

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 66

BROJ 5 - 6

STRANA 343 - 476

Beograd 2012.

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. 66 Br. 5-6 Str. 343-476 Beograd, 2012.



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 Ćupić*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD: *Vojin Ivetić, Milovan Jovićin, 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: *Sandra Dilkić*

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. 66 Br. 5 - 6 str. 343 - 476 Beograd, 2012.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Đekić Vera, Mitrović S., Obradović S., Vukašinović Marija, Šefer D.: Uticaj različitih sorti tritikalea na proizvodne osobine brojlerskih pilića
Effect of Different Varieties of Triticale on Product Characteristics in Broiler Chickens
Влияние различных сортов тритикалеа на производственные свойства бройлерных цыплят 345
- Okanović Đ., Džinić Natalija, Jokanović Marija, Tomović V., Filipović S.: Uticaj upotrebe ekstrudiranog kukuruza u hrani za brojlere na prinos i kvalitet mesa
Effect of Use of Extruded Corn in Broiler Feed on Yield and Meat Quality
Влияние употребления экструдированной кукурузы в корме для бройлеров на выход и качество мяса 355
- Obradović S., Vukašinović Marija, Šefer D., Đekić Vera, Aleksandar I.: Primena biljnog ekstrakta jabuke u ishrani činčila (*Chinchilla lanigera*)
Application of Apple Aromatic Plant Extract in Nutrition of Chinchillas (*Chinchilla lanigera*)
Применение ароматического растительного экстракта яблоки в кормлении шиншиллы (*Chinchilla lanigera*) 367
- Karabasil N., Pavličević Nataša, Galić Nataša, Dimitrijević Mirjana, Lončina Jasna, Ivanović Jelena, Baltić M. Ž.: Nalaz salmonela na trupovima svinja u toku klanja i obrade
Salmonella on Pig Carcasses During Slaughter and Processing
Результаты сальмонелл на туловищах свиней в течение убоя и обработки . . . 377
- Smajlović A., Muminović M., Mujezinović Indira, Čupić V.: Istraživanje degradacije aflatoxina M₁ u mlijeku
Investigation of Aflatoxin M₁ Degradation in Milk
Исследование деградации афлатоксина M₁ в молоке 387
- Bulat Zorica, Đukić-Čosić Danijela, Buha Aleksandra, Čupić V., Pavlović Z., Matović Vesna: Ispitivanje uticaja magnezijuma, cinka i bakra na izlučivanje kadmijuma kod kunića
Investigations of Effects of Magnesium, Zinc and Copper on Cadmium Excretion in Rabbits
Испытание влияния магния, цинка и меди на выделение кадмия у кроликов . . . 395

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРНЫЕ РАБОТЫ

- Vučinić Marijana, Nedeljković-Trailović Jelena, Trailović S., Ivanović S., Milovanović Mirjana, Krnjić D.: Mogućnost primene etarskih ulja u veterinarskoj medicini i stočarstvu s posebnim osvrtom na etarsko ulje origana
Possibility for Use Essential Oils in Veterinary Medicine and Animal Husbandry with Special Emphasis on Oregano Oil
Возможность применения эфирных масел в ветеринарной медицине и животноводстве с отдельным взглядом назад на эфирное масло орегана

407
- Boboš S., Rašić Z., Radinović M., Mašić Z., Pajić Marija, Galfi Annamaria, Bošković Milica: Biosigurnost i mastitisi u intenzivnoj proizvodnji mleka krava
Biosecurity and Mastitis in Intensive Dairy Production
Биобезопасность и маститы в интенсивном производстве молока коров

417
- Jovanović M., Milovanović Mirjana, Krstić V., Ilić Vojislav: Osnovne procedure u dijagnostici malignih oboljenja kod pasa i mačaka
General Procedures in Diagnosis of Malignant Diseases in Dogs and Cats
Основные процедуры в диагностике злокачественных заболеваний у собак и кошек

427
- Jovanović M., Milovanović Mirjana, Ilić V., Krstić V.: Osnovne terapijske procedure u onkologiji pasa i mačaka
Basic Therapeutic Procedures in Oncology of Dogs and Cats
Основные терапевтические процедуры в онкологии собак и кошек

439
- Kureljušić B., Ivetić V., Savić B., Kureljušić Jasna, Jezdimirović N.: Virusni hepatitis E – oboljenje ljudi i životinja
Viral Hepatitis E – A Disease of Humans and Animals
Вирусный гепатит E - заболевание людей и животных

449

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REPORT – ПОКАЗ СЛУЧАЯ

- Marić J, Obrenović Jelena, Milković M., Samokovlija Ana, Elezović Milica, Ljubić B., Stevanović G., Đuričić Đ., Đuričić Bosiljka: Tularemija u Republici Srbiji u periodu 2000–2011. godine
Tularemia in the Republic of Serbia During the Period from 2000 – 2011
Туларемия в Республике Сербии в периоде от 2000-2001 года

463

UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS. 473

UTICAJ RAZLIČITIH SORTI TRITIKALEA NA PROIZVODNE OSOBINE BROJLERSKIH PILIĆA*

EFFECT OF DIFFERENT VARIETIES OF TRITICALE ON PRODUCT CHARACTERISTICS IN BROILER CHICKENS

Vera Đekić, S. Mitrović, S. Obradović, Marija Vukašinović, D. Šefer**

Cilj ovog rada je bio da se utvrdi kako tritikale u smešama za tov brojlera utiče na telesnu masu i prirast brojlerskih pilića u tovu. Istraživanje je obavljeno na 400 pilića za tov provenijencije Ross 308 za 42 dana. Tom prilikom formirane su četiri grupe pilića, sa po 100 pilića u svakoj grupi hranjene različitim smešama: K (standardna smeša za tov brojlera) i O-I (smeša sa sortom tritikalea Kg 20), O-II (smeša sa sortom tritikalea Favorit) i O-III grupa (smeša sa sortom tritikalea Trijumf).

Najveću prosečnu telesnu masu kod ispitivanih grupa pilića (muških, ženskih i pilića oba pola), postigli su brojlerski pilići O-II grupe. Najmanji utrošak hrane 42. dana starosti ostvarili su pilići O-I (4,275 kg), a najveći O-II grupe (4,359 kg). Kod pilića O-II- i O-III grupe konverzija hrane bila je najpovoljnija, dok je kod pilića O-I grupe bila nešto lošija konverzija hrane. Mortalitet ispitivanih grupa pilića za ceo period ispitivanja bio je najmanji kod O-II grupe i iznosio je 2,0%, a najveće uginuće ustanovljeno je kod O-III grupe (6,0%). Proizvodni indeks bio je najveći kod O-II grupe (202,726), a najmanji kod O-I grupe (180,044).

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju, ukazuju na to da upotreba ispitivanih sorti tritikalea značajno utiče na prirast i telesnu masu pilića i ima nutritivno i ekonomsko opravdanje.

Ključne reči: prirast, tov brojlerskih pilića, tritikale

Uvod / Introduction

Tritikale predstavlja novu veoma uspešnu vrstu strnih žita koja u prethodnim decenijama sve više zavređuje pažnju i postaje zastupljenija i značajnija

* Rad primljen za štampu 16. 03. 2012. godine

** Dr Vera Đekić, istraživač-saradnik, Centar za strna žita, Kragujevac; dr Sreten Mitrović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Beograd; dr Saša Obradović, docent, Fakultet za ekonomiju i inženjerski menadžment, Novi Sad; dr Marija Vukašinović, naučni saradnik, Veterinarski specijalistički institut, Kraljevo; dr Dragan Šefer, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

na tržištu. Zahvaljujući intenzivnom programu oplemenjivanja u Centru za strna žita u Kragujevcu, na sortnim listama nalaze se nove domaće komercijalne sorte koje su po prinosu zrna uglavnom dostigle vodeće sorte pšenice, dok su nadmašile sorte raži, ječma i ovsa (Milovanovic i Perisic, 2002). Kao vrsta, ispoljio je visoku adaptabilnost u našim agroekološkim uslovima, što je uslovilo dobijanje stabilnih prinosa. Pokazao je visoku tolerantnost prema kiselim zemljištima, kao i dobre proizvodne rezultate na peskovitim zemljištima.

Tritikale se najviše primenjuje kao stočna hrana. Brojna istraživanja ukazuju na to da tritikale uspešno zamenjuje deo kukuruza, pšenice ili ječma u stočnoj hrani bez negativnih posledica na učinak domaćih životinja (Đekić i sar., 2011). Tritikale je prikladno hranivo za sve vrste životinja, jer predstavlja visok izvor energije. Zbog povoljnog enzimskog sastava, zrno tritikalea povoljno utiče na crevni trakt kod monogastričnih životinja (Korver i sar., 2004). Tritikale se danas najviše primenjuje kao zrnasto hranivo u ishrani monogastričnih životinja.

Cilj ovih istraživanja je bio da dobijenim rezultatima odgovorimo na pitanje da li različiti genotipovi tritikalea u ishrani pilića za tov imaju različit uticaj sa stanovišta prirasta i telesne mase.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Kao ogledni materijal korišćeni su brojerski pilići provenijencije Ross 308. Na početku ogleda naseljeno je 400 oglednih brojerskih pilića od kojih su formirane četiri eksperimentalne grupe, sa po 100 brojerskih pilića u grupi. Ispitivane grupe pilića bile su raspoređene u 4 boksa, fizički razdvojena zbog različitih tretmana ishrane.

Seme kragujevačkih sorti tritikalea Kg 20, Favorit i Trijumf, proizvedeno na proizvodnoj parceli Centra za strna žita u Kragujevcu, korišćeno je za setvu u cilju dobijanja zrna za spravljanje smeša za ishranu.

Brojerski pilići kontrolne grupe hranjeni su standardnom smešom za tov brojera, a ogledne grupe smešom sa tritikaleom, i to: O-I (smeša sa sortom tritikalea Kg 20), O-II (smeša sa sortom tritikalea Favorit) i O-III grupa (smeša sa sortom tritikalea Trijumf). Za ishranu pilića korišćene su četiri odgovarajuće kompletne smeše: starter sa 7,5 kg tritikalea na 100 kg smeše, grover I sa 12 kg tritikalea, grover II sa 15 kg tritikalea i završna finiše sa 18 kg tritikalea do kraja tova.

Tokom ogleda svakodnevno je merena količina potpunih smeša datih pojedinim grupama. Na kraju ogleda u celini, na osnovu sabiranja dnevnih količina, utvrđen je ukupan utrošak hrane.

U tabeli 1. je prikazan hemijski sastav smeša korišćenih za ishranu pilića u ogledu. Upotrebljena hrana je hemijski analizirana primenom standardnih metoda ispitivanja (AOAC, 1990), s tim što je sadržaj energije i usvojivog fosfora dobijen računskim putem.

Tabela 1. Hemijski sastav smeša korišćenih za ishranu pilića u ogledu /
Table 1. Chemical composition of mixes used for diet of experimental chickens

Hemijski sastav / <i>Chemical composition</i>	u % smeše / in % mix															
	1-21. dana / Days 1-21				21-28. dana / Days 21-28				28-35. dana / Days 28-35				35-42. dana / Days 35-42			
	K	O-I	O-II	O-III	K	O-I	O-II	O-III	K	O-I	O-II	O-III	K	O-I	O-II	O-III
Grupe / Groups																
Sir. ptoteini / <i>Crude proteins</i>	22,37	22,38	22,40	22,40	20,17	20,20	20,25	20,27	19,70	19,64	19,76	19,82	18,42	18,44	18,50	18,49
Mast / <i>Fat</i>	6,36	6,37	6,38	6,38	9,51	9,67	9,46	9,54	9,90	9,78	9,72	9,79	8,47	8,68	8,46	8,54
Sir. vlakna / <i>Crude fibers</i>	3,17	3,17	3,18	3,18	3,43	3,42	3,43	3,43	3,58	3,57	3,58	3,58	3,23	3,18	3,31	3,27
Pepeo / <i>Ash</i>	6,88	6,79	6,49	6,40	5,89	6,18	5,72	5,87	5,99	6,05	5,84	5,95	5,64	5,98	5,52	5,65
N (ekstrah.) / <i>N (extract.)</i>	45,61	45,81	46,62	46,26	46,78	46,25	46,47	46,43	46,40	46,50	46,44	46,22	48,79	49,07	49,36	49,22
Met. ener., MJ/kg / <i>Met. ener., Mj/kg</i>	12,59	12,63	12,63	12,68	13,39	13,39	13,39	13,39	12,86	12,85	12,87	12,87	13,39	13,39	13,40	13,40
Ca, % / <i>Ca, %</i>	1,29	1,20	1,23	1,16	0,79	0,77	0,85	0,85	0,79	0,77	0,85	0,85	0,88	0,89	0,90	0,90
P (usv.), % / <i>P (accept.), %</i>	0,53	0,47	0,37	0,34	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,64	0,64	0,66	0,66
Na / <i>Na</i>	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Lizin/ <i>Lysine</i>	1,23	1,24	1,25	1,25	1,12	1,16	1,18	1,18	1,10	1,13	1,15	1,15	1,01	1,01	1,04	1,03
Metionin / <i>Methionine</i>	0,57	0,57	0,58	0,58	0,54	0,55	0,55	0,55	0,53	0,54	0,55	0,55	0,46	0,46	0,49	0,49
Metionin + cistin / <i>Methionine + cystine</i>	0,91	0,92	0,92	0,92	0,90	0,92	0,92	0,92	0,81	0,87	0,88	0,89	0,80	0,80	0,82	0,82

Na osnovu tabele se vidi da je hemijski sastav potpunih smeša bio takav da zadovoljava potrebe i odgovara zahtevima koji su postavljeni prilikom osmišljavanja oglada.

