B. Mlečna žlezda preživara-morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005.
4. Guateo R, Beaudeau F, Beri M, Rodolakis A, Joly A, Seegers H. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res 2006; 37: 827-33.
5. Guateo R, Beaudeau F, Beri M, Rodolakis A, Joly A, Seegers H. *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. Vet Res 2007; 38: 849-60.
6. Jain NC. Essentials of Veterinary Hematology. Lea & Febiger, Philadelphia 1993; 1-18.
7. Kazar J. *Coxiella burnetii* infection. Ann N Y Acad Sci 2005; 1063: 10514.
8. Rodolakis A, Beri M, Hechard C, Caudron C, Souriau A, Bodier CC, Blanchard B, Camuset P, Devilechaise P, Natorp JC, Vadet JP, Arricau-Bouvery Y. N.: Compari-

- son of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds. J Dairy Sci 2007; 90: 5352-60.
9. Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. Asian-Aust J Anim Sci 2011; 24(3): 429-38.
 10. Siegman-Igra Y, Kaufman O, Keysary A, Rzotkiewicz S, Shalit I. Q fever endocarditis in Israel and a worldwide review. Scand J Infect Dis 1997; 29.
 11. Vidić B, Ašanin R, Boboš S, Bugarski D. Q-fever (*Coxiella burnetii*) investigations in dairy cows. Finalni program i knjiga sažetaka, Prvi Simpozijum o zoonozama sa međunarodnim učešćem, Sarajevo. Udruženje mikrobiologa BiH, 62, 2005.
 12. Vidić B, Boboš S, Grgić Ž, Orlić D, Bugarski D. Shedding of *Coxiella burnetii* through milk and its influence on the mammary gland. Proceedings, First Middle European Congress of buiatrics, Balatonfured, Hungary, 316-322, 1999.
 13. Vidić B, Boboš S, Savić S, Prica N. Nalaz *Coxiella burnetii* u mleku i njen značaj za nastanak infekcije kod ljudi. Savremena poljoprivreda 2008; 57(3-4): 208-15.

ENGLISH

BLOOD COUNT AND NUMBER OF SOMATIC CELLS IN MILK OF COWS INFECTED WITH *COXIELLA BURNETII*

M. Radinović, S. Boboš, Marija Pajić, Branka Vidić, Z. Rašić, Ivana Davidov, R. Špegar

The objective of the work was to examine the intensity of the local immune response of the mammary gland and the changes in the differential blood count of chronically infected cows. An experiment was performed on a group of cows with Q fever serologically proven using the ELISA test (IDEXX). Based on the ELISA test results, an experimental group of ten infected cows was formed. Blood was sampled from the experimental cows, and cumulative milk samples were taken. The number of erythrocytes was determined spectrophotometrically, and the number of leucocytes using the method according to Bürker – Türk. The blood analysis established an increased number of erythrocytes, while the number of leucocytes was within the limits of physiological values.

The milk samples were used for the determination of the number of somatic cells using flow cytometric measurements. The processing of the milk samples established an average number of somatic cells of 853.000 /mL milk.

Key words: cow, *Coxiella burnetii*, somatic cells, blood count

**КРОВЯНАЯ КАРТИНА И ЧИСЛО СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ КОРОВ,
ИНФИЦИРОВАННЫХ С *COXIELLA BURNETII***

**М. Радинович, С. Бобош, Мария Паич, Бранка Видич, З. Рашич,
Ивана Давидов, Р. Шпегар**

Цель работы была испытать интенсивность локального иммунного ответа молочной железы и изменение в дифференциальной кровяной картине у хронически инфицированных коров. Опыт проведён на группе коров у которых серологически доказана Q лихорадка. Для доказывания Q лихорадки пользован *ELISA* тест (IDEXX). На основе результата *ELISA* теста формирована опытная группа из десяти инфицированных коров. Из коров в опыте браны образчики крови и собирательные образчики молока. Определение числа эритроцитов совершено спектрофотометрически, а числа лейкоцитов методом по Bürker – Türk-u. Анализом образчиков крови установлено увеличенное число эритроцитов, пока число лейкоцитов было в границах физиологических стоимостей.

Образчики молока пользованы для определения числа методом протекающей цитометрии. Обработкой образчиков молока определено в среднем число соматических клеток от 853.000/мл молока.

Ключевые слова: корова, *Coxiella burnetii*, соматические клетки, кровяная картина

**PRAĆENJE PROMENA UKUPNOG BROJA MEZOFILNIH
BAKTERIJA I TORIMETRIJSKE VREDNOSTI U UZORCIMA
SVEŽE PASTRMKE UPAKOVANE U MODIFIKOVANU
ATMOSFERU I VAKUUM***

***FOLLOWING CHANGES IN TOTAL NUMBER OF MESOPHILIC
BACTERIA AND TORRY METER READINGS IN SAMPLES OF FRESH
TROUT PACKAGED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND VACUUM***

**M. Milijašević, Jelena Babić, Aurelija Spirić, Jelena Jovanović,
Brankica Lakićević, Branka Borović, M. Ž. Baltić****

Svest potrošača o zdravoj ishrani danas je na visokom nivou. Potrošači su veoma osetljivi kada je u pitanju upotreba aditiva u industriji hrane. Zahtev je da se, u svakom trenutku, može nabaviti sveža hrana bez nepotrebno dodatih hemikalija. Da bi se sprečio kvar namirnica razvijen je efikasan i inteligentan koncept očuvanja svežine – pakovanje u modifikovanu atmosferu. Promenom određenog sastava atmosfere unutar pakovanja postignuti su duža održivost i zadovoljavajući kvalitet namirnica. Pakovanje u modifikovanu atmosferu (MAP) je poznato i primenjuje se u oblasti prerade namirnica duže od jednog veka.

Cilj ovog istraživanja je utvrđivanje rasta ukupnog broja mezofilnih bakterija u mesu pastrmke upakovane u vakuum i modifikovanu atmosferu i kretanje torimetrijske vrednosti usled promena dielektričnih svojstava kože koja se dešavaju tokom perioda skladištenja sveže ribe.

Za eksperimentalni deo rada korišćena je kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*) prosečne mase 293 g. Za potrebe istraživanja formirane su četiri grupe uzoraka ribe. Prve tri grupe uzoraka upakovane su u modifikovanu atmosferu sa različitim odnosom gasova: grupa I – 60%CO₂+40%N₂; grupa II – 40%CO₂+60%N₂; grupa III – 90%CO₂+10%N₂. Uzorci grupe IV upakovani su u vakuum. Ispitivanja su rađena nultog, sedmog, četrnaestog i dvadesetprvog dana

* Rad primljen za štampu 26. 07. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Milan Milijašević, Jelena Babić, dr vet. med., dr sci. med. vet. Aurelija Spirić, naučni savetnik, Jelena Jovanović, dr vet. med., mr sci med. vet. Brankica Lakićević, mr sci. med. vet. Branka Borović, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd; dr sci. med. vet. Milan Ž. Baltić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

skladištenja. Određivanje ukupnog broja mezofilnih bakterija u ispitivanim uzorcima vršeno je prema metodi ISO 4833. Merenje promene dielektričnih svojstava na koži ribe obavljeno je pomoću aparata torimetar (The Torry Fish Freshness Meter). Rezultati su pokazali da pakovanje sveže pastrmke u modifikovanoj atmosferi (60% CO₂ + 40% N₂ i 40% CO₂ + 60% N₂) ima prednosti u pogledu rasta ukupnog broja mezofilnih bakterija i opadanja torimetrijske vrednosti u odnosu na vakuum pakovanje i pakovanje sa većom koncentracijom (90%) ugljen-dioksida.

Ključne reči: modifikovana atmosfera, mezofilne bakterije, sveža pastrmka, torimetrijska vrednost, vakuum

Uvod / Introduction

Tržište ribe i proizvoda od ribe se u svetu, poslednjih godina, ubrzano razvija. Danas, potrošači sve više traže da riba u prodaji već bude očišćena i spremna za brzu pripremu. Ovo obavezuje proizvođače da razvijaju nove tehnologije u oblasti prerade i konzervisanja.

Sveža riba je namirnica koju karakteriše kratka održivost (pH>5,2; a_w >0,95) i zbog toga treba da bude skladištena pri niskim temperaturama hlađenja (-1 do +3°C). Čak i pod ovim uslovima održivost sveže ribe je kratka, od 3 do 5 dana. Jedan od osnovnih razloga za kratku održivost ribe je njen hemijski sastav. Meso ribe se brže kvari od mesa toplokrvnih životinja jer ima manji sadržaj vezivnog tkiva, povećanu količinu vode, povećanu pH vrednost i specifičnu mikrofloru. Veoma brzo posle izlova počinje pad inicijalnog kvaliteta ribe, kao posledica autolitičkih i metaboličkih procesa i rasta bakterija (Haard, 1992). Svi ovi procesi mogu voditi ka smanjenoj održivosti (Huss, 1988) i potpunoj neupotrebljivosti ribe kao namirnice (Scott i sar., 1988). Kada se riba izlovi, mikroorganizmi koji su prisutni na koži, u škragama i crevima, zajedno sa tkivnim enzimima počinju da razgrađuju sastojke kao što su slobodne aminokiseline, šećeri, amonijak, trimetilaminooksid (TMAO), kreatin, taurin, karnozin, histamin, što stvara neprijatan miris i ukus, menja teksturu miškulature i izaziva diskoloraciju (Ashie i sar., 1996).

Bakterijska flora tek ulovljene ribe veoma je raznovrsna. Razni mikroorganizmi prisutni su na koži, u škragama i crevima sveže ulovljene ribe. Liston (1980) je utvrdio da je normalna zastupljenost bakterija između 10^2 i 10^7 CFU/cm² površine kože. Škrge i creva sadrže između 10^3 i 10^9 CFU/g (Shewan, 1962). Gonzalez i sar. (1999) su odredili inicijalnu bakterijsku floru kod kalifornijske pastrmke iz akvakulture (*Oncorhynchus mykiss*); broj mezofilnih bakterija na koži, škragama i crevima je bio manji od 5×10^5 CFU/cm².

Na brzinu hemijskog i mikrobiološkog kvarenja mesa ribe može da se utiče načinom pakovanja. U cilju produženja održivosti i očuvanja određenih organoleptičkih svojstava ribe kao namirnice, pored vakuum pakovanja i termičke

obrade, naročito poslednjih godina, sve se više koristi pakovanje u modifikovanoj atmosferi (MAP), tj. hermetička pakovanja u koja su, posle vakuumiranja, uvedeni određeni gasovi. Pakovanje u modifikovanu atmosferu se može definisati kao „vid pakovanja koji podrazumeva uklanjanje vazduha iz pakovanja i njegova zamena jednim gasom ili smešom gasova“ (Blakistone, 1998).

Brojni podaci iz literature ukazuju na to da održivost sveže ohlađene ribe može biti produžena pakovanjem u vakuum ili modifikovanoj atmosferi (Rotabakk i sar., 2008; Hovda i sar., 2007; Stamatis i sar., 2006). Efekti gasova koji se koriste prilikom pakovanja u modifikovanoj atmosferi su, do sada, uglavnom, ispitivani na morskim ribama (Özogul i sar., 2000; Vogel i sar., 2005; Laursen i sar., 2006). MAP nudi višestruke prednosti industriji ribe, ali i potrošačima, pa su, zbog toga, mnoga ispitivanja sprovedena u cilju razvoja ove tehnologije. Ispitivan je uticaj raznih smeša gasova prilikom pakovanja ribe (Barnett i sar., 1987; Gimenez i sar., 2002; Sivertsvik i sar., 2002). Kiseonik, ugljen dioksid i azot su gasovi koji se, najčešće, koriste (Randell i sar., 1999; Gimenez i sar., 2002).

Dielektrična svojstva kože i mišića ribe se vremenom sistematski menjaju, kada dolazi do razgradnje raznih komponenti tkiva (Crapo i sar., 1991). Ove promene, koje se dešavaju na nivou molekula i ćelija, povezane su sa promenama boje, mirisa, ukusa i teksture. Merenjem promene dielektričnih svojstava kože ribe torimetrom (The Torry Fish Freshness Meter) dobijaju se podaci o stepenu svežine ribe. Torimetrom se očitavaju promene dielektričnih svojstava na koži ribe i pretvaraju se u impuls koji se očitava na ekranu uređaja (Olafsdottir i sar., 2004).

Cilj ovog istraživanja je bio utvrđivanje rasta ukupnog broja mezofilnih bakterija u mesu pastrmke upakovane u vakuum i modifikovanu atmosferu i kretanje torimetrijske vrednosti usled promena dielektričnih svojstava kože koje se dešavaju tokom perioda skladištenja sveže ribe.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Za eksperimentalni deo korišćena je kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*) prosečne mase 293 g. Pastrmka je poticala sa ribnjaka u selu Ravni, sa nadmorskom visinom od 931 metar, na obroncima planine Zlatibor. Bazen za uzgoj ribe snabdevaju se vodom visokog kvaliteta, direktno iz izvora, čiji je kapacitet 500 l/s. Temperatura vode od 13°C je konstantna tokom cele godine. Klanje i pakovanje ribe u vakuum i modifikovanu atmosferu je obavljeno u pogonu za klanje i preradu ribe „Riboprodukt“ u Požegi. Po završenom proizvodnom procesu formirane su četiri grupe uzoraka. Prve tri grupe uzoraka ribe su upakovane u modifikovanu atmosferu sa različitim odnosom gasova: grupa I – 60%CO₂+ 40%N₂; grupa II – 40%CO₂+60%N₂; grupa III – 90%CO₂+10%N₂. Grupa IV je upakovana u vakuum.

Za pakovanje uzoraka je upotrebljena mašina Variovac (Variovac Primus, Zarrentin, Nemačka). Kao materijal za pakovanje korišćena je folija OPA/EVOH/PE (orijentisani poliamid/etilen vinil alkohol/polietilen, Dynopack, Norveška), sa niskom propustljivošću za gas (stepen propustljivosti za O_2 – 3,2 cm^3/m^2 / dan, pri 23°C, za N_2 – 1 cm^3/m^2 /dan, pri 23°C, za CO_2 – 14 cm^3/m^2 /dan, pri 23°C i za vodenu paru 15 – g/m^2 /dan, pri 38°C). Zapreminski odnos gas/uzorak u pakovanju je bio 2:1. Nakon pakovanja, sve četiri grupe uzoraka su, iz pogona, transportovane u laboratoriju Instituta za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu, gde su vršena ispitivanja. Transport je obavljen vozilom sa hladnjačom u strogo kontrolisanom temperaturnom režimu od +2°C. Uzorci su, u laboratoriji, skladišteni na temperaturi +3°C tokom 20 dana. Tokom skladištenja izvršene su mikrobiološke analize i praćena je promena torimetrijske vrednosti na površini kože upakovane pastrmke.

Ispitivanja su rađena nultog, sedmog, četrnaestog i dvadesetprvog dana skladištenja.

Za određivanje ukupnog broja mezofilnih bakterija korišćen je Plate Count Agar (PCA, Merck) sledećeg sastava: enzimski digestat kazeina – 5,0 g, ekstrakt kvasca – 2,5 g, glukoza anhidrovana – 1,0 g, agar – 9 do 18 g, destilovana voda – 1000 ml. Određivanje ukupnog broja mezofilnih bakterija u ispitivanim uzorcima je vršeno prema metodi ISO 4833. Od svakog uzorka upakovane sveže pastrmke je odmereno po 20 g mišićnog tkiva. Odmerenom uzorku je dodavano 180 ml fiziološkog rastvora, posle čega je vršena homogenizacija u stomaheru. Posle homogenizacije pripremana su odgovarajuća decimalna razblaženja. Na ploče je naliveno 15 ml agara, koji je prethodno otopljen i ohlađen na temperaturi od 44°C do 47°C. Iz odgovarajućih razblaženja zasejavano je po 0,1 ml na površinu PCA i razmazan je sterilnim etalerom. Zasejana podloga je inkubirana na 30°C tokom 72 ± 3 h. Posle inkubacionog perioda izbrojane su izrasle kolonije. Kolonije su brojane na pločama na kojima je izraslo između 15 i 300 kolonija. Dobijeni broj kolonija množen je sa veličinom razređenja, podeljen je sa brojem grama i iskazan kao log CFU (Colony Forming Unit) u 1 g mesa pastrmke.

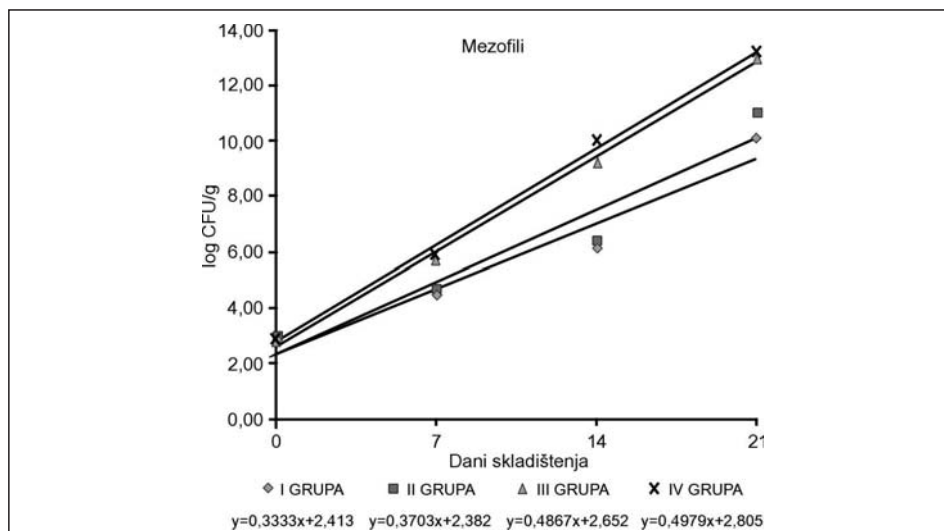
Za merenje torimetrijske vrednosti upotrebljen je aparat torimetar (Fish Freshness Meter, Distell). Skala na torimetru ima opseg merenja od 1 do 10. Savršeno sveža riba pokazuje vrednosti 10, riba dobrog kvaliteta daje ocene od 6 pa na više, a riba sa vrednostima na skali torimetra ispod 4 smatra se nejestivom.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Promene ukupnog broja mezofilnih bakterija u sve četiri grupe ispitanih uzoraka prikazane su na grafikonu 1.

Ukupan broj bakterija na početku ispitivanja u I grupi uzoraka ($60\%CO_2+40\%N_2$) bio je log CFU/g $2,89 \pm 0,09$, u II grupi ($40\%CO_2+60\%N_2$) log CFU/g $2,95 \pm 0,08$, u III grupi ($90\%CO_2+10\%N_2$) log CFU/g $2,89 \pm 0,24$ i u IV grupi,

tj. u svežoj pastrmci upakovanoj u vakuum, $\log \text{CFU/g}$ $2,95 \pm 0,16$. Na samom početku ispitivanja utvrđeno je da se ukupan broj bakterija u uzorcima sve četiri grupe nije statistički značajno razlikovao ($p > 0,05$). U svim grupama uzoraka, u toku skladištenja, došlo je do statistički značajnog porasta ($p < 0,001$) ukupnog broja bakterija. Iz grafikona 1, a na osnovu karakteristika tzv. najbolje prilagođenih prava i pozitivnih vrednosti koeficijenta „b“ u jednačini regresije, može se zaključiti da, tokom trajanja eksperimenta, u uzorcima sve četiri grupe, ukupan broj bakterija pokazuje tendenciju porasta, što je u saglasnosti sa najvećim brojem rezultata iz literature, kada je u pitanju praćenje promena ukupnog broja bakterija u svežoj ribi pakovanoj ili u vakuum ili u smešu gasova (Yasuda i sar., 1992; Barnett i sar., 1987). S obzirom na to da je u IV grupi uzoraka vrednost koeficijenta „b“ najveća, može se zaključiti da je u toj grupi rast ukupnog broja bakterija bio najveći. Najniža vrednost koeficijenta „b“, kod uzoraka I grupe, ukazuje na to da je ukupan broj bakterija imao najslabiju stopu rasta u ovoj grupi uzoraka. Nakon tri nedelje skladištenja, utvrđeni ukupan broj bakterija bio je u uzorcima I grupe $\log \text{CFU/g}$ $10,13 \pm 0,75$, zatim II grupe $\log \text{CFU/g}$ $11,02 \pm 0,58$, III grupe $\log \text{CFU/g}$ $13,10 \pm 0,66$ i IV grupe, sveže upakovane pastrmke, $\log \text{CFU/g}$ $13,20 \pm 0,61$. Arashisar i sar. (2004) su utvrdili da je između ukupnog broja mezofilnih bakterija u filetima pastrmke pakovanih u različite smeše gasova ($100\% \text{CO}_2$, $2,5\% \text{O}_2 + 7,5\% \text{N}_2 + 90\% \text{CO}_2$, $30\% \text{O}_2 + 30\% \text{N}_2 + 40\% \text{CO}_2$), u vakuum i atmosferski vazduh i skladištenim na $+4^\circ\text{C}$ postojala razlika, u smislu da je taj broj bio viši u filetima koji su pakovani u vakuumu i vazduhu. U filetima koji su pakovani u smeše gasova sa visokom koncentracijom ugljen-dioksida ($100\% \text{CO}_2$) broj mezofilnih bakterija je

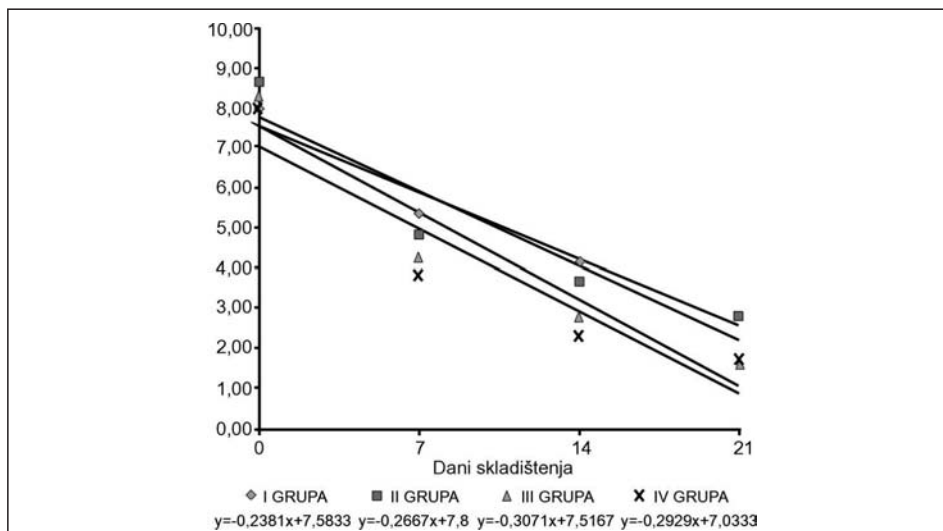


Grafikon 1. Promene ukupnog broja mezofilnih bakterija u sve četiri grupe ispitivanih uzoraka

Graph 1. Changes in total number of mesophilic bacteria in all four groups of examined samples

četrnaestog dana ispitivanja bio 5 log CFU/g, što znači da je bio nešto niži nego u našim uzorcima I i II grupe. Razlika u tom broju se objašnjava snažnim bakteriostatskim efektom koji postiže ugljen-dioksid u visokim koncentracijama, naročito pri niskim temperaturama skladištenja.

Promene torimetrijske vrednosti u sve četiri grupe ispitivanih uzoraka prikazane su na grafikonu 2.



Grafikon 2. Promene torimetrijske vrednosti u sve četiri grupe ispitivanih uzoraka
Graph 2. Changes in torry meter readings in all four examined groups of samples

Nultog dana ispitivanja prosečne torimetrijske vrednosti u sve četiri grupe uzoraka ($8,00 \pm 1,26$; $8,66 \pm 0,51$; $8,33 \pm 1,03$; $8,00 \pm 1,09$) nisu se statistički značajno razlikovale ($p > 0,05$). Negativna vrednost koeficijenta „b“ u jednačini regresije, za sve četiri eksperimentalne grupe, ukazuje na tendenciju stalnog pada prosečne torimetrijske vrednosti u funkciji vremena. Na osnovu najniže vrednosti koeficijenta „b“ u jednačini regresije može se zaključiti da je prosečna torimetrijska vrednost najbrže opadala u uzorcima III i IV grupe, a najsporije u uzorcima I grupe. Nakon tri nedelje skladištenja prosečne torimetrijske vrednosti za uzorke III ($1,66 \pm 1,50$) i IV grupe ($1,66 \pm 1,63$), kao i I ($2,83 \pm 1,32$) i II grupe ($2,83 \pm 0,75$) se nisu razlikovale.

Zaključak / Conclusion

Ukupan broj mezofilnih bakterija bio je statistički značajno veći kod uzoraka pakovanih u vakuumu i uzoraka pakovanih sa najvećom koncentracijom ugljen-dioksida, u odnosu na uzorke pakovane sa manjim koncentracijama ovog

gasa. Torimetrijska vrednost sveže pastrmke tokom skladištenja se smanjivala, što je naročito bilo izraženo kod uzoraka pakovanih u vakuum i kod uzoraka sa najvećom koncentracijom ugljen-dioksida. Pakovanje sveže pastrmke u modifikovanoj atmosferi (60% CO₂ + 40% N₂ i 40% CO₂ + 60% N₂) ima prednosti u pogledu rasta ukupnog broja mezofilnih bakterija i opadanja torimetrijske vrednosti u odnosu na vakuum pakovanje i pakovanje sa većom koncentracijom (90%) ugljen-dioksida.

Literatura / References

1. Arashisar S, Hisar O, Kaya M, Yanik T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets. *Int J Food Microbiol* 2004; 97: 209-14.
2. Ashie INA, Smith JP, Simpson BK. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996; 36(1-2): 87-121.
3. Barnett HJ, Conrad JW, Nelson RW. Use of laminated high and low density polyethylene flexible packaging to store trout (*Salmo gairdneri*) in a modified atmosphere. *J Food Protect* 1987; 50: 645-51.
4. Blakistone BA. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods 2nd ed, 1998.
5. Crapo C, Lee J, Brown E. Halibut quality. Alaska Sea Grant College Program. Marine Advisory Bulletin 1991; 42.
6. Giménez B, Roncalés P, Beltrán JA. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J Sci Food Agriculture* 2002; 82: 1154-9.
7. Gonzalez CJ, Diaz LTM, Lopez GML, Prieto M, Otero A. Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmo trutta*), wild pike (*Esox lucis*), and aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Food Prot* 1999; 62(11): 1270-7.
8. Haard NF. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Res Int* 1992; 25: 289-307.
9. Hovda MB, Lunestad BT, Sivertsvik M, Rosnes JT. Characterisation of the bacterial flora of modified atmosphere packaged farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) by PCR-DGGE of conserved 16S rRNA gene regions. *Int J Food Microbiol* 2007; 117: 68-75.
10. Huss HH. Fresh Fish – Quality and Quality Changes. FAO Fisheries Series No. 29. Rome: Food and Agricultural Organization, 1988.
11. ISO 4833. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30°C.
12. Laursen BG, Leisner JJ, Dalgaard P. Carnobacterium species: effect of metabolic activity and interaction with Brochotrix thermosphacta on sensory characteristics of modified atmosphere packed shrimp. *J Agriculture Food Chem* 2006; 54: 3604-11.
13. Liston J. Microbiology in fishery science. In: Connell, J.J., editors. Advances in fishery science and technology. Farnham, England: Fishing News Books Ltd 1980; 138-57.
14. Özogul F, Taylor KDA, Quantick P, Özogul Y. Chemical, microbiological, and sensory evaluation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. *Food Chem* 2000; 71: 267-73.