Kontrolna merenja pilića obavljena su na početku oglada, a zatim svakih 7 dana u toku oglada i na kraju tova. Na osnovu ovih merenja izračunat je osnovni prirast. U cilju utvrđivanja proizvodnih osobina brojlera, hranjenih ispitivanim smešama, iz svake ispitivane grupe je žrtvovano po 6 jedinki relativno ujednačene telesne mase oba pola odabranih metodom slučajnog uzorka.

Statistička značajnost je određena analizom varijanse, F-testom kao grupnim testom i Lsd-testom za pojedinačna poređenja (za nivo razlika 5% i 1%) u oba testa.

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Po završetku tova 42. dana, na liniji klanja metodom slučajnog uzorka odabrano je po 12 pilića iz svake ispitivane grupe (polovina ženskog, a polovina muškog pola) (tabela 2).

Tabela 2. Masa ispitivanih grupa pilića pre klanja 42. dana tova, g /
Table 2. Mass of examined groups of chickens before slaughter on day 42 of fattening, g

Grupa / Group	Pol / Sex	n	$\bar{x}$	Varijacije / Variations		S	S_x^-	C.V.
				min	max			
K	M / <i>M</i>	6	2120,83	2020,00	2180,00	57,829	23,608	2,727
	Ž / <i>F</i>	6	1792,50	1640,00	1880,00	104,678	42,735	5,840
	Prosek / <i>Average</i>	12	1956,67	1640,00	2180,00	189,477	54,697	9,684
O-I	M / <i>M</i>	6	2103,33	1940,00	2400,00	167,531	68,394	7,965
	Ž / <i>F</i>	6	1775,83	1730,00	1840,00	39,677	16,196	2,234
	Prosek / <i>Average</i>	12	1939,58	1730,00	2400,00	202,156	41,265	10,423
O-II	M / <i>M</i>	6	2250,83	2165,00	2390,00	80,213	32,747	3,564
	Ž / <i>F</i>	6	1861,67	1820,00	1945,00	49,464	20,193	2,657
	Prosek / <i>Average</i>	12	2056,25	1820,00	2390,00	212,935	61,469	10,355
O-III	M / <i>M</i>	6	2158,33	2030,00	2230,00	76,529	31,243	3,546
	Ž / <i>F</i>	6	1828,33	1760,00	1865,00	45,898	18,738	2,510
	Prosek / <i>Average</i>	12	1993,33	1760,00	2230,00	182,537	52,694	9,157

Telesna masa muških pilića pre klanja 42. dana tova bila je najveća kod petlića O-II grupe (2250,833 g), a najmanja kod O-I grupe (2103,33 g). Najveću prosečnu telesnu masu ostvarili su ženski pilići O-II grupe (1861,67 g), dok su najmanju masu imali pilići O-I grupe (1775,83 g). Prosečne vrednosti muških i ženskih pilića na kraju oglada bile su najveće kod pilića O-II grupe (2056,25 g), a najmanje kod pilića O-I grupe (1939,58 g) i K-grupe (1956,67 g).

Završne prosečne telesne mase muških i ženskih pilića, nešto su niže od rezultata koje su ustanovili Barneveld i Cooper, (2002), a više od rezultata do kojih su došli De Brum i sar. (2000) i Barnett i sar. (2002).

Tabela 3. Analiza varijanse grupnih razlika pokazatelja proizvodnih osobina muških pilića, ženskih pilića i pilića oba pola za ispitivane grupe brojlera /
Table 3. Analysis of variant group differences of production characteristic factors for male chicks, female chicks, and chicks of both sexes for the examined groups of broilers

Izvori variranja / Sources of variance	D.f.	Masa pre klanja 42. dana tova / Mass before slaughter on day 42 of fattening
Muški pilići / Male chicks	5	0,726
Grupe / Groups	3	1,901
Greška / Error	15	0,014
Ženski pilići / Female chicks	5	0,461
Grupe / Groups	3	1,781
Greška / Error	15	0,005
Pilići oba pola / Chicks of both sexes	11	16,625**
Grupe / Groups	3	4,000*
Greška / Error	33	0,008

Analiza razlika u telesnim masama muških pilića pre klanja, 42. dana tova pokazala je da one nisu bile statistički značajne (tabela 3). Ustanovljene razlike između telesne mase pre klanja, 42. dana tova, kod ženskih pilića između ispitivanih grupa, nisu bile statistički značajne. Razlike prosečnih vrednosti telesnih masa pre klanja, 42. dana tova, kod ispitivanih pilića oba pola između oglednih grupa statistički su bile značajne, dok je između ispitivanih pilića ustanovljena vrlo visoka značajnost (tabela 3).

Tabela 4. Vrednosti prosečnih telesnih masa muških i ženskih pilića 42. dana tova
Table 4. Values for average body mass of male and female chicks on day 42 of fattening

Grupa / Group	$\bar{x}$	K	O-I	O-II	O-III
K	1,957	—	0,017	-0,099**	-0,036
O-I	1,940		—	-0,116**	-0,053
O-II	2,056			—	0,063
O-III	1,993				—
LSD _{0,05} =0,074			LSD _{0,01} =0,099		

Na osnovu podataka iz tabele 4 može se zaključiti da postoje vrlo značajne razlike između prosečnih telesnih masa pilića kontrolne grupe i O-II grupe s jedne strane i pilića O-I i O-II grupe s druge strane. Ovo upućuje na zaključak da je prosečna vrednost telesne mase pilića O-II grupe pre klanja, 42.

dana tova, u 99% slučajeva veća za 0,099 kg od prosečne vrednosti telesne mase pilića K-grupe i za 0,116 kg od pilića O-I grupe.

Ispitujući tritikale kao hranivo u ishrani brojerskih pilića, mnogi autori su došli do saznanja da ne postoje statistički značajne razlike u telesnoj masi oglednih i kontrolnih pilića na kraju oglednog perioda (Zarghi i sar., 2009). Značajne razlike telesne mase između pilića hranjenih standardnom smešom i brojlera hranjenih smešom sa tritikaleom ustanovili su Barnett i sar. (2002) i Santos i sar. (2008).

Prosečne vrednosti utroška, konverzije hrane, mortaliteta i proizvodnog indeksa kod ispitivanih grupa brojerskih pilića prikazane su u tabeli 5.

Tabela 5. Prosečne vrednosti utroška i konverzije hrane, mortaliteta i proizvodnog indeksa brojerskih pilića u toku ispitivanog perioda /

Table 5. Average values for feed intake and feed conversion of broiler chicks during experimental period

Grupe / Groups	Utrošak hrane / Feed intake kg	Konverzija hrane / Feed conversion kg/kg	Mortalitet Mortality %	Proizvodni indeks / Production index
K	4,332	2,284	4,0	189,830
O-I – Kg 20	4,275	2,320	5,0	180,044
O-II – Favorit	4,359	2,240	2,0	202,726
O-III – Trijumf	4,297	2,276	6,0	185,648

Na osnovu podataka iz tabele 5 može se zaključiti da su najmanji utrošak hrane imali pilići O-I grupe (4,275 kg), a najveći pilići grupe O-II (4,359 kg). Neznatno veći utrošak hrane 42. dana uzrasta (4,260 kg do 4,490 kg), ustanovili su Barnett i sar. (2002) i 4,400 kg Santos i sar. (2008), a manji utrošak hrane po piletu od 3,429 kg do 3,724 kg ustanovili su De Brum i sar. (2000).

Promene konverzije hrane u toku ogleda prikazane su u tabeli 5, a na osnovu podataka se uočava da su pilići O-II i O-III grupe imali povoljniju konverziju hrane u odnosu na grupu K. Najslabiji rezultati sa stanovišta konverzije hrane ustanovljeni su za piliće grupe O-I. Dobijeni rezultati u smislu konverzije hrane, odnosno ukupnog utroška hrane za jedan kilogram telesne mase pilića u skladu su sa rezultatima do kojih su došli Barneveld i Cooper (2002), Zarghi i sar. (2009), dok su nešto lošiji od rezultata do kojih su došli De Brum i sar. (2000), Barnett i sar. (2002), Korver i sar. (2004), Jozefiak i sar. (2007).

Mortalitet ispitivanih grupa pilića za ceo period trajanja tova bio je najmanji kod pilića grupe O-II (2,0%), a najveće uginuće evidentirano je kod pilića grupe O-III, 6,0%. Dobijeni rezultati su bolji kod pilića hranjenih tritikaleom od onih koje navode Korver i sar. (2004).

Vrednost proizvodnog indeksa kretala se od 189,830 (grupa K) do 202,726 (grupa O-II). Najveća vrednost ovog pokazatelja bila je kod pilića O-II grupe, što je rezultat većeg procenta vitalnosti i povoljnije konverzije hrane ove varijante.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih proizvodnih osobina ispitivanih grupa pilića u ovim istraživanjima može se zaključiti da je najbolje rezultate postigla druga ogledna grupa pilića O-II. Vrednosti dobijene u ovom ogledu, koje se odnose na telesnu masu i prirast, uklapaju se u opšti zaključak da tritikale dodat u hranu za piliće ne utiče negativno na usvajanje hranljivih sastojaka iz ogledne smeše.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da tritikale vrlo uspešno može zameniti pšenicu i kukuruz u obrocima za ishranu brojlera.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rezultati prikazani u radu su deo istraživanja Projekta br. TR 31033, finansiranog od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, na čemu su autori zahvalni. /

The results presented in this work are part of investigations within Project No. TR 31033, financed by the Ministry for Education and Science of the Republic of Serbia, for which the authors express their gratitude.

Literatura / References

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC, 1990.
2. Barnett RD, Blount AR, Pfahler PL, Johnson JW, Buntin GD, Counter BM. Rye and Triticale Breeding in the South. UF University of Florida, IFAS Extension, 2002; SS-AGR-42: 1-3.
3. Barneveld RJ, Cooper KV. Nutritional quality of triticale for pigs and poultry. Proceedings of the 5th International Triticale Symposium, Poland, 2002; 1: 277-82.
4. De Brum PAR, Zannoto DL, Gvidoni AL, Rosa PS, De Lima GJMM, Viola ES. Triticale in diets for broilers. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2000; 35(2): 229-39.
5. Đekić V, Mitrović S, Milovanović M, Đurić N, Kresović B, Tapanarova A, Đermanović V, Mitrović M. Implementation of triticale in nutrition of non-ruminant animals. Afr J Biotechnol, 2011; 10(30): 5697-704.
6. Jozefiak D, Rutkowski A, Jensen BB, Enberg RM. Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. Anim Feed Sci Technol, 2007; 132(1-2): 79-93.
7. Korver DR, Zuidhof MJ, Lawes KR. Performance Characteristics and Economic Comparison of Broiler Chickens Fed Wheat and Triticale-Based Diets. Poult Sci 2004; 83(5): 716-25.
8. Milovanović SM, Perišić DV. Results and future prospects for winter triticale breeding in Yugoslavia. Proceedings of the 5th International Triticale Symposium, Poland, 2002; 1: 229-36.
9. Santos FBO, Sheldon BW, Santos Jr AA, Ferket PR. Influence of Housing System, Grain Type, and Particle Size on *Salmonella* Colonization and Shedding of Broilers Fed Triticale or Corn-Soybean Meal Diets. Poult Sci 2008; 87: 405-20.
10. Zarghi H, Golian A. Effect of Triticale Replacement and Enzyme Supplementation on Performance and Blood Chemistry of Broiler Chickens. J Anim Vet Adv 2009; 8(7): 1316-21.

ENGLISH

EFFECT OF DIFFERENT VARIETIES OF TRITICALE ON PRODUCT CHARACTERISTICS IN BROILER CHICKENS

Vera Đekić, Sreten Mitrović, Vera Radović, Saša Obradović, Marija Vukašinović

The aim of this paper was to determine how forage triticale in diets for fattening broilers influence the body weight and weight gain of broiler chickens for fattening. The survey was conducted on 400 chickens for fattening provenance Ross 308 for a period of 42 days. On this occasion, four groups of chickens were formed, with 100 chickens being treated in each group, as follows: K (classic mixture for fattening broilers) and O-I (mixtures with triticale variety Kg 20), O-II (mixtures with triticale Favorit) and O-III group (mixtures with triticale Trijumf).

The highest average body mass in the groups of chickens (male, female and chicks of both sexes), was scored by broiler chickens of O-II-group. The minimum food consumption for 42-day-old chicks was achieved by group O-I (4.275 kg), and the most by O-II group (4.359 kg). Chickens of O-II- and III-O-group had the best feed conversion, while the chickens of O-I-group had a slightly poorer feed conversion. The mortality of the groups of chickens for the entire period of the study was the lowest in O-II-group, at 2.0%, and the highest mortality was found in O-III-group (6.0%). The production index was the highest in O-II-group (202.726) and the lowest in O-I-group.

The results achieved in this research indicate that the use of tested triticale cultivars significantly affected the weight gain and body mass of chicks and have nutritional and economic justification.

Key words: weight gain, feeding chickens, triticale

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ТРИТИКАЛЕА НА ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА БРОЙЛЕРНЫХ ЦЫПЛЯТ

Вера Джекич, С. Митрович, С. Обрадович, Мария Вукашинович, Д. Шефер

Цель этой работы была утвердить как тритикале в кормовых смесях для откорма бройлеров, влияет на массу тела и прирост бройлерных цыплят в откорме. Исследование совершено на 400 цыплят для откорма *provenijence* Ross 308 в продолжительности от 42 дня. В этом случае формированы четыре группы цыплят, то есть лечения, с по 100 цыплят в каждой группе, а именно: К (классическая смесь для откорма бройлеров) и О-I (смесь с сортом тритикалеа Кг 20), О-II (смесь с сортом тритикалеа фаворит) и О-III группа (смесь с сортом тритикалеа Тијумф).

Наиболее большую среднюю массу тела у испытанных групп цыплят (мужских, женских и цыплят оба пола), достигли бройлерные цыплята О-II-группы. Наиболее маленькая затрата корме 42 дня старости осуществили цплята О-I (4,275 кг), а наиболее большая О-II группы (4,359 кг). Цыплята О-II- и О-III группы имели наиболее благоприятную конверсию корма, пока цыплята О-I- группы имели наиболее благоприятную конверсию корма, пока цыплята О-I- группы имели нем-

ного более плохую конверсию корма. Смертность испытанных групп цыплят за целый период испытания была самая маленькая у 0-II-группы и составляла (в сумме) 2,0%, а наиболее большое околение установлено у 0-III-группы (6,0%). Производственный индекс был самый большой у 0-II-группы (202,726), а самый маленький у 0-I-группы.

Результаты, осуществленные в этих исследованиях, указывают, что употребление испытанных сортов тритикалеа значительно влияло на прирост и массу тела цыплят и что имеет питательное и экономическое оправдание.

Ключевые слова: прирост, откорм бройлерных цыплят, тритикале

**UTICAJ UPOTREBE EKSTRUDIRANOG KUKURUZA U
HRANI ZA BROJLERE NA PRINOS I KVALITET MESA***
*EFFECT OF USE OF EXTRUDED CORN IN BROILER FEED ON
YIELD AND MEAT QUALITY*

Đ. Okanović, Natalija Džinić, Marija Jakanović, V. Tomović, S. Filipović**

Cilj ovih istraživanja je bio da se ispita efikasnost upotrebe ekstrudirane hrane u ishrani tovnih pilića. Postupak ekstrudiranja kukuruza prouzrokuje značajne fizičko-hemijske promene u strukturi zrna, čime se povećava hranljiva vrednost jer hranljive materije zrna postaju pristupačnije enzimima digestivnog trakta životinje. Ovim postupkom povećavaju se higijenska ispravnost i senzorna svojstva (povećava se „slast“) hrane.

Istraživanje je sprovedeno na 3000 pilića hibrida Ross 308, podeljenih u oglednu i kontrolnu grupu. Tov je trajao 49 dana. Sastav smeše za tov brojlera je bio isti kod obe grupe, s tim što je u smeši kod ogledne grupe (O) upotrebljen ekstrudirani kukuruz.

Brojleri hranjeni smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (O) rasli su brže, mortalitet je bio manji (20:96) i konverzija hrane bolja (2,04 : 2,13 kg/kg) u odnosu na kontrolnu (K) grupu. Kod brojlera ogledne grupe (O) zabeleženi su i veća masa grudi (696,6 g : 657,6 g) i bataka (569,2 g : 528,2 g), kao i veći udeo mesa u grudima i batak.

Ishrana sa ekstrudiranim kukuruzom uticala je na poboljšanje nutritivnog kvaliteta mesa brojlera (povećanje sadržaja proteina i smanjenje sadržaja slobodne masti u mesu brojlera). U mesu brojlera hranjenih smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (O) utvrđen je veći sadržaj proteina (23,35% : 22,58%) u grudima, odnosno (18,26% : 17,67%) u batak, a manji sadržaj slobodne masti (1,40% : 2,42%) u grudima, odnosno (5,87% : 9,24%) u batak u poređenju sa mesom brojlera kontrolne grupe (K).

Ključne reči: ekstrudiranje, tov brojlera, kvalitet trupa i mesa

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

** Dr Đorđe Okanović, viši naučni saradnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu; Univerzitet u Novom Sadu; dr Natalija Džinić, vanredni profesor, mr Marija Jakanović, asistent, dr Vladimir Tomović, docent, Tehnološki fakultet Univerzitet u Novom Sadu; dr Slavko Filipović, naučni savetnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Univerzitet u Novom Sadu

Uvod / Introduction

Porast proizvodnje mesa, mleka, jaja, pored ostalog, osnova je za poboljšanje strukture ishrane stanovništva visokovrednim animalnim proteinima. Osnovnu orijentaciju predstavljaju tehnološki postupci koji za cilj imaju povećanje nutritivne vrednosti hrane namenjene ishrani ljudi i životinja, kao i valorizacija sporednih proizvoda prehrambene i primarne poljoprivredne proizvodnje. Proizvodnja tovnih pilića predstavlja oblik poljoprivredne proizvodnje koji je po svojoj prirodi najbliži industrijskoj proizvodnji (Tica i sar., 2010).

U domaćoj proizvodnji hrane za životinje kukuruz zauzima vodeće mesto u odnosu na ostale žitarice, zbog visokog sadržaja energije (16,2 MJ/kg), skroba, srazmerno velikog sadržaja ulja i niskog nivoa celuloze, a pored najbolje svarljivosti ima i najbolji ukus. Žitarice koje se koriste kao sirovine u proizvodnji hrane za životinje često su uzrok kontaminacije hrane plesnima, (proizvođačima mikotoksina) koje imaju negativan uticaj na rast i razvoj životinja. Upotreba mikrobiološki neispravnog kukuruza u proizvodnji hrane za životinje predstavlja veliku opasnost po zdravlje životinja (Okanović i sar., 2011).

Standardni obroci za tov pilića zasnivaju se, pored kukuruza, na sojinom i suncokretovom sačmi i sojinom grizu. Domaća proizvodnja ovih komponenti je nedovoljna, a upotreba zamena ima za posledicu povećan sadržaj antinutritivnih materija, glukozinolata, eruka kiseline, fitata, tanina, sinapina i nekih drugih nedovoljno ispitanih materija (Lilić i sar., 2010).

Način da se problem antinutritivnih materija reši je da se sirovine toplotno obrađuju. Danas se u svetu koriste mnogi načini za toplotnu obradu zrna uljarica i žitarica: tostiranje, ekstruzija, hidrotermička obrada, mikronizacija, mikrotalasni tretman, dielektrično toplotno tretiranje (Marsman i sar., 1998), ali se u Srbiji najčešće primenjuje proces ekstruzije i hidrotermički proces (Sakač i sar., 2007; Filipović i sar. 2007; Cmiljanić i sar., 2005). Ekstrudiranje se vrši u cilju poboljšanja higijenskih, nutritivnih, fizičko-hemijskih karakteristika i održivosti finalnog proizvoda. Ovim postupkom se povećava svarljivost nekih nutritijenata (proteini, ulje, ugljeni hidrati), povećava se njihova hranljiva vrednost, poboljšavaju senzorna svojstva („slast“ kukuruza), obezbeđuje mikrobiološka ispravnost proizvoda i inaktiviraju eventualno prisutni termolabilni antinutritienti. Proces ekstruzije dovodi do promena na ugljenohidratnom kompleksu kukuruznog stočnog brašna, odnosno do smanjenja sadržaja skroba usled njegove razgradnje do dekstrina. Ovakve promene uslovljavaju povećanje *in vitro* i *in vivo* svarljivosti skroba, s obzirom da želatinizacija skroba obezbeđuje povećanu dostupnost enzimima koji razlažu skrob, a vodi i inaktivaciji inhibitora amilaze (Kormanjoš i sar., 2007; Filipović i sar., 2008).

Toplotnom obradom sirovina sadržaj glukozinolata i eruka kiseline se svode na najmanji mogući nivo, tako da se eliminiše njihov depresivni uticaj u ishrani životinja. Istovremeno sa reduciranjem sadržaja antinutritijenata, neophodno je očuvati nutritivno vredne termolabilne komponente, te proces zahteva

postizanje kompromisa između ova dva nastojanja. Ekstrudiranje je toplotni tretman koji podrazumeva HT/ST princip ekstruzionog kuvanja (high temperature / short time), odnosno proces u kome je materijal izložen delovanju visokih temperatura (ispod 200°C) i viskog pritiska (do 50 bara) kratko vreme (do 2 minuta) (Taylor i sar., 2004; Filipović i sar., 2010).

Kvalitet mesa je veoma kompleksan pojam i rezultat je delovanja brojnih premortalnih i postmortalnih faktora (Ristić i sar., 2005; Džinić i sar., 2006). Smatra se da ishrana kao premortalni faktor dominantno, odnosno sa preko 30%, utiče na kvalitet trupa i mesa (Barbut i sar., 2005; Andersen i sar., 2005; Blagojević i sar., 2009).

S obzirom na značaj sastava hrane postavljen je cilj ovog rada – ispitivanje uticaja ekstrudiranja kukuruza na proizvodne rezultate tova brojlera, kao i na kvalitet trupa i nutritivni kvalitet mesa brojlera hranjenih sa smešom u kojoj je standardni kukuruz zamenjen ekstrudiranim kukuruzom.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivanja u ovom radu su izvedena po grupno-kontrolnom sistemu na brojlerima hibridne linije ROSS, u proizvodnim uslovima i u eksperimentalnoj laboratoriji Instituta. Brojlerski pilići su raspoređeni u dve grupe od po 1500 komada i hranjeni i pojeni *ad libitum*. Kontrolna grupa (K) brojlera je hranjena standardnom smešom za ishranu tovnih pilića, dok je ogledna grupa (O) hranjena smešom u kojoj je kukuruz zamenjen ekstrudiranim kukuruzom. Kukuruz je ekstrudiran na relativno niskoj temperaturi (90°C – 125°C), u kratkom vremenu (6-10 sec) i u kombinaciji sa visokim pritiskom (30-40 bara).

Tov je trajao 49 dana i odvijao se u podnom sistemu, a brojleri su dobijali hranu i vodu *ad libitum*. Svake sedmice merena je telesna masa svih brojlera, a po završetku tova i 12-časovnog gladovanja, pilići su žrtvovani i obrađeni na liniji klanja živine standardnim tehnološkim postupkom.

Nakon hlađenja, 10 nasumice izabranih trupova od svake grupe je rasecano na anatomske delove. Sečenje i otkoštavanje grudi i bataka je obavljeno kako bi se utvrdili prinos i nutritivni kvalitet mesa. Nutritivni kvalitet mesa brojlera utvrđen je u mesu grudi i bataka određivanjem sadržaja vlage (JUS ISO 1442, 1997), proteina (JUS ISO 937, 1992), slobodne masti (JUS ISO 1442, 1997) i ukupnog pepela (JUS ISO 936, 1998).

U cilju pravilne interpretacije rezultata dobijeni podaci su statistički obrađeni tako što su izračunati aritmetička sredina ($\bar{X}$), standardna devijacija i koeficijent varijacije (Sd, Cv) kao i značajnost razlika između aritmetičkih sredina (t-test) (STATISTICA 8.0., 2008).

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Osnovni proizvodni pokazatelji tova brojlera dati su u tabeli 1. Analizom tova brojlera detaljno su praćeni proizvodni rezultati (telesna masa brojlera, ukupan utrošak hrane, uginuća i brojnost jata u tovu) za obe grupe. Budući da režim ishrane ima različito dejstvo u zavisnosti od uzrasta živine, produženjem tova omogućen je bolji uvid u ukupne efekte hrane sa ekstrudiranim kukuruzom na proizvodne parametre tova brojlera.