15. Olafsdottir G, Nesvadba P, Di Natale C, Coreche M, Oehlenschläger J, Tryggvadottir S, Schubring R, Kroeger M, Heia K, Esaiassen M, Macagnano A, Jorgensen B. Multisensor for fish quality determination. *Food Sci Technol* 2004; 15: 86-93.
16. Randell K, Hattula T, Skytta E, Sivertsvik M, Bergslien H. Quality of filleted salmon in various retail packages. *J Food Qual* 1999; 22: 483-97.
17. Rotabakk BT, Wyller J, Lekang OI, Sivertsvik M. A mathematical method for determining equilibrium gas composition in modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization systems for non respiring foods. *J Food Eng* 2008; 85: 479-90.
18. Scott DN, Porter RW, Kudo G, Miller R, Koury B. Effect of freezing and frozen storage of Alaska pollock on the chemical and gel-forming properties of surimi. *J Food Sci* 1988; 50: 723-6.
19. Shewan JM. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: Hawthorn J, Leitch JM, editors. *Recent Advances in Food Science* 1962; 1: 167-93.
20. Sivertsvik M, Jeksrud WK, Rosnes JT. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *Int J Food Sci Technol* 2002; 37: 107-27.
21. Stamatidis N, Arkoudelos J. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbial, chemical and sensory quality indicators of fresh, filleted *Sardina pilchardus* at 3°C. *J Science Food Agriculture* 2006.
22. Vogel BF, Venkateswaren K, Satomi M, Gram L. Identification of *Shewanella baltica* as the most important H₂S-producing species during iced storage of Danish marine fish. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(11): 6689-97.
23. Yasuda M, Nishino H, Tanaka M, Chiba T, Nakano H, Yodoyama M, Ogawa S. Preservation of freshness of rainbow trout fillets packaged with carbon dioxide-nitrogen gas mixture (Studies on gas-exchange packaging of fresh fish, Part 2). *Packaging Technology and Science* 1992; 5: 109-13.

ENGLISH

FOLLOWING CHANGES IN TOTAL NUMBER OF MESOPHILIC BACTERIA AND TORRY METER READINGS IN SAMPLES OF FRESH TROUT PACKAGED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND VACUUM

M. Milijašević, Jelena Babić, Aurelija Spirić, Jelena Jovanović, Brankica Lakićević, Branka Borović, M. Ž. Baltić

Today, food must be healthy, subjected to minimal processing, and attractively packaged, as the expectations of consumers are ever higher. Consumers are highly sensitive to the use of additives in the food industry. There is a constant demand for fresh food that does not contain any unnecessarily added chemicals. In order to prevent spoilage of food items, an efficient and intelligent concept for preserving freshness has been developed – packaging in a modified atmosphere. Changes in a certain composition of the atmosphere within the packaging have resulted in a longer shelf life and a satisfactory quality of the food articles. Modified atmosphere packaging (MAP) is well-known and has been applied in practice in the food processing industry for more than one century.

The objective of these investigations was to determine the growth of the total number of mesophilic bacteria in the meat of trout packaged in a vacuum and a modified atmosphere and torry meter reading results due to changes in the dielectric characteristics of the skin that take place during the period of storage of the fresh fish.

California trout (*Oncorhynchus mykiss*) with an average weight of 293 g was used for the experimental part of the investigations. Four groups of fish samples were set up for the research. The first three groups of samples were packaged in a modified atmosphere with a different ratio of gases: Group I – 60%CO₂+40%N₂; Group II – 40%CO₂+60%N₂; Group III – 90%CO₂+10%N₂. Group IV comprised samples packaged in a vacuum. Investigations were carried out on days 0, 7, 14, and 21 of storage. The total number of mesophilic bacteria in the examined samples was determined according to the method ISO 4833. Measurements of changes in the dielectric characteristics of the fish skin were performed using a torry meter apparatus (The Torry Fish Freshness Meter). The results have shown that packaging of fresh trout in a modified atmosphere (60% CO₂ + 40% N₂ and 40% CO₂ + 60% N₂) has an advantage regarding the growth of the total number of mesophilic bacteria and the decreased torry meter readings in comparison with vacuum packaging and packaging with a higher concentration of carbon dioxide (90%).

Key words: fresh trout, modified atmosphere, vacuum, mesophilic bacteria, torry meter readings

РУССКИЙ

СЛЕЖКА ИЗМЕНЕНИЙ СОВОКУПНОГО ЧИСЛА МЕЗОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ И ТОРИМЕТРИЧЕСКИЕ СТОИМОСТИ В ОБРАЗЧИКАХ СВЕЖЕЙ ФОРЕЛИ, УПАКОВАННОЙ В МОДИФИЦИРОВАННУЮ АТМОСФЕРУ И ВАКУУМ

М. Миляшевич, Елена Бабич, Аурелия Спирич, Елена Йованович, Бранкица Лакичевич, Бранка Борович, М. Ж. Балтич

В настоящее время, пища должна быть здоровой, минимально переработанной и атрактивно упакованной, так как ожидания потребителей константно растут. Потребители очень чувствительные, когда под вопросом употребление аддитивов в промышленности пищи. Требование, что, в каждом мгновении, можно приобрести свежая пища без ненужно добавленных химикалий. Чтобы предупредилась неисправность пищевых продуктов развитый эффективный и интеллигентный черновик сохранения свежести-упаковка в модифицированную атмосферу. Изменением определённого состава атмосферы внутри упаковки достигнуты более долгая сохранность и удовлетворяющее качество пищевых продуктов. Упаковка в модифицированную атмосферу (УМА) знакома и применяется в области переработки пищевых продуктов долже одного века.

Цель этого исследования утверждение совокупного числа мезофильных бактерий в мясе форели, упакованной в вакуум и модифицированную атмосферу и движение ториметрической стоимости вследствие изменений диэлектрических свойств кожи, происходящие в течение периода складирования свежей рыбы.

Для экспериментальной части пользована калифорнийская форель (*Oncorhynchus mykiss*) средней массы 293 г. Для нужд исследования формированы четыре группы образчиков рыбы. Первые три группы образчиков, упакованные в

модифицированную атмосферу с различным отношением газов: группа I – 60% CO₂+40%N₂; группа II – 40% CO₂+60%N₂; группа III – 90% CO₂+10%N₂. Группа IV образчиков, упакована в вакуум. Испытания деланы нулевого, седьмого, четырнадцатого и двадцатьпервого дня складирования. Определение совокупного числа мезофильных бактерий в испытанных образчиках совершено по методу ISO 4833. Измерение изменения диэлектрических свойств на коже рыбы сделано с помощью аппарата ториметр (The Torry Fish Freshness Meter). Результаты показали, что упаковка свежей форели в модифицированной атмосфере (60% CO₂ + 40% N₂ и 40% CO₂ + 60% N₂) имеет преимущества в отношении роста совокупного числа мезофильных бактерий и опадения ториметрической стоимости в отношении вакуум упаковки и упаковка с бóльшей концентрацией (90%) двуокись углерода.

Ключевые слова: свежая форель, модифицированная атмосфера, вакуум, мезофильные бактерии, ториметрическая стоимость

**ISPITIVANJE HEMIJSKIH PARAMETARA KVALITETA
VIRŠLI SA NOVOSADSKOG TRŽIŠTA***
*INVESTIGATING CHEMICAL PARAMETERS IN HOT DOG SAUSAGES
FROM NOVI SAD MARKET*

Nadežda Prica, M. Ž. Baltić, Milica Živkov-Baloš, Ž. Čupić, Ž. Mihaljev**

Proizvodi od mesa su veoma zastupljeni u ishrani savremenog čoveka. Po obimu proizvodnje barene kobasice zauzimaju veoma značajno mesto u industrijskoj preradi mesa. Viršle se pripremaju na osnovi proizvođačke specifikacije, te se mogu i očekivati razlike u kvalitetu ovog proizvoda različitih proizvođača. U radu je prikazana uporedna analiza hemijskih parametara kvaliteta viršli pet različitih proizvođača na novosadskom tržištu i to: sadržaj vlage, masti, proteina, natrijum-hlorida, relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa i pepela. Utvrđene su razlike između prosečnih vrednosti ispitivanih hemijskih parametara kvaliteta viršli. Prosečan sadržaj vlage u viršlama kretao se od $56,29 \pm 3,30\%$ do $61,44 \pm 4,08\%$. Prosečan sadržaj ukupne masti u viršlama kretao se od $17,60 \pm 3,07\%$ do $20,66 \pm 4,65\%$. Sadržaj masti u viršlama proizvođača D i B kao i C i B nije se statistički značajno razlikovao ($p \geq 0,05$). Između prosečnog sadržaja masti u viršlama proizvođača E i D razlika u sadržaju masti utvrđena je na nivou od $p \leq 0,01$. U svim ostalim slučajevima poređenja razlika između prosečnog sadržaja masti utvrđena je na nivou od $p \leq 0,001$. Prosečan sadržaj ukupnih proteina u viršlama kretao se od $11,77 \pm 1,08\%$ do $15,41 \pm 1,82$. Između prosečnog sadržaja ukupnih proteina u viršlama proizvođača A i C nije utvrđena statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$). Između prosečnog sadržaja proteina u viršlama proizvođača D i E utvrđena je statistički značajna razlika – $p \leq 0,01$, a između prosečnih sadržaja proteina u viršlama svih ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika na nivou od $p \leq 0,001$. Sadržaj ukupnih proteina

* Rad primljen za štampu 29. 06. 2011. godine

** Nadežda Prica, spec. hem., Naučni institut za veterinastvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr sci. med. vet. Milan Ž. Baltić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr Milica Živkov-Baloš, naučni saradnik, Naučni institut za veterinastvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr Željko Čupić, naučni saradnik, Naučni institut za reprodukciju i veštačko osemenjavanje domaćih životinja, Temerin; mr Željko Mihaljev, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinastvo „Novi Sad“, Novi Sad

u viršlama svih pet proizvođača zadovoljavao je propisanu normu (10%). Sadržaj RSP-a u viršlama različitih proizvođača kretao se od $17,34 \pm 0,95\%$ do $22,33 \pm 2,08\%$. Između prosečnog sadržaja RSP-a u viršlama kod proizvođača D i E i proizvođača A i B nije utvrđena statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$), a između prosečnog sadržaja RSP-a u viršlama svih ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika ($p \leq 0,001$). Prosečan sadržaj hlorida u viršlama različitih proizvođača kretao se od $1,30 \pm 0,10\%$ do $2,55 \pm 0,16\%$. Prosečan sadržaj pepela u viršlama različitih proizvođača kretao se od $1,99 \pm 0,18\%$ do $3,46 \pm 0,22\%$. Prosečan sadržaj hlorida i pepela u viršlama svih pet proizvođača bio je statistički značajno različit.

Ključne reči: hloridi, kvalitet, mast, pepeo, protein, RSP, viršle, voda

Uvod / Introduction

U industrijskoj preradi mesa barene kobasice zauzimaju veoma značajno mesto po obimu proizvodnje. Viršle su proizvodi koji se pripremaju na osnovu proizvođačke specifikacije. One su fino usitnjene barene kobasice, ali pripadaju grupi ostalih tzv. srodnih proizvoda, što znači da su po načinu proizvodnje i osobinama slični proizvodima osnovne grupe proizvoda (barenim kobasicama). S obzirom na to da svaki proizvođač ima svoju, posebnu, specifikaciju za proizvodnju viršli, postoji mogućnost da se ovaj proizvod razlikuje po sirovinskom sastavu od proizvođača do proizvođača. Uslov koji viršle moraju da ispune u prometu odnosi se na minimalnu vrednost sadržaja proteina i maksimalnu vrednost relativnog sadržaja proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa. U pogledu senzornih osobina viršle moraju da zadovolje uslove definisane za sve vrste fino usitnjenih barenih kobasica: da su jedre i sočne i da pod lakim pritiskom ne otpuštaju tečnost, da su po površini smeđecrvene boje, ako su proizvodi napunjeni u prirodne ili kolagene omotače, bez oštećenja, većih nabora i deformacija. Nadev treba da je ujednačene ružičaste boje, osim kod proizvoda u čijoj proizvodnji se ne upotrebljavaju nitriti i nitrati, da omotač čvrsto prijanja uz nadev i da se kod proizvoda u prirodnim ili kolagenim omotačima prilikom prelamanja proizvoda ne odvaja od nadeva (Pravilnik, 2004).

U propisima pojedinih zemalja, među kojima su i zemlje Evropske unije, pored toga što su definisani hemijski parametri kvaliteta (sadržaj vlage, masti i proteina) definisani su i odnosi pojedinih sastojaka kao i udeo vezivnotkivnih proteina u ukupnim proteinima. Prema Austrijskim zahtevima, minimalni sadržaj proteina (bez proteina kolagena) kod viršli ne sme da bude manji od 9,6%. Odnos voda i ukupnih proteina ne sme da pređe vrednost od 5,6, a odnos masti i ukupnih proteina ne sme da pređe vrednost od 2,5. Odnos ukupnog sadržaja

masti i proteina i sadržaja ukupnih proteina ne sme da pređe vrednost od 7,6 (Petrović, 2000).

Sadržaj masti u hrenovkama namenjenim ishrani pripadnika Vojske Srbije, prema Stojanoviću (2000) bio je $25,93 \pm 3,76\%$, a prema Vukiću (2005) kod tri različita proizvođača sadržaj masti u hrenovkama bio je od $24,67 \pm 3,43\%$ do $27,08 \pm 4,98\%$. Stojanović (2000) saopštava da je sadržaj proteina u hrenovkama u proseku $14,50 \pm 1,16\%$, dok Vukić (2005) navodi da hrenovke različitih proizvođača sadrže od $13,20 \pm 2,56\%$ do $16,09 \pm 1,17\%$ proteina.

Ciljevi ovog rada su bili da se:

- izvrši uporedna analiza hemijskih parametara kvaliteta viršli pet različitih proizvođača sa novosadskog tržišta i to: sadržaja vlage, sadržaja ukupne masti, ukupnih proteina, relativni sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa (u daljem tekstu RSP), natrijum-hlorida i pepela,

- utvrdi da li postoje razlike između prosečnih sadržaja ispitivanih hemijskih parametara kvaliteta viršli različitih proizvođača.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Materijal: Kao materijal za naša ispitivanja koristili smo viršle, koje su uzorkovane na novosadskom tržištu. Uzorkovanje je izvršeno u skladu sa propisom ISO 3100-1:1991. Uzorci viršli bili su poreklom od pet različitih proizvođača. Za hemijsku analizu izabrani su uzorci čije su senzorne osobine bile u skladu sa zahtevima koje propisuje Pravilnik (2004).

Hemijske metode: Sadržaj vlage određivan je po metodi SRPS ISO 1442/1998; sadržaj ukupne masti određivan je po metodi SRPS ISO 1443/1992; sadržaj ukupnih proteina određivan je po metodi SRPS ISO 937/1992 (metoda po Kjeldalu); određivanje sadržaja natrijum hlorida izvršeno je po metodi SRPS ISO 1841-1/1999; određivanje sadržaja pepela izvršeno je po metodi SRPS ISO 936/1999; sadržaj hidrokspiroolina određen je po metodi SRPS ISO 3496/2002, a relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa (RSP) izračunat je pomoću formule date u Pravilniku (2004).

Statistička obrada: Statistička obrada rezultata izvršena je programom SPSS 8.0 i SPSS 16.0 za Windows. Metodom analize varijanse izvršeno je međusobno poređenje parametara kvaliteta na nivou rizika od 5%, 1% i 0,1% pa su prema tome i zaključci dati sa odgovarajućom verovatnoćom (95%, 99% i 99,9%).

Rezultati / *Results*

Rezultati ispitivanja sadržaja vlage u viršlama pet proizvođača prikazani su u tabeli 1, a statistička značajnost razlike u sadržaju vlage u viršlama različitih proizvođača prikazana je u tabeli 1.1.

Tabela 1. *Prosečan sadržaj vlage (%) u viršlama /*
Table 1. Average moisture content (%) in hot dogs

Proizvođač / Producer	Sadržaj vlage / Moisture content (%)	Mere varijacije / <i>Measures of variation</i>			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv %	Iv
A	61,41	3,17	0,73	5,16	60,20 – 63,66
B	60,65	2,58	0,74	4,25	60,43 – 62,96
C	61,44	4,08	0,72	6,64	60,21 – 62,66
D	59,16	4,26	0,81	7,20	58,12 – 62,21
E	56,29	3,30	0,72	5,33	55,12 – 58,46

Prosečan sadržaj vlage u viršlama kretao se od $56,29 \pm 3,30\%$ do $61,44 \pm 4,08\%$. Između prosečnog sadržaja vlage viršli proizvođača A i C nije utvrđena statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$), a između prosečnog sadržaja vlage viršli ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika na različitim nivoima.

Tabela 1.1. *Statistička značajnost razlike u sadržaju vlage u viršlama različitih proizvođača /*
Table 1.1. Statistically significant difference between moisture content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač / Producer	A	B	C	D
E	58,24***	59,14***	57,94***	68,97***
D	29,24***	20,11***	28,37***	
C	0,28NZ	9,93***		
B	5,47**			

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$, NZ – nije značajno / *not significant*

Rezultati ispitivanja sadržaja ukupne masti u viršlama pet proizvođača prikazani su u tabeli 2, a statistička značajnost razlike u sadržaju ukupne masti u viršlama različitih proizvođača data je u tabeli 2.1.

Prosečan sadržaj ukupne masti u viršlama kretao se u intervalu od $17,60 \pm 3,07\%$ do $20,66 \pm 4,65\%$. Prosečan sadržaj masti u viršlama proizvođača D i B, kao i C i B nije se statistički značajno razlikovao ($p \geq 0,05$). Između prosečnog sadržaja masti u viršlama proizvođača E i D razlika u sadržaju masti utvrđena je na nivou od $p \leq 0,01$. U svim ostalim slučajevima poređenja razlika između prosečnog sadržaja masti utvrđena je na nivou od $p \leq 0,001$.

Tabela 2. *Prosečan sadržaj ukupne masti (%) u viršlama /*
Table 2. Average fat content (%) in hot dogs

Proizvođač / Producer	Sadržaj masti/ Fat content (%)	Mere varijacije / Measures of variation			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv (%)	Iv
A	17,60	3,07	0,12	17,44	16,60 – 19,84
B	19,84	2,96	0,16	14,92	18,25 – 22,11
C	19,28	2,61	0,12	13,53	18,25 – 20,33
D	20,03	3,49	0,20	17,19	18,97 – 21,11
E	20,66	4,65	0,10	22,50	18,34 – 22,91

Tabela 2.1. *Statistička značajnost razlike u sadržaju ukupne masti u viršlama različitih proizvođača /*

Table 2.1. Statistically significant difference between fat content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač / Producer	A	B	C	D
E	33,29***	5,55**	12,00***	5,34**
D	18,28***	1,10NZ	35,04***	
C	12,92***	3,39NZ		
B	11,54***			

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, NZ – nije značajno / not significant

Rezultati ispitivanja sadržaja ukupnih proteina u viršlama pet proizvođača prikazani su u tabeli 3, a statistička značajnost razlike u sadržaju ukupnih proteina u viršlama različitih proizvođača data je u tabeli 3.1.

Tabela 3. *Prosečan sadržaj ukupnih proteina (%) u viršlama /*
Table 3. Average total protein (%) in hot dogs

Proizvođač/ Producer	Sadržaj ukupnih proteina / Total protein content (%)	Mere varijacije / Measures of variation			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv (%)	Iv
A	11,92	1,12	0,07	9,39	10,69 – 13,93
B	15,41	1,82	0,07	11,81	14,19 – 16,63
C	11,77	1,08	0,08	9,17	10,63 – 12,94
D	14,87	1,03	0,08	6,92	13,81 – 16,90
E	14,44	1,56	0,09	10,80	13,25 – 16,56

Tabela 3.1. Statistička značajnost razlike u sadržaju ukupnih proteina u viršlama različitih proizvođača /

Table 3.1. Statistically significant difference between total protein content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač/ Producer	A	B	C	D
E	23,71***	9,15***	34,27***	6,20**
D	41,21***	7,71***	77,39***	
C	2,09NZ	34,90***		
B	35,54***			

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$, NZ – nije značajno / not significant

Prosečan sadržaj ukupnih proteina u viršlama kretao se u intervalu od $11,77 \pm 1,08\%$ do $15,41 \pm 1,82\%$. Između prosečnog sadržaja ukupnih proteina u viršlama proizvođača A i C nije utvrđena statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$). Između prosečnog sadržaja ukupnih proteina u viršlama proizvođača D i E utvrđena je statistički značajna razlika za nivo $p \leq 0,01$, a između prosečnih sadržaja ukupnih proteina u viršlama svih ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika na nivou od $p \leq 0,001$.

Rezultati ispitivanja sadržaja hlorida u viršlama pet proizvođača prikazani su u tabelama 4 i 4.1. Prosečan sadržaj hlorida u viršlama različitih proizvođača kretao se u rasponu od $1,30 \pm 0,10\%$ do $2,55 \pm 0,16\%$. U prosečnom sadržaju hlorida u viršlama između proizvođača A i E utvrđena je statistički značajna razlika na nivou $p \leq 0,01$, a između prosečnih sadržaja hlorida u viršlama ostalih proizvođača utvrđena je statistički značajna razlika između sadržaja hlorida u viršlama na nivou $p \leq 0,001$.

Tabela 4. Prosečan sadržaj hlorida (%) u viršlama /

Table 4. Average chloride content (%) in hot dogs

Proizvođač/ Producer	Sadržaj hlorida / Chloride content (%)	Mere varijacije / Measures of variation			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv (%)	Iv
A	1,49	0,11	0,02	7,38	1,36 – 1,71
B	1,94	0,13	0,04	6,70	1,70 – 2,19
C	1,30	0,10	0,02	7,69	1,01 – 1,47
D	2,55	0,16	0,04	6,27	2,22 – 2,75
E	1,65	0,12	0,04	7,27	1,42 – 1,89

Tabela 4.1. Statistička značajnost razlike u sadržaju hlorida u viršlama različitih proizvođača / Table 4.1. Statistically significant difference between chloride content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač / Producer	A	B	C	D
E	6,21**	23,14***	19,38***	78,37***
D	44,11***	39,91***	50,85***	
C	7,62***	25,75***		
B	12,40***			

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$, NZ – nije značajno / not significant

Rezultati sadržaja pepela u viršlama prikazani su u tabelama 5 i 5.1. Sadržaj pepela u viršlama različitih proizvođača kretao se u rasponu od $1,99 \pm 0,18\%$ do $3,46 \pm 0,22\%$. Između prosečnog sadržaja pepela u viršlama proizvođača A i C utvrđena je statistički značajna razlika na nivou $p \leq 0,01$, a između prosečnog sadržaja pepela u viršlama svih ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika na nivou od $p \leq 0,001$.

Tabela 5. Prosečan sadržaj pepela (%) u viršlama / Table 5. Average ash content (%) in hot dogs

Proizvođač / Producer	Sadržaj pepela / Ash content (%)	Mere varijacije / Measures of variation			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv (%)	Iv
A	2,77	0,25	0,06	9,02	2,25 – 2,99
B	2,55	0,18	0,04	7,06	2,17 – 2,60
C	2,99	0,22	0,05	7,35	2,66 – 3,47
D	1,99	0,18	0,04	9,04	1,76 – 2,35
E	3,46	0,22	0,06	6,36	3,23 – 3,69

Tabela 5.1. Statistička značajnost razlike u sadržaju pepela u viršlama različitih proizvođača / Table 5.1. Statistically significant difference between ash content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač / Producer	A	B	C	D
E	16,72***	16,94***	8,22***	46,52***
D	64,63***	19,72***	24,70***	
C	6,04**	16,54***		
B	9,30***			

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$, NZ – nije značajno / not significant

Rezultati ispitivanja relativnog sadržaja proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa (RSP) u viršlama različitih proizvođača prikazani su u tabelama 6 i 6.1. RSP u viršlama različitih proizvođača kretao se u intervalu od $17,34 \pm 0,95\%$ do $22,33 \pm 2,08\%$. Između prosečnog sadržaja RSP-a u viršlama kod proizvođača D i E i proizvođača A i B nije utvrđena statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$), a između prosečnog sadržaja RSP-a u viršlama svih ostalih proizvođača je utvrđena statistički značajna razlika ($p \leq 0,001$).

Tabela 6. Prosečan sadržaj RSP-a (%) u viršlama /
Table 6. Average content of RCP (%) in hot dogs

Proizvođač / Producer	Sadržaj RSP / Content of RCP (%)	Mere varijacije / Measures of variation			
	$\bar{x}$	SD	SE	Cv (%)	Iv
A	17,34	0,95	0,08	5,48	16,82 – 18,86
B	17,82	1,13	0,10	6,34	16,50 – 18,12
C	15,49	1,05	0,13	6,78	14,28 – 16,89
D	22,33	2,08	0,13	9,31	20,33 – 23,73
E	22,31	1,67	0,08	7,48	20,88 – 23,53

*RSP – realtivan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa /

*RCP – relative protein content of connective tissue in meat protein

Tabela 6.1. Statistička značajnost razlike u sadržaju RSP-a u viršlama različitih proizvođača
Table 6.1. Statistically significant difference between RCP content in hot dogs of five manufacturers

Proizvođač / Producer	A	B	C	D
E	19,35***	27,92***	34,28***	0,12 ^{NZ}
D	25,81***	51,10***	51,99***	
C	10,81***	13,74***		
B	2,26 ^{NZ}			

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$, NZ – nije značajno / not significant

Diskusija / Discussion

Sadržaj vlage široko varira u proizvodima od mesa. Prema Kulieru (1990) sadržaj vlage u hrenovkama iznosi 55%, a prema rezultatima Jelene Krasić (2001) sadržaj vlage u barenim kobasicama bio je $57,74\% \pm 11,40\%$. Sadržaj vlage u hrenovkama prema podacima Stojanovića (1999) iznosio je $25,93 \pm 3,76\%$, a prema Vukiću (2005) od $52,92 \pm 1,95\%$ do $56,88 \pm 3,22\%$. Sadržaj vlage u viršlama pet proizvođača sa novosadskog tržišta kretao se u intervalu od $56,29 \pm 3,30\%$ do $61,44 \pm 4,08\%$. Naši rezultati su podudarni sa rezultatima Torre-a i sar.

(2003), koji su utvrdili da je koeficijent variranja sadržaja vlage u barenim kobasicama 5% ($n=48$). Sadržaj masti kod barenih kobasica je najčešće između 20 i 30% (Vuković, 1998). Prema Kulieru (1990) sadržaj masti iznosio je 21,50%, a Stojanović (2000) je utvrdio da je prosečan sadržaj masti u hrenovkama $25,93 \pm 3,76\%$. Rezultati Vukića (2005) pokazuju da se sadržaj masti kretao od $24,67 \pm 3,43\%$ do $27,08 \pm 4,98\%$. Prema našim rezultatima sadržaj masti u viršlama kretao se u rasponu od $17,60 \pm 3,07\%$ do $20,66 \pm 4,65\%$. Između sadržaja masti u viršlama gotovo svih proizvođača utvrđena je statistički značajna razlika na različitim nivoima. Torre i sar. (2003) su utvrdili takođe da od svih ispitivanih hemijskih parametara kvaliteta barenih kobasica najviše varira sadržaj masti ($Cv=20\%$).

Proteini su najvažniji sastojak proizvoda od mesa. Sadržaj proteina po Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa (2004) propisan je kod svih proizvoda od mesa kao minimalna vrednost, sem kod jela u konzervi, masti i slanine. Propisani sadržaj proteina u viršlama je minimum 10%. Prema Kulieru (1990) sadržaj proteina u hrenovkama bio je 12,1%. Sadržaj proteina u grupi fino usitnjenih barenih kobasica kretao se između 10,06% i 14,85% (Saičić i sar., 2006), a Stojanović (2000) je utvrdio da je prosečan sadržaj proteina u hrenovkama $14,50 \pm 1,16\%$. Vukić (2005) navodi da je sadržaj proteina u hrenovkama od $13,20 \pm 2,56\%$ do $16,09 \pm 1,17\%$. Rezultati naših istraživanja ukazuju na to da se sadržaj proteina u viršlama kretao od $11,77 \pm 1,08\%$ do $15,41 \pm 1,82\%$, što je u skladu sa minimalno propisanim vrednostima u Pravilniku (2004). Prema Torre-u i sar. (2003), sadržaj proteina u barenim kobasicama više varira ($Cv=16\%$) nego što je to slučaj u našim ispitivanjima, gde je koeficijent varijacije bio od 6,92 do 11,81%.

Sadržaj pepela u viršlama, kao parametar kvaliteta, nije propisan Pravilnikom kod ni jednog proizvoda od mesa. Naši rezultati pokazuju da se sadržaj pepela u viršlama kretao od $1,99 \pm 0,18\%$ do $3,46 \pm 0,22\%$. Sadržaj pepela u ispitivanim uzorcima viršli široko varira, te smo utvrdili da postoji statistički značajna razlika u sadržaju pepela u viršlama kod svih pet proizvođača.

Primena soli ima kod proizvoda od mesa višestruki značaj (inhibicija mikroorganizama, sposobnost vezivanja vode, ukus proizvoda). Količina kuhinjske soli u proizvodima od mesa nije definisana Pravilnikom o kvalitetu proizvoda od mesa. Može se reći da je količina soli u proizvodima od mesa definisana preko organoleptičkih osobina – ukusa. O načinu i količini dodavanja kuhinjske soli u barene, polutrajne i kuvane kobasice pisalo je više autora. Hrenovke, prema rezultatima Stojanovića (2000), sadrže u proseku $2,46 \pm 0,44\%$ soli, a prema Vukiću (2005) sadržaj soli u hrenovkama varira od $1,83 \pm 0,35\%$ do $2,03 \pm 0,57\%$. U našem istraživanju, utvrdili smo da se količina soli u viršlama kretala od $1,30 \pm 0,10\%$ do $2,55 \pm 0,16\%$.

Relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva propisan je kod svih proizvoda izuzev jela u konzervi, masti i slanine kao maksimalna vrednost. Opšte je poznato da kobasice koje sadrže više vezivnog tkiva poseduju manju biološku vrednost i slabiji senzorni kvalitet. To i jeste jedan od važnijih razloga zbog čega je

u propisima o kvalitetu proizvoda od mesa u mnogim zemljama, pa i kod nas, u kobasicama ograničen maksimalan sadržaj proteina vezivnog tkiva (Harper i sar., 1997). U našoj stručnoj literaturi ima malo podataka o sadržaju proteina vezivnog tkiva u kobasicama. Prema ispitivanjima Saičića i sar. (2006) u proteinima barenih kobasica nalazi se 12-31% proteina vezivnog tkiva. Naši rezultati pokazuju da se relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u viršlama kretao od $17,34 \pm 0,95\%$ do $22,33 \pm 2,08\%$. Dobijeni rezultati su u skladu sa vrednostima RSP-a Radovića i sar. (1981). Torre i sar. (2003) saopštavaju da je relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa veoma varijabilan kod ispitivanih barenih kobasica ($Cv=33\%$).

Zaključak / Conclusion

Senzorne osobine ispitivanih uzoraka viršli bile su u skladu sa zahtevima koje propisuje Pravilnik (2004), ali su u pogledu vrednosti hemijskih parametara između uzoraka utvrđene razlike.

Za sadržaj vlage i proteina u viršlama pet različitih proizvođača statistički značajna razlika nije utvrđena samo u jednom slučaju poređenja, što znači da je sadržaj vlage i proteina u ovoj vrsti proizvoda veoma neujednačen. Statistički značajna razlika sadržaja masti i RSP-a u viršlama od pet različitih proizvođača nije utvrđena samo u dva ispitivana slučaja, što, takođe, ukazuje na neujednačenost. Prosečan sadržaj pepela i hlorida u viršlama svih pet proizvođača je statistički značajno različit, što znači da sadržaj pepela i varira u širokom intervalu.

Sadržaj ukupnih proteina u viršlama svih proizvođača zadovoljavao je propisanu normu (minimum 10%), dok je relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva kod dva proizvođača bio viši od dozvoljenog (25%).

Literatura / References

1. Harper SG, Allingham GP, Hunter AR. The significance of connective tissue and content to meat quality: Growth path and nutritional history. 43rd ICoMST, Auckland, New Zealand, 1997, Proceed. 88.
2. ISO 3100-1:1991, Meat and meat products – Sampling and preparation of test samples – Part 1: Sampling.
3. Krsić J. Kvalitet proizvoda od mesa na tržištu Srednjeg i Severnog Banata. Specijalistički rad. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2001.
4. Kulier I. Prehrambene tablice, Zagreb 1990.
5. Radović N, Mrđanov J, Jovanov M, Trajanoski M, Beara M, Sabljak-Uglječić I, Vuksan B. Osnovni hemijski pokazatelji kvaliteta proizvoda od mesa. Tehnologija mesa 1981; 4: 109-11.
6. Saičić S. Sadržaj proteina i proteina vezivnog tkiva u kobasicama. Tehnologija mesa 2006; 47 (1-2): 77-80.
7. SRPS ISO 936:1999 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje ukupnog pepela. Savezni zavod za standardizaciju.

8. SRPS ISO 937:1992 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja azota (Referentna metoda), Savezni zavod za standardizaciju.
9. SRPS ISO 1442:1998 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja vlage (Referentna metoda), Savezni zavod za standardizaciju.
10. SRPS ISO 1443:1992 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja ukupne masti. Savezni zavod za standardizaciju.
11. SRPS ISO 1841-1:1999 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja hlorida. Deo 1: Metoda po Volhardu. Savezni zavod za standardizaciju
12. SRPS ISO 3496:2002 – Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja hidroksiprolina, Savezni zavod za standardizaciju.
13. Stojanović B. Energetska i hranljiva vrednost proizvoda od mesa namenjenih ishrani Vojske Jugoslavije. Specijalistički rad. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2000.
14. Petrović Lj. Parametri kvaliteta, principi proizvodnje i greške u proizvodnji barenih i polutrajnih kobasica, kvalitet proizvoda od mesa. Novosadski sajam, Novi Sad, 2000.
15. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa. Sl. list SCG br. 33/2004.
16. Torre DJCM, Rodrigues RSM, Ferracioli VR, Beraquet NJ. Chemical composition and collagenous connective tissue evaluation of commercial frankfurter – type sausages. Icomst Brazilian Congress of Meat Science and Technology, 2003: 237-8.
17. Vukić D. Hemijski parametri kvaliteta kobasica namenjenih ishrani Vojske Srbije i Crne Gore. Specijalistički rad. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2005.
18. Vuković I. Osnove tehnologije mesa. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1998.

ENGLISH

INVESTIGATING CHEMICAL PARAMETERS IN HOT DOG SAUSAGES FROM NOVI SAD MARKET

Nadežda Prica, M. Ž. Baltić, Milica Živkov-Baloš, Ž. Čupić, Ž. Mihaljev

Meat products play an important role in the modern diet. The production of cooked sausages comprises an important segment in the complex meat industry. Hot dogs are prepared according to production specifications and differences in the quality of products can therefore be expected. This paper presents a comparative analysis of chemical parameters in products of five different manufacturers at the Novi Sad market. Water content, fat, protein, sodium chloride, the relative protein content of connective tissue in meat protein (RCP) and ash were analyzed. The difference between the average contents of chemical quality parameters in hot dogs was examined. The average water content ranged from $56.29 \pm 3.30\%$ to $61.44 \pm 4.08\%$. The average total fat content ranged from $17.60 \pm 3.07\%$ to $20.66 \pm 4.65\%$. No statistically significant difference ($p \geq 0.05$) was detected in the fat content of the products of manufacturers D and B, as well as C and B. Between the average fat content of the producers E and D the difference in fat content was found to be $p \leq 0.01$. In all other cases, the difference between the average fat content was $p \leq 0.001$. The average total protein content in hot dogs ranged from $11.77 \pm 1.08\%$ and 15.41 ± 1.82 . No

statistically significant difference ($p \geq 0.05$) was detected between the average total protein content in hot dogs of manufacturers A and C. Between the average protein content of D and E meat manufacturers the statistically significant difference had a value of $p \leq 0.01$, and the average protein content in hot dogs of all other manufacturers had a significant difference ($p \leq 0.001$). The total protein content in all five manufacturers of hot dogs met the prescribed standard (10%). RCP content in the hot dogs of different producers ranged from $17.34 \pm 0.95\%$ to $22.33 \pm 2.08\%$. No statistically significant difference ($p \geq 0.05$) was detected in the average contents of RCP in hot dogs of manufacturers D and E and A and B, but a statistically significant difference was detected ($p \leq 0.001$) between the average content of RCP in all other manufacturers of hot dogs. The average chloride content in hot dogs from different manufacturers ranged from $1.30 \pm 0.10\%$ to $2.55 \pm 0.16\%$. The average ash content in different hot dog producers ranged from $1.99 \pm 0.18\%$ to $3.46 \pm 0.22\%$. The average content of chloride and ash in all five manufacturers was significantly different.

Keywords: hot dogs, quality, water, fat, protein, RCP, chloride, ash

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КАЧЕСТВА СОСИСОК С НОВИ-САДСКОГО РЫНКА

Надежда Прица, М. Ж. Балтич, Милица-Живков Балаш, Ж. Чупич, Ж. Михалев

Мясные продукты очень представлены в питании современного человека. По объёму производства варёной колбасы занимают очень значительное место в промышленной переработке мяса. Сосиски готовятся на основе производственной спецификации, да могут и ожидать разницы в качестве этого продукта различных производителей. В работе показан сравнительный анализ химических параметров качества сосисок пяти различных производителей на нови-садском рынке а именно: содержание влаги, жиров, протеинов, хлорид натрия, релятивное содержание протеинов соединительной ткани в протеинах мяса и пепела. Утверждены разницы между средними стоимостями испытанных химических параметров качества сосисок. Среднее содержание влаги в сосисках двигалось от $56,29 \pm 3,30\%$ до $61,44 \pm 4,08\%$. Среднее содержание совокупного жира в сосисках двигалось от $17,60 \pm 3,07\%$ до $20,66 \pm 4,65\%$. Содержание жира в сосисках производителей Д и Б словно и Ц и Б не статистически значительно различалось ($p \geq 0,05$). Между средним содержанием жира в сосисках производителей Е и Д разница в содержании жира утверждена на уровне от $p \leq 0,01$. Во всех остальных случаях сравнения разница между средним содержанием жира утверждена на уровне от $p \leq 0,001$. Среднее содержание совокупных протеинов в сосисках двигалось от $11,77 \pm 1,08\%$ до $15,41 \pm 1,82$. Между средним содержанием совокупных протеинов в сосисках производителей А и Ц не утверждена статистически значительная разница ($p \geq 0,05$). Между средним содержанием протеинов в сосисках производителей Д и Е утверждена статистически значительная разница для уровня $p \leq 0,01$, а между средними содержаниями протеинов в сосисках всех остальных производителей утверждена статистически значительная разница на уровне от $p \leq 0,001$. Содержание совокупных протеинов в сосисках пяти производителей удовлетворяло предписанную норму (10%). Содержание РСП-а в сосисках различных производителей двига-

лось от $17.34 \pm 0.95\%$ до $22.33 \pm 2.08\%$. Между средним содержанием РСП-а в сосисках у производителей Д и Е и производителей А и Б не утверждена статистически значительная разница ($p \geq 0,05$), а между средним содержанием РСП-а в сосисках всех остальных производителей утверждена статистически значительная разница ($p \leq 0.001$). Среднее содержание хлоридов в сосисках различных производителей двигалось от $1,30 \pm 0,10\%$ до $2,55\% \pm 0,16\%$. Среднее содержание пепела в сосисках различных производителей двигалось от $1,99 \pm 0,18\%$ до $3,46 \pm 0,22\%$. Среднее содержание хлоридов и пепела в сосисках всех пяти производителей было статистически значительно различное.

Ключевые слова: сосиски, качество, вода, жир, протеин, РСП, хлориды и пепел

PROCENA DOBROBITI KRAVA U SLOBODNOM SISTEMU DRŽANJA*

DAIRY COWS WELFARE ASSESMENT IN LOOSE STALLS

S. Hristov, Z. Zlatanović, B. Stanković, Dušica Ostojić-Andrić,
Vesna Davidović, Mirjana Joksimović-Todorović, B. Plavšić,
Marija Dokmanović**

U ovom radu izvršena je procena dobrobiti krava u slobodnom sistemu držanja primenom metodologije iz Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009). Ova metodologija obuhvata kvantitativna merenja i kvalitativnu procenu definisanih parametara u okviru kriterijuma i principa dobrobiti i na osnovu njih konačnu ocenu dobrobiti muznih krava. U istraživanjima je utvrđeno da je nivo dobrobiti krava u celini na dve farme prihvatljiv, a na jednoj dobar. Na dve farme socijalno ponašanje krava je bilo nezadovoljavajuće, dok su na sve tri farme bili nezadovoljavajući drugi oblici ponašanja krava. Na jednoj farmi je utvrđen nezadovoljavajući rezultat za kriterijum odsustvo dugotrajne žeđi. Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da je neophodno poboljšanje kvaliteta dobrobiti krava na svim ispitivanim farmama. Takođe je zaključeno da primenjena metodologija pruža multimedijalni uvid u stanje kvaliteta dobrobiti krava u slobodnom sistemu držanja.

Ključne reči: dobrobit, muzne krave, nevezani sistem, procena

Uvod / Introduction

U Evropi je danas razvijeno nekoliko sistema procene kvaliteta dobrobiti životinja. Ovi sistemi uključuju indeks potreba životinja (Bartussek, 2001),

* Rad primljen za štampu 27. 09. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Slavča Hristov, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu; mr sci. med. vet. Zvonko Zlatanović, Visoka poljoprivredno-prehrambena škola, Prokuplje; mr sci. med. vet. Branislav Stanković, asistent, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu; mr sci. med. vet. Dušica Ostojić-Andrić, istraživač, Institut za stočarstvo, Zemun Polje, Beograd; mr sci. med. vet. Vesna Davidović, asistent, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu; dr sci. med. vet. Mirjana Joksimović-Todorović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu; mr sci. med. vet. Budimir Plavšić, Ministarstvo poljoprivrede, trgovine, šumarstva i vodoprivrede, Republika Srbija; dr vet. med. Marija Dokmanović, doktorant, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

srodni sistem TGI200 u Nemačkoj (Sundrum i sar., 1994), etičku procena u Danskoj (Sorensen i sar., 2001), šemu *Freedom Food*-a u Velikoj Britaniji i obrasce specifične procene dobrobiti za mlečne krave u Francuskoj (Capdeville i Veissier, 2001) i Italiji (Tosi i sar., 2001). Navedeni sistemi procene dobrobiti krava uglavnom se baziraju na sagledavanju životne sredine i odabranih performansi životinja za koje se smatra da odražavaju unutrašnje stanje njihovog organizma. Parametri dobrobiti krava unutar ovih sistema uglavnom podjednako učestvuju u formiranju konačne ocene dobrobiti, što doprinosi visokom riziku da se loše ocenjeni parametri prikriju od strane onih koji su zadovoljavajući (Scott i sar., 2001; Capdeville i Veissier, 2001). Pored toga, značaj koji se pridaje različitim parametrima u oceni kvaliteta dobrobiti krava u ovim sistemima procene dobrobiti može da varira u zavisnosti od kompetentnosti procenjivača. Zbog toga su u okviru Welfare Quality® Project-a razvijene grupe parametara u okviru kriterijuma i principa dobrobiti koji se baziraju na proceni trenutnog stanja dobrobiti životinja na farmama koji detaljnije sagledavaju njihovo ponašanje, zdravstveno stanje, fiziologiju, performance i otpornost prema bolestima. Pored toga, parametri koji služe za procenu stanja dobrobiti životinja u okviru tog projekta uzimaju u obzir i način vođenja farme (uloga odgajivača), kao i specifične interakcije između životinje i sistema gajenja. Na taj način definisani parametri dobrobiti prevazilaze pomenute probleme u vezi prikrivanja onih parametara koji su negativno ocenjeni. S obzirom na rastući značaj zaštite dobrobiti postavljen je cilj u ovom radu, koji se sastoji u sagledavanju kvaliteta dobrobiti muznih krava na farmama sa slobodnim sistemom držanja u našoj zemlji primenom metodologije iz Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) koji je definisan u okviru Welfare Quality® Project-a.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ocena dobrobiti krava na osnovu parametara, kriterijuma i principa dobrobiti u okviru Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) izvršena je na tri farme krava sa slobodnim sistemom držanja (farme A, B i C), kapaciteta 218, 68 i 270 muznih krava, redom.

U Protokolu za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) koristi se multidimenzionalni koncept ocene dobrobiti krava koji obuhvata fizičko i mentalno zdravlje i uključuje četiri principa, dvanaest kriterijuma i preko trideset parametara. Četiri osnovna principa dobrobiti koja se u okviru ovog Protokola detaljno sagledavaju kroz adekvatnu izraženost kriterijuma i parametara dobrobiti su: princip obezbeđenosti životinja hranom i vodom, princip obezbeđenja odgovarajućih uslova držanja, princip obezbeđenja dobrog zdravstvenog stanja i princip obezbeđenja odgovarajućeg ponašanja.

U okviru principa obezbeđenosti hranom i vodom sagledavaju se kriterijumi odsustvo dugotrajne gladi i odsustvo dugotrajne žeđi. Pri tome se za ocenu odsustva gladi primenjuje procena telesne kondicije krava (0, 1 i 2), dok se

za ocenu odsustva dugotrajne žeđi koriste parametri koji sagledavaju snabdevanje vodom, čistoću i funkcionisanje napajalica, kao i protok vode u njima.

Princip obezbeđenja odgovarajućih uslova držanja uključuje ispitivanje komfora ležanja i slobode kretanja životinje u datim uslovima držanja. Komfor ležanja životinja sagledava se kroz trajanje vremena koje je životinji potrebno da legne, dodirivanje životinja sa opremom tokom ležanja, zatim kroz ležanje krava delimično ili u potpunosti izvan ležišta, kao i kroz ocenu čistoće vimena i donjeg, odnosno gornjeg dela zadnjih ekstremiteta. Obezbeđenje slobode kretanja krava se procenjuje na osnovu toga da li se životinje drže vezano i/ili imaju pristup ispustu ili pašnjaku, periodično ili tokom cele godine.

Princip obezbeđenja dobrog zdravstvenog stanja krava razmatra kriterijume vezane za odsustvo povreda, bolesti i bola kod životinja uzrokovano veterinarskim i zootehničkim postupcima na farmi. U proceni odsustva povreda sagledava se zastupljenost šepavosti i oštećenja kože. Za procenu odsustva bolesti prate se pojave kašlja, iscetka iz nosa i očiju, otežanog disanja, dijareje, prisustva vaginalnog iscetka, mortaliteta, teških teljenja i sindroma ležanja krava, a razmatra se i broj somatskih ćelija u mleku. Odsustvo bola kod životinja, uzrokovano veterinarskim i zootehničkim intervencijama, procenjuje se na osnovu načina primene obezbožavanja i skraćivanja repa.

Princip obezbeđenja odgovarajućeg ponašanja životinja uzima u obzir izražavanje socijalnih i drugih vrsta ponašanja, odnos između odgajivača i životinje i njeno pozitivno emocionalno stanje. Izražavanje socijalnog ponašanja krava se procenjuje na osnovu zastupljenosti agonističkih ponašanja, a izražavanje ostalih oblika ponašanja na osnovu mogućnosti pristupa pašnjaku. Za procenu odnosa odgajivača i životinja koristi se test sklanjanja životinja kod prilaženja ocenjivača, dok se pozitivno emocionalno stanje životinja procenjuje na osnovu ocene dvadeset oblika kvalitativnih ponašanja (aktivnost, opuštenost, strah, uznemirenost, spokojnost, zadovoljstvo, ravnodušnost, osujećenost, druželjubivost, dosada, razigranost, pozitivno usmerena akcija, živahnost, radoznalost, razdražljivost, nelagodnost, društvenost, bezvoljnost, sreća, zabrinutost).

Za sagledavanje pojedinih kriterijuma i principa dobrobiti u metodologiji u okviru Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) koriste se odgovarajuće skale procene uz primenu poentiranja, L-spline funkcije i Choquet integrala, zavisno od tipa pokazatelja. Krajnja ocena dobrobiti razvrstava dobrobit na nezadovoljavajuću, prihvatljivu, dobru i odličnu. U okviru Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) razvijen je poseban softver koji se koristi za obradu podataka i kategorizaciju kvaliteta dobrobiti krava.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Rezultati ocene dobrobiti krava na farmama sa slobodnim sistemom držanja prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Procena kriterijuma dobrobiti u sistemima sa slobodnim držanjem krava /
Table 1 Welfare criteria assessment in loose systems of rearing

Farma / Farm		A		B		C	
Principi dobrobiti / Principles of welfare	Kriterijumi dobrobiti / Criteria of welfare	Rezultati / Results	Nivo / Level	Rezultati / Results	Nivo / Level	Rezultati / Results	Nivo / Level
Dobra ishrana / Good feeding	Odsustvo dugotrajne gladi / Absence of prolonged hunger	58.4	3	48.6	2	22.3	2
	Odsustvo dugotrajne žeđi / Absence of prolonged thirst	60.0	3	3.0	1	100.0	4
Dobar smeštaj / Good housing	Komfor / Comfort around resting	53.8	2	45.2	2	35.2	2
	Termički komfor / Thermal comfort	-	-	-	-	-	-
	Sloboda kretanja / Ease of movement	95.0	4	95.0	4	95.0	4
Dobro zdravlje / Good health	Odsustvo povreda / Absence of injuries	81.6	4	70.3	3	38.1	2
	Odsustvo bolesti / Absence of diseases	50.2	2	64.7	3	33.4	2
	Odsustvo bola uzrokovano postupcima na farmi / Absence of pain induced by management procedures	28.0	2	28.0	2	28.0	2
Odgovarajuće ponašanje / Appropriate behaviour	Ispoljavanje socijalnog ponašanja / Expression of social behaviour	7.4	1	0.0	1	100.0	4
	Ispoljavanje drugih vidova ponašanja / Expression of other behaviour	0.0	1	0.0	1	0.0	1
	Odnos između odgajivača i životinje / Breeder - animal relationship	68.5	3	40.4	2	49.9	2
	Pozitivno emocionalno stanje / Good human-animal relationship	58.0	3	72.1	3	38.1	2

* Legenda: 1 – Neprihvatljivo, 2 – Prihvatljivo, 3 – Dobro, 4 – Odlično

* Legend: 1 – Unacceptable, 2 – Acceptable, 3 – Enhanced, 4 – Excellent

Na osnovu prikazanih rezultata u tabeli 1 uočava se da je izražavanje socijalnog ponašanja krava na dve farme (farma A i B) ocenjeno kao nezadovoljavajuće zbog ispoljavanja agresije (agonističkog ponašanja u vidu agresivnih interakcija između životinja), prvenstveno udaraca glavom i pomeranja. Udarac glavom je interakcija koja uključuje fizički kontakt između životinja gde krava izvršilac snažno čeonim delom, rogom ili bazom roga udara, gura, pritiska, probada ili naleće na kravu primaoca pri čemu se ova krava ne pomera (Anon., 2009). Pomeranje predstavlja takođe fizički kontakt između životinja gde krava izvršilac snažno čeonim delom, rogom, bazom roga ili nekim drugim delom tela udara, gura, pritiska, probada ili naleće na kravu primaoca, ali za razliku od udarca glavom ovde se krava primalac pomera (Anon., 2009).

Ispoljavanje drugih oblika ponašanja krava ocenjeno je kao nezadovoljavajuće na sve tri farme zbog nemogućnosti pristupa krava pašnjaku. Pristup pašnjaku je značajan za dobrobit krava jer poboljšava njihovo zdravlje i omogućuje ispoljavanje prirodnih oblika ponašanja (von Keyserlingk i sar., 2009).

Farma B svrstana je u nezadovoljavajuću kategoriju po pitanju ocene odsustva dugotrajne žeđi zbog manje dužine valova za napajanje. Na osnovu ocene telesne kondicije utvrđen je prihvatljiv nivo za odsustvo dugotrajne gladi na farmama B i C, dok je na farmi A utvrđen dobar nivo za isti kriterijum. Na osnovu načina snabdevanja vodom, protoka vode, čistoće i funkcionisanja napajalica utvrđen je dobar nivo za kriterijum odsustvo dugotrajne žeđi na farmi A, a odličan na farmi C.

Na svim farmama komfor ležanja krava koji uključuje nekoliko parametara (vreme potrebno životinji da legne, broj životinja koji dodiruje opremu tokom ležanja, ležanje grla delimično ili u potpunosti izvan ležišta, kao i ocena čistoće vimena i donjeg, odnosno gornjeg dela zadnjih ekstremiteta) ocenjen je kao prihvatljiv. Ovakva ocena komfora ležanja krava uglavnom je posledica velikog procenta životinja sa zaprljanim vimenom (55,04%, 44,12% i 30% na farmi A, B i C, redom) i zaprljanim zadnjim nogama (79,82%, 63,23% i 54,81% na farmi A, B i C, redom) usled nedovoljne količine prostirke.

Na svim farmama krave imaju mogućnosti da se kreću unutar staje i na površinama ispusta, što je doprinelo da obezbeđenje slobode kretanja bude ocenjeno kao odlično.

Na osnovu kriterijuma odsustvo povreda, stanje na farmi A ocenjeno je kao odlično, na farmi B kao dobro, dok je na farmi C ocenjeno kao prihvatljivo. Ovaj kriterijum obuhvata parametre šepavosti i oštećenja kože (polja na koži bez dlake i ozlede/otoci na koži). Utvrđena ocena za odsustvo povreda na farmi C posledica je visoke učestalosti pojave šepavosti kod krava (27,04%). Pored toga što se koristi kao parametar za procenu komfora ležanja, vreme potrebno životinji da legne predstavlja i parametar za procenu šepavosti (von Keyserlingk i sar., 2009).

Kriterijum odsustvo bolesti se procenjuje na osnovu procenta krava sa kašljem, iscetkom iz nosa i očiju, otežanim disanjem, dijarejom, prisustvom

vaginalnog iscetka, kao i na osnovu pojave uginuća, teških teljenja i sindroma ležanja. Ovaj kriterijum obuhvata i broj somatskih ćelija sa graničnim nivoom od 400 000 u 1 ml mleka. Na farmi A i C za kriterijum odsustvo bolesti utvrđena je prihvatljiva ocena, uglavnom zbog procenta mortaliteta (1,67% i 2,75%, redom), teškog partusa (1,83% i 2,96%, redom) i sindroma ležanja krava (2,29 i 3,33%, redom). Na svim ispitivanim farmama kriterijum odsustvo bola, uzrokovanog veterinarskim i zootehničkim intervencijama, ocenjen je prihvatljivom ocenom, uglavnom zbog neprimenjivanja anestezije ili analgezije pri obezrožavanju životinja.