Tabela 1. Osnovni proizvodni pokazatelji tova brojlera ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 3000 /

Table 1. Elementary production factors for fattening of broilers of the experimental (O) and the control (K) group, n=3000

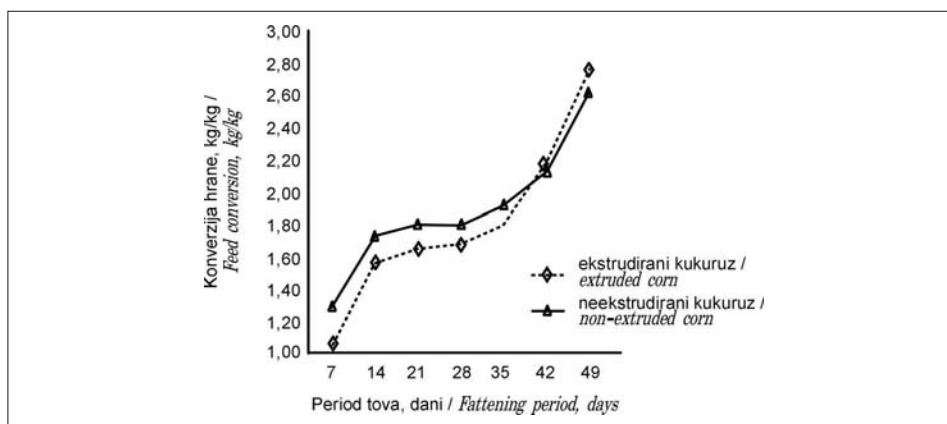
Period, dan / Period, day	Ogledna grupa (O) / Experimental group (O)				Kontrolna grupa (K) / Control group (K)			
	Masa brojlera / Broiler mass g	Ukupan utrošak hrane / Total feed intake kg	Uginuća, kom. / Animal deaths	Brojnost jata u tovu, kom. / Number of fattening birds	Masa brojlera / Broiler mass, g	Ukupan utrošak hrane / Total feed intake, kg	Uginuća, kom. / Animal deaths	Brojnost jata u tovu, kom. / Number of fattening birds
0	44,2			1 500	44,2			1 500
7	127,5	200	6	1 494	111,5	215	10	1 490
14	325,0	660	5	1 489	290,0	670	25	1 465
21	565,0	1 250	3	1 486	519,0	1 265	28	1 437
28	966,0	2 250	2	1 484	907,0	2 255	23	1 414
35	1 490,0	3 650	1	1 483	1 420,0	3 645	3	1 411
42	1 985,0	5 250	2	1 481	1 940,0	5 210	3	1 408
49	2 760,0	8 350	1	1 480	2 780,0	8 330	4	1 404

Kao pozitivan uticaj upotrebe ekstrudiranog kukuruza u ishrani potrebno je istaći manje uginuće u toku tova (tabela 1). U slučaju ishrane sa standardnom smešom ukupno je uginulo 96 brojlera. Poređenje ove vrednosti sa uginućima pri ishrani smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (20 komada) ukazuje na prednost upotrebe ekstrudiranog kukuruza u hrani za održavanje zdravstvene kondicije živine.

Navedeni rezultati su posebno izraženi u prve četiri nedelje tova. Ovi podaci su u saglasnosti sa ranijim istraživanjima (Filipović i sar., 2007; 2010), u kojima je dokazano da se postupkom ekstrudiranja značajno smanjio broj mikroorganizama u hrani za tov, a time i otpornost organizma na infekcije.

Drugi činilac od značaja za efekte ukupne proizvodnje i ostvaren ekonomski rezultat je konverzija hrane. Obračun ostvarene konverzije pokazuje

da ogledna grupa, hranjena sa ekstrudiranim kukuruzom, ostvaruje bolju konverziju hrane pri čemu ista na nivou ukupnog tova iznosi 2,04 kg hrane za kilogram prirasta, dok je kod kontrolne grupe ostvarena konverzija hrane od 2,13 kg hrane za kilogram prirasta. Bolji uvid u konverziju hrane daje pregled promene konverzije hrane tokom tova, dat na grafikonu 1.



Grafikon 1. Konverzija hrane tokom tova brojlera ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 3000 /

Graph 1. Feed conversion during fattening of broilers of the experimental (O) and the control (K) group, n=3000

Iz navedenog grafikona je očigledno da ishrana brojlera sa ekstrudiranim kukuruzom daje bolje rezultate u početku tova (prve dve nedelje), pri čemu se potvrđuje povoljno dejstvo na mlađe kategorije živine, dok uticaj ekstrudirane hrane opada pri kraju tova (poslednje dve nedelje). Tabela 1. pokazuje da je utrošak hrane u obe posmatrane grupe skoro isti. Pri tome, grupa koja je hranjena hranom u koju je dodat ekstrudirani kukuruz ima veći broj tovnih pilića na kraju tova i na taj način ostvaruje veću vrednost proizvodnje.

U tabeli 2. dati su rezultati kvaliteta trupa (masa ohlađenog trupa brojlera) i osnovnih delova dobijenih rasecanjem trupova brojlera ogledne i kontrolne grupe.

Analizom rezultata vidi se da je masa najznačajnijih delova trupa veća kod ogledne grupe brojlera. Masa grudi brojlera hranjenih hranom sa ekstrudiranim kukuruzom (696,6 g) veća je od mase grudi brojlera kontrolne grupe (657,6 g). Takođe, i masa bataka ogledne grupe (569,2 g) je veća od mase bataka brojlera kontrolne grupe (528,2 g). Pored mase, značajno je i da je kod brojlera hranjenih hranom sa ekstrudiranim kukuruzom (O), udeo u trupu grudi (35,77% : 35,64%) i bataka (28,87% : 28,42%) veći, a abdominalne masti manji (1,58% : 1,93%). Iako te razlike nisu statistički značajne, podatak da se za isti utrošak hrane dobije veća masa kvalitetnih (i skupljih) delova trupa može da opredeli proizvođače za upotrebu ekstrudirane hrane.

Tabela 2. Masa trupa i osnovnih anatomskih delova trupa brojlera ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 20 /

Table 2. Mass of carcass and basic anatomical parts of the carcass of broilers of the experimental (O) and the control (K) group, n=20

		Masa trupa ^{ns} / Carcass mass ^{ns}	Grudji ^{ns} / Breast ^{ns}		Batak ^{ns} / Leg ^{ns}		Leđa ^{ns} / Back ^{ns}		Krila ^{ns} / Wings ^{ns}		Abdominalna mast ^{ns} / Abdominal fat ^{ns}	
		g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
O	̄X	1973,0	696,6	35,77	569,2	28,87	433,2	21,96	236,0	11,97	31,2	1,58
	Sd	79,1	56,2		27,1		24,2		11,8		8,2	
	Cv	4,0	8,1		4,8		5,6		5,0		26,4	
K	̄X	1859,0	657,6	35,64	528,2	28,42	412,4	22,18	217,6	11,73	35,6	1,93
	Sd	220,0	39,0		63,8		51,9		24,3		6,8	
	Cv	11,8	5,9		12,1		12,6		11,2		19,0	

^{ns}– razlike nisu statistički značajne (p>0,05) / differences are not statistically significant (p>0.05)

Vrlo su značajni i podaci prikazani u tabeli 3, gde su predstavljeni rezultati otkoštavanja grudi i bataka na osnovna tkiva (meso, kosti, kožica) ogledne i kontrolne grupe.

Tabela 3. Rezultati otkoštavanja grudi i bataka na osnovna tkiva ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 20 /

Table 3. Results for deboning of breast and legs on basic tissue of the experimental (O) and the control (K) group, n=20

		Grudi / <i>Breast</i>								Batak / <i>Leg</i>							
		Masa grudi / <i>Breast mass</i>	Meso ^{ns} / <i>Meat^{ns}</i>		Kosti ^{ns} / <i>Bones^{ns}</i>		Kožica ^{ns} / <i>Skin^{ns}</i>		Masa bataka / <i>Leg mass</i>	Meso ^{ns} / <i>Meat^{ns}</i>		Kosti ^{ns} / <i>Bones^{ns}</i>		Kožica ^{ns} / <i>Skin^{ns}</i>			
			g	g	%	g	%	g		%	g	g	%	g	%	g	%
O	$\bar{X}$	696,6	542,2	77,7	88,4	12,8	63,0	9,1	279,2	188,6	66,2	57,4	20,2	33,2	11,7		
	Sd	56,18	59,98		10,60		4,53		16,62	17,95		4,39		3,11			
	Cv	8,07	11,06		11,99		7,19		5,95	9,52		7,65		9,38			
K	$\bar{X}$	657,6	503,8	76,6	79,8	12,2	69,6	10,6	254,0	172,6	65,6	53,6	20,4	27,8	10,5		
	Sd	39,01	30,34		4,38		5,55		19,27	13,24		3,36		4,38			
	Cv	5,93	6,02		5,49		7,97		7,59	7,67		6,27		15,76			

^{ns}– razlike nisu statistički značajne (p>0.05) / differences are not statistically significant (p>0.05)

Masa mesa grudi brojlera hranjenih ekstrudiranim kukuruzom (542,2 g) je veća od mase mesa brojlera kontrolne grupe (503,8 g). Takođe, i masa mesa bataka ogledne grupe (188,6 g) je veća od mase mesa bataka brojlera kontrolne grupe (172,6 g). Pored mase, značajno je da je kod brojlera hranje-

nih hranom sa ekstrudiranim kukuruzom (O), udeo mesa u grudima (77,7% : 76,6%) i bataku (66,2% : 65,6%) veći nego kod brojlera kontrolne grupe.

Osnovni hemijski sastav mesa grudi brojlera ogledne i kontrolne grupe prikazan je u tabeli 4.

Tabela 4. Osnovni hemijski sastav mesa grudi brojlera ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 20

Table 4. Elementary chemical composition of breast meat of broilers of the experimental (O) and the control (K) group, n=20

		Vlaga ^{ns} / Humidity ^{ns}	Proteini ^{ns} / Proteins ^{ns}	Slobodne masti ^{ns} / Free lipids ^{ns}	Ukupni pepeo ^{ns} / Total ash ^{ns}
O	$\bar{X}$, %	74,04	23,35	1,40	1,20
	Sd	0,30	0,29	0,19	0,04
	Cv	0,41	1,24	13,57	3,33
K	$\bar{X}$, %	73,66	22,58	2,42	1,24
	Sd	0,09	0,31	0,32	0,02
	Cv	0,12	1,37	13,22	1,61

^{ns}– razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$) / differences are not statistically significant ($p > 0,05$)

Ispitivanjem osnovnog hemijskog sastava mesa grudi (tabela 4) utvrđen je niži sadržaj vlage (73,66%) i proteina (22,58%) u mesu grudi pilića kontrolne grupe. Dalje, u istoj tabeli se vidi da je sadržaj slobodne masti u mesu grudi kontrolne grupe (2,42%) veći u odnosu na oglednu (1,40%) grupu, kao i da je sadržaj ukupnog pepela približno isti u obe grupe. Upotreba ekstrudiranog kukuruza u ishrani pilića uticala je na povećani sadržaj proteina, a smanjeni sadržaj slobodne masti u mesu grudi pilića ogledne grupe. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima koje navode Džinić i sar. (2009), po kojima pileće meso sadrži nešto više proteina (23%) nego druge vrste mesa, a manje masti (1%-5%), te da se može smatrati i dijetetskom namirnicom (Barbut, i sar., 2005).

Tabela 5. Osnovni hemijski sastav mesa bataka brojlera ogledne (O) i kontrolne (K) grupe, n = 20 /

Table 5. Elementary chemical composition of leg meat of broilers of the experimental (O) and the control (K) group, n=20

		Vlaga ^{ns} / Humidity ^{ns}	Proteini ^{ns} / Proteins ^{ns}	Slobodne masti ^{ns} / Free lipids ^{ns}	Ukupni pepeo ^{ns} / Total ash ^{ns}
O	$\bar{X}$, %	75,93	17,26	5,87	1,02
	Sd	0,48	0,34	0,06	0,02
	Cv	0,64	1,96	1,08	1,55
K	$\bar{X}$, %	73,03	16,67	9,24	0,98
	Sd	1,19	0,15	1,12	0,02
	Cv	1,63	0,90	12,16	1,89

^{ns}– razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$) / differences are not statistically significant ($p > 0,05$)

Slični rezultati su dobijeni ispitivanjem osnovnog hemijskog sastava mesa bataka (tabela 5). Utvrđen je veći sadržaj vlage (75,93%) i proteina (17,26%) u mesu bataka brojlera hranjenih hranom sa ekstrudiranim kukuruzom u odnosu na sadržaj vlage (73,03%) i proteina (16,76%) u mesu bataka kontrolne grupe. U istoj tabeli se vidi da je sadržaj slobodne masti u mesu bataka kontrolne grupe (9,24%) veći u odnosu na oglednu (5,87%) grupu, kao i da je sadržaj ukupnog pepela približno isti u obe grupe. Povećan sadržaj masti kod obe grupe brojlera je posledica produženog tova, kada se intenzivnije unosi hrana i povećava masa brojlera.

Dobijeni rezultati su u skladu sa podacima koje navode Ristić i sar., (2007) da meso grudi u odnosu na batak sadrži više proteina (23,6% : 19,6%), a manje masti (0,33% : 1,33%), i da se veći udeo masti dobija produženim tovom.

Zaključak / Conclusion

Brojleri hranjeni smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (O) napredovali su brže, imali su manje uginuća (20 : 96) i bolju konverziju hrane (2,04 kg/kg : 2,13 kg/kg) u odnosu na brojleru kontrolne (K) grupe.

Brojleri ogledne grupe imali su veću masu i udeo grudi (696,6 g : 657,6 g) i bataka (569,2 g : 528,2 g) u trupu. Masa mesa grudi brojlera hranjenih smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (O) bila je veća od mase mesa kontrolne grupe (542,2 g : 657,6 g), a i udeo mesa u masi grudi je bio veći kod ogledne grupe (77,7% : 76,6%).

Masa mesa bataka brojlera hranjenih smešom sa ekstrudiranim kukuruzom bila je veća od mase mesa kontrolne grupe (279,2 g : 254,0 g), a i udeo mesa u masi bataka je bio veći kod ogledne grupe (66,2% : 65,6%).

Ishrana sa ekstrudiranim kukuruzom uticala je na povećanje nutritivnog kvaliteta mesa brojlera. U mesu grudi brojlera hranjenih smešom sa ekstrudiranim kukuruzom (O) utvrđen je veći sadržaj proteina (23,35% : 22,58%), a manji slobodne masti (1,40% : 2,42%). U mesu bataka kod brojlera ogledne grupe (O) je povećan sadržaj proteina (18,26% : 17,67%), a smanjen slobodne masti (5,87% : 9,24%) u odnosu na brojleru koji nisu hranjeni ekstrudiranim kukuruzom (K).

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Istraživanje je izvršeno u okviru projekta: „Istraživanje savremenih biotehnoloških postupaka u proizvodnji hrane za životinje u cilju povećanja konkurentnosti, kvaliteta i bezbednosti hrane“ finansiranog od Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj RS, broj 46012. /

Investigations were performed within Project No. 46012 Investigations of contemporary biotechnological procedures in animal feed production aimed at increasing competitiveness, quality and food safety which is financed by the Ministry for Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Andersen HJ, Oksbjerg N, Young JF, Therkildsen M. Feeding and meat quality – a future approach, Meat Science 2005; 70: 543-54.

2. Barbut S, Zhang L, Marcone M. Effects of pale Normal and Dark Chickens Poultry Breast Meat on Microstructure Extracable Proteins and Cooking of Marinated Fillets. *Poult Sci* 2005; 84: 797-802.
3. Blagojević M, Pavlovski Z, Škrbić Z, Lukić M, Milošević N, Perić L. Uticaj genotipa brojerskih pilića na kvalitet trupa u ekstenzivnom sistemu gajenja. *Acta Veterinaria* 2009; 59(1): 91-7.
4. Cmiljanić R, Pavlovski Z, Trenkovski S, Lukić M. Novi trendovi u ishrani živine. *Biotechnol Anim Husbandry* 2005; 21(5-6): 241-5.
5. Džinić N, Tomović V, Petrović L, Perić L. Uticaj dodatka Se različitog porekla u hranu za piliće na kvalitet *Mm. pectoralis*. *Tehnologija mesa* 2006; 47(5-6): 199-203.
6. Džinić N, Tomović V, Petrović Lj, Jokanović M, Filipović S, Savković T. Kvalitet trupa i mesa grudi brojlera hranjenih različito obrađenim kukuruznim stočnim brašnom, *Glasnik hemičara i tehnologa Republike Srpske* 2009; 2: 127-30.
7. Filipović S, Sakač M, Kormanjoš Š, Psodorov Đ, Filipović J, Živančev D. Poboljšanje nutritivne vrednosti hrane namenjene ishrani ljudi i životinja postupkom ekstrudiranja. *Žito-hleb* 2007; 34(5-6): 133-42.
8. Filipović S, Kormanjoš Š, Sakač M, Živančev D, Filipović J, Kevrešan Ž. Tehnološki postupak ekstrudiranja kukuruza, *Savremena poljoprivreda* 2008; 57(3-4): 144-8.
9. Filipović S, Sakač M, Kormanjoš Š, Okanović Đ, Savković T, Filipović N. The Influence of corn extrusion in chicken diet. *Archiva Zootechnica Magazine* 2010; 13(1): 30-8.
10. JUS ISO 1442 1997. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja vlage.
11. JUS ISO 1444 1997. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja slobodne masti.
12. JUS ISO 936 1998. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje ukupnog pepela.
13. JUS ISO 937 1992. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja azota.
14. Kormanjoš Š, Filipović S, Plavšić D, Filipović J. Uticaj ekstrudiranja na higijensku ispravnost hraniva, *Savremena poljoprivreda*, 2007: 5-6, 143-6.
15. Lilić S, Vranić D, Matekalo-Sverak V, Ilić T, Ivanović S, Milićević D, Dimitrijević S. Funkcionalne osobine pilećeg mesa u zavisnosti od infekcije brojlera protozom *Eimeria tenella*. *Tehnologija mesa* 2010; 51(1): 1-11.
16. Marsman GJP, Gruppen H, Groot J, de Voragen AG. J Effect of toasting end extrusion at different shearl levels on soy protein interactions. *J Agr Food Chem* 1998; 46(7): 2770-7.
17. Okanović Đ, Zekić V, Filipović S, Tica N. Influence of the feeding system on the economic results in the production of fatty poultry. *Macedonian J Anim Sci* 2011; 1(1): 245-50.
18. Ristić M, Damme K, Freudenreich P. Uticaj fitogenih dodataka stočnoj hrani na kvalitet mesa živine. *Tehnologija mesa* 2005; 46(1-2): 51-5.
19. Ristic M, Freudenreich P, Werner Renate, Schüssler Gabriele, Köstner Ute, Ehrhardt S. Hemijski sastav mesa brojlera u zavisnosti od porekla i godine proizvodnje. *Tehnologija mesa* 2007; 48(5-6): 203-7.
20. Sakač M, Ristić M, Filipović S, Mišan A. Proučavanje proizvodnje proteinskog hraniva dobijenog peletiranjem hidrolizovanog perja i sojine sačme. *Žito-hleb* 2007; 34(5-6): 123-8.
21. STATISTICA (Data Analysis Software System), v.8.0. 2008 StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (<http://www.statsoft.com/>).
22. Taylor RD, Jones GP. The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets. *British Poult Sci* 2004; 45(2): 237.

23. Tica N, Zekić V, Okanović Đ, Karović D, Milić D. Influence of the use of food with addition of mineral adsorbents on economic results in chicken fattening. *Ekonomika poljoprivrede* 2010; 57(spec issue-2): 337-43.

ENGLISH

EFFECT OF USE OF EXTRUDED CORN IN BROILER FEED ON YIELD AND MEAT QUALITY

Đ. Okanović, N. Džinić, V. M. Jokanović, Tomović, S. Filipović

The objective of these investigations was to examine the efficacy of the use of extruded feed in the diet of broiler chicks. The procedure of extruding corn causes significant physical-chemical changes in the kernel structure, which increases the nutritive value as the nutritive matter in the kernel becomes more readily available to the enzymes of the animal's digestive tract. This procedure also increases hygiene safety as well as the sensory characteristics (taste) of the feed.

Investigations were carried out on 3000 chicks of the Ross 308 hybrid, which were divided into an experimental and a control group. The fattening period lasted 49 days. The composition of the broiler mix was identical in both groups, with extruded corn being used in the mix for the control group (O).

Broilers fed the mix with extruded corn (O) showed faster growth, lower mortality (20:96) and better feed conversion (2.04:2.13 kg/kg) in comparison with the control group (K). Broilers of the experimental group (O) also realized greater mass of the breast (696.6:657.6 g) and legs (569.2:528.2 g), as well as a greater meat percentage in the breast and legs.

The diet with extruded corn also resulted in an improved nutritive quality of the broiler meat (higher protein content and lower content of free lipids in broiler meat). The meat of broilers fed the mix with extruded corn (O) was found to contain a higher protein content (23.35:22.58%) in the breast, and in the legs (18.26:17.67%), and a lower content of free lipids (1.40:2.42%) in the breast, and in the legs (5.87:9.24%) in comparison with the meat of broilers of the control group (K).

Key words: extruding, broiler fattening, carcass and meat quality

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ УПОТРЕБЛЕНИЯ ЭКСТРУДИРОВАННОЙ КУКУРУЗЫ В КОРМЕ ДЛЯ БРОЙЛЕРОВ НА ВЫХОД И КАЧЕСТВО МЯСА

Дж. Оканович, Наталия Джинич, Мария Йоканович, В. Томович, С. Филипович

Цель этих исследований была испытать эффективность употребления экструдированного корма в кормлении откормочных цыплят. Поступок экструдирования кукурузы причиняет значительные физическо-химические изменения в структуре зерна, чем увеличивается питательная стоимость ибо питательные вещества зерна становятся более доступные энзимами пищеварительного тракта

животного. Этим поступком увеличивается питательная стоимость ибо питательные вещества зерна становятся более доступными для энзимов пищеварительного тракта животного. Этим поступком увеличивается гигиеническая исправность, словно и сенсорные свойства (увеличивается "сласть") корма.

Исследование проведено на 3000 цыплят гибрида Ross 303, разделенных в опытную и контрольную группы. Откорм продолжался 49 дней. Состав смеси для откорма бройлеров был такой же у обеих групп, с этим, что в смеси у опытной группы (О) употреблена экструдированная кукуруза.

Бройлеры, кормленные смесью с экструдированной кукурузой (О) имели более быстрый рост, более маленькую смертность (20:96) и более хорошую конверсию корма (2,04:2,13 кг/кг) в отношении контрольной (К) группы. Бройлеры опытной группы (О) осуществили и более большую массу грудей (696,6:657,6 г) и ножек (569,2:528,2 г), словно и более большая часть и грудях и ножке.

Кормление с экструдированной кукурузой влияло на улучшение питательного качества мяса бройлеров (увеличение содержания протеинов и уменьшение содержания свободного жира в мясе бройлеров). В мясе бройлеров, кормленных смесью с экструдированной кукурузой (О) утверждено более большое содержание протеинов (23,35:22,58%) в грудях, то есть (18,26:17,67%) в ножке, а более маленькое содержание свободного жира (1,40:2,42%) в грудях, то есть (5,87:9,24) в ножке в сравнении с мясом бройлеров контрольной группы (К).

Ключевые слова: экструдирование, откорм бройлеров, качество туловища и мяса

PRIMENA BILJNOG EKSTRAKTA JABUKE U ISHRANI
ČINČILA (*Chinchilla lanigera*)*

APPLICATION OF AROMATIC PLANT EXTRACT APPLES IN
NUTRITION CHINCHILLAS (*Chinchilla lanigera*)

S. Obradović, Marija Vukašinović, D. Šefer, Vera Đekić, I. Aleksandar**

U radu je ispitivano delovanje ekstrakta jabuke kao aditiva hrani za činčila u koncentraciji od 0,04% na smanjenje griže krzna i osnovne proizvodne parametre. Tokom perioda od 30 dana ogledna grupa činčila hranjena peletiranom smešom sa dodatkom ekstrakta ostvarila je statistički signifikantno smanjenje griže krzna ($p < 0,01$) u odnosu na kontrolnu grupu. Takođe, u oglednoj grupi zabeleženo je svega 5% griže krzna od ukupnog broja jedinki u toj grupi (20 činčila), a kod kontrolne grupe sa istim brojem životinja procenat griže je bio znatno veći i iznosio je 30%.

Pozitivni efekti dodatka ekstrakta su registrovani i za druge ispitivane faktore, jer je ogledna grupa činčila na kraju ogleda imala veću telesnu masu (1,36%), bolji prirast (21,18%), povećanu konzumaciju hrane (0,48%) i bolju konverziju (17,13%) u poređenju sa kontrolnom grupom, koja kroz hranu nije unosila aromatični dodatak.

Ključne reči: činčila, aroma, krzno, konverzija, prirast

Uvod / Introduction

Ostvarivanje uspešnog i rentabilnog gajenja činčila zavisi od kvaliteta njihovog krzna. Osim genetske osnove, na kvalitet krzna utiču i mnogobrojni paragenetski činioci od kojih adekvatna ishrana ima presudnu ulogu. Činčile se odlikuju najgušćim krznom od svih krznašica, jer iz korena svake dlake izlazi 50-120 paučinastih vlakana, tako da na svakih 1 cm² ima više od 20000 dlaka, koje se

* Rad primljen za štampu 16. 03. 2012. godine

** Dr Saša Obradović, docent, Fakultet za ekonomiju i inženjerski menadžment, Novi Sad; dr Marija Vukašinović, naučni saradnik, Veterinarski specijalistički institut, Kraljevo; dr Dragan Šefer, vanredni profesor Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Vera Đekić, istraživač-saradnik "Centar za strna žita", Kragujevac; dr Ivanc Aleksandar, redovni profesor, Državni univerzitet, Novi Pazar

smatraju najmekšim na svetu i 30 puta su mekše od ljudske dlake (Bickel, 1987; Mettler, 1999; Kamler i Stanković, 2002).