Na osnovu testa sklanjanja životinja kod približavanja ocenjivača odnos između odgajivača i životinje ocenjen je kao prihvatljiv na dve farme (farme B i C), zbog visokog procenta životinja (17,65% i 14,81%, redom) kojima se može prići do 50 cm udaljenosti, ali koje se pri tome ne mogu dodirnuti. Na farmi A utvrđeno je bolje stanje po pitanju ovog kriterijuma, odnosno ustanovljena je dobra ocena.

Uticaj odnosa između odgajivača i životinje na njihovu produktivnost i dobrobit, kao i brojni testovi kojima se taj odnos procenjuje opisani su u radu Waiblinger i sar. (2006). Pozitivno emocionalno stanje koje obuhvata sve pomenute parametre procenjeno je kao dobro na farmama A i B. Prihvatljiv nivo za isti kriterijum utvrđen je na farmi C, uglavnom zbog prisustva velikog broja uplašanih, bezvoljnih i nemirnih krava. Značaj pozitivnih emocija kod životinja kao indikatora dobrobiti objašnjen je u radu Boissy i sar. (2007). U radu Duncana (2005) veliki značaj dat je proceni pozitivnih i negativnih emocionalnih stanja kao indikatora dobrobiti, dok se za ocenu bioloških funkcija životinja smatra da može da služi kao dopuna pri oceni dobrobiti životinja.

Rezultati konačne ocene dobrobiti na ispitivanim farmama sa slobodnim sistemom držanja prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Procena principa dobrobiti i konačne ocene dobrobiti u sistemima sa slobodnim držanjem krava /

Table 2. Welfare principles and overall welfare assessment on loose stalls

Farma / Farm	A		B		C	
Principi dobrobiti / Welfare principle	Rezultati / Results	Nivo / Level	Rezultati / Results	Nivo / Level	Rezultati / Results	Nivo / Level
Dobra ishrana / Good feeding	58.8	3	8.5	1	43.3	3
Dobar smeštaj / Good housing	69.1	3	63.6	3	57.3	2
Dobro zdravlje / Good health	40.8	2	44.0	2	30.8	3
Odgovarajuće ponašanje / Appropriate behaviour	18.8	1	16.3	1	26.2	3
Konačna ocena dobrobiti / Overall welfare	2		2		3	

* Legenda: 1 – Neprihvatljivo, 2 – Prihvatljivo, 3 – Dobro, 4 – Odlično

* Legend: 1 – Unacceptable, 2 – Acceptable, 3 – Enhanced, 4 – Excellent

Iz prikazanih rezultata u tabeli 2 može se zaključiti da su na osnovu ispitivanih parametara princip obezbeđenosti hranom i vodom na farmi B i princip obezbeđenosti odgovarajućeg ponašanja na farmama A i B ocenjeni kao neprihvatljivi. Kao prihvatljivi ocenjeni su uslovi držanja na farmi C i zdravstveno stanje na farmama A i B. Obezbeđenost hranom i vodom je ocenjena kao dobra na farmama A i C, kao i obezbeđenost odgovarajućih uslova držanja na farmama A i B. Na osnovu ispitivanih parametara principi obezbeđenosti dobrog zdravstvenog stanja i odgovarajućeg ponašanja krava ocenjeni su dobrom ocenom na farmi C. Konačna ocena dobrobiti krava sa slobodnim sistemom držanja bila je prihvatljiva na farmama A i B, a dobra na farmi C.

Prema Protokolu za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) (Anon, 2009), nezadovoljavajuća kategorija dobrobiti krava označava da je dobrobit životinja neodgovarajuća, dok je prihvatljiva kategorija ona koja ispunjava minimalne zahteve životinja. Dobra kategorija dobrobiti označava da je dobrobit životinja zadovoljavajuća, dok odlična kategorija ukazuje da je dobrobit životinja na najvišem nivou.

Tokom analize rezultata može se zapaziti da kriterijumi ne doprinose podjednako u oceni principa, kao i da principi nemaju isti značaj u konačnoj oceni dobrobiti. Visoke ocene u jednom principu ne mogu ublažiti niske rezultate u drugom, odnosno procena kategorije dobrobiti se ne zasniva na prosečnoj oceni principa.

Za ocenu dobrobiti do sada su se uglavnom sagledavali parametri koje se tiču menadžmenta (parametri koji se odnose na način na koji se farma vodi, kao i na postupke koji se primenjuju) i resursa (parametri koji se odnose na uslove sredine u kojoj životinja boravi). Procena dobrobiti mlečnih krava na osnovu parametara koji odražavaju stanje životinje (parametri koje se utvrđuju neposredno na životinji) predstavlja važan aspekt praktičnog i naučnog sagledavanja dobrobiti. Odgovarajuća procena dobrobiti se može postići sjedinjavanjem ocene bioloških funkcija životinje, njenog emocionalnog stanja i stepena prirodosti uslova sredine u kojoj životinja boravi (von Keyserlingk i sar., 2009). Procenom dobrobiti zasnovanom na parametrima koje se tiču menadžmenta i resursa mogu se umanjiti rizici od neodgovarajuće dobrobiti, ali prava ocena dobrobiti mora se zasnivati na proceni stanja životinje (Boissy i sar., 2007). Parametri zasnovani na proceni menadžmenta i resursa predstavljaju nedovoljnu garanciju odgovarajuće dobrobiti životinja u konkretnim situacijama i zbog toga je njima dat manji značaj u Protokolu za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu utvrđenih rezultata procene dobrobiti krava u slobodnom sistemu držanja na tri farme primenom metodologije iz Protokola za procenu kvaliteta dobrobiti goveda (2009) može se zaključiti sledeće:

1. Dobrobit krava na dve farme je ocenjena kao prihvatljiva, a na jednoj farmi kao dobra.

2. Utvrđene su nezadovoljavajuće ocene za principe obezbeđenosti odgovarajućeg ponašanja krava na dve farme i za obezbeđenost hrane i vode na jednoj farmi.

3. Najznačajniji problemi dobrobiti krava nastaju usled nedovoljne količine prostirke, nemogućnosti pristupa krava pašnjaku, pojave šepavosti, teškog partusa, sindroma ležanja krava i mortaliteta, ispoljavanja agresije među životinjama, nedovoljne dužine valova za napajanje životinja, kao i neodgovarajućeg odnosa između odgajivača i životinje.

4. Primenjeni multidimenzionalni pristup procene dobrobiti krava je pogodan za naučna sagledavanja nivoa dobrobiti na farmama, tako da se metodologija data u Protokolu za procenu kvaliteta dobrobiti goveda može uvesti i za praktičnu procenu dobrobiti krava u našoj zemlji.

Odgajivači i stručnjaci koji učestvuju u gajenju i zdravstvenoj zaštiti životinja treba da se upoznaju sa ovom metodologijom, kao i sa načinom procene parametara, kriterijuma i principa koji služe u oceni dobrobiti. Primenjena metodologija može biti od pomoći da se uoče nedostaci u zaštiti dobrobiti krava na farmama i preduzmu mere kako bi oni bili na vreme otklonjeni.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Istraživanja opisana u ovom radu finansirana su od strane Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije, u okviru projekta pod ev. brojem TR 31086. /

The investigations described in this paper have been financed by the Ministry of Education and Science Republic of Serbia within Project No TR 31086.

Literatura / References

1. Anon. Welfare Quality® assessment protocol for cattle Welfare Quality® Consortium, Lelystad, Netherlands, 2009.
2. Bartussek H. An historical account of the development of the animal needs index ANI-35L as part of the attempt to promote and regulate farm animal welfare in Austria: an example of the interaction between animal welfare science and society. *Acta Agriculturae Scandinavica* 2001; 30: 34-41.
3. Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, Moe RO, Spruijt B, Keeling LJ, Winckler C, Forkman B, Dimitrov I, Langbein J, Bakken M, Veissier I, Aubert A. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & Behavior* 2007; 92: 375-97.
4. Capdeville J, Veissier I. A method for assessing dairy cows welfare in a loose housing herd focussing on animal observations. *Acta Agriculturae Scandinavica* 2001; 30: 62-8.
5. Duncan IJH. Science – based assessment of animal welfare: farm animals. *Rev. sci. tech. Off int Epiz* 2005; 24(2): 483-92.
6. Scott EM., Nolan AM, Fitzpatrick JL. Conceptual and methodological issues related to welfare assessment: a framework for measurement. *Acta Agriculturae Scandinavica* 2001; 30: 5-10.

7. Sorensen JT, Sandoe P, Halberg N. Animal welfare as one among several values to be considered at farm level: the idea of an ethical account for livestock farming. *Acta Agriculturae Scandinavica* 2001; 30: 11-6.
8. Sundrum A, Anderson R, Postler G. Tiergerechtheitsindex – 200: Ein Leitfaden zur Beurteilung von Haltungssystemen. *Instituts für Organischen Landbau der Universität Bonn*, 211, 1994.
9. Tosi MV, Canali E, Gregoret L, Ferrante V, Rusconi C, Verga M, Carenzi C. A descriptive analysis of welfare indicators measured on Italian dairy farms: preliminary results. *Acta Agric Scand* 2001; 30: 69-72.
10. von Keyserlingk MAG, Rushen J, de Passille AM, Weary M. The welfare of dairy cattle – Key concepts and role of science. *J Dairy Sci* 2009; 92: 4101-11.
11. Waiblinger S, Boivin X, Pedersen V, Tosi MV, Janczak AM, Visser EK, Jones RB. Assessing the human – animal relationship in farmed species: A critical review. *Applied Animal Behavior Science* 2006; 101: 185-242.

ENGLISH

WELFARE ASSESSMENT FOR DAIRY COWS IN LOOSE STALLS

**Slavča V. Hristov, Zvonko V. Zlatanović, Branislav M. Stanković,
Dušica Ostojić-Andrić, Vesna Davidović, Mirjana Joksimović-Todorović, B. Plavšić**

In this paper, welfare assessment using the methodology of the Welfare quality® assessment protocol for cattle (2009) was performed for dairy cows maintained in the loose system of rearing on three dairy farms. This methodology includes quantitative measurements and qualitative evaluation of certain welfare parameters, criteria and principles of welfare, as well as assessment of the overall welfare of dairy cows. The results showed that the overall level of dairy cow welfare was acceptable on two farms, and was good on one. On two farms, the state of the cows' social behavior expression was unacceptable. Furthermore, on all three farms, the expression of other types of cow behavior was not acceptable. At one farm, it was determined that the result for the absence of prolonged thirst was unacceptable. Based on these results, it can be concluded that it is necessary to improve the quality of cow welfare on these farms. The applied methodology provides a multidimensional insight into the quality of cow welfare in the loose system.

Key words: dairy cattle, loose stall, welfare, assessment

РУССКИЙ

ОЦЕНКА БЛАГОСОСТОЯНИЯ КОРОВ В СВОБОДНОЙ СИСТЕМЕ СОДЕРЖАНИЯ

**С. Христов, З. Златанович, Б. Станкович, Душица Остоич-Андрич,
Весна Давидович, Миряна Йоксимович-Тодорович, Б. Плавшич,
Мария Докманович**

В этой работе совершена оценка благосостояния коров в свободной системе содержания применением методологии из Протокола для оценки качества

благосостояния крупного рогатого скота (2009). Эта методология охватывает количественные измерения и качественную оценку определённых параметров в рамках критериев и принципов благосостояния и на основе них конечную оценку благосостояния дойных коров. В исследованиях утверждено, что уровень благосостояния коров в целом на двух фермах приемлемый, а на одной хороший. На двух фермах социальное поведение коров было неудовлетворительное, пока на всех трёх фермах были неудовлетворительные другие виды поведения коров. На одной ферме утверждён неудовлетворительный результат для критерия отсутствие длительной жажды. На основе результатов исследования можно сделать вывод, что необходимо улучшение качества благосостояния коров на всех испытанных фермах. Также сделан вывод, что применённая методология подаёт мультиразмерный просмотр в состояние качества благосостояния коров в свободной системе содержания.

Ключевые слова: дойные коровы, безпривязная система, благосостояние, оценка

EPIDEMIJE TRIHINELOZE U AP VOJVODINI U PERIODU 2000–2009. GODINE*

TRICHINELLOSIS EPIDEMICS IN AP VOJVODINA IN THE PERIOD 2000–2009

Zorica Šeguljev, Branka Vidić, Svetlana Ilić, V. Petrović, M. Petrović,
M. Ristić, Nadežda Prica**

Tokom desetogodišnjeg posmatranja u Vojvodini je registrovano 1.300 slučajeva trihineloze kod ljudi. Kod tri bolesnika oboljenje je imalo smrtni ishod. Letalitet je 0,23%. Incidencija trihineloze se kreće od 2,2/100.000 do 13,6/100.000. Visina incidencije zavisi, kako od broja epidemija, tako i od veličine pojedinih epidemija, koje se registruju tokom godine. Najveće vrednosti incidencije su registrovane 2002. i 2005. godine, a posledica su širenja epidemija trihineloze infestiranim namirnicama iz javnog prometa. Epidemija trihineloze u Srednjobanatskom okrugu koja je počela krajem 2001. godine spada među najveće epidemije trihineloze u Vojvodini, kada je obolelo 313 osoba. Najveći broj obolelih je naveo podatak da je jeo dimljenu kobasicu. Visoka incidencija trihineloze 2005. godine posledica je javljanja tri epidemije trihineloze koje su se širile infestiranim dimljenim kobasicama iz nelegalne proizvodnje i prodaje. U ovim epidemijama je registrovano preko 200 slučajeva trihineloze kod stanovnika Vojvodine.

I danas se Srem može smatrati hiperendemskim područjem jer je preko 30% svih porodičnih epidemija sa ovih prostora. Podaci pokazuju da su žarišta trihineloze danas rasprostranjena u čitavoj Vojvodini i da svaki propust u kontroli inficiranosti mesa nosi rizik od obolevanja ljudi od trihineloze. Dok je u mnogim evropskim zemljama epidemiološka situacija trihineloze povoljna, u Srbiji ovo oboljenje i dalje predstavlja vodeću zoonozu. Nepovoljna epidemiološka situacija je posledica raširenosti žarišta infekcije, kulinarskih običaja i nesprovođenja

* Rad primljen za štampu 02. 12. 2010. godine

** Dr sci. med. Zorica Šeguljev, redovni profesor, Institut za javno zdravlje Vojvodine, Novi Sad; dr sci. med. vet. Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad; dr sci. med. Svetlana Ilić, docent, Institut za javno zdravlje Vojvodine, Novi Sad; dr sci. med. Vladimir Petrović; Pokrajinski sekretarijat za zdravstvo, Novi Sad; dr sci. med. Mladen Petrović, docent, dr med. spec. Miroslav Ristić Institut za javno zdravlje Vojvodine, Novi Sad; spec. hem Nadežda Prica; Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

validne kontrole mesa i mesnih proizvoda u domaćinstvima i nelegalnoj prodaji.

Ključne reči: epidemiologija, ljudi, rezervoari, trihinelozna

Uvod / Introduction

Trihinelozna je akutno invazivno oboljenje iz grupe zoonoza. Pošto se ceo ciklus razvoja uzročnika odvija u jednom domaćinu, na koji faktori spoljne sredine nemaju uticaja, rasprostranjena je u svim geografskim područjima. Opšta rasprostranjenost ovog oboljenja omogućuje i postojanje velikog broja rezervoara među kojima se, u procesu lanca ishrane, održavaju žarišta trihineloze. Održavanje i prenošenje trihineloze moguće je kao silvatično (odvija se preko divljači – prvenstveno karnivori i omnivori) i sinantropno ili domicilno (preko domaćih životinja). Za naše podneblje u domicilnom ciklusu najinteresantnije prenošenje infekcije je na relaciji pacov-svinja-čovjek, i to za vrstu *Trichinella spiralis*.

Uzročnik ove zoonoze je nematoda iz roda *Trichinella*. Na osnovu razlika utvrđenih biohemijskim i molekularnim analizama, ova nematoda je podeljena u 8 vrsta i 4 genotipa. U Evropi su zastupljene četiri vrste: *Trichinella spiralis*, inficira veliki broj divljih i domaćih životinja i najčešći je uzročnik trihineloze kod ljudi, *Trichinella nativa* i *Trichinella britovi*, rasprostranjene među sisarima u divljaj prirodi, i *Trichinella pseudospiralis*, koja pored sisara, inficira i ptice (Pozio i sar., 2005). Razlikovanje pojedinih vrsta trihineloz nije moguće morfološki, niti primenom imunoloških testova, već samo primenom metoda molekularne dijagnostike (Bogitsh i sar., 2005; Pozio i Zerlenga, 2005).

Učestalost obolevanja ljudi od trihineloze uslovljena je vrstom i potrošnjom mesa, navikama u ishrani i kulinarskim običajima kao i preduzetim merama u kontroli ove zoonoze. U epidemiologiji trihineloze su značajne one divlje životinje čije se meso koristi u ishrani ljudi, dok od domaćih životinja najveći značaj ima domaća svinja (Dupouy-Camet, 2006). Međutim, od 1975. godine u zemljama Evropske unije je registrovano najmanje 14 epidemija trihineloze koje su se širile sirovim ili termički nedovoljno obrađenim konjskim mesom. Inficirani konji su uvezeni iz endemskih zemalja (Meksika, Poljske, Rumunije), uključujući i Jugoslaviju (Boireau i sar., 2000; Pozio i sar., 2001).

U većini zemalja Evropske unije epidemiološka situacija trihineloze je povoljna (Glatz i sar., 2010). U 2008. godini registrovano je 670 potvrđenih slučajeva trihineloze sa incidencijom od 0,1/100.000 (The Community Summary Report, 2010). Najveći broj slučajeva je prijavila Rumunija (503), a slede Bugarska (67) i Litvanija (31). U Danskoj više od pola veka nisu registrovani autohtoni slučajevi trihineloze kod ljudi (Enemark i sar., 2000). U Velikoj Britaniji trihinelozna nije registrovana od 1969. godine. Međutim, 1999. godine javila se epidemija trihineloze sa 8 obolelih osoba, a trihinelozna namirnica, privatne proizvodnje, importovana je iz Srbije (Milne i sar., 2001).

U Srbiji se trihinelozu kontinuirano javlja. U periodu od 2005-2009. godine u Srbiji je registrovano 845 slučajeva trihineloze, a incidencija se kreće od 0,7/100.000 do 4,5/100.000. Od ukupnog broja registrovanih slučajeva, 531 (62,8%) je sa područja Vojvodine (Izveštaj o zaraznim bolestima, 2009).

Cilj ovog rada je da analizira karakteristike registrovanih epidemija trihineloze u Vojvodini.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Analiza je sačinjena na osnovu registrovanih epidemija trihineloze u Vojvodini u periodu od 2000 do 2009. godine. Epidemiološkim ispitivanjem su dobijeni podaci o vrsti i poreklu zaražene namirnice. Infestacija namirnice je potvrđena nalazom larvi trihinela metodom kompresije ili digestije. Dijagnoza trihineloze kod ljudi postavljena je od strane infektologa, na osnovu kliničkog nalaza, laboratorijskih rezultata i epidemiološkog podatka o konzumiranju trihineloznog mesa.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Tokom posmatranog desetogodišnjeg perioda u Vojvodini je registrovano 1 300 slučajeva trihineloze kod ljudi. Kod tri bolesnika oboljenje je imalo smrtni ishod. Letalitet je 0,2%. Incidencija trihineloze se kreće od 2,2/100.000 do 13,6/100.000. Visina incidencije zavisi kako od broja epidemija tako i od veličine pojedinih epidemija, koje se registruju tokom godine (tabela 1).

Tabela 1. Registrovani slučajevi trihineloze u AP Vojvodini /
Table 1. Registered cases of trichinellosis in AP Vojvodina

Godina / <i>Year</i>	*Broj obolelih/umrlih <i>*Number of diseased/dead</i>	Incidencija / <i>Incidence</i> /100.000
2000.	202	10,03
2001.	194	9,63
2002.	275/1	13,53
2003.	52	2,55
2004.	46	2,26
2005.	277/2	13,63
2006.	98	4,82
2007.	57	2,81
2008.	55	2,70
2009.	44	2,17
Ukupno / <i>Total</i>	1300/3	6,40

*Registracijom su obuhvaćeni samo bolesnici sa mestom prebivališta u Vojvodini /

**Registration covered only diseased persons with residence in Vojvodina*

Najveće vrednosti incidencije su registrovane 2002. i 2005. godine, a posledica su širenja epidemija trihineloze infestiranim namirnicama iz javnog prometa. Zbog količine proizvedenih namirnica namenjenih prodaji, distribucije na šire područje i velikog broja eksponiranih ove epidemije su često većih razmera, što dovodi do značajnog porasta incidencije trihineloze.

Epidemija trihineloze u Srednjobanatskom okrugu koja je počela krajem 2001. godine spada među najveće epidemije trihineloze u Vojvodini. U periodu od 20.12.2001. do 22.1.2002. godine u ovoj epidemiji je obolelo 313 osoba, od kojih su 288 sa područja AP Vojvodine, a 25 su iz drugih područja Srbije ili iz drugih zemalja. Najveći broj obolelih je naveo podatak da je jeo dimljenu kobasicu koja je proizvedena u privatnoj klanici i prodavana u više objekata na području Srednjeg Banata. Pored dimljene kobasice, veterinarska sužba je prisustvo trihinele dokazala i u salamurenoj slanini i viršli istog proizvođača.

Visoka incidencija trihineloze 2005. godine posledica je javljanja tri epidemije trihineloze koje su se širile infestiranim dimljenim kobasicama iz nelegalne proizvodnje i prodaje. U ovim epidemijama, oboleli su direktno kupovali kobasice od neregistrovanog privatnog proizvođača (dve epidemije) ili su ih kupovali na pijaci (jedna epidemija). U ovim epidemijama je registrovano preko 200 slučajeva trihineloze kod stanovnika Vojvodine, ali je ukupan broj obolelih i veći jer su inficirane namirnice konzumirale i osobe sa drugih područja Srbije ili su ove namirnice eksportovane i u druge zemlje.

U evropskim zemljama, u kojima je su autohtona žarišta trihineloze eliminisana, rizik od obolevanja imaju putnici koji odlaze u endemska područja ili od rođaka i prijatelja dobijaju domaće specijalitete proizvedene u endemskim područjima (The Community, 2008; Pozio i sar., 2003; ProMed Summary). Pošto je epidemiološka situacija trihineloze nepovoljna kako u čitavoj zemlji tako i u zemljama iz okruženja, u Vojvodini se pored autohtonih, registruju i importovane epidemije. U ovim epidemijama oboleli su se zarazili konzumiranjem trihineloznim namirnicama u toku boravka van teritorije Vojvodine (3 epidemije) ili su ove namirnice dobili od rođaka i prijatelja (2 epidemije) (tabela 2).

Tabela 2. Registrovane epidemije trihineloze u AP Vojvodini u periodu od 2000 do 2009. godine prema poreklu i izvoru zaraze /

Table 2. Registered outbreaks of trichinellosis in AP Vojvodina in the period 2000-2009 according to the origin and the sources of infection

Epidemije / <i>Epidemics</i>	Broj epidemija / <i>Number of epidemics</i>	Izvor zaraze / <i>Source of infection</i>	
		Domaća svinja / <i>Domestic pig</i>	Divlja svinja / <i>Wild boar</i>
Autohtone / <i>Autochthonous</i>	67	66	1
Importovane / <i>Imported</i>	5	0	0
Ukupno / <i>Total</i>	72	66	1

Mada su u evropskim zemljama registrovane epidemije trihineloze prouzrokovane mesom divljači i mesom konja, najznačajniji izvor zaraze je domaća svinja (Dupouy-Camet, 2006; Pozio i sar., 2003). Tokom desetogodišnjeg praćenja situacije u Vojvodini je samo za jednu porodičnu epidemiju dobijen podatak da je u smesu za kobasice dodavano i meso divlje svinje. Retrogradnim ispitivanjem mesa divlje svinje, veterinarska služba je dokazala prisustvo trihinele.

Mada distribucija inficiranih namirnica iz mesarskih radnji ili neregistrovane prodaje nosi rizik od izbijanja epidemija većih razmera, u Vojvodini su najbrojnije porodične epidemije trihineloze, uzrokovane mesom iz sopstvenog uzgoja odnosno mesnim prerađevinama proizvedenim za sopstvene potrebe i čine 78,0% svih registrovanih epidemija (tabela 3). Ove epidemije, koje su ograničene na članove porodice, rođake i prijatelje obično su manjih razmera.

Tabela 3. Registrovane epidemije trihineloze u AP Vojvodini u periodu od 2000 do 2009. godine prema poreklu inficiranih namirnica

Table 3. Registered outbreaks of trichinellosis in AP Vojvodina in the period 2000–2009 according to the origin of infestation

Poreklo infestirane namirnice / Origin of infested food item		Broj epidemija / Number of epidemics	%
Domaća proizvodnja / Domestic production	Za sopstvene potrebe / For private consumption	51	76,12
	Za prodaju / For sale	8	11,94
Mesarske radnje / Meat shops	Direktna prodaja / Direct sale	4	5,97
	Preko ugostiteljskih objekata/prodavnica / Through restaurants/shops	2	2,99
Nepoznato / Unknown		2	2,99
Ukupno / Total		67	100,00

Epidemiološkim ispitivanjem je utvrđeno da su oboleli najčešće konzumirali dimljene kobasice, pošto se ova namirnica nakon svinjokolja prva konzumira, dok se ostali infestirani proizvodi, konzervirani dimljenjem ili salamurenjem, upotrebljavaju kasnije.

Zbog konzumiranja trihineloznih namirnica van mesta boravka ili kupovinom infestiranih namirnica proizvedenih u drugim delovima pokrajine, slučajevi trihineloze se registruju širom Vojvodine. Međutim, hronološka i topografska analiza porodičnih epidemija, koje su prouzrokovane mesom iz sopstvenog uzgoja i prerađevinama pripremljenim za sopstvene potrebe, pokazuje da su žarišta trihineloze široko rasprostranjena i da se šire.

U periodu od 1984. do 1993. godine 94,3% registrovanih epidemija trihineloze u Vojvodini prouzrokovano je trihineloznim namirnicama poreklom iz 8 opština sa područja Srema (Sremska Mitrovica, Irig, Ruma, Pećinci, Šid), južne (Novi Sad, Bačka Palanka) i zapadne Bačke (Odžaci), (Šeguljev i sar., 1995).

Tabela 4. *Topografska i hronološka distribucija porodičnih epidemija trihineloze u AP Vojvodini*

Table 4. *Topographic and chronological distribution of thrichinellosis outbreaks in AP Vojvodina*

Okrug / District	Godina / Year										Σ	%
	2000.	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.	2008.	2009.		
Sremski	2	4	2	2	1	2	1	1	0	1	16	31,37
Zapadnobački	1	3	1	0	1	1	2	4*	0	1	14	27,45
Južnobanatski	3	2	0	0	1	1	0	0	1	0	8	15,69
Južnobački	1	2	0	0	0	0	0	2	1	0	6	11,76
Srednjoban.	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	4	7,84
Severnobački	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1,96
Severnobanatski	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	3,92
<i>Ukupno / Total</i>	7	11	5	3	3	5	3	8	4	2	51	100%

*jedna epidemija je prouzrokovana mesom divlje svinje /

*one epidemic caused by wild boar meat

I danas se Srem može smatrati hiperendemskim područjem jer je preko 30% svih porodičnih epidemija sa ovih prostora. U severnim područjima Vojvodine autohtone epidemije trihineloze nisu registrovane. Prva autohtona porodična epidemija trihineloze je registrovana na području Severnobačkog okruga 2002. godine, a na području Severnobanatskog okruga 2008. godine (tabela 4). Ovi podaci pokazuju da su žarišta trihineloze danas rasprostranjena u čitavoj Vojvodini i da svaki propust u kontroli inficiranosti mesa nosi rizik od obolevanja ljudi od trihineloze.