Negativna pojava koja ugrožava ekonomičnost gajenja ovih glodara je da iz različitih razloga grizu svoje krzno tokom celokupnog ciklusa proizvodnje, ali se najčešće dešava kod gravidnih ženki (Jimenez, 1990; Jaros i sar., 2004). Primenom aromatičnih biljnih ekstrakta kao aditiva hrani za farmske životinje ostvareni su brojni pozitivni rezultati – povećanje prirasta, poboljšanje konverzije hranljivih materija, smanjenje mortaliteta i poboljšanje opšteg zdravstvenog stanja tretiranih životinja (Kozelov i sar., 2003; Živković i sar., 2003).

Literaturni podaci oskudevaju u eksperimentalnim istraživanjima o primeni arome kao aditiva hrani za činčile i njenog uticaja na proizvodna svojstva. Polazeći od toga, pristupljeno je u ovom radu proučavanju uticaja arome jabuka (kompanije „Ireks Aroma“ iz Hrvatske) kao aditiva hrane na mogućnost sprečavanja grize krzna činčila i visinu osnovnih proizvodnih pokazatelja.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

U ogledu je korišćeno 8 porodica standardnih činčila podeljenih u dve jednake grupe činčila (20 oglednih i 20 kontrolnih), pri čemu je u svakoj grupi bilo po 9 gravidnih ženki. U svakoj porodici bile su 4 ženke i 1 mužjak, a sve individue su bile smeštene u kavezima napravljenim od pocinkovane žice dimenzija 60 cm x 55 cm x 65 cm.

Tokom celokupnog perioda istraživanja dnevni obrok činčila se sastojao od peletirane hrane (30 g po jedinki) i sena (20 g po jedinki), a bremenite ženke dobijale su istu količinu sena i 35 g briketa svakodnevno. Peletirane potpune smeše istog hemijskog sastava za obe grupe činčila, razlikovale su se u upotrebi ekstrakta arome jabuke za oglednu grupu (O), a kontrolna grupa (K) hranjena je peletama bez dodatka arome. Tokom trajanja ogleda određivana je konverzija hrane i hranljivih materija na osnovu podataka merenja telesne mase, dnevnog prirasta i utroška hrane, a konzumacija hrane i nagriženost krzna su praćeni svakodnevno. Činčilama je u ogledu omogućeno svakodnevno kupanje u vulkanskom pesku za odmašćivanje i negu krzna, koji je menjan jedanput nedeljno, a za prostirku je korišćena suva piljevina od drveta lipe.

Na početku i kraju ogleda hrana je hemijski i mikrobiloški analizirana primenom standardnih metoda ispitivanja (AOAC, 1990), a mikotoksikološka ispravnost je utvrđena primenom tankoslojne hromatografije (Balzer i sar., 1978). Hematološke analize krvnih parametara izvršene su primenom standardnih metoda (3 mužjaka i 3 ženke), a krv je uzimana punktiranjem repne vene pri normalnoj kompresiji, s tim što prvi mlaz krvi nije uziman.

Svakodnevno su praćeni rezultati najvažnijih mikroklimatskih faktora, tako da je temperatura vazduha merena termometrom, relativna vlažnost higrometrom, a brzina strujanja vazduha anemometrom.

Prosečan hemijski sastav sena su činili: suva materija (88,26%); sirovi proteini (11,90%); sirova celuloza (20,10%); Ca (5,10%); P (0,98%); Na (0,42%).

Tabela 1. Hemijski sastav peletiranih potpunih smeša za ishranu činčila
Table 1. Chemical composition of pellet complete mixes for feeding chinchillas

Sastojci (%) / <i>Components (%)</i>	K – kontrolna grupa / <i>K – control group</i>	O – eksperimentalna grupa / <i>O – experimental group</i>
Ovas / <i>Oats</i>	21	21
Ječam / <i>Barley</i>	4,7	4,7
Pšenica / <i>Wheat</i>	11,6	11,56
Sojina sačma (44% SP) / <i>Soybean meal</i>	9	9
Suncokretova sačma (33% SP) / <i>Sunflower meal</i>	11,5	11,5
Suncokretova sačma (42% SP) / <i>Sunflower meal</i>	5	5
Stočno brašno / <i>Wheat bran</i>	6	6
Lucerkino brašno / <i>Alfalfa meal</i>	20	20
Stočni kvasac / <i>Yeast</i>	1	1
Sojin griz / <i>Soybean groats</i>	2,1	2,1
Šećer / <i>Sugar</i>	2	2
Peletin / <i>Peletín</i>	2	2
Stočna kreda / <i>Limestone</i>	1,7	1,7
Monokalcijum fosfat / <i>Monocalcium phosphate</i>	1,1	1,1
Jodirana so / <i>Iodised salt</i>	0,3	0,3
Premiks / <i>Premix</i>	1	1
Aroma jabuka / <i>Apple aroma</i>	–	0,04
UKUPNO / <i>TOTAL</i>	100%	100%
Hemijski sastav potpunih smeša (%) / <i>Chemical composition of the complete mixtures (%)</i>		
SM / <i>DM</i>	92,50	92,10
Sirovi proteini / <i>Crude protein</i>	18,74	18,80
Sirova celuloza / <i>Crude fiber</i>	12,35	12,40
Pepeo / <i>Ash</i>	8,17	8,13
Ca	1,14	1,18
P	0,70	0,72
Na	0,16	0,17
Ukupna mast / <i>Total fat</i>	3,10	3,00
OJ	0,71	0,72
Lizin / <i>Lysine</i>	0,84	0,85
Metionin + cistin / <i>Methionine+cystine</i>	0,68	0,67
Treonin / <i>Threonine</i>	0,72	0,71
Triptofan / <i>Tryptophan</i>	0,27	0,26

Tabela 2. Hemijski sastav upotrebljenog premiksa po kg smeše /
Table 2. Chemical composition of the used premix per kg mixture

Sastojci / <i>Components</i>	i.m. / <i>u.m</i>	Sastojci / <i>Components</i>	i.m. / <i>u.m</i>
Vitamin A, IJ/kg / <i>IU/kg</i>	23000	Folna kiselina / <i>Folic acid</i> , mg/kg	0,2
Vitamin D ₃ , IJ/kg / <i>IU/kg</i>	3500	Mangan / <i>Manganese</i> (Mn), mg/kg	30
Vitamin E, mg/kg	90	Zink / <i>Zinc</i> (Zn), mg/kg	50
Vitamin B ₁ , mg/kg	3	Gvožđe / <i>Iron</i> (Fe), mg/kg	30
Vitamin B ₂ , mg/kg	5	Bakar / <i>Copper</i> (Cu), mg/kg	4
Vitamin B ₆ , mg/kg	2	Jod / <i>Iodine</i> (J), mg/kg	0,7
Vitamin B ₁₂ , mg/kg	0,02	Selen / <i>Selenium</i> (Se), mg/kg	0,2
Vitamin K ₃ , mg/kg	1	Kobalt / <i>Cobalt</i> (Co), mg/kg	0,4
Vitamin C, mg/kg	13	Lizin / <i>Lysine</i> , mg/kg	700
Niacin, mg/kg	50	Metionin / <i>Methionine</i> , mg/kg	300
Ca pantotenat / <i>Ca pantothenate</i> , mg/kg	21	Rovabio AP/10, mg/kg	200
Biotin, mg/kg	0,1	Fitaza / <i>Phytase</i> , mg/kg	100
Holin-hlorid / <i>Choline chloride</i> , mg/kg	400	Antioksidant BHT / <i>Antioxidant</i> , mg/kg	100

Dobijeni rezultati su grupisani i statistički obrađeni na računaru primenom uobičajenih matematičko-statističkih postupaka, koji podrazumevaju analizu varijanse i ocenu značajnosti dobijenih rezultata (razlika) korišćenjem "t"-testa.

Rezultati i diskusija / *Results and Discussion*

Na osnovu prikazanog sirovinskog i hemijskog sastava upotrebljene hrane za činčila (tabela 1) evidentno je da su upotrebljene pelete i seno sadržavali neophodne hranljive materije koje u potpunosti odgovaraju hranidbenim potrebama krznašica (Soto, 1993).

Mikrobiološkom i mikotoksikološkom analizom potpunih smeša i sena (tabela 2) nije utvrđeno prisustvo patogenih mikroorganizama, a registrovane vrednosti aflatoksina B₁ (0,001 mg/kg) u senu su u saglasnosti sa vrednostima koje se navode u literaturi (Devegowda i sar., 1998; Sinovec i sar. 2000), kao i zakonski maksimalno dozvoljenoj koncentraciji aflatoksina B₁ od 0,05 mg/kg (Sl. gl. RS, br. 4/2010).

Prosečne vrednosti ispitivanih mikroklimatskih faktora tokom trajanja ispitivanja (temperatura 18,5°C; relativna vlažnost 58%; brzina strujanja vazduha 3 m/s) odgovarale su optimalnim vrednostima koje navodi većina autora (Kraft, 1984; Kamler, 2002; Popović, 2004). Prema navedenim istraživačima, najpovoljnija temperatura za uzgoj činčila iznosi od 16°C do 20°C, vlažnost vazduha od 50% do 60%, a cirkulacija vazduha od 2 m/s do 3,5 m/s. Isti autori navode da visoke temperature vazduha, iznad 28°C i povećana relativna vlažnost, iznad 65%, ne samo što narušavaju kvalitet krzna nego mogu biti pogubne po životinje – do vode do kolapsa životinja, dehidracije, a u krajnjem slučaju i do njihovog uginuća.

Tabela 3. Mikrobiološka i mikotoksikološka analiza upotrebijene hrane
Table 3. Microbiological and mycotoxins analyses of the used feed

Mikrobiološka analiza upotrebijene hrane / Microbiological analysis used feed		
Vrsta mikroorganizma / Type of microorganism	Utvrđena vrednost / Determined value	
	Potpune smeše / Complete mixe	Seno / Hay
<i>Salmonella spp.</i>	0	0
<i>Clostridium botulinum</i>	0	0
<i>Clostridium perfringens</i>	0	0
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	0	0
<i>Proteus spp.</i>	0	0
<i>E. coli</i>	0	0
Ukupan broj bakterija / The total number of bacteria	40000	120000
Kvasci i plesni / Yeasts and molds	800	2500
Sadržaj mikotoksina u upotrebijanim smešama i senu (mg/kg) / The content of mycotoxins in the used mixes and hay (mg/kg)		
Aflatoxin B1	–	0,001
Toxin F-2	–	–
Ochratoxin A	–	–

U pogledu oštećenosti krzna (tabela 4) činčile ogledne grupe su imale značajno manji stepen pojave grizenja, i to svega 5% od ukupnog broja u grupi, a kod individua kontrolne grupe zabeleženo je oštećenje krzna kod 30% jedinki od ukupnog broja u grupi. Najviše oštećena krzna u kontrolnoj grupi bilo je na bokovima i nogama, inteziteta od ukupno 8 bodova, što je za 25% veći broj bodova u odnosu na krznašice koje su konzumirale ekstrakt jabuke. Razlike ($p < 0,01$) među grupama u pogledu stepena oštećenja krzna su veoma značajne.

Mnogobrojni faktori mogu uticati na pojavi griže krzna i taj poremećaj je lako uočljiv, jer se na koži jasno vide područja bez dlačnog pokrivača. Takve životinje su nervozne, gube na telesnoj masi, a izmet sadrži veće količine dlaka. Osnovni uzroci ove negativne pojave su neadekvatna ishrana, nezadovoljavajući zoohigijenski uslovi, genetska predispozicija, gljivične bolesti, hormonski i metabolički poremećaji (Kraft, 1984; Kamler, 2002; Mettler, 1999).

Prema Jaros-u i sar. (2004) nedostatak vitamina B-kompleksa je bitan činilac nastanka pojave griže krzna, a isti autor navodi da preterana upotreba sulfonamida i antibiotika u lečenju može prouzrokovati opadanje dlake. Farmerska iskustva kazuju da činčilama otpadaju delovi krzna ako se grubo i naglo hvataju rukama, kao i da međusobno grizenje životinja može biti još jedan uzrok oštećenja krzna.