Infekcija trihinelom i danas ima važan zdravstveni značaj. To je pre svega zbog epidemijskog potencijala infekcije. U kontroli bolesti najvažnija je primarna prevencija koja podrazumeva odgovarajuće držanje životinja, a osnovna mera za sprečavanje obolevanja ljudi je pregled mesa domaćih svinja, divljih svinja, konja, ali i mesa drugih životinja koje mogu biti izvor infekcije. Glavni rizik za pojavu bolesti je konzumiranje sirovog i nedovoljno termički obrađenog mesa ukoliko uzorci poprečno-prugaste muskulature sa predilekcionih mesta nisu pregledani standardnim metodama, trihineloskopijom i veštačkom digestijom. Ovim direktnim metodama, koje se vrše nakom klanja dokazuju se inkapsulirane larve i larve koje ne stvaraju kapsulu.

Oboljenje kod ljudi najčešće se dijagnostikuje nakon pojave kliničkih simptoma, koje prati eozinofilija i povišen nivo mišićnih enzima, CPK i LDH, (Gottstein i sar., 2009). Postavljanje parazitološke dijagnoze kod ljudi vrši se direktnim i indirektnim metodama. Direktnim metodama vrši se dokazivanje parazita u mišićnom tkivu uzetog biopsijom. Određivanje vrste trihinela važno je u epidemiologiji za određivanje izvora infekcije, ali i klinički zbog toka bolesti (Bogitsh i sar., 2005). Za identifikaciju vrste i genotipa trihinela uspešno se koristi PCR metoda,

multiplex PCR, RFLP (restriction fragment length polymorphism) i RLB (reverse line blot) metoda, više u istraživačke svrhe i nisu deo rutinske dijagnostike trihineloze (Miteva i sar., 2006). Za potvrdu kliničke trihineloze vrše se serološka ispitivanja za dokazivanje specifičnih antitela IgG i IgM klase imunoenzimskim testom u kombinaciji sa Western blot metodom kao potvrdnim testom. Testiranje na antitela IgE klase u krvnom serumu se ne obavlja zbog kratkog poluvivota (Gomez-Morales i sar., 2008; Pozio, 2007). Pravovremena i tačna dijagnoza važna je zbog primene adekvatne specifične terapije i kao pomoć u epidemiološkom nadzoru bolesti.

Uprkos postojanju zakonskih propisa kojima su regulisane mere sprečavanja i suzbijanja trihineloze, epidemiološka situacija u AP Vojvodini je i dalje nepovoljna. Osnovni izvor zaraze trihineloze u Vojvodini je domaća svinja, a najrizičnije namirnice su dimljene kobasice, koje se, od svih tradicionalno konzerviranih namirnica, prve konzumiraju nakon svinjokolja ili se najčešće nalaze u neregistrovanoj prodaji. Nepovoljna epidemiološka situacija je posledica raširenosti žarišta trihineloze i nesprovođenja validne kontrole inficiranosti mesa i mesnih produkata proizvedenih u domaćinstvima i klanicama, kao i nelegalne proizvodnje i prodaje trihineloznih namirnica.

Literatura / References

1. Bogitsh BJ, Carter CE, Oeltmann NT. Human Parasitology. 3.edt. Burlington: Elsevier; 2005.
2. Boireau P, Vallée I, Roman T, Perret C, Mingyuan L, Gamble HR, Gajadhar A. *Trichinella* in horses: a low frequency infection with high human risk. Vet Parasitol 2000; 93: 309-20.
3. Dupouy-Camet J. Trichinellosis: still a concern for Europe. Euro Surveill 2006; 11(1): pii=590. Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=590>
4. Enemark, HL, Bjørn H, Henriksen SA, Nielsen B. Screening for infection of *Trichinella* in red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark. Vet Parasitol 2000; 88: 229-37.
5. Glatz K, Danko J, Kucsera I, Pozio E. Human trichinellosis in Hungary from 1965 to 2009. Parasite 2010; 17: 193-8.
6. Gomez-Morales MA, Ludovisi A, Amati M, Cherchi S, Pezzotti P, Pozio E. Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human trichinellosis. Clin Vacc Immunol 2008; 15: 1723-9.
7. Gottstein B, Pozio E, Nockler K. Epidemiology, diagnosis, treatment and control of trichinellosis. Clin Microbiol 2009; 22: 127-45.
8. Izveštaj o zaraznim bolestima u 2009. godini na teritoriji Republike Srbije. Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović-Batut“ Centar za prevenciju i kontrolu bolesti: Beograd, april 2009.
9. Milne LM, Bhagani S, Bannister BA, Laitner SM, Moore P, Eza D, Chiodini PL. Trichinellosis acquired in the United Kingdom. Epidemiol Infect 2001; 127, 359-63.
10. Miteva M, Jasmer PD. Biology and genome of *Trichinella spiralis*. U Worm book. ELEGANS Res Comm 2006; 1-26.

11. Pozio E, Tamburrini A, La Rosa G. Horse trichinellosis, an unresolved puzzle. *Parasite* 2001; 8: S263-5.
12. Pozio E, Marucci G. *Trichinella*-infected pork products: a dangerous gift. *Trends Parasitol* 2003; 19: 338.
13. Pozio E, Zerlenga DS. Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Int J Parasitol* 2005; 35: 1191-204.
14. Pozio E. World distribution of *Trichinella* sp. infections in animals and humans. *Vet Parasitol* 2007; 149: 3-21.
15. ProMed Summary of Trihinellosis Outbreaks. Available at: 2009. http://www.trichinella.org/index_epid_summary.htm
16. Šeguljev Z, Vuković B, Petrović M, Muškinja N, Ilić S. Zooantroponoze u Vojvodini. IV Epidemiološke karakteristike trihineloze u Vojvodini. *Med pregl* 1995; 34: 75-9.
17. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008, The EFSA Journal 2010; 1496.

ENGLISH

TRICHINELLOSIS EPIDEMICS IN AP VOJVODINA IN THE PERIOD 2000-2009

Zorica Šeguljev, Branka Vidić, Svetlana Ilić, V. Petrović, M. Petrović, M. Ristić, Nadežda Prica

In the observed decade, 1300 cases of trichinellosis were registered in Vojvodina, including three with a lethal outcome. The lethality was 0.23%. The incidences of trichinellosis ranged from 2.2/100,000 to 13.6/100,000. The rate of incidence depends both on the number of epidemics and the size of the epidemic reported in a year. Most incidences were reported in 2002 and 2005, as a consequence of the spread of trichinellosis through the purchase of infested food. The epidemic of trichinellosis in the Middle Banat district that started at the end of 2001 is considered to be the largest outbreak of human trichinellosis in Vojvodina, when 313 people got sick. In most of the cases the affected people reported they had eaten smoked sausages. The high incidence of trichinellosis in 2005 was a consequence of three trichinellosis outbreaks that had been spreading through infested smoked sausages originating from illegal production and trade. More than 200 cases of trichinellosis were reported in Vojvodina.

Today, Srem is still considered a hyperendemic area, because more than 30% of all the epidemics occur in this area. The available data indicate that trichinellosis is spread all over Vojvodina and that the absence of control results in the risk from the incidence of human trichinellosis. In many European countries the epidemiological situation is stable, but in our country trichinellosis is the most important zoonotic disease. This unstable epidemiological situation is the consequence of the widespread infection, culinary customs, and the fact that there is inadequate control of meat and meat products in households and illegal trade.

Key words: trichinellosis, humans, epidemiology

ЭПИДЕМИИ ТРИХИНЕЛЛЁЗА В АК ВОЕВОДИНЕ В ПЕРИОДЕ 2000-2009 ГОДАХ

Зорица Шегулев, Бранка Видич, Светлана Илич, Владимир Петрович, Младен Петрович, Миолюб Ристич, Надежда Прица

В течение смотренного десятилетнего периода в Воеводине зарегистрировано 1300 случаев трихинеллёза у людей. У трёх больных заболевание имело смертельный исход. Летальность 0,23%. Инцидентия трихинеллёза двигалась от 2,2/100.000 до 13,6/100.000. Высота инцидентии зависит, как от числа эпидемий, регистрируемые в течение года. Наибольшие стоимости инцидентии зарегистрированы 2002 и 2005 года, а последствие расширения эпидемий трихинеллёза инфицированными пищевыми продуктами из явного оборота. Эпидемия трихинеллёза в Среднебанатском округе, которая начала концом 2001 года, относится к между наибольшими эпидемиями трихинеллёза в Воеводине, когда заболело 313 особей. Наибольшее число заболевших привело данное, что елокопчёную колбасу. Высокая инцидентия трихинеллёза 2005 года последствие появления три эпидемии трихинеллёза, которые расширились инфицированными копчёными колбасами из нелегального производства у продажи. В этих эпидемиях зарегистрировано больше 200 случаев трихинеллёза у жителей Воеводины.

И в настоящее время Срем можно считать гиперэндемической територией ибо больше 30% всех семейных эпидемий с этих просторов. Данные показывают, что очаги трихинеллёза в настоящее время расширены во всей Воеводине и что каждый пропуск в контроле инфицированности мяса носит риск от заболевания людей трихинеллёзом. Пока в многих европейских странах эпидемиологическая ситуация трихинеллёза благоприятная, в нашей стране это заболевание и далее представляет собой ведущий зооноз. Неблагоприятная эпидемиологическая ситуация последствие расширенности очага инфекции, кулинарных обычаев и не проведения надлежащего контроля мяса и мясных продуктов в домашних хозяйствах и нелегальной продаже.

Ключевые слова: трихинеллёз, люди, эпидемиология

**PARAZITSKE INFEKCIJE DIVLJIH PREŽIVARA I
DIVLJIH SVINJA***
PARASITIC INFECTIONS IN WILD RUMINANTS AND WILD BOAR

Tamara Ilić, I. Stojanov, Sanda Dimitrijević**

Divlji preživari i divlje svinje pripadaju redu Artiodactyla, podredovi Ruminantia i Nonruminantia i svrstani su u divljač visokog lova, a njihovo gajenje predstavlja veoma značajnu granu lovne privrede. Kod divljih preživara u prirodi retko se sreću bolesti izazvane protozoama. Kod jelena su dijagnostikovani uzročnici kokcidioze, kriptosporidioze, toksoplazmoze, sarkocistioze, đardioze, babezioze i tajlerioze. Najznačajnije helmintoze divljih preživara su fasciolozna, dikrocelioza, paramfistomoza, fascioloidoza, cisticerkoza, anoplocefalidoza, cenuroza, ehinokokoza, plućna strongilidoza, parazitski gastroenteritis, strongiloidoza i trihurioza, sa izvesnim razlikama u visini prevalencije infekcije pojedinim vrstama. Najčešće ektoparazitoze jelenske i srneće divljači su oboljenja prouzrokovana vašima, krpeljima, šugarcima i hipodermama. Najzastupljenije endoparazitoze divljih svinja širom sveta su kokcidioza, balantidioza, metastrongilidoza, verminozni gastritis, askarioza, makrakantorinhoza, trihinelozna, trihurioza, cisticerkoza, ehinokokoza, a ređe to mogu biti fasciolozna i dikrocelioza. Od ektoparazitoza, kod divljih svinja dominiraju vašljivost i šuga. Poznavanje etiologije i epizootiologije parazitskih infekcija divljih preživara i divljih svinja, od izuzetnog je značaja za proces unapređenja sistema zaštite zdravlja životinja i ljudi, naročito ako se uzme u obzir biološki i ekološki rizik uslovljen zoonoznim infekcijama.

Ključne reči: divlji preživari, divlje svinje, parazitske infekcije

Uvod / Introduction

Divljač iz reda *Artiodactyla* (dvopapkari) spada u divljač visokog lova. U opštoj biološkoj i taksonomskoj klasifikaciji u okviru ovog reda postoje tri po-

* Rad primljen za štampu 19. 09. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Tamara Ilić, docent, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sci. med. vet. Igor Stojanov, Naučni institut za veterinarnarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; dr sci. med. vet. Sanda Dimitrijević, redovni profesor, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

dreda: preživari – *Ruminantia* (familije: *Cervidae*, *Bovidae* i *Giraffidae*), nepreživari – *Nonruminantia* (familije: *Suidae* i *Hippotamidae*) i kamile (*Tylopoda*). Najznačajniji predstavnici divljih preživara iz familije *Cervidae* su jelen i srna, a iz familije *Bovidae* muflon i divokoza. Predstavnik familije *Suidae* je divlja svinja (*Sus scrofa*) (Hernandez-Fernandez i Vrba, 2005).

Prvi tragovi porodice cervida potiču iz močvarnih prašuma srednje Azije, odakle su stigli i u naše krajeve. U Evropi jelena najviše ima u područjima slivova velikih reka, kao što su Dunav, Drava, Sava, zatim po brdskim i planinskim predelima bivše Jugoslavije, u bivšoj Čehoslovačkoj, Mađarskoj, Rumuniji, Nemačkoj i Austriji, a nešto manje u Poljskoj, evropskom delu bivšeg Sovjetskog Saveza, Švedskoj, Norveškoj, Španiji, Francuskoj i drugim zemljama (Hernandez-Fernandez i Vrba, 2005). Na Korzici i Sardiniji živi patuljasti jelen (*Cervus corsicanus*), a evropski crveni jelen (*Cervus elaphus*) odomaćen je u Argentini, SAD i na Novom Zelandu (Gauss i sar., 2006; Paziewska i sar., 2007).

Mnoga područja Srbije su bila poznata kao staništa jelena. Zbog nestanka šuma autohtone populacije su se zadržale u Podravini, Posavini, Podunavlju i delu Slovenije. U Srbiji jelena najviše ima na jugoistoku (planina Deli Jovan), u istočnim predelima (planina Kučaj) i na jugu zemlje (planina Jastrebac). Zbog uznemiravanja od strane čoveka, jelen je prinuđen da se po danu skriva u nepristupačnim čestarama, tako da je vremenom postao više noćna životinja. Jelen lopatar (*Dama dama*) je rasprostranjen po skoro celoj Evropi, a na područje bivše Jugoslavije doseljen je krajem XVIII veka. Ova vrsta je dominantno divljač ograđenih lovišta, ali se poslednjih decenija uzgaja i u slobodnim lovištima (na području Fruške Gore). Virdžinijski jelen (*Odocoileus virginianus*) je poreklom iz Severne Amerike, a po karakterističnom izgledu repa je i dobio naziv jelen belorepan (Santín Duran i sar., 2004).

Srneća divljač je najrasprostranjenija divljač visokog lova (srna – *Capreolus capreolus*) i uglavnom se sreće u Evropi (Sawczuk i sar., 2005). Rasprostranjena je u svim predelima Srbije, stanovnik je planinskih i nizijskih šuma i polja, a najradije boravi u mladim listopadnim šumama. Ova divljač se vezuje za svoje stanište i nerado ga napušta.

Divokoza (*Rupicapra rupicapra*) je jedini predstavnik antilopa u Srbiji. Poreklom je iz Evrope (Alpi, Pirineji, Karpati) i Male Azije (Kavkaz). Mufloni (*Ovis musimon*) vode poreklo sa nekih Sredozemnih ostrva (Sardinija, Korzika), odakle su preneti na evropsko kopno (Gomez-Batista i sar., 1996). Kod nas se sreću u manjem broju lovišta, pretežno ograđenog tipa.

Divlja svinja (*Sus scrofa*) je stanovnik naših nizijskih i ritских predela, ali se sreće i u planinskim šumama. Ove životinje su omnivori (svaštojedi), žive u čoporima, dok veprovi žive odvojeno i sa čoporom su samo u vreme parenja. U lovačkoj terminologiji divlje svinje su poznate i pod nazivom „crna divljač“ (Foata i sar., 2006; Bischoff i sar., 2008; Hälli i sar., 2010).

Gajenje divljih preživara i divljih svinja predstavlja veoma značajnu granu lovne privrede. Unapređenje ove vrste proizvodnje podrazumeva rešavanje brojnih problema, među kojima su najznačajniji oni vezani za zdravstvenu zaštitu.

Endoparazitoze i ektoparazitoze divljih preživara / *Endoparasitoses and ectoparasitoses in wild ruminants*

U okviru zdravstvene problematike parazitske infekcije divljih preživara zauzimaju jedno od vodećih mesta. Na pojavljivanje, održavanje i širenje parazitoza utiču sledeći epizootiološki faktori: držanje životinja u slobodnoj prirodi, zajedničko držanje životinja različitih starosnih kategorija, mogućnosti za razvoj i preživljavanje preparazitskih stadijuma i infekciju životinja, mogućnosti za razvoj i preživljavanje prelaznih domaćina, uvoz preživara i svinja iz drugih epizootioloških područja zemlje i inostranstva. To u velikoj meri utiče na mogućnost suzbijanja primenom lekova ili sprovođenjem mera koje su usmerene na prekid egzogene faze razvoja parazita.

Kod divljih preživara u prirodi retko se sreću bolesti izazvane protozoama, ali su detaljna istraživanja kod jelena dokazala postojanje specifičnih uzročnika kokcidioze, kriptosporidioze, toksoplazmoze, sarkocistioze, đardioze (Gauss i sar., 2006; Paziewska i sar., 2007), babezioze i tajlerioze (Sawczuk i sar., 2005). Rezultati istraživanja dobijeni u evropskim zemljama, pokazali su da su najzastupljenije vrste kokcidija koje parazitiraju kod jelena pripadnici roda *Eimeria*, i to: *E. austriaca*, *E. asymmetrica*, *E. robusta* i *E. cervi*. Prema prvim izveštajima iz Poljske, ustanovljeno je da kod srna parazitiraju *E. capreoli*, *E. rotunda*, *E. panda* i *E. ponderosa*, a kod crvenih jelena još i *E. sordida* i *E. elaphi* (Demiaszkiewicz i Lachowicz, 1990). Navedeni uzročnici izazivaju enteritis, praćen upornom dijarejom, ali samo u slučajevima infekcija visokog intenziteta. Pretpostavlja se da divlji preživari nisu značajni u prenošenju ovih kokcidija na domaće životinje.

Domaći i divlji biljojedi se mogu inficirati vrstom *Toxoplasma gondii* ingestijom hrane ili vode kontaminirane sporulisanim oocistama i na paši, putem biljaka koje su kontaminirane izlučevinama inficiranih pravih domaćina (mačke i divlje felide). Pošto su tahizoiti veoma neotporni u spoljašnjoj sredini, infekcija ovim razvojnim oblicima se retko dešava. Tkivne ciste *T. gondii* se najčešće nalaze u jagnjećem, ovčijem i svinjskom mesu. Određeni rizik postoji i od konzumiranja nedovoljno termički obrađenog goveđeg i konjskog mesa, kao i mesa divljači. Duže vremena nije se mogla objasniti infekcija herbivora i ljudi koji su striktni vegetarijanci, a kod kojih je stepen infekcije bio sličan onom kod ljudi koji su jeli meso. Tek kada je došlo do rasvetljavanja životnog ciklusa parazita (otkrićem oocista u fecesu mačke), utvrđena je mogućnost inficiranja biljojeda i ozvaničena ključna uloga mačaka u širenju infekcije (Gauss i sar., 2006).

Protozoe iz roda *Sarcocystis* su kokcidije sa obaveznim dvodomaćinskim razvojnim ciklusom. Domaći i divlji preživari se nalaze u ulozi prelaznih

domaćina, a u njihovoj muskulaturi (dijafragma, jezik, završni deo jednjaka, srce i žvakaća muskulatura) razvijaju se ciste. Izvesni autori smatraju da kod jelena i srna parazitira samo jedna vrsta ove kokcidije, koja se u literaturi spominje pod nekoliko različitih imena (*S. grueneri*, *S. cervicanis* i *S. wapiti*). Ispitivanje sprovedeno u Mađarskoj je pokazalo da su kod 30% pregledanih jelena u muskulaturi srca dijagnostikovane sarkociste. Kod jelena u Americi su opisane vrste *S. hemionilatransis* i *S. wapiti*. U muskulaturi divljih cervida iz Litvanije detektovane su 3 vrste ove kokcidije – *S. capreolicanis*, *S. hofmanni* i *S. grueneri* (Kutkiene, 2003).

Kriptosporidije izazivaju proliv novorođenih jedinki i mladih uzrasta do 4 nedelje. Veštačka infekcija jelenske teladi ovim kokcidijama kod većine obolelih prouzrokuje proliv, a kod manjeg broja može izazvati i uginuće. Još uvek ne postoji dovoljno podataka o štetnosti ovog parazita u prirodnim uslovima (Paziewska i sar., 2007).

Vrste krvnih protozoa iz rodova *Babesia* i *Theileria* su obligatni intracelularni patogeni, koji parazitiraju u eritrocitima (*Babesia* spp), odnosno limfocitima, endotelnim ćelijama i eritrocitima (*Theileria* spp) divljih preživara, a deo složenog razvojnog ciklusa obavljaju u krpeljima kao biološkim vektorima. U ispitivanjima koja su sprovedena u severo-zapadnoj Poljskoj, dokazano je da su srna (*Capreolus capreolus*) i crveni jelen (*Cervus elaphus*) rezervoari vrsta iz rodova *Babesia* i *Theileria*. Od ukupnog broja ispitivanih jedinki 24,4% je bilo inficirano vrstom *B. divergens*, a 11% vrstama iz roda *Theileria*. Procenat inficiranih vrstom *B. divergens* je bio skoro jednak u proleće (24,6%) i jesen (24%). Prevalencija infekcije *Theileria* vrstama je bila niža u proleće (10,5%), nego u jesen (12%) (Sawczuk i sar., 2005).

Kod divljih preživara parazitira veliki metilj (*Fasciola hepatica*), koji u tkivu jetre i žučnim kanalima izaziva hronične promene praćene znacima opšte intoksikacije i poremećajima u ishrani. Već 2 meseca nakon eksperimentalne infekcije jeleni izlučuju jaja *F. hepatica*, a posle 14 nedelja po površini jetre, na njenim rubovima i u parenhimu uočavaju se karakteristične patomorfološke promene. Za razliku od goveda, kod jelena ne dolazi do kalcifikacije žučnih puteva i ispoljavanja simptoma bolesti (Ursprung i Prosl, 2003). Veliki metilj parazitira u žučovodima jelenske i srneće divljači, kao i u žučnoj bešici divlje svinje. Divlji preživari i divlje svinje se inficiraju unoseći ućaurene metacerkarije sa akvatičnom vegetacijom. To se dešava kada pasu na močvarnim terenima, koji predstavljaju biotope pogodne za razvoj i održavanje populacije prelaznog domaćina - slatkovodni pužić (*Galba s. Lymnea truncatula*) (Foryet i Drew, 2010).

Od vrsta iz roda *Dicrocoelium* kod divljih preživara najčešće parazitiraju *Dicrocoelium dendriticum* i *D. hospes*. Treća vrsta, *D. orientalis*, opisana je kod mošusnog jelena u Bajkalskom regionu bivšeg Sovjetskog Saveza i preimenovana je u *D. chinensis*. Prema izveštajima nekih autora, ova vrsta je izolovana kod nekih vrsta jelena u azijskim zemaljama i kod muflona i jelena u Evropi (Otranto i sar., 2007).

Ispitivanja sprovedena u nekim zemljama Evrope (Finska, Nemačka i Češka), pokazala su da je infekcija divljih papkara vrstama iz roda *Paramphistomum* češća nego što se pretpostavljalo (i do 11%). Najčešće zastupljena trematoda u rumenu i retikulumu divljih preživara je *P. cervi*. On ima indirektan razvojni ciklus koji se obavlja preko pužića – *Planorbis anisus vortex*, a infekcija nastaje na paši, ingestijom metacerkarija. Pored vrste *P. cervi*, u literaturi se spominje i *P. leydeni*, kao mogući uzročnik ove helmintoze kod divljih preživara (Nikander i Saari, 2007).

Veliki američki metilj (*Fascioloides magna*) je najveća trematoda i prouzrokuje patognomonične promene u parenhimu jetre divljih preživara, gde se zadržava do kraja života, ne ulazeći u žučne kanale kao veliki metilj (*F. hepatica*). Uobičajeni stalni domaćini ove trematode u Severnoj Americi su američki belorepi jelen (*Odocoileus virginianus*) i kanadski jelen – Wapiti (*Cervus elaphus canadensis*). Moguće su infekcije visokog intenziteta (sa više od 100 primeraka ovih džinovskih trematoda), koje protiču asimptomatski.

Prvi izveštaji o ogromnim ekonomskim štetama kod jelenske i srneće divljači pojavili su se 50-ih godina 20. veka u tadašnjoj Čehoslovačkoj, nakon čega su i započela prva obimnija istraživanja biologije i epidemiologije ovog egzotičnog parazita u evropskim uslovima. Prva pojava *F. magna* u slovačkom slivu Dunava zabeležena je još 1988. godine (Vodnansky i Rajsky, 2001), a 1994. godine pristižu prvi izveštaji o pojavi ovog parazita na mađarskoj strani Dunava (Majoros i Sztojkov, 1994). Masovna pojava velikog američkog metilja u Hrvatskoj, u području ulivanja Drave u Dunav, otkrivena je 2001. godine (Šošćarić, usmeno saopštenje). Prvi nalaz *F. magna* u Austriji, zabeležen je u rezervatu jelena lopatara (*Dama dama*) u pokrajini Donja Austrija (Pfeiffer, 1982). Nakon toga je usledio i prvi nalaz kod divljači koja slobodno živi, na području sliva Dunava, istočno od Beča (Winkelmayer i Prosl, 2001). Ursprung i Prosl (2003) izveštavaju o nalazu velikog američkog metilja sa obe strane Dunava, od Beča do državne granice, kada su kao domaćini utvrđeni samo jeleni i srne. Pored metacerkarija koje se ingestijom trave unesu na paši, kao mogući izvor infekcije za domaće životinje mora se uzeti u obzir i seno proizvedeno na epizootiološkim područjima. Na osnovu podataka iz literature i zbog analogije sa trematodom *F. hepatica*, preporuka je da se životinje ne hrane senom proizvedenim u endemskim područjima, ukoliko ono prethodno nije bilo skladišteno najmanje 6 meseci (Ursprung i Prosl, 2003).

Fascioloidoza je zabeležena i u Vojvodini (Trailović i sar., 2008a; Trailović i sar., 2008b; Ilić i sar., 2011). Ovaj nalaz je od velikog značaja za naše epizootiološko područje, s obzirom na to da *F. magna* predstavlja potencijalnu opasnost i za domaće preživare. *Fascioloides magna* i *F. hepatica* imaju veoma sličan razvojni ciklus, odnosno poseduju iste prelazne domaćine (za *F. magna* to može biti i pužić *Lymnea fossaria*) i zahtevaju iste ekološke uslove za svoje uspešno održavanje. Zato se celokupno epizootiološko područje karakteristično za *F. hepatica* mora posmatrati kao potencijalni životni prostor i za *F. magna*. Kontrolom

kretanja divljači kao potencijalnih izvora infekcije, smanjuje se mogućnost inficiranja domaćih životinja (Foryet i Drew, 2010).