Tabela 4. Izgriženost krzna po telesnim regijama tokom trajanja ogleda /
Table 4. Bitten fur on body regions during the test

Kategorija <i>Category</i>	Ukupan broj jedinki / <i>Total No.</i>	Broj jedinki sa oštećenim krznom / <i>Number etched</i>	K – kontrolna grupa / <i>K – control group</i>				
			Bokovi / <i>Flanks</i>	Vrat / <i>Neck</i>	Leđa / <i>Back</i>	Noge / <i>Legs</i>	Rep / <i>Tail</i>
Mužjaci / <i>Males</i>	4	1	+	–	–	–	–
Ženke / <i>Females</i>	7	2	++	–	–	+	–
Ženke gravidne / <i>F. pregnant</i>	9	3	++	–	–	++	–
Ukupno / <i>Total</i>	20	6	8 bodova / <i>8 points</i>				
			O – eksperimentalna grupa / <i>eksperimental group</i>				
Mužjaci / <i>Males</i>	4		–	–	–	–	–
Ženke / <i>Females</i>	7		–	–	–	–	–
Ženke gravidne / <i>F. pregnant</i>	9	1	+	–	–	+	–
Ukupno / <i>Total</i>	20	1	2 boda / <i>2 points</i>				

Stepen oštećenja krzna grizenjem: - nema grizenja (0 bodova), + mali obim (1 bod), ++ izražen obim (2 boda), +++ veoma izražen obim (3 boda) /
Degree of bitten fur according to intensity: - no bites (0 points), + small size (1 point), ++ pronounced volume (2 points), +++ very strong volume (3 points)

Tabela 5. Hematološki parametri činčila /
Table 5. Hematological parameters of chinchillas

Parametar / <i>Parameter</i>	K – grupa / <i>K – group</i>	O – grupa / <i>O – group</i>
Varijabilnost veličine eritrocita / <i>Red cell distribution width (RDW), %</i>	36,50	36,30
Prosečni volumen eritrocita / <i>Mean cell volume (MCV), fl</i>	103,10	102,80
Hemoglobin (Hb), g/dl	12,80	13,10
Eritrociti / <i>Red blood cells (RBC) ×10⁶/mm³</i>	3,90	3,90
Limfociti / <i>Lymphocytes, %</i>	42,30	42,20
Monociti / <i>Monocytes, %</i>	8,40	8,40

Dobijeni rezultati (tabela 6) ukazuju na pozitivne efekte uključivanja arome jabuke u smešu ogledne grupe (400 g/t), jer su činčile te grupe imale veću prosečnu masu za 1,36% ($p>0,05$) i veći dnevni prirast za 21,18% ($p<0,05$) u poređenju sa kontrolnom grupom. Takođe, uključivanje aromatičnog aditiva u hranu činčila (ogledna grupa) uslovilo je bolju prosečnu dnevnu konzumaciju hrane za 0,48% i konverziju za 17,13% u poređenju sa kontrolnom grupom.

Određivanje referentnih vrednosti krvnih parametara predstavlja korisno sredstvo za procenu zdravstvenog stanja i praćenja imunog odgovora činčila na infektivne bolesti i stresne uslove gajenja (Ness, 1999; Dyer and Cervasio, 2008). Rezultati ispitivanja hematoloških parametara su se kretali u normalnim fiziološkim granicama i između ispitivanih grupa nisu evidentirane razlike (Jain, 1993; Donnelly i Brown, 2004). Važno je napomenuti da vrednosti pojedinih krvnih parametara mogu varirati u zavisnosti od sezonskih i stresnih promena (temperatura, fotoperiodizam, reproduktivni ciklus, patološka stanja itd.).

Pozitivne efekte korišćenja biljnih ekstrakta na proizvodne performanse kunića navode Ignatova i sar. (2005), prema kojima dodavanje mešavine biljnih ekstrakta obrocima kunića stimulatивно utiče na povećanje vrednosti rasta i prirasta za 3,3% do 5,5%, a konverziju hrane poboljšava za 9%. Aromatični biljni ekstrakti imaju blagotvorno dejstvo na varenje i resorpciju hranljivih materija, jer podstiču aktivnost enzima pankreasa i izlučivanje žuči (Mellor, 2001; Soliman and Badeaa, 2002).

Tabela 6. Proizvodni rezultati u ogledu /
Table 6. Production results in the experiment

Kategorije / Categories	Grupa / Group			
	K	O	K	O
Prosečna telesna masa činčila (g) / <i>The average body mass of chinchillas (g)</i>	1 dan / <i>1 day</i>		30 dan / <i>day 30</i>	
Mušjaci / <i>Males</i>	555,80	560,30	562,80	570,50
Ženke / <i>Females</i>	580,10	580,50	585,00	590,80
Ženke gravidne / <i>Females pregnant</i>	600,90	608,30	615,30	625,70
Prosek / <i>Average</i>	577,27	583,03	587,70	595,67
Razlika / <i>Difference (%)</i>		+0,10		+1,36
	K		O	
Prosečan dnevni prirast telesne mase (g) / <i>Average daily gain of body weight (g)</i>	0 – 30 dana / <i>days 0 – 30</i>			
Mušjaci / <i>Males</i>	7		10,20	
Ženke / <i>Females</i>	4,9		10,30	
Ženke gravidne / <i>Females pregnant</i>	14,40		17,40	
Prosek / <i>Average</i>	10,43		12,64	
Razlika / <i>Difference (%)</i>	(*p<0,05)		+21,18	
	K		O	
Konsumacija i konverzija hrane pelete + seno (g) / <i>Consumption and conversion of food pellets + hay (g)</i>	0 – 30 dana / <i>days 0 – 30</i>			
Mušjaci / <i>Males</i>	4510		4530	
Ženke / <i>Females</i>	8190		8220	
Ženke gravidne / <i>Females pregnant</i>	12120		12190	
Ukupno / <i>Total</i>	24820		24940	
Dnevno / <i>Daily</i>	41,37		41,57	
Konverzija / <i>Conversion</i>	3,97		3,29	
Razlika / <i>Difference (%)</i>	p>0,05		+17,13	

U ispitivanjima Eiben-a i sar. (2004) konstatovano je da primena semena piskavice i anisa u količini od 6 g/kg dovodi do statistički značajnog poboljšanja konzumacije i konverzije hrane kod kunića ($p < 0,01$). Aromatični ekstrakti biljaka poseduju antibakterijska, antigljivična i antiinflamatorna svojstva (Soliman, 2002; Sagdic i Ozcan, 2003). Osim na povećanje efikasnosti varenja hrane utiču i na povećanje mlečnosti kod životinja u laktaciji (Albert-Buelo, 1980). Primena yucca arome u peletiranoj hrani za kuniće u koncentraciji od 250 mg/kg, doprinela je povećanju konzumacije hrane za 9,6%, konverzije za 3,62%, i retenciji azota za 24,3% u odnosu na kuniće hranjene bez ovog stimulansa (Amber i sar., 2004).

Zaključak / Conclusion

Uticaj ekstrakta jabuke kao aditiva hrani, upotrebljene u koncentraciji od 0,04% u peletiranoj hrani za činčile u ovom ogledu imao je pozitivan efekat na sve analizirane proizvodne pokazatelje. Pozitivni efekti korišćenja ispitivane arome ogledali su se u:

- povećanju telesne mase za 1,36% ($p > 0,05$);
- povećenom dnevnom prirastu za 21,18% ($p < 0,05$);
- povećanju konzumacije hrane 0,48%;
- poboljšanju konverzije hrane za 17,13%.

Dodatak ispitivane arome je doprineo veoma značajnom smanjenju griže krzna činčila ($p < 0,01$) jer je u grupi tretiranih činčila svega 5% od ukupnog broja jedinki grizlo krzno, dok je u kontrolnoj grupi zabeleženo oštećenje krzna kod 30% jedinki.

Literatura / References

1. Albert-Buelo Fennel M. Anise estrogenic agents. *Ethnopharmacology* 1980; 2: 337-44.
2. Amber KH, Yakout H, Hamed Rawya S. Effect of feeding diets containing yucca extract or probiotic on growth, digestibility, nitrogen balance and caecal microbial activity of growing New Zealand white rabbits. *Proceedings 8th World Rabbit Congress Puebla, Mexico, September 7-10, 2004*: 737-45.
3. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis*. Washington, DC: AOAC, 1990.
4. Balzer I, Bogdanić Č, Pepelnjak S. Rapid the Layer chromatographic method for determining aflatoxic B₁, ochratoxin A and zearalenon in corh. *J Assoc Official Anal Chem* 1978; 61(3): 584-90.
5. Bickel E. *Chinchillas, Wie man sie halt und zuchtet*. Trans. U. Erich Friese. Chinchilla Handbook. 6th ed. Neptune City: T.F.H. Publications, 1987.
6. Devegowda G, Raju M, Afzali N, Swamz H. Mycotoxin picture worldwide. *Novel solutions for their counteraction. Biotechnology in the feed industry*, 1998; 241-55.
7. Donnelly TM, Brown CJ. Guinea pig and chinchilla care and husbandry. *Vet Clin North Am Exotic Anim* 2004; 7: 351-73.

8. Dyer SM, Cervasio EL. An overview of restraint and blood collection techniques in exotic pet practice. *Vet Clin North Am Exotic Anim*, 2008; 11: 423-43.
9. Eiben CS, Rashwan AA, Kustos K, Godor-Surmann K, Szendro YS. Effect of anise and fenugreek supplementation on performance of rabbit does. *Proceedings - 8th World Rabbit Congress*, Puebla, Mexico, September 7-10, 2004; 805-10.
10. Ignatova M, Ivanov A, Saftić M, Chotinsky D, Stoilov I. Effect of aroma supplementation in rabbits. *Krmiva*, Zagreb, 2005; 5: 239-43.
11. Jain NC. Comparative hematologic features of some avian and mammalian species. (Ed). *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 2003; 3: 55-71.
12. Jaros D, Buraczewski S, Kaminski J. Animal nutrition and feed science. Book I, Physiological and Biochemical Grounds of Animal Nutrition. Wyd Nauk PWN, Warszawa, 2004.
13. Jimenez JE. Proyecto conservacion de la chinchilla chilena (*Chinchilla lanigera*), Jimenez JE. 1994. Overuse and endangerment of wildlife: the case of Chilean mammals. *Medio Ambiente (Chile)*, 1990; 12: 102-10.
14. Kamler A, Stanković M. Knjiga o činčili. Karton pres, Valjevo, 2002.
15. Kozelov L, Iliev F, Nedelchev D, Dimov K. Effect of Yucca supplementation to the diet of female lambs. *Anim Sci* 2003; 1-2: 27-8.
16. Kraft H. Krankheiten der Chinchillas, 4. verbesserte und erweiterte Auflage, Minden 1984. Albert Philler Verlag, 1984.
17. Mellor S. Natural appetisers from plants. *Feed mix*, 2001; 9: 29-31.
18. Mettler M. Alles über Chinchillas und Degus. Falken Verlag 1999; 96.
19. Ness RD. Clinical pathology and sample collection of exotic small mammals. *Vet Clin North Am Exotic Anim Pract* 1999; 2: 591-620.
20. Popović N. Činčila, uzgoj na mini farmi. Izdavačka kuća Draganić, Beograd, 2004.
21. Sagdic O, Ozcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control* 2003; 14: 141-3.
22. Sinovec Z, Resanović R, Zurovac-Kuzma O. Nutritivni značaj prisustva sekundarnih metabolita *Aspergillus* i *Penicillium* gljivica plesni u stočnoj hrani. *Zbornik kratkih sadržaja radova 12. savetovanja veterinara Srbije*, Zlatibor; 2000: 85-94.
23. Službeni glasnik RS, br. 4/2010. Pravilnik o kvalitetu hrane za životinje.
24. Soliman KM, Badeaa RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem Toxicol*, 2002; 40:1669-76.
25. Soto VV. Proyecto "Conservation de la Chinchilla lanigera". Una evaluacion general. *Corporation National Forestal CONAF, IV Region Coquimbo*, Chile, 1993.
26. Živković B, Migdal W, Saftić M, Radović C, Fabjan M, Miletić Z. Aromatic substances as additives in nutrition of sows and suckling piglets. *Biotechnol Anim Husbandry* 2003; 19 (5-6): 271-6.

ENGLISH

APPLICATION OF APPLE AROMATIC PLANT EXTRACT IN NUTRITION OF CHINCHILLAS (*Chinchilla lanigera*)

S. Obradović, Marija Vukašinović, D. Šefer, Vera Đekić, I. Aleksandar

In this paper we studied the effect of apple aroma as a food additive in a concentration of 0.04% on performance and reduction of fur chewing and basic production parameters. During the experimental period (30 days), the experimental group of chinchillas that was fed with the pellet mixture with the addition of the aroma showed a statistically significant decrease in fur chewing ($p < 0.01$) in comparison with the control group. Also, only 5% of the animals in the experimental group chewed fur out of the total number in that group (20 chinchillas), whereas the percentage of fur chewing with the control group with the same number of animals was 30%.

The positive effects of aroma addition were noted for other examined factors as well, since the experimental group of chinchillas showed a bigger increase in body mass (1.36%), better growth (21.18%), increased food consumption (0.48%) and better conversion (17.13%) in comparison with the control group that was not fed with the aromatic additive.