Od cestoda kod divljih preživara parazitira *Cysticercus tenuicollis*, larveni oblik pantljičare pasa, kuna i tvorova *Taenia hydatigena*. Kod mladih životinja, posebno kod lanadi, ova cestoda može da prouzrokuje peritonitis praćen letalnim ishodom. Uginuće nastaje kao posledica prodiranja cisticerkusa iz creva prema peritoneumu i dalje do jetre. Od anoplocefalida za divlje preživare najveći značaj imaju vrste iz rodova *Moniezia* (*M. expansa* i *M. benedeni*) i *Thysanosoma actinoides*. *Moniezia expansa* je specifična za muflona, ali parazitira i kod jelena i divokoze. *Coenurus cerebralis*, larveni oblik pantljičare pasa i lisica *Multiceps multiceps*, parazitira u mozgu ili kičmenoj moždini divljih preživara, gde vrši kompresiju okolnog tkiva i indukuje vrlo specifične kliničke simptome neurološkog karaktera (Sharma i Chauhan, 2006). Od posebnog epizootiološkog i epidemiološkog značaja je i činjenica da divlji papkari mogu oboleti od hidatidoze, zoonoze koju prouzrokuje *Echinococcus polymorphus*, larveni oblik pseće pantljičare *E. granulosus*.

Od plućnih nematoda kod divljih preživara parazitiraju uzročnici iz familija *Dictyocaulinae* i *Protostrongiline* (Charleston, 1980; Pybus, 1990; Divina i Höglund, 2002; Stancheva Panayotova-Pencheva, 2011). Detaljnim ispitivanjima dijagnostikovane su vrste protostrongilida koje parazitiraju kod divljih preživara u Bugarskoj i jugoistočnim delovima Evrope. To su *Muelearius capillaris*, *Cystocaulus ocreatus*, *Neostrogylus linearis*, *Protostrongylus rufescens* i *P. brevispiculum* (Stancheva Panayotova-Pencheva, 2011). Vrsta *Dictyocaulus capreolus* dokazana je kod srna u Švedskoj i od posebnog je značaja, jer se pretpostavlja da bi njeni L3 larveni stadijumi mogli biti upotrebljeni za izradu vakcine, koja bi se primenjivala u profilaksi bovine diktiokauloze (Divina i Höglund, 2002).

Jedan od glavnih zdravstvenih problema kod divljih preživara predstavlja parazitski gastroenteritis, nematodoza čiji uzročnici parazitiraju u sirištu i tankom crevu. *Haemonchus contortus* je najčešća trihostrongilida srneće divljači, koja parazitira u sluznici sirišta i hrani se krvlju. Kod srneće divljači i divokoza ova vrsta može prouzrokovati nastanak ozbiljne anemije (2000 parazita dnevno može da oduzme domaćinu i do 30 ml krvi), a mogući su i slučajevi abomazitisa i duodenitisa sa letalnim ishodom. Od ostalih uzročnika parazitskog gastroenteritisa za divlje preživare od značaja su *Ostertagia ostertagi* (parazitira u sirištu), *O. circumcincta* i *O. trifurcata* (mogu parazitirati i u tankom crevu) i *Nematodirus filicollis* (koji parazitira u tankom crevu) (Santin-Duran i sar., 2004).

Bidovec (1986) izveštava o rasprostranjenosti gastrointestinalnih helmintata kod divljih preživara, sa posebnim osvrtom na srneću divljač, na teritoriji tadašnje SR Slovenije. Kvantitativne analize sprovedene kod nađene uginule srneće divljači ukazuju na to da su infekcije izazvane želudačno-crevnim parazitima čest uzrok uginuća mlade srneće divljači (do 2 godine) i srneće divljači starije od 8 godina. U toku 1988. godine sprovedena su ispitivanja helmintoza kod divljih cervida u Kanadi. Infekcija izazvana trematomom *F. magna* dijagnostikovana

je kod 38% kanadskih jelena i 2% belorepih jelena. Ciste *T. hydatigena* ustanovljene su u jetri 2% kanadskih jelena i 5% belorepih jelena. Ciste *E. granulosus* su dijagnostikovane u plućima (a povremeno i u jetri) 21% kanadskih jelena. Prevalencija infekcije izazvane vrstom *Dyctiocaulus viviparus* iznosila je 12% (kod kanadskih jelena) i 6% (kod belorepih jelena). Zabeležene su i slučajne infekcije izazvane vrstama *Orthostrongylus macroti*, *Taenia ommisa* i *T. actinoides*, kao i veoma nizak intenzitet infekcije izazvane vrstom *D. dendriticum* (Pybus, 1990).

Garcia-Romero i sar. (2000) izveštavaju o nalazu parazita kod evropskog crvenog jelena u centralnoj Španiji. U letnjem periodu dijagnostikovana je najveća prevalencija infekcije gastrointestinalnim nematodama (99%). Na koži polovine ispitanih jelena (49%) nađeni su krpelji. Dokazana je najveća prevalencija infekcije izazvane vrstom *Hyalomma lusitanicum* (43%), sa najizraženijom frekvencijom pojavljivanja u proleće i leto. Ostale identifikovane vrste na ovom području su bile: *Ostertagia ostertagi*, *O. lyrata*, *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *Spiculopteragia asymmetrica*, *Trichostrongylus axei*, *Cooperia punctata*, *C. pectinata*, *Oesophagostomum venulosum*, *Oes. radiatum*, *Trichuris ovis*, *T. globulosa*, *T. skrjabini*, *Elaeophora elaphi*, *Dyctiocaulus viviparus* (Nematoda), *Moniezia benedeni* (Cestoda), *Haematopinus* spp. (Anoplura), *Pharyngomyia picta*, *Cephemyia auribarbis*, *Hippobosca equina* (Diptera), *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa* i *Dermacentor marginatus* (Acari).

Istraživanja obavljena 2006. godine kod jelena u Severnoj Americi dokazuju postojanje najveće prevalencije infekcije izazvane gastrointestinalnim nematodama (26,5%), koju su pratile i infekcije *Trichuris* spp. (17,8%), kokcidijama (16,8%), *Capillaria* spp. (9,1%), *Strongyloides* spp. (0,67%) i *Moniezia* spp. (0,34%). Od ukupnog broja životinja obuhvaćenih istraživanjem, 48,7% jedinki je bilo inficirano najmanje jednim gastrointestinalnim parazitom (Hines i sar., 2007).

Najčešće ektoparazitoze jelenske i srneće divljači su oboljenja pro-uzrokovana vašima, krpeljima i šugarcima. Šugarci iz roda *Sarcoptes* parazitiraju najčešće kod divokoza (*Sarcoptes scabiei* var. *rupicaprae*), sa kojih mogu da se prenesu na jelensku divljač i muflone, a ređe na srne i čoveka. Šuga divokoza počinje promenama na koži glave i širi se po vratu, grudima, leđima i nogama. Kod jelenske divljači šuga počinje na koži grudi, a kod srneće na čelu, odnosno na bazi rogova (Oleaga i sar., 2008). U literaturi postoje izveštaji o visokoj prevalenciji infekcije kod divljih papkara vrstama iz roda *Hypoderma*. U Mađarskoj je ustanovljena infekcija kod srna (98%) i jelena (65%) izazvana vrstom *H. diana*, kao i prevalencija infekcije od 93% kod jelena, izazvana vrstom *H. actaeon*. Thomas i Kiliaan (1990) su dokazali prisustvo vrste *H. tarandi* kod severnoameričkog jelena (*Rangifer tarandus*), sa prevalencijom infekcije od 97%. *Hypoderma actaeon* je tipičan parazit jelena u Evropi i striktno je domaćin-specifičan. U Španiji su Martinez i sar. (1990) ustanovili kod jelena infekciju izazvanu vrstom *H. diana*, sa prevalencijom od 87%, a nekoliko godina kasnije utvrđena je i visoka prevalencija infekcije izazvane vrstom *H. actaeon* od 92% (Perez i sar., 1995).

Za nastanak parazitskih infekcija kod muflona, mnogo pogodniji uslovi postoje u ograđenim nego u slobodnim lovištima. U ograđenim lovištima na jedinici površine lovišta se nalazi veći broj muflona, zajedno se drže jedinke različitih starosnih kategorija, tako da starija grla otporna na infekciju, služe kao izvor infekcije za mlade prijemčive kategorije. Kod mladih jedinki parazitizam pojedinih vrsta ostavlja mnogo teže posledice. Panajotović i Dimitrijević (1995) izveštavaju o nalazu helminata kod muflona u ograđenim lovištima, sa područja Srbije. Oni su na parazitološkoj sekciji i metodama koprološke dijagnostike ustanovili želudačno-crevne strongilide (visok intenzitet infekcije), plućne nematode (infekcija srednjeg intenziteta) i nizak stepen infekcije izazvane vrstom *D. dendriticum*.

Kod muflona u centralnoj Španiji (Gomez-Bautista i sar., 1996), detektovane su vrste kokcidija iz roda *Eimeria* (*E. ahsata*, *E. bakuensis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. intricata*, *E. crandallis*, *E. ovinoidealalis*, *E. parva* i *E. caprovina*), gastro-intestinalne i plućne nematode (Meana i sar., 1996), a na području severoistočne Španije infekcije vrstom *D. dendriticum* (Lavin, 1998). Kod muflona (*Ovis gmelini musimon*) u centralnoj Italiji, kao dominantna ustanovljena vrsta je *Nematodirus filicollis*, a kao kodominantna vrsta *Trichuris ovis* (Magi i sar., 2002).

U cilju profilakse neophodno je potpuno ili delimično sprečiti infekciju kod muflona. Kod najvećeg broja parazitskih infekcija efekti preventive se ne mogu proceniti odmah, ponekad ni za nekoliko godina, tako da momentalno ekonomski ne odgovaraju uložnim sredstvima i trudu. Ipak, tokom godina taj efekat će sve više dolaziti do izražaja i daleko će premašiti uložena sredstva (na primer, melioracija pašnjaka). Neophodno je tri puta godišnje uzorkovati feces muflona (jun, novembar i mart mesec) i sprovoditi redovne koprološke pretrage. Preventivno tretiranje antihelminticima treba sprovoditi u jesen i na proleće, nakon obavljenog pregleda, a ponekad i u letnjim mesecima.

Endoparazitoze i ektoparazitoze divljih svinja /

Endoparasitoses and ectoparasitoses in wild boar

Najčešći endoparaziti divljih svinja su *Metastrongylus elongatus* s. apri, koji kod mlađih jedinki prouzrokuje zapaljenski proces u bronhijama, bronhiolama i plućnom parenhimu. U želucu parazitiraju nematode iz familija *Trichostrongylidae*, *Gnathostomatidae* i *Spirocercidae*, prouzrokujući akutni i hronični verminozni gastritis. Najpatogenija je *Gnathostoma hispidum*, koja prouzrokuje i najteže patomorfološke promene u zidu želuca. U tankom crevu parazitiraju *Ascaris suum* i *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, akantocefala koja svojim rilom oštećuje sluznicu creva i dublje slojeve tkiva sve do mišićnog sloja, izazivajući perforaciju crevnog zida sa posledičnim peritonitisom. Na peritoneumu i mezenterijumu divljih svinja, često se mogu dijagnostikovati larveni oblici *T. hydatigena* – *Cysticercus tenuicollis*. Od ostalih uzročnika parazitske etiologije kod divljih svinja se često nalaze: larveni oblik pseće pantljičare *E. granulosus* – *E. polymorphus* (u

jetri i plućima), larveni oblik pantljičare čoveka *T. solium* – *C. cellulosae* (u mišićima) i *F. hepatica* i *D. dendriticum* (u žučnim kanalima i žučnoj bešici).

Veoma važna parazitska bolest divljih svinja je trihinelozna. Poznato je da je trihinelozna primarno infekcija divljih životinja (lisica, vuk, medved, divlja svinja, jazavac, divlji glodari), u čijem se krugu (silvatični ciklus) ova infekcija stalno održava. Utvrđeno je da oko 100 vrsta sisara (uglavnom divljih životinja), može u svom organizmu da nosi ove parazite, što ukazuje na vrlo široke mogućnosti održavanja ove nematode. Od divljih životinja najčešći izvor infekcije za čoveka je trihinelozno meso divljih svinja i medveda, a u nekim zemljama gde ljudi konzumiraju meso mrkog medveda, lisice i jazavca, to može biti i trihinelozno meso ovih životinja. Trihinelozna je kod divljih svinja registrovana i u različitim delovima Srbije (Kulišić i sar., 1994; Teodorović, 2007).

Trichinella spiralis je vrsta karakteristična za epizootiološko područje Srbije, u kome preovladava umerena kontinentalna klima i izolovana je kod skoro svih vrsta divljih omnivora i karnivora: vuk (44%), ris (47%), mrki medved (7,44%), riđa lisica (6%-32%), jazavac (1%-25%) i divlja svinja (4,34%) (Teodorović, 2007). Navedeni podaci ukazuju da praktično svi mesojedi, svaštojedi i glodari u divljoj fauni predstavljaju stalni rezervoar ovog uzročnika, koji ima poseban epidemiološko-epizootiološki značaj.

Najčešće ektoparazitoze divljih svinja su vašljivost, koju prouzrokuje *Haematopinus asperis* i *H. suis*, i šuga, koju izaziva *Sarcoptes scabiei* var. *suis*.

Lepojevi i sar. (1992) iznose rezultate istraživanja parazitskih infekcija divljih svinja, koji su zasnovani na metodama koprolškog pregleda. Ispitivanje je sprovedeno u jednom od lovišta na području Srema, gde se unapređenju ovog vida proizvodnje poklanjala velika pažnja. Ustanovljena je najveća prevalencija infekcije životinja kokcijama, plućnim nematodama (*Metastrongylus elongatus*) i trihostrongilidama. Zatim slede trematode, *Strongyloides ransomi* i *Capillaridae*. Vrste *Arduena strongylina*, *Physocephalus sexalatus*, *Balantidium coli*, *Trichuris suis* i *Gnathostoma hyssidum*, dijagnostikovane su kod manjeg broja životinja.

Kod divljih svinja u centralnoj Italiji, kao dominantna je ustanovljena nematoda *Globocephalus urosubulatus* (Magi i sar., 2002), u Iranu vrste *C. tenuicollis* (25%), *C. cellulosae* (8,3%), *M. apri* (41,6%), *M. pudendotectus* (16,6%), *M. salmi* (8,3%), *T. suis* (8,3%) i *M. hirudinaceus* (41,6%) (Solaymani-Mohammadi, 2003; Krithiga i sar., 2010), na Korzici nematode *G. urosubulatus* i *A. suum*, vaša *Haematopinus suis* i krpelji *Hyalomma aegyptium* i *Rhipicephalus sanguineus* (Foata i sar., 2006), a u Finskoj vrste kokcijama iz rodova *Isospora* i *Eimeria*, *A. suum*, *T. suis* i trihostrongilide (Hälli i sar., 2010).

Rezultati dosadašnjih istraživanja parazitskih infekcija divljih preživara i divljih svinja na području Srbije, ukazuju na potrebu za sistematičnijim istraživanjima, koja su od posebnog značaja za region države Srbije. Poznavanje etiologije i epizootiologije parazitskih infekcija divljih preživara i divljih svinja, od izuzetnog je značaja za proces unapređenja sistema zaštite zdravlja životinja i ljudi, naročito ako se uzme u obzir biološki i ekološki hazard uslovljen zoonoznim infekcijama.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad realizovan po projektu „Praćenje zdravstvenog stanja divljači i uvođenje novih biotehnoloških postupaka u detekciji zaraznih i zoonoznih agenasa – analiza rizika za zdravlje ljudi, domaćih i divljih životinja i kontaminaciju životne sredine“ (broj TR31084), koji je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Srbije.

Literatura / References

1. Bidovec A. Endohelmini srneće divljači u Sloveniji. 11. savetovanje o dijagnostici, profilaksi i terapiji u savremenoj stočarskoj proizvodnji. Zbornik kratkih sadržaja, 1986; 56.
2. Bischoff J, Domrachev M, Federhen S, Hotton C, Leipe D, Soussov V, Sternberg R, Turner S. Taxonomy browser: Sus Scrofa. National Center for Biotechnology Information (NCBI), Retrieved September 12, 2008.
3. Charleston GAW. Lungworm and lice of the red deer (*Cervus elaphus*) and the fallow deer (*Dama dama*) – a review. New Zealand Vet J 1980; 28 (8): 150-2.
4. Demiaszkiewicz A, Lachowicz J. Occurrence of *Eimeria* oocysts in roe deer and red deer in the Borecka forest. Medycyna Weteryn 1990; 46(12): 473-4.
5. Divina PB, Höglund J. Heterologous transmission with *Dictyocaulus capreolus* from roe deer (*Capreolus capreolus*) to cattle (*Bos taurus*). J Helminthol 2002; 76: 125-30.
6. Foata J, Mouillot D, Culioli LJ, Marchand B. Influence of season and host age on wild boar parasites in Corsica using indicator species analysis. J Helminth 2006; 80: 41-5.
7. Foryet JW, Drew LM. Experimental infection in liver flukes, *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna*, in Bison (*Bison bison*). J Wildl Dis 2010; 46(1): 283-6.
8. Garcia-Romero C, Valcarcel F, Corchero JM, Olmeda AS, Perez-Jimenez JM. A contribution to the study of parasites of red deer (*Cervus elaphus*) in the provinces of Toledo and Ciudad real (Castille-La Mancha, Spain). Ecologia (Madrid) 2000; 14: 235-49.
9. Gauss CBL, Dubey PJ, Vidal D, Cabezón O, Ruiz-Fons F, Vicente J, Marco I, Lavin S, Gortazar C, Almería S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in red deer (*Cervus elaphus*) and other wild ruminants from Spain. Vet Parasitol 2006; 136: 193-200.
10. Gomez-Batista M, Luzon-Pena M, Santiago-Moreno J, De Bulnes GA, Meana A: Coccidial infection in mouflon, *Ovis musimon*, in central Spain. J Wild Dis 1996; 32(1): 125-9.
11. Hälli O, Ala-Kurikka E, Peltoniemi O, Heinonen M: The prevalence of internal parasites in wild boar farms in Finland. Acta Vet Scand 2010; 52 (Suppl. 1): S29.
12. Hernandez-Fernandez M, Vrba ES. A complete estimate of the phylogenetic relationships in Ruminantia: a dated species-level supertree of the extant ruminants. Biolog Rev 2005; 80: 269-302.
13. Hines MA, Ezenwa OV, Cross P, Rogerson DJ. Effects of supplemental feeding on gastrointestinal parasite infection in elk (*Cervus elaphus*): Preliminary observations. Vet Parasitol 2007; 148: 350-5.
14. Ilić Tamara, Lepojević Olga, Aleksić Nevenka, Dimitrijević Sanda: Parasitic infections in large and small ruminants in Serbia in the last two decades. 19th International Congress of Mediterranean federation of health and production of ruminants. Proceedings 2011; 308-15.

15. Krithiga K, Kowsigan A, Jayathilakan N, Balachandran C. A report the icidence of *Macracanthorhynchus hirudinaceus* in a wild boar. Tamilnadu J Vet Anim Sci 2010; 6(6): 289-90.
16. Kulišić Z, Đorđević M, Pavlović I, Nešić Dragica. Rasprostranjenost trihineloze kod divljih životinja na području Beograda. Zbornik kratkih sadržaja 7. savetovanja veterinara Srbije, Zlatibor, 1994; 30.
17. Kutkiene L. Investigations of red deer (*Cervus elaphus*) *Sarcocystis* species composition in Lithuania. Acta Zool Lituan 2003; 13(3): 390-5.
18. Lavin S, Mareo I, Vilafranca M, Feliu C, Vinas L. *Dicrocoelium dendriticum* infestation on mouflons (*Ovis musimon*) in Catalonia. Vet Rec 1998; 143: 396.
19. Lepojević O, Kulišić Z, Aleksić N, Dimitrijević S. Parazitske infekcije divljih svinja u Sremu. Vet. glasnik. 1992; 46(11-12): 687-91.
20. Magi M, Bertani M, Dell Omodarme M, Prati MC. Epidemiological study of the intestinal helminths of wild boar (*Sus scrofa*) and muflon (*Ovis gmelini musimon*) in central Italy. Parassitol 2002; 44(3-4): 203-5.
21. Majoros G, Sztojkov V. Appearance of the large American liver fluke *Fascioloides magna* (Bassi 1875) Trematoda: Fasciolata in Hungary. Parasit Hung 1994; 20: 27-38.
22. Martinez F, Hernandez S, Ruiz P, Molina R, Martinez A. Hypodermosis in the red deer *Cervus elaphus* in Cordoba, Spain. Med Vet Entomol 1990; 4: 311-4.
23. Meana A, Luzon-Pena M, Santiago-Moreno J, De Bulnes A, Gomez-Bautista M. Natural infection by gastrointestinal and bronchopulmonary nematodes in mouflons (*Ovis musimon*) and their response to netobimin treatment. J Wild Dis 1996; 32(1): 39-43.
24. Nikander S, Saari S. Natable seasonal variation observed in the morphology of the reindeer rumen fluke (*Paramphistomum leydeni*) in Finland. Rangifer, 2007; 27(1): 47-57.
25. Oleaga A, Casais R, Gonzales-Quiros P, Prieto M, Gortazar C. Sarcoptic mange in red deer from Spain: Improved surveillance or disease emergence? Vet Parasitol 2008; 154: 103-13.
26. Otranto D, Rehbein S, Weigl S, Cantacessi C, Parisi A, Paolo Lia R, Olson DP. Morphological and molecular differentiation between *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) and *Dicrocoelium chinensis* (Sudarikov and Ryjnikov, 1951) Tang and Tang, 1978 (Platyhelminthes: Digenea). Acta Trop 2007; 104: 91-8.
27. Panajotović V, Dimitrijević S. Parazitske bolesti (helmintoze) muflona u ograđenim lovištima. Savetovanja u Igalu i Novom Sadu (muflon, fazan, srna, divlja svinja). Zbornik radova, 1995; 49-52.
28. Paziewska A, Bednarska M, Nieweglowski H, Karbowiak G, Bajer A. Distribution of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in selected species of protected and game mammals from north-eastern Poland. Ann Agric Environ Med 2007; 14:265-70.
29. Perez MJ, Granados EJ, Ruiz-Martinez I. Studies on the hypodermosis affecting red deer in central and southern Spain. J Wild Dis 1995; 31(4): 486-90.
30. Pfeiffer H. *Fascioloides magna*: Erster Fund in Österreich. Wien Tierarztl Mschr 1982; 70: 168-70.
31. Pybus MJ. Survey of hepatic and pulmonary helminths of wild cervids in Alberta, Canada. J Wild Dis 1990; 26(4): 453-9.
32. Santin-Duran M, Alunda MJ, Hoberg PE, Fuente C. Abomasal parasites in wild sympatric cervids, red deer, *Cervus elaphus* and fallow deer, *Dama dama*, from three

- localities across central and western Spain: relationship to host density and park management. J Parasitol 2004; 90(6): 1378-86.
33. Sawczuk M, Maciejewska A, Adamska M, Skotarczak B. Roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elafus*) as a reservoir of protozoans from *Babesia* and *Theileria* genus in north-western Poland. Wlad Parazitol 2005; 51 (3): 243-7.
34. Sharma KD, Chauhan PPS. Coenurosis status in Afro-Asian region: A review. Small Rumin Res 2006; 64(3): 197-202.
35. Solaymani-Mohammadi S, Mobedi I, Rezaian M, Massoud J, Mohebbali M, Hooshyar H, Ashrafi K, Rokni BM. Helminth parasites of the wild boar, *Sus scrofa*, in Luristan province, western Iran and their public health significance. J Helminth 2003; 77: 3.
36. Teodorović V. Trichinella-Trichinellosis. Naučna KMD d.o.o., Beograd, 2007.
37. Thomas DC, Kilian LPH. Warble infestations in some Canadian caribou and their significance. Rangifer, 1990; Special Issue No 3, 409-17.
38. Trailović S, Kulišić Z, Marinković D. *Fascioloides magna* kod jelenske divljači Vojvodine - naša iskustva. Predavanje po pozivu. Zbornik predavanja XXIX seminara za inovacije znanja veterinaru, Beograd, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2008; 29-40. (UDK 619:616.995.122.21)
39. Trailović S, Kulišić Z, Marinković D. *Fascioloides magna* kod jelena lopatara (*Dama dama*) u Srbiji. Zbornik radova Desetog regionalnog savetovanja iz Kliničke patologije i terapije životinja, Kragujevac, 2008; 228-9.
40. Ursprung J, Prosl H. Der amerikanische riesenleberegel *Fascioloides magna* im donauraum. 15. savetovanje veterinaru Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 2003; 143-50.
41. Vodnansky M, Rajskey D. Erfahrungen bei der Erforschung und Bekämpfung des Amerikanischen Riesenleberegels (*Fascioloides magna*) in den Nachbarländern Österreich. Symposium NÖ Landesjagdverband, 2001; 3.
42. Winkelmayer R, Prosl H. Riesenleberegel - jetzt auch bei uns? Österreich Weidwerk, 2001; 3: 42-4.

ENGLISH

PARASITIC INFECTIONS IN WILD RUMINANTS AND WILD BOAR

Tamara Ilić, I. Stojanov, Sanda Dimitrijević

Wild ruminants and wild boar belong to the order *Artiodactyla*, the suborders *Ruminantia* and *Nonruminantia* and are classified as wild animals for big game hunting, whose breeding presents a very important branch of the hunting economy. Diseases caused by protozoa are rarely found in wild ruminants in nature. Causes of coccidiosis, cryptosporidiosis, toxoplasmosis, sarcocystiosis, giardiasis, babesiosis, and theileriosis have been diagnosed in deer. The most significant helminthoses in wild ruminants are fasciosis, dicrocoeliasis, paramphistomosis, fascioloidosis, cysticercosis, anoplocephalidosis, coenurosis, echinococcosis, pulmonary strongyloidiasis, parasitic gastroenteritis, strongyloidiasis and trichuriasis, with certain differences in the extent of prevalence of infection with certain species. The most frequent ectoparasitoses in wild deer and doe are

diseases caused by ticks, mites, scabies mites, and hypoderma. The most represented endoparasitoses in wild boar throughout the world are coccidiosis, balantidiasis, metatstrongyloidiasis, verminous gastritis, ascariasis, macracanthorhynchosis, trichinelosis, trichuriasis, cystecercosis, echinococcosis, and less frequently, there are also fasciolosis and dicrocoeliasis. The predominant ectoparasitoses in wild boar are ticks and scabies mites. Knowledge of the etiology and epizootiology of parasitic infections in wild ruminants and wild boar is of extreme importance for the process of promoting the health protection system for animals and humans, in particular when taking into account the biological and ecological hazard posed by zoonotic infections.

Key words: wild ruminants, wild boar, parasitic infections

РУССКИЙ

ПАЗАРАТАРЫЕ ИНФЕКЦИИ ДИКИХ ЖВАЧНЫХ И ДИКИХ СВИНЕЙ

Тамара Илич, И. Стоянов, Санда Димитриевич

Дикие жвачные и дикие свиньи принадлежат ряду *Artiodactyla*, подряды *Ruminantia* и *Nonruminantia* и распределены в ряды в дичь высокой охоты, чьё разведение представляет собой очень значительную отрасль охотничьего хозяйства. У диких жвачных в природе редко встречаются болезни, вызванные протозоами. У оленей диагностированы возбудители кокцидиоза, криптоспородиоза, токсоплазмоза, саркоцистоза, дардиоза, бабезиоза и тайлериоза. Наиболее значительные гельминтозы диких жвачных - фасциолёз, дикроцелиоз, парамфистомоз, фасциолоидоз, цистоцеркоз, аноплцефалидоз, ценуроз, эхинококкоз, лёгочный стронгилидоз, паразитарный гастроэнтерит, стронгилоидоз и трихуриоз, с известными различиями в высоте превалентности инфекции некоторыми видами. Наиболее частые эктопаразиты оленей и дичи серны-заболевания причинённые вшами, клещами, чесоточными паразитами и гиподермами. Наиболее представленные эндопаразиты диких свиней по всему миру - кокцидиоз, балантидиоз, метастронгилидоз, глистный гастрит, аскаридоз, макроаканторинхоз, трихинеллёз, трихуриоз, цистицеркоз, эхинококкоз, а реже это могут быть фасциолёз и дикроцелиоз. От эктопаразитов, у диких свиней доминируют вшивость и парша. Познание этиологии и эпизоотологии паразитарных инфекций диких жвачных и диких свиней, исключительно важно для процесса повышения системы охраны здоровья животных и людей, особенно если учесть биологический и экологический азарт, обусловлен зоонозными инфекциями.

Ключевые слова: дикие жвачные, дикие свиньи, паразитарные инфекции

**KARVAKROL KAO EKOLOŠKI INSEKTICID I AKARICID OD
ZNAČAJA ZA HUMANU I VETERINARSKU MEDICINU***
*CARVACROL IMPORTANCE IN VETERINARY AND HUMAN MEDICINE
AS ECOLOGIC INSECTICIDE AND ACARICIDE*

Marijana Vučinić, Jelena Nedeljković-Trailović, S. Trailović, S. Ivanović,
Mirjana Milovanović, D. Krnjaić**

Karvakrol je aktivni sastojak esencijalnih ulja različitih biljnih vrsta, a uglavnom vranilove trave i timijana. Ima biocidno dejstvo u odnosu na mnoge artropode od značaja za veterinarsku i humanu medicinu. Karvakrol deluje kao repelent, larvicid, insekticid i akaricid. Ispoljava toksičnost u odnosu na štetne artropode koje predstavljaju mehaničke ili biološke vektore za mnoge uzročnike virusnih, bakterijskih ili parazit-skih bolesti životinja i ljudi. Zato je moguće da se koristi, ne samo u kontroli štetnih artropoda već i u kontroli bolesti koje prenose insekti i akarine. U radu je opisana biološka aktivnost karvakrola u odnosu na komarce, kućne muve, bubašvabe, krpelje i grinje. Takođe su opisani i verovatni načini delovanja karvakrola na insekte i akarine. Karvakrol ostvaruje svoje insekticidno i akaricidno delovanje ili sam ili u kombinaciji sa drugim sastojcima esencijalnog ulja u kojem se i sam nalazi, kao što su na primer timol, cimen i drugi sastojci. U radu su objašnjeni i osnovni razlozi učestalih istraživanja esencijalnih ulja i drugih prirodnih proizvoda biljnog porekla na biotoksičnost u odnosu na štetočine uskladištene hrane, štetočine od zdravstvenog značaja kao i potrebe za njihovu primenu u poljoprivredi, veterinarskoj i humanoj medicini.

Ključne reči: karvakrol, insekticid, akaricid

Uvod / Introduction

Veliki broj insekata i krpelja predstavlja rizik za javno zdravlje i zdravlje domaćih i divljih životinja, jer su ili biološki ili mehanički vektori velikog broja za-

* Rad primljen za štampu 25. 09. 2011. godine

** Dr sci med. vet. Marijana Vučinić, redovni profesor, dr sci med. vet. Jelena Nedeljković-Trailović, docent, dr sci med. vet. Saša Trailović, vanredni profesor, mr sci med. vet. Saša Ivanović, asistent, dr sci med. vet. Mirjana Milovanović, docent, dr sci med. vet. Dejan Krnjaić, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

raznih bolesti, među njima i zoonoza. Među najznačajnije mere zaštite od ovih bolesti ubrajaju se kontrola reprodukcije i veličine populacije insekata i akarina u svim razvojnim stadijumima i zaštita od uboda insekata i akarina. Ovo znači da se u kontroli reprodukcije i veličine njihove populacije koriste i larvicidi i adulticidi, dok se za ličnu zaštitu od uboda koriste repelenti. Međutim, česta primena hemijskih, odnosno sintetičkih insekticida i akaricida za posledicu je imala pojavu rezistencije insekata i akarina, kontaminaciju i destabilizaciju ekosistema, kontaminaciju hrane i trovanja kod ljudi, domaćih i divljih životinja i neciljnih, poljoprivredno korisnih insekata. Sve ovo je ukazivalo na potrebu pronalaženja novih insekticida i akaricida, čija bi primena bila pouzdana u pogledu zaštite životne sredine i bezbednosti namirnica, koji bi bili degradabilni i koji bi u pogledu delovanja na insekte i akarine bili ciljno-specifični. Zato je poslednjih godina ispoljeno veliko interesovanje u oblasti istraživanja biljnih ekstrakta i fitohemikalija, kao potencijalnih sredstava sa insekticidnim i akaricidnim delovanjem.

U ovom pravcu, posebna pažnja posvećena je ispitivanju esencijalnih ulja. Esencijalna ulja su prirodne isparljive supstance koje se nalaze u mnogim biljkama. Komercijalno su našla primenu u četiri najznačajnije delatnosti, a to su farmaceutska, kozmetička, prehrambena industrija i zaštita ekosistema, ljudi, životinja i hrane a posebno uskladištene hrane od insekata i akarina. Interesovanje za ispitivanje insekticidne efikasnosti esencijalnih ulja ne jenjava. Zaštita bilja predstavlja samo jednu od delatnosti u kojoj su esencijalna ulja našla široku primenu, a posebno u organskim sistemima biljne proizvodnje kako ratarskih tako i ukrasnih vrsta biljaka u poljoprivrednim, ali i u urbanim područjima. Razloga je više. Prvo, u periodu žetve i berbe zabranjena je upotreba sintetskih insekticida. Drugo, javnost smatra da su prirodna sredstva za zaštitu bilja bolja. Treće, biljni insekticidi su sigurniji i bezbedniji i četvrto, biljni insekticidi su kompleksna jedinjenja ili kompleksne mešavine u odnosu na koje se rezistencija insekata i bihejvioralna desenzitizacija razvijaju sporije. To znači da se osnovni problemi, koje je stvorila upotreba sintetskih insekticida, kao što su kontaminacija životne sredine, rezidue u hrani i rezistencija insekata na sintetske insekticide, mogu izbeći upravo upotrebom botaničkih insekticida (Pavela, 2008). U botaničke insekticide spadaju i esencijalna ulja. Ništa manji nije interes za ispitivanje esencijalnih ulja i njihovih aktivnih principa u humanoj i veterinarskoj medicini i stočarstvu. Primarni interes usmeren je na ispitivanje biocidnog delovanja esencijalnih ulja u odnosu na insekte i grinje koji su vektori uzročnika mnogih infektivnih bolesti i zoonoza (Isman, 2000).

Cilj ovog rada je da prikaže značaj insekticidnog i akaricidnog dejstva karvakrola za humanu i veterinarsku medicinu.

Karvakrol / Carvacrol

Karvakrol ili cimofenol ($C_{10}H_{14}O$) je monoterpenski fenol (5-izopropil-2-metilfenol) zastupljen u mnogim esencijalnim uljima. Najviše je zastupljen u esencijalnim uljima vranilove trave i timijana, u kojima predstavlja i njihovu biološki

najaktivniju komponentu. Posедуje baktericidni, fungicidni i virucidni potencijal. Deluje antitumorski, antimutageno, antigenotoksično, analgetički, antispazmolitički, antiinflamatorno, angiogeno, antiparazitski, antitrombocitno, antielastazno, antihepatotoksično, hepatoprotektivno i inhibiše acetilholinesterazu (Baser, 2008; Bakkali i sar., 2008). Deluje biotoksično i na artropode, i ovo delovanje može da se sagleda kroz njegove ovicidne, repelentne, larvicidne i adulticidne efekte.

Repelentno dejstvo karvakrola / Repellent activity of carvacrol

Ustanovljeno je da karvakrol poseduje repelentno dejstvo u odnosu na insekte i akarine, značajno za zdravlje ljudi i životinja. Ispitivanja repelentnog dejstva pokazala su da karvakrol, sam ili u kombinaciji sa drugim aktivnim sastojcima esencijalnih ulja, deluje odbojno na insekte ili akarine. Tako, esencijalno ulje timijana (*Thymus vulgaris*), bogato sadržajem timola, p-cimena, karvakrola, linalola i α -terpinena, ispoljava repelentnu aktivnost u odnosu na adultne oblike komarca vrste *Culex pipiens pallens* (Choi i sar. 2002; Park i sar., 2005). Za esencijalno ulje žutog kedra sa Aljaske (*Chamaecyparis nootkatensis*), koje je takođe bogato sadržajem karvakrola, dokazano je repelentno delovanje na krpelja vrste *Ixodes scapularis*, vektora uzročnika lajmske bolesti, babezioze, anaplazmoze i dr. (Dietrich i sar., 2006). Repelentna aktivnost karvakrola i timola dokazana je u odnosu i na insekta vrste *Triatoma infestans*. Ovo je vektor za protozou *Trypanosoma cruzi*, koja je uzročnik bolesti čagas, odnosno američke tripanozomoze. Aktivne komponente sa repelentnim delovanjem, timol i karvakrol, koje deluju na navedenog uzročnika američke tripanozomoze, izolovane su iz lekovitog bilja sa centralnih Anda Argentine (Lima i sar., 2011). Karvakrol repelentno deluje i na bubašvabe vrste *Blattella germanica* (Phillips, 2009) i *Periplaneta americana* kao i na kućnu muvu, *Musca domestica* (Tong i Coats, 2010).

Insekticidna i akaricidna aktivnost karvakrola / Carvacrol insecticidal and acaricidal activity

Panella i sar. (2005) su iz esencijalnog ulja žutog kedra sa Aljaske (*Chamaecyparis nootkatensis*) izolovali 15 prirodnih proizvoda i ispitivali su njihov uticaj na krpelja vrste *Ixodes scapularis*, buvu vrste *Xenopsylla cheopis* i adultne oblike komarca vrste *Aedes aegypti*. Pet jedinjenja iz esencijalnog ulja žutog kedra identifikovali su kao monoterpe. Među njima je karvakrol bio jedini monoterpen koji je ispoljio biocidnu aktivnost u odnosu na krpelje, buve i komarce, čime je potvrđena njegova akaricidna i insekticidna aktivnost. Silva i sar. (2007) su potvrdili da karvakrol i kariofilen, izolovani iz biljaka *Lippia gracilis* i *Hyptis pectinata* deluju biocidno na larve komarca *Aedes aegypti*, primarnog nosioca uzročnika denga groznice, denga hemoragične groznice i žute groznice. Potvrđeno je da karvakrol iz esencijalnog ulja izolovanog iz biljnih vrsta *Origanum onites* L. i *Origanum minutiflorum*, sa lokaliteta Turske, deluje na larve komarca u

3. i 4. stadijumu razvoja vsre *Culex pipiens* L. (Cetin i Yanikoglu, 2006). Larvicidni učinak na razvojne oblike komarca *Culex pipiens* ispoljavaju i esencijalna ulja iz različitih biljnih vrsta *Satureja* spp. sa ekogeografskih lokaliteta Grčke koja su bogata sadržajem karvakrola (Michaelakis i sar., 2007). Radwana i sar. (2008) su takođe dokazali da monoterpeni, a među njima karvakrol i timol, ispoljavaju toksičnost u odnosu na larve 4. razvojnog stadijuma komarca iste vrste. Međutim, uočili su da je larvicidni učinak mnogo jači kada se ovi monoterpeni konvertuju u derivate svojih *N*-metil karbamata. Veliki broj biljnih vrsta, čija su esencijalna ulja bogata sadržajem karvakrola ispoljavaju larvicidni učinak na komarce. Takvo je i esencijalno ulje iz biljke *Plectranthus amboinicus*, koje obiluje sadržajem karvakrola i timola i koje deluje biocidno na larve komarca *Anopheles stephensi*, vektora za uzročnika malarije (Senthilkumar i Venkatesalu, 2010). Biocidno delovanje na larve u 4. stadijumu razvoja komarca *Culex pipiens* ispoljavaju i esencijalna ulja iz biljke *Thymus broussonetti*, koje sadrži 33% karvakrola (Belaqziz i sar., 2010).

Akaricidno delovanje karvakrola dokazano je i u odnosu na krpelja vrste *Ixodes scapularis* i *Amblyomma americanum*, koji se smatraju glavnim vektorima uzročnika lajmske bolesti u endemskim područjima Nju Džerzija (Dolan i sar., 2009; Jordan i sar., 2011). Coskun i sar. (2008) su dokazali da esencijalno ulje biljne vrste *Origanum onites* L., koje sadrži 64,3% karvakrola ispoljava akaricidnu efikasnost u odnosu na krpelja vrste *Rhipicephalus turanicus*. Akaricidnu aktivnost u odnosu na istu vrstu krpelja, *Rhipicephalus turanicus*, poseduje i esencijalno ulje biljne vrste *Origanum minutiflorum*, čija je glavna aktivna komponenta karvakrol (Cetin i sar., 2009).

Esencijalno ulje iz biljke *Satureja thymbra* L. kao glavne aktivne komponente sadrži karvakrol i γ -terpinen. Dokazano je da ovo esencijalno ulje deluje akaricidno na krpelja vrste *Hyalomma marginatum*, koji je jedan od glavnih vektora uzročnika krimsko-kongo hemoragične groznice. Sam karvakrol ispoljava i „knockdown” efekat na ovog krpelja (Cetin i sar. 2010). Na kraju, ustanovljeno je da karvakrol izolovan iz esencijalnog ulja biljke *Thymus vulgaris* deluje biocidno i na grinje iz kućne prašine (*Dermatophagoides* spp.), koje su glavni izvor multipnih potentnih alergena i uzročnici iznenadne smrti dece (Lee i sar., 2010). Među njima su najčešće vrste *Dermatophagoides farinae* i *D. pteronyssinus*. Od značaja za živinarsku proizvodnju je i akaricidno delovanje karvakrola na grinju *Dermanyssus gallinae*. Ustanovljeno je da u kontaktnom delovanju sa ovom grinjom, akaricidna efikasnost karvakrola iznosi 100% (Sauers, 2009).

Interesantno je ukazati i na ranije rezultate ispitivanja insekticidnog delovanja karvakrola. Tako je insekticidno delovanje karvakrola potvrđeno i na vinskoj mušici, *Drosophila melanogaster*. Pri tome je utvrđeno da karvakrol poseduje jaču insekticidnu aktivnost od timola, ali i da se u kombinaciji sa timolom njegov insekticidni potencijal smanjuje. Ova činjenica ukazuje na antagonizam ova dva fenola (Karpouhtsis i sar., 1998) kada se primenjuju kao insekticidi. Suprotno ovom nalazu, ustanovljeno je da se germicidna aktivnost karvakrola pojačava u

prisustvu timola, što ukazuje na sinergističku aktivnost ova dva fenola pri delovanju na mikroorganizme (Didry i sar., 1993).

Utvrđeno je da karvakrol deluje insekticidno i na smeđu bubašvabu, *Blattella germanica*, pri čemu je visoko toksičan za sve njene razvojne oblike kako pri kontaktnoj i topikalnoj aplikaciji tako i kao fumigant (Jang i sar., 2005; Phillips, 2009; Phillips i Appel, 2010; Phillips i sar., 2010). Mada je ranijim istraživanjima potvrđeno da karvakrol deluje insekticidno na kućne muve i bubašvabe, tek je novijim istraživanjima (Tong i Coats, 2010) utvrđeno da i karvakrol i timol, kao monoterpenoidi, predstavljaju pozitivne alosteričke modulatore GABA receptora insekata.

Način delovanja karvakrola na insekte i akarine / Carvacrol insecticidal and acaricidal mode of action

Erler i Tunc (2005) su ispitivali fumigantnu aktivnost monoterpenoida u odnosu na štetne insekte staklenih bašta. Pri tome su ispitivali fitotoksičnost monoterpenoida i njihov uticaj na reproduktivni i razvojni ciklus štetnih insekata. Ustanovili su da su karvakrol i njegov izomer, timol, vrlo aktivni u inhibiciji proizvodnje jaja i izleganju larvi iz jaja štetnih insekata staklene bašte. Takođe su ustanovili su da je ovo prednost u načinu delovanja ovih monoterpenoida jer upotrebom manjih doza pri kraćoj ekspoziciji može da se utiče na reproduktivni ciklus štetnih insekata. Ovo omogućava da se izbegne upotreba visokih doza monoterpenoida ili duža ekspozicija, a time i njihovo fitotoksično delovanje koje bi mogli da ispolje upravo pri visokim dozama ili pri dužoj ekspoziciji. Sa druge strane, fitotoksični potencijal karvakrola otvara mogućnost njegove upotrebe kao herbicida, odnosno korovicida. Inače, u biljnoj proizvodnji karvakrol se koristi kao fungicid i insekticid (Kordali i sar., 2008). McAllister i Adams (2010) su objavili rezultate ispitivanja insekticidnog delovanja timokvinona, nootkanona i karvakrola izolovanih iz žutog kedra sa Aljaske na adultne oblike komaraca vrste *Anopheles gambiae* Giles sa poznatim mutacijama na tri ciljna mesta. Ciljna mesta su bila genski lokusi odgovorni za pojavu rezistencije na permetrin, organofosfate i karbamate. Najbitnije što su uočili je da kod komaraca sa ciljnim mutacijama na rezistentnost u odnosu na najčešće korišćene insekticide, nije bilo potrebe za većim dozama ispitivanih jedinjenja, a među njima i karvakrola. Međutim, navedeni istraživači nisu uspeali da ustanove mesta delovanja ispitivanih jedinjenja biljnog porekla sa adulticidnim delovanjem na komarce. Zaključili su samo da ispitivana jedinjenja, a među njima i karvakrol, svoje insekticidne aktivnosti ostvaruju drugačije od insekticida koji se danas koriste u kontroli komaraca. Isman (2000) navodi da je ustanovljeno da u ogledima *in vitro* monoterpenoidi esencijalnih ulja deluju kao kompetitivni inhibitori acetilholinesteraze, ali i da ovu aktivnost monoterpenoidi ne moraju da ispolje kada na insekte deluju u uslovima *in vivo*. Kako je već navedeno, Tong i Coats (2010) su ustanovili da i karvakrol i timol, kao monoterpenoidi, predstavljaju pozitivne alosteričke modulatore GABA receptora insekata.

Zaključak / Conclusion

Karvakrol predstavlja samo jedan od velikog broja aktivnih sastojaka esencijalnih ulja, koji poseduje biocidni učinak u odnosu na insekte i akarine koje nanose ekonomske štete poljoprivrednoj proizvodnji i zdravlju ljudi i životinja. Mada su još uvek i poljoprivreda i veterinarska i humana medicina upućene na korišćenje sintetskih insekticida i akaricida, mnogobrojni ekološki, zdravstveni i ekonomski aspekti ukazuju na potrebu da se upotreba sintetičkih biocida zameni biocidima iz prirodnih izvora. Esencijalna ulja iz različitih biljnih vrsta i njihovi aktivni sastojci predstavljaju prirodne izvore biocida. Karvakrol je samo jedan od primera aktivnog sastojka esencijalnih ulja mnogih biljnih vrsta koji poseduje insekticidno i akaricidno delovanje. Pored toga što deluje kao adulticid, poseduje i larvicidnu i repelentnu aktivnost. Mada mehanizam insekticidne i akaricidne aktivnosti karvakrola još uvek nije u potpunosti rasvetljen, širok spektar biocidnog delovanja karvakrolu otvara mogućnost primene, ne samo u borbi sa štetnim artropodama, koje su vektori uzročnika virusnih, bakterijskih i parazitskih bolesti čoveka i životinja ili štetočine za biljne vrste, useve i uskladištenu hranu, već i u poljoprivrednoj proizvodnji kao biološkog herbicida/korovicida.

Literatura / References

1. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(2): 446-75.
2. Baser KHC. Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des* 2008; 14(29): 3106-19.
3. Belaqqiz R, Harrak R, Romane A, Oufdou K, ElFels MAEA. Antimicrobial and insecticidal activities of the endemic *Thymus broussonetti* Boiss. and *Thymus maroccanus* Ball. *Rec Nat Prod* 2010; 4(4): 230-7.
4. Cetin H, Cilek JE, Aydin L, Yanikoglu A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 2009; 160(3-4): 359-61.
5. Cetin H, Cilek JE, Oz E, Aydin L, Deveci O, Yanikoglu A. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and gamma-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 2010; 170(3-4): 287-90.
6. Cetin H, Yanikoglu A. A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *J Vector Ecol* 2006; 31(1): 118-22.
7. Choi WS, Park BS, Ku SK, Lee SE. Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens pallens*. *J Am Mosq Control Assoc* 2002; 18(4): 348-51.
8. Coskun S, Girisgin O, Kürkcüoglu M, Malyer H, Girisgin AO, Kirimer N, Baser KH. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). *Parasitol Res* 2008; 103(2): 259-61.
9. Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie* 1993; 48(4): 301-4.

10. Dietrich G, Dolan MC, Peralta-Cruz J, Schmidt J, Piesman J, Eisen RJ, Karchesy JJ. Repellent activity of fractioned compounds from *Chamaecyparis nootkatensis* essential oil against nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol 2006; 43(5): 957-61.
11. Dolan MC, Jordan RA, Schulze TL, Schulze CJ, Manning MC, Ruffolo D, Schmidt JP, Piesman J, Karchesy JJ. Ability of two natural products, nootkatone and carvacrol, to suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme disease endemic area of New Jersey. J Econ Entomol 2009; 102(6): 2316-24.
12. Erler F, Tunc I. Monoterpenoids as fumigants against greenhouse pests: toxic, development and reproduction-inhibiting effects. J Plant Dis Prot 2005; 112(2): 181-92.
13. Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot 2000; 19(8): 603-8.
14. Jang YS, Yang YC, Choi DS, Ahn YJ. Vapor phase toxicity to marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). J Agric Food Chem 2005; 53(20): 7892-8.
15. Jordan RA, Dolan MC, Piesman J, Schulze TL. Suppression of host-seeking *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) nymphs after dual applications of plant-derived acaricides in New Jersey. J Econ Entomol 2011; 104(2): 659-64.
16. Karpouhtsis I, Pardali E, Feggou E, Kokkini S, Scouras ZG, Mavragani-Tsipidou P. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. J Agric Food Chem 1998; 46(3): 1111-5.
17. Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Biores Tech 2008; 99(18): 8788-95.
18. Lee SG, Lee HS, Lee CH. Acaricidal effects of *Thymus vulgaris* Leaf-derived materials and monoterpene alcohols against *Dermatophagoides* spp. Journal of the J Korean Soc Appl Bi 2010; 53(2): 170-4.
19. Lima B, López S, Luna L, Agüero MB, Aragón L, Tapia A, Zacchino S, López ML, Zygadlo J, Feresin GE. Essential oils of medicinal plants from the central Andes of Argentina: chemical composition, and antifungal, antibacterial, and insect-repellent activities. Chem Biodivers 2011; 8(5): 924-36.
20. McAllister JC, Adams MF. Mode of action for natural products isolated from essential oils of two trees is different from available mosquito adulticides. J Med Entomol 2010; 47(6): 1123-6.
21. Michaelakis A, Theotokatos SA, Koliopoulos G, Chorianopoulos NG. Essential Oils of *Satureja* Species: Insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). Molecules 2007; 12(12): 2567-78.
22. Panella NA, Dolan MC, Karchesy JJ, Xiong Y, Peralta-Cruz J, Khasawneh M, Monteneri JA, Maupin GO. Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. J Med Entomol 2005; 42(3): 352-8.
23. Park BS, Choi WS, Kim JH, Kim KH, Lee SE. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. J Am Mosq Control Assoc 2005; 21(1): 80-3.

24. Pavela R. The plants used in folk medicine-new possibility for development of botanical insecticides. Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety 2008; 2: 3-15.
25. Phillips AK, Appel AG, Sims SR. Topical toxicity of essential oils to the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). J Econ Entomol 2010; 103(2): 448-59.
26. Phillips AK, Appel AG. Fumigant toxicity of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). J Econ Entomol 2010; 103(3):781-90.
27. Phillips AK. Toxicity and repellency of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). Graduate Faculty of Auburn University. Master thesis 2009.
28. Radwana MA, El-Zemitya SR, Mohameda SA, Sherby SM. Larvicidal activity of some essential oils, monoterpenoids and their corresponding *N*-methyl carbamate derivatives against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Int J Trop Insect Sci 2008; 28(2): 61-8.
29. Sauers AR van. The contribution of red poultry mites *Dermanyssus gallinae* (Degeer 1778) (Acari: Dermanyssidae) to the cross contamination of poultry with *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. and the acaricidal effect of carvacrol, thymol, bay oil and neem oil on *Dermanyssus gallinae*. Utrecht University. Faculty of Veterinary Medicine. Master thesis 2009.
30. Senthilkumar A, Venkatesalu V. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng against *Anopheles stephensi*: a malarial vector mosquito. Parasitol Res 2010; 107(5): 1275-8.
31. Silva WJ, Doria GA, Maia RT, Nunes RS, Carvalho GA, Blank AF, Alves PB, Marcal RM, Cavalcanti SC. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. Bioresour Technol 2008; 99(8): 3251-5.
32. Tong F, Coats JR. Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and 36Cl- uptake in American cockroach ventral nerve cord. Pestic Biochem Physiol 2010; 98(3): 317-24.

ENGLISH

CARVACROL IMPORTANCE IN VETERINARY AND HUMAN MEDICINE AS ECOLOGIC INSECTICIDE AND ACARICIDE

Marijana Vučinić, Jelena Nedeljković-Trailović, S. Trailović., S. Ivanović, Mirjana Milovanović, D. Krnjaić

Carvacrol is an active ingredient of essential oils from different plants, mainly from oregano and thyme species.. It poseses biocidal activity agains many artropodes of the importance for veterinary and human medicine. Carvacrol acts as repellent, larvicide, insecticide and acaricide. It acts against pest artropodes such as those that serve as mechanical or biological vectors for many causal agents of viral, bacterial and parasitic diseases for animals and humans. Therefore, it may be used not only in pest arthropodes control but in vector borne diseases control, too. In the paper carvacrol bioactivity against mosquitoes, house flies, cockroaches, ticks and mites are described. Potencial modes of carvacrol action on artropodes are given, too. Carvacrol reaches its biotoxicity against arthropodes alone or in combination with other active ingredients from the same plant of its origin, such as tymol, cymen or others. The paper explains reasons for frequently investigations on essential oils and other natural products of plant origin to their biotoxicity against

food stored pest or pest of medicinal importance, as well as, needs for their use in agriculture, veterinary and human medicine.

Key words: carvacrol, insecticide, acaricide

РУССКИЙ

КАРВАКРОЛ КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСЕКТИЦИД И АКАРИЦИД ВАЖНЫЙ ДЛЯ ГУМАННОЙ И ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Марияна Вучинич, Елена Неделькович-Траилович, С. Траилович, С. Иванович, Миряна Милованович, Д. Крняич

Карвакрол составная часть эссенциальных масел различных растительных видов, а главным образом враниловой травы и тимьяна. Обладает биоцидной активностью в отношении многих артроподов важно для ветеринарной и гуманной медицины. Карвакрол действует как репелент, ларвицид, инсектицид и акарицид. Проявляет токсичность в отношении вредных артроподов, которые представляют собой механические или биологические векторы для многих возбудителей вирусных, бактериальных или паразитарных болезней животных и людей. Поэтому возможно пользуется, не только в контроле вредных артроподов, уже и в контроле болезней, переносимых насекомыми и акариями. В работе описана биологическая активность карвакрола в отношении комаров, домашних мух, тараканов, клещей и моллюсков. Также описаны и вероятные способы действия карвакрола на насекомых и акариев. Карвакрол осуществляет своё инсектицидное и акарицидное действие или сам или в комбинации с другими составными частями эссенциального масла в котором и сам находится, как например, тимол, цимен и другие составные части. В работе объяснены и основные причины учащённых исследований эссенциальных масел и других природных продуктов растительного происхождения на биотоксичность в отношении вредителей складированного корма, вредителей от здравоохранительного значения словно и нужды для их применения в сельском хозяйстве, ветеринарной и гуманной медицине.

Ключевые слова: карвакрол, инсектицид, акарицид

**HIRURŠKA KOREKCIJA POLNIH ORGANA KUJE SA
PSEUDOTHERMAFRODITIZMOM******CORRECTIVE SURGERY OF EXTERNAL SEXUAL ORGANS IN
FEMALE PSEUDO HERMAPHRODITE DOG*****B. Prokić, D. Milijević, Verica Mrvić, B. B. Prokić****

Hermafroditizam je patološka pojava postojanja oba pola kod jedne jedinke. Može biti pravi i lažni. Pravi hermafroditi imaju ovarijume i testise, koji obično nisu u korelaciji sa sekundarnim polnim karakteristikama i spoljašnjim izgledom životinje. Lažni hermafroditizam (pseudohermafroditizam) je češća pojava i on može da bude muški – kada jedinka poseduje testise i spoljašnje genitalije nalik na ženske, ili ženski – kada jedinka ima jajnike i rudimentirane spoljašnje genitalije, koji podsećaju na one kod mužjaka. Hermafroditizam je relativno česta pojava kod različitih vrsta životinja. Mi smo opisali slučaj pseudohermafroditizma kod jedne kuje, koja je dovedena na hiruršku korekciju – uklanjanje rudimentiranog muškog polnog organa.

Ključne reči: hirurška korekcija, pas, pseudohermafroditizam

Uvod / Introduction

Hermafroditizam je anomalija polnih organa, koja obično dovodi do konfuzije prilikom određivanja pola. Javlja se relativno često kod različitih vrsta životinja. Pravi hermafroditizam se karakteriše istovremenim postojanjem ovarijuma i testisa (ovotestis), najčešće bez odgovarajuće korelacije sa sekundarnim polnim karakteristikama i spoljašnjim izgledom životinje. Za razliku od pravog hermafroditizma, lažni ili pseudohermafroditizam se javlja u dva oblika: kao muški hermafroditizam, kada jedinka poseduje testise, pri čemu spoljašnje genitalije nalikuju na ženske polne organe, ili ženski hermafroditizam – kada jedinka ima jajnike, pri čemu spoljašnje genitalije nalikuju na muške polne organe.

Pseudohermafroditizam, dakle, predstavlja neslaganje između spoljnih genitalija i pravog pola jedinke. Pojava hermafrodita se tretira kao kongenitalna

* Rad primljen za štampu 31. 05. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Branislav Prokić, profesor, Dušan Milijević, student, dr sci. med. vet. Verica Mrvić, profesor, Bogomir Bolka Prokić, dr vet. med., doktorant, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd

malformacija, pri čemu na učestalost pojavljivanja mogu da utiču različiti faktori (Hare, 1976; Holt i sar., 1983).

Pravi hermafroditi su neplodni, za razliku od lažnih hermafrodita kod kojih je moguća i hirurška korekcija spoljašnjih polnih organa. Hirurška korekcija je prvenstveno indicirana u slučajevima kada je anomalija povezana sa poremećajem uriniranja, kako bi se omogućilo nesmetano obavljanje fizioloških potreba životinje (Slatter, 2003).

Opis slučaja / Case report

Kuja rase američki stafordski terijer, stara 18 meseci, dovedena je na Kliniku za hirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu zbog pojave neobične izrasline koja viri iz vulve.

Pregledom je utvrđeno prisustvo valjkaste strukture u spoljašnjem delu vagine na poziciji klitorisa, koja se blagim pritiskom na vulvu može istisnuti napolje u dužini od 3-4 cm. Pritisak na vulvu je provocirao blago opiranje i bol. Istisnuta struktura je po izgledu podsećala na penis mužjaka. Celom površinom je bila prekrivena svetloružičastom sluzokožom koja se nije razlikovala od sluzokože vagine, pri čemu je palpacijom utvrđena neobično tvrda konzistencija. Ostali ženski polni organi, pre svega vulva, u potpunosti su bili razvijeni.

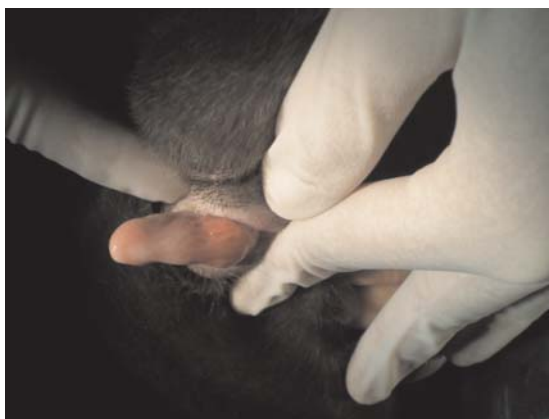
Prema anamnestičkim podacima, ova struktura je prvi put uočena u vreme prvog estrusa, u starosti od 6,5 meseci, posle čega „počinje da raste“, uz sve češće probleme tokom uriniranja. Naredni estrusi su bili praćeni sve jačom uznemirenošću, otežanim uriniranjem i bolnim reakcijama tokom uriniranja.

Dijagnoza lažnog hermafroditizma je postavljena na osnovu anamnestičkih podataka, kliničkih simptoma i hirurškog pregleda (slike 1 i 2). Prolabirano tkivo je pri tome pažljivo pregledano u cilju određivanja veličine i tačne pozicije u lumenu vagine, kao i procene povezanosti sa vaginalnim zidom.



Slika 1. Spoljašnji izgled vulve iz koje viri struktura nalik na penis /
Figure 1. External presentation of vulva with penis-like protuberation

Vlasniku je objašnjeno da je svaki pokušaj konzervativne - medikamentozne terapije bezuspešan i predložena hirurška korekcija, u cilju eliminisanja bolnih tegoba i uspostavljanja normalnih fizioloških i polnih funkcija životinje.

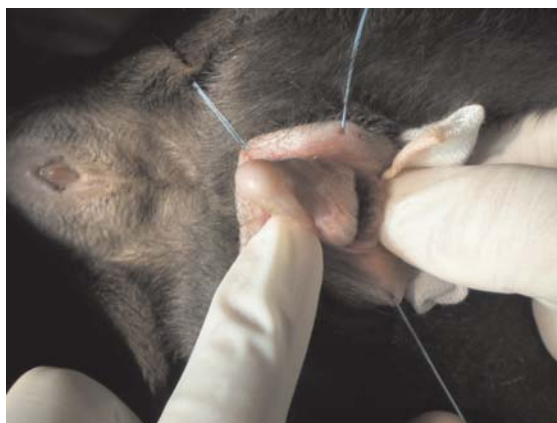


Slika 2. Izgled rudimentiranog penisa nakon povlačenja labija vulve i istiskivanja napolje /

Figure 2. Presentation of rudimentary penis inside vulva

Hirurški zahvat / Surgical procedure

Operativni zahvat je izveden u opštoj injekcionoj anesteziji (slike 3, 4, 5, 6, 7). Postoji više hirurških tehnika koje mogu da se primene u ovakvim slučajevima. Opredelili smo se za vulvoplastiku kao metodu rekonstruktivne hirurgije,

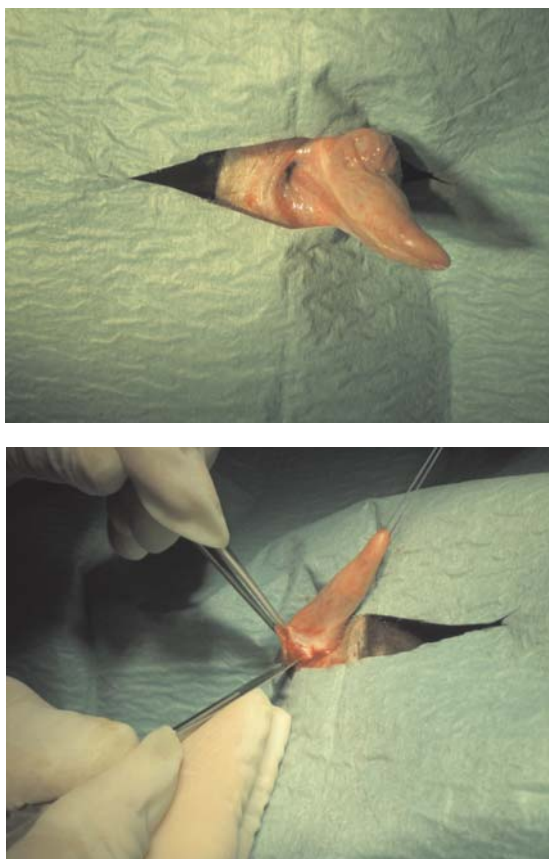


Slika 3. Priprema za operaciju – temeljno čišćenje i dezinfekcija okoline vulve i rudimentiranog penisa

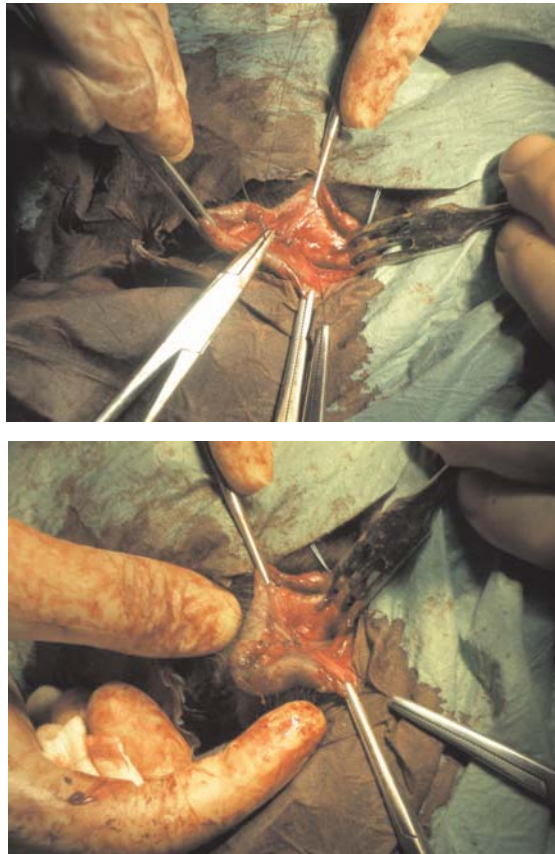
Figure 3. Preoperative treatment of surgical site

koja se često koristi u cilju uklanjanja viška prolabiranog tkiva iz vagine. Ova hirurška tehnika je najsigurnija metoda u rešavanju pseudohermafroditizma (Bojrab, 1998).

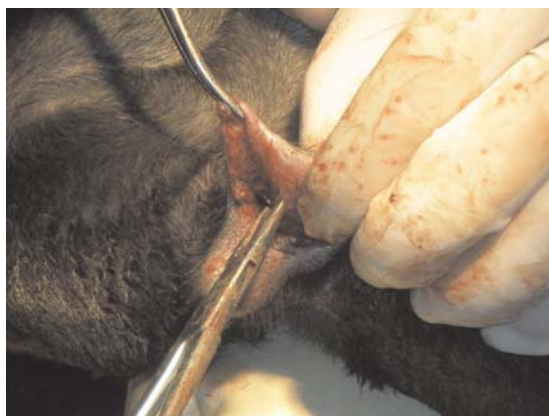
Postupak: Kuja je postavljena u kostoabdominalni položaj, posle čega je preduzeto temeljno čišćenje okoline vulve i dezinfekcija vaginalne sluzokože i strukture koju treba ukloniti. U mokraćnu bešiku je potom plasiran urinarni kateter i izvršena eliminacija urina. Blagim izvrtanjem labija vulve u stranu omogućena je dobra pozicija za postavljanje inicijalnih rezova oko prolabirang penisa. Prolabirano tkivo je fiksirano hvatalicama po Peanu, posle čega je jednim dubljim kružnim rezom odvojeno od površinskih slojeva zida vagine. Okolni manji krvni sudovi su tokom operativnog zahvata komprimirani postavljanjem hemostatskih peana i kasnije ligirani.



Slika 4. Fiksiranje prolabiranog tkiva i postavljanje inicijalnog reza /
Figure 4. Fixation of prolapsed tissue and positioning of initial cut



Slika 5. Ligiranje krvnih sudova i rekonstrukcija sluzokože vagine nakon resekcije penisa /
Figure 5. Ligation of blood vessels and reconstruction of vaginal mucosa after removal of rudimented penis





Slika 6. *Rekonstruktivna hirurgija vulve posle otklanjanja rudimentarnog penisa /*
Figure 6. Surgical reconstruction of vulva after removal of rudimented penis



Slika 7. *Izgled rudimentarnog penisa nakon odvajanja od zida vagine i koštana osnova*
(os penis) nakon preparisanja /
Figure 7. Rudimented penis and penile bone after extirpation and preparation

Defekt zida vagine, nastao uklanjanjem izrasline, rekonstruisan je upotrebom odgovarajućih resorptivnih materijala za šivenje i postavljanjem odgovarajućih šavova.

U postoperativnom periodu životinja je nekoliko dana tretirana antibioticima i analgeticima, uz odgovarajući tretman rane i održavanje higijene okoline rane i cele regije. Vlasniku je naloženo da korišćenjem viktorijanske kragne zaštiti okolinu rane i same šavove od moguće infekcije i iritacije.

Kuja se uspešno oporavila, pri čemu je nakon operacije registrovana pojava redovnih estralnih ciklusa bez tegoba uočenih pre operacije.

Zaključak / Conclusion

Pseudohermafroditizam je opisan kod pasa oba pola, kao anomalija uslovljena poremećajem diferencijacije pola za vreme embrionalnog razvoja ploda. Kako su primarni polni organi normalno razvijeni, defekt spoljašnjih genitalija se hirurški može korigovati. Sama hirurška korekcija pseudohermafroditizma kod pasa je jednostavna i prognostički povoljna.

Literatura / References

1. Bojrab MJ Current Techniques in Small Animal Surgery, Williams & Wilkins, Baltimore, 1998.
2. Hare WC. Intersexuality in the dog. Can Vet J 1976; 17(1): 7-15.
3. Holt PE, Long SE, Gibbs C. J Small Anim Practice 1983; 24(8) 475-87.
4. Slatter D. Textbook of Small Animal Surgery, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2003.

ENGLISH

CORRECTIVE SURGERY OF EXTERNAL SEXUAL ORGANS IN FEMALE PSEUDO HERMAPHRODITE DOG

B. Prokić, D. Milijević, Verica Mrvić, B.B. Prokić

Hermaphroditism is a congenital anomaly characterized by the presentation of sexual characteristics of both sexes in one individual. Hermaphrodites can occur in every mammal species. Real and pseudo hermaphrodites can be distinguished. Both ovaries and testes (ovotestes) are presented in real hermaphrodites, while the conformation of the individual does not correspond to any sex in particular. Pseudo hermaphrodites are more frequent. Male pseudo hermaphrodites have testes and female external genital characteristics, while female pseudo hermaphrodites have ovaries and rudimentary external genitals reassembling to masculine ones. Corrective surgical removal of a rudimental penis in a female pseudo hermaphrodite dog is presented in the paper.

Key words: dog, pseudo hermaphrodite, surgery

**ХИРУРГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ СУКИ
С ПСЕВДОГЕРМАФРОДИТИЗМОМ**

Б. Прокич, Д. Милиевич, Верица Мрвич, Б.Б. Прокич

Гермафродитизм - аномалия, характеризующаяся присутствием характеристик обоих полов у одного единичного животного. Может быть настоящим и ложным. Настоящие гермафродиты имеют яичники и семенники, которые обычно не в корреляции с второстепенными половыми характеристиками и внешним видом животного. Ложный гермафродитизм (псевдогермафродитизм) более частое явление и он может быть мужской – когда единичное животное имеет семенники плюс внешние гениталии, похожие на женские, или женский - когда единичное животное имеет яичники и рудиментированные внешние гениталии, напоминающие те у самца. Гермафродитизм относительно частое явление у различных видов животных. Мы описали случай псевдогермафродитизма у одной суки, приведённая на хирургическую коррекцию - удаление рудиментированного мужского полового органа.

Ключевые слова: собака, псевдогермафродитизм, хирургическая коррекция

**FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE
U BEOGRADU 2011. GODINA**

Pauković S. Dragiša

Rođen 05. 08. 1978. u Gradišci,
Republika Srpska, BiH
Diplomirao 17. 10. 2011.
Stalno mesto boravka Nova Topola
Nova Topola bb, R Srpska, BiH

Božić M. Ilija

Rođen 19. 05. 1985. u Užicu
Diplomirao 06. 10. 2011.
Stalno mesto boravka Pilatovići,
Požega

Zajić T. Milan

Rođen 15. 07. 1981. u Aleksandrovcu
Diplomirao 26. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Aleksandrovac
Nikole Tesle 17

Nešković R. Igor

Rođen 10. 01. 1976. u Smed. Palanci
Diplomirao 19. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Smed. Palanka
Cеровac bb

Levajac A. Nevena

Rođena 14. 09. 1982. u Kraljevu
Diplomirala 19. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Zemun
Sremskih boraca 77/2

Zrile M. Dunja

Rođena 31. 07. 1979. u Kninu,
R. Hrvatska
Diplomirala 19. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Marka Čelebonovića 43/27

Topalović I. Dragan

Rođen 01. 09. 1981. u Srem. Mitrovici
Diplomirao 20. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Mačvanska
Mitrovica, Žarka Vučinića 28

Petrović D. Milan

Rođen 27. 07. 1983. u Nišu
Diplomirao 19. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Niš
Timočka 16

Vasić S. Marko

Rođen 29. 02. 1984. u Kruševcu
Diplomirao 19. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Prote Mateje 38

Glavčić L. Marko

Rođen 24. 06. 1980. u Kraljevu
Diplomirao 12. 09. 2011.
Stalno mesto boravka Kraljevo
Jovačka 7

Ćoso A. Denis

Rođen 22. 11. 1986. u Zadru
R. Hrvatska
Diplomirao 20. 07. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Bul. oslobođenja 19b

Zelenović M. Mladen

Rođen 14. 06. 1987. u Bijeljini
R. Srpska, BiH
Diplomirao 19. 07. 2011.
Stalno mesto boravka Bijeljina
Pučke bb

Čakalo V. Zoran

Rođen 14. 02. 1985. u Sisku
R. Hrvatska
Diplomirao 15. 07. 2011.
Stalno mesto boravka Šimanovci
Nikole Tesle 20

Radojičić M. Svetlana

Rođena 14. 10. 1985. u Ivanjici
Diplomirala 18. 07. 2011.
Stalno mesto boravka Ivanjica
Selo Opoljenik bb

Aničić R. Milan

Rođen 16. 12. 1985. u Novoj Varoši
Diplomirao 13. 07. 2011.
Stalno mesto boravka Nova Varoš
Svetog Save 128/12

Stojanović S. Vanja

Rođen 17. 09. 1985. u Beogradu
Diplomirao 30. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Zemun
Soko Salaš 4

Stanišić D. Ljubodrag

Rođen 29. 10. 1986. u Beogradu
Diplomirao 30. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Kralja Milutina 7b/21

Trifunović Lj. Aco

Rođen 10. 04. 1980. u Zubinom
Potoku
Diplomirao 29. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Zubin Potok
Arsenija Čarnojevića 18

Tomić S. Zoran

Rođen 23. 11. 1980. u Odžacima
Diplomirao 29. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Bački Gračac
VI Ličke divizije 45

Ivanović D. Ivana

Rođena 27. 02. 1978. u Beogradu
Diplomirala 30. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Husinjskih rudara 43

Stefanović Z. Josip

Rođen 24. 04. 1981. u Beogradu
Diplomirao 28. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Nova Pazova
Njegoševa 133

Vasiljević R. Maja

Rođena 07. 07. 1983. u Šapcu
Diplomirala 23. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Skadarska 51

Planinac D. Dubravka

Rođena 01. 04. 1981. u Sarajevu, BiH
Diplomirala 28. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Braće Limijer 6

Blagojević M. Pavle

Rođen 18. 06. 1984. u Smed. Palanci
Diplomirao 22. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Novo Selo
Kralja Petra I 111

Tutuš M. Branislav

Rođen 13. 10. 1977. u Zemunu
Diplomirao 28. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Batajnica
Kralja Radoslava 36

Majstorović V. Dalibor

Rođen 15. 11. 1981. u Velikoj Kladuši
BiH
Diplomirao 28. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Vrčin, Takovska 10/5

Marković D. Ivan

Rođen 26. 07. 1983. u Čupriji
Diplomirao 24. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Vitoševac
Selo Pardik, Palilula bb

Živković S. Vladimir

Rođen 07. 05. 1982. u Šapcu
Diplomirao 17. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Debrč
Šabački put bb

Stanković M. Igor

Rođen 17. 08. 1983. u Leskovcu
Diplomirao 23. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Vlasotince
Proleterska 22

Jovičević M. Nenad

Rođen 31. 12. 1983. u Užicu
Diplomirao 24. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Požega
Knjaza Miloša 13c

Lalović D. Nikola

Rođen 31. 12. 1981. u Beogradu
Diplomirao 23. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Trstenik
Obrena Antića 12/1

Trajković Lj. Batica

Rođen 12. 09. 1982. u Leskovcu
Diplomirao 22. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Leskovac
Selo Guberevac

Radosavljević M. Milan

Rođen 05. 01. 1984. u Nišu
Diplomirao 21. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Niš
Hadži Prodanova 46

Vukojević M. Marija

Rođena 18. 11. 1976. u Kruševcu
Diplomirala 20. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Kruševac
Miloja Zakića 11a

Vidaković D. Ivan

Rođen 26. 01. 1982. u Sarajevu, BiH
Diplomirao 07. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Priboj
IV Sandžačke 100

Vasić V. Dušan

Rođen 02. 05. 1981. u Beogradu
Diplomirao 10. 06. 2011.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Vuka Karadžića 66

Ilić M. Aleksandra

Rođena 09. 06. 1981. u Zemunu
Diplomirala 25. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Zemun
13. maj 6

Milinković T. Veljko

Rođen 03. 12. 1980. u Užicu
Diplomirao 26. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Zlatibor
Rujno 115

Ignjatović D. Slađana

Rođena 14. 12. 1980. u Loznici
Diplomirala 25. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Juhorska 2a/73

Rilok A. Radivoje

Rođen 28. 09. 1982. u Kruševcu
Diplomirao 26. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Brus
Selo Ribare

Marković M. Miloš

Rođen 09. 11. 1983. u Nišu
Diplomirao 24. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Niš
Žikice Španca 65

Lakobrija P. Gordana

Rođena 18. 03. 1970. u Vukovaru,
R. Hrvatska
Diplomirala 25. 05. 2011.

Petković Lj. Goran

Rođen 26. 01. 1975. u Šapcu
Diplomirao 23. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Kraljice Marije 7

Ranković B. Vladan

Rođen 27. 12. 1983. u Valjevu
Diplomirao 24. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Đorđa Kratovca 6/2

Milenković Z. Jelena

Rođena 18. 05. 1979. u Prokuplju
Diplomirala 23. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Novi Sad
Bulevar Kneza Miloša 4/1

Prokić D. Nataša

Rođena 28. 02. 1985. u Smed. Palanci
Diplomirala 19. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Smed. Palanka
Selo Grčac

Marinković L. Kamenko

Rođen 25. 01. 1984. u Pančevu
Diplomirao 16. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Pančevo
Karađorđeva 46

Besermenji V. Aleksandar

Rođen 16. 09. 1983. u Bačkoj Topoli
Diplomirao 09. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Novo Orahovo
Edvarda Kardelja 14

Mojić D. Dejan

Rođen 13. 06. 1981. u Valjevu
Diplomirao 11. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Valjevo
Sedlari bb

Mihajlov S. Branislav

Rođen 23. 08. 1984. u Pančevu
Diplomirao 09. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Opovo
Borisa Kidriča 69

Krainović V. Dragana

Rođena 27. 10. 1983. u Prokuplju
Diplomirala 14. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Jagodina
Dragocvet

Vojvodić D. Bojan

Rođen 02. 01. 1983. u Banja Luci
R. Srpska, BiH
Diplomirao 21. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Prnjavor
R. Srpska, BiH
Jovana Jovanovića Zmaja 23

Anđelković B. Aleksandar

Rođen 13. 08. 1982. u Vranju
Diplomirao 20. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Bujanovac
Slobodana Penezića 20

Nikić B. Ivana

Rođena 07. 08. 1982. u Beogradu
Diplomirala 04. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Braće Jerković 141/6

Mićić Đ. Željko

Rođen 21. 10. 1985. u Pančevu
Diplomirao 06. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Pančevo
Stevana Šupljikca 157/5

Aksić V. Mladen

Rođen 13. 07. 1981. u Zaječaru
Diplomirao 04. 05. 2011.
Stalno mesto boravka Zaječar
Knjaževačka 48

Atanacković S. Ljubiša

Rođen 12. 09. 1980. u Smed. Palanci
Diplomirao 05. 04. 2011.
Stalno mesto boravka Smed. Palanka
Cеровac

Perić Lj. Ivan

Rođen 18. 07. 1978. u Požarevcu
Diplomirao 28. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Požarevac
Triše Kaclerovića 1/3

Janićijević R. Svetomir

Rođen 27. 12. 1977. u Senti
Diplomirao 28. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Barajevo, Svetosavska 49/6

Dražić S. Boris

Rođen 18. 10. 1979. u Šapcu
Diplomirao 23. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Šabac
A. Jovanović 1/6

Novaković V. Radovan

Rođen 06. 07. 1981. u Ivanjici
Diplomirao 28. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Prilički
Kiseljak, Dubrava bb

Ašković S. Aleksandar

Rođen 28. 10. 1975. u Valjevu
Diplomirao 28. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Banjani

Janićijević R. Dragan

Rođen 07. 11. 1981. u Loznici
Diplomirao 23. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Barajevo
Svetosavska 49/6

Jevtić M. Darko

Rođen 02. 08. 1982. u Sarajevu, BiH
Diplomirao 25. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Nikole Marakovića 2/27

Radivojević D. Miloš

Rođen 13. 07. 1984. u Beogradu
Diplomirao 21. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Beograd
Petra Konjovića 12d/32

Radenković R. Draga

Rođena 01. 09. 1984. u Kraljevu
Diplomirala 11. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Kraljevo
Jug Bogdana 18/2

Marinković M. Miloš

Rođen 06. 12. 1986. u Leskovcu
Diplomirao 14. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Leskovac
Božidara Veličkovića 31

Anđelković B. Dragan

Rođen 09. 09. 1985. u Beogradu
Diplomirao 09. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Jagnjilovo
Mladenovac, 291A

Simić G. Lazar

Rođen 28. 12. 1980. u Beogradu
Diplomirao 17. 02. 2011.

Stalno mesto boravka Beograd
Njegoševa 56

Kovačević R. Nenad

Rođen 24. 01. 1983. u Valjevu
Diplomirao 07. 03. 2011.
Stalno mesto boravka Ub
Pambukovica

Bogdanović B. Miljan

Rođen 11. 12. 1980. u Čačku
Diplomirao 10. 02. 2011.
Stalno mesto boravka Mrčajevci
Donja Gorevnica

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 poledini 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 apstrakt 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 veterinaru 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