Key words: chinchilla, aroma, fur, conversion, growth

РУССКИЙ

ПРИМЕНЕНИЕ АРОМАТИЧЕСКОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ЯБЛОКИ В КОРМЛЕНИИ ШИНШИЛЛ (*Chinchilla lanigera*)

С. Обрадович, Мария Вукашинович, Д. Шефер, Вера Джекич, И. Александр

В работе испытано действие аромата яблоки как аддитива корма для шиншилл, применённо в концентрации от 0,04% на уменьшение грызни меха и основные производственные параметры. В течение исследованного периода (30 дней) опытная группа шиншилл, кормленная гранулированной смесью с прибавкой аромата осуществила статистически сигнификантное уменьшение грызни меха ($p < 0,01$) в отношении контрольной группы. Также, в опытной группе записано всего 5% грызни меха из совокупного числа единичных животных в этой группе (20 шиншилл), а у контрольной группы с таким же числом животных процент грызни был значительно больший и составлял (в сумме) 30%.

Положительные эффекты добавки аромата зарегистрированы и для других испытанных факторов, ибо опытная группа шиншилл на конце опыта осуществила большую массу тела (1,36%), а затем лучший прирост (21,18%), увеличенное потребление корма (0,43%) и лучшую конверсию (17,13%) в сравнении с контрольной группой, которая кормом не потребляла ароматическую добавку.

Ключевые слова: шиншилла, аромат, мех, конверсия, прирост

**NALAZ SALMONELA NA TRUPOVIMA SVINJA U TOKU
KLANJA I OBRADE******SALMONELLA ON PIG CARCASSES DURING SLAUGHTER
AND PROCESSING***

N. Karabasil, Nataša Pavličević, Nataša Galić, Mirjana Dimitrijević,
Jasna Lončina, Jelena Ivanović, M. Ž. Baltić**

Salmonele spadaju među važnije patogene, a meso svinja jedan je od glavnih izvora infekcije potrošača. Cilj ovoga rada je da se ispita prisustvo salmonela na trupovima svinje posle omamljivanja i nakon završene obrade. Uzorkovanja su sprovedena u dve klanice (klanica A i klanica B). Uzorci iz klanice A uzeti su u dva navrata (uzorkovanje I i II, ukupno 300 uzoraka) a u klanici B jednom (uzorkovanje III, ukupno 120 uzoraka), sa trupova svinja nakon omamljivanja i po završenoj obradi. Od ukupnog broja pregledanih uzoraka, procenat pozitivnih uzoraka na salmonelu, na trupovima posle omamljivanja je 46,7 % (90/42), a iz uzoraka sa trupova nakon završene obrade 3,3 % (90/3). Operacije na liniji klanja, mogu imati uticaja na kontaminaciju trupova salmonelama.

Ključne reči: salmonela, svinje, trupovi, kontaminacija

Uvod / Introduction

Pored mesa živine i jaja, meso svinja i proizvodi od mesa svinja su jedan od važnijih izvora infekcije salmonelama, najčešće kao rezultat kontaminacije *Salmonella Typhimurium* (Berends i sar., 1997; 1998a; 1998b). Prevalenca salmonela u svežem mesu je u direktnoj vezi sa nalazom kod životinja i, naravno, zavisi od daljeg tehnološkog procesa kojem se podvrgava trup/meso kao namirnica. Za otkrivanje izvora kontaminacije salmonelama u lancu proizvodnje mesa, značajan podatak predstavlja informacija o nalazu ovih bakterija na farmi (Korsak i sar., 2003). Unakrsna kontaminacija u klanici predstavlja značajan problem sa aspekta

* Rad primljen za štampu 13. 01. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Neđeljko Karabasil, docent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; Nataša Pavličević, Veterinarski specijalistički institut Subotica, Subotica, Nataša Galić, Institut za javno zdravlje Srbije, dr sc. med. vet. Mirjana Dimitrijević, docent, Jasna Lončina, Jelena Ivanović, dr sc. med. vet. Milan Ž. Baltić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

bezbednosti hrane (De Busser i sar., 2011; Mannion i sar., 2011; De Sadeleer i sar., 2008; Karabasil i sar., 2008; Rostagno i sar., 2007; Karabasil i sar., 2007; Kraken i sar., 2003; Small i sar., 2002), a prilog ovoj činjenici je podatak da je utvrđeno povećanje prevalencije *S. enterica* od farme do klanice (Hurd i sar., 2001a; Hurd i sar., 2001b; Letellier i sar., 1999). Istraživanja u SAD-u i Evropi pokazala su da je *S. enterica* široko rasprostranjena u lancu proizvodnje mesa svinja (Alban i sar., 2011; Rostagno i sar., 2010; Karabasil, 2006; Rostagno i sar., 2003; Swanenburg i sar., 2001). U eksperimentalnim uslovima svinje se mogu inficirati salmonelama za relativno kratko vreme (Hurd i sar., 2001a; Hurd i sar., 2001b). U uslovima redovne proizvodnje infekcija može biti posledica transporta, zatim boravka životinja u stočnom depou, uskraćivanja hrane, velike gustine/broja životinja na ograničenom prostoru kada se ovaj patogen kod svinja češće izlučuje (Alban i sar., 2011).

Cilj ovoga rada je da se ispita prisustvo salmonela na trupovima svinja posle omamljivanja i nakon završene obrade, a pre hlađenja.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Uzorkovanja su sprovedena u dve klanice (*klanica A* i *klanica B*). Linija klanja i obrade u *klanici A* je automatizovana i transport duž linije se obavlja pomoću konvejskih sistema. Prema satnom kapacitetu, na ovoj liniji se zakolje i obradi oko 150 svinja h⁻¹. Linija klanja i obrade svinja u *klanici B* je malog satnog kapaciteta i obavlja se više operacija na jednom radnom mestu. Na ovoj klanici zakolje se i obradi oko 10 svinja h⁻¹. Uzorci iz *klanice A* uzeti su u dva navrata (uzorkovanje I i II) a u *klanici B* (uzorkovanje III) jednom.

Za uzimanje uzoraka sa trupa svinja u klanici A izabrane su životinje koje potiču sa iste farme, a u klanici B iz otkupa od individualnih uzgajivača i čiji transport nije trajao duže od 2,5 časa. Brisevi sa kože 90 svinja (uzorkovanje I, 30; uzorkovanje II, 30; uzorkovanje III, 30) uzeti su neposredno posle omamljivanja i nakon završene obrade trupa. Nakon omamljivanja brisevi su uzeti sa tri mesta (1 – grudi, 2 – but i 3 – koren repa) u klanici A i dva mesta u klanici B (1 – grudi i 2 – but), dok su po završenoj obradi brisevi uzeti sa dva mesta na trupu (1 – grudi i 2 – but) i u jednoj i u drugoj klanici. Ukupno je obrađeno i ispitano 240 briseva na prisustvo salmonela sa trupova svinja posle omamljivanja i 180 briseva nakon završene obrade (tabela 1).

Postupak uzimanja brisa i metoda izolacije salmonela sprovedena je prema Small i sar. (2002). Za uzimanje uzoraka korišćeni su ravni celulozni sunderi veličine 20 x 18 cm, presavijeni na pola. Tako presavijen sunder je ponovo presavijen na pola i stavljen u sterilnu stomaher kesu zapremine 400 ml. Svaki sunder je navlažen neposredno pre upotrebe, sa 10 ml MRD (*Maximum Recovery Diluent*). Preko spoljašnje strane stomaher kese, bris je fiksiran jednom rukom. Otvor stomaher kese je prevučen preko iste ruke, kao rukavica, tako da je omogućeno uzimanje uzorka/brisa sa ciljane površine. Sterilni šablon sa otvorom

10 cm x 10 cm (100 cm²) je oslanjan na površinu sa koje se želi uzeti bris. Sunder je stavljan na označenu površinu šablona i uzorak brisa je uzet jednim potezom prevlačenjem sundera sa leve na desnu stranu. Na neravnim površinama, na kojima metalni šablon nije mogao da se koristi, brisevi su uzeti sa površine koja je vizuelno procenjena. Nakon uzimanja brisa, stomaher kesa je svučena sa ruke i presavijena. Uzeti uzorci su čuvani pri + 2°C ± 2°C i obrađeni u laboratoriji u roku od dva sata od momenta uzorkovanja.

Tabela 1. Uzorci briseva za izolaciju salmonela sa trupova svinja /
Table 1. Smear samples for isolation of salmonella from pig carcasses

Uzorkovanje (klanica) / Sampling (slaughterhouse)	Trup svinja posle omamljivanja / Pig carcass after stunning					Trup svinja posle obrade / Pig carcass after processing			
	Nt	Mesto na trupu / Site on carcass			Nb	Nt	Mesto na trupu / Site on carcass		Nb
		G	B	R			G	B	
I (A)	30	30	30	30	90	30	30	30	60
II (A)	30	30	30	30	90	30	30	30	60
III (B)	30	30	30	–	60	30	30	30	60
Ukupno / Total	90	90	90	90	240	90	90	90	180

Napomena: Nt – ukupan broj trupova svinja; Nb – ukupan broj briseva; G – grudi; B – but; R – koren repa

Note: Nt – total number of pig carcasses; Nb – total number of smears; G – breast; B – leg; R – base of tail

U laboratoriji, 90 ml MRD je naliveno u stomaher kese sa brisevima. Brisevi su manuelno homogenizovani („gnječeni“) jedan minut, da bi prisutni mikroorganizmi prešli sa površine brisa u MRD. Homogenizat je naliven u količini od 10 ml u 240 ml BPW (*Buffer Peptone Water*) podloge za predobogaćenje. Nakon predobogaćenja u BPW tokom 16-20 časova pri 37°C, 0,1 ml je zasejan u 10 ml RV (*Rappaport Vassiliadis Broth*) i 10 ml u 100 ml SCB (*Selenite Cysteine Broth*). Bujoni su inkubisani pri 42°C (RV) i 37°C (SCB) tokom 24 časa. Alikvot iz jednog odnosno drugog bujona je presejan omčicom na površinu ploča BGA i XLD agara. Ploče su inkubisane tokom 24 časa na 37°C. Podloga SCB je vraćena u termostat još 24 časa na 37°C, nakon čega je obavljeno zasejavanje kao što je prethodno opisano. Ploče BGA (*Brilliant Green Agar*) i XLD (*Xylose Lysine Desoxycholate Agar*) agara na kojima nije bilo rasta posle 24 časa, vraćene su u termostat na još 24 časa inkubacije na 37°C. Sumnjive kolonije sa BGA (crvene) i XLD agara (crvene sa crnim centrom) su zasejane metodom iscrpljivanja na PCA (*Plate Count Agar*) (24 časa na 37°C) i kasnije potvrđene korišćenjem sledećih testova: bojenje po Gramu (-), dvostruki šećer (kosina crvena/stubić žut-crni), katalaza (-), oksidaza (-) i ureaza (-) test, polivalentni serum O i H. Kolonije salmonela su presejane na kosi agar (PCA) za serotipizaciju. Određivanje serotipa, izolovanih salmonela, urađeno je na Institutu za zaštitu zdravlja Srbije, metodom brze aglutina-

cije (aglutinacija na pločici) sa komercijalno pripremljenim serumima (Institut za zaštitu zdravlja Srbije). Antigena formula za *Salmonella* spp. očitavana je prema Popoff-u (2001).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Nalaz salmonela na trupovima svinja posle omamljivanja: Prvi deo naših istraživanja odnosi se na zastupljenost salmonela na trupovima svinja posle omamljivanja i rezultati su prikazani u tabeli 2. Salmonela je izolovana sa kože svinja kod 46,7% pregledanih trupova sa kojih su uzeti brisevi neposredno posle omamljivanja. Procentualna zastupljenost trupova sa kojih je izolovana salmonela za klanicu A je, za uzorkovanje I (20%) i II (53,3%), a za klanicu B 66,7% (uzorkovanje III).

Tabela 2. Nalaz salmonela na koži trupa svinja posle omamljivanja /
Table 2. *Salmonella* findings on pig carcass skin following stunning

Uzorkovanje (klanica) / Sampling (slaughterhouse)	Trupovi svinja nakon omamljivanja / Pig carcasses after stunning		
	n	S	%
I (A)	30	6	20,0
II (A)	30	16	53,3
III (B)	30	20	66,7
I+II+III	90	42	46,7

Napomena: n – broj pregledanih trupova svinja; S – broj pozitivnih trupova na salmonela /
Note: n – number of examined pig carcasses; S – number of carcasses positive to salmonella

Prisustvo salmonela na trupu u velikoj meri zavisi i od prisustva u intestinalnom traktu. Približno 70% kontaminiranih trupova svinja potiču od zdravih nosilaca salmonela (Berends i sar., 1997) i u najvećem broju slučajeva serotip koji je izolovan iz crevnog sadržaja izolovan je i sa kože trupa zaklanih svinja.

Rezultati prethodnih istraživanja Karabasila i sar. (2006) jasno ukazuju da je stočni depo za svinje redovno kontaminiran salmonelama. Ovu tvrdnju potkrepljuje i činjenica da je isti serotip *S. Typhimurium* izolovan u stočnom depou, zatim boksu za omamljivanje kao i na trupu svinja u klanici A. U klanici B, prilikom uzorkovanja III, na klanju su bile svinje iz otkupa od individualnih proizvođača, koje su dopremljene iz neposredne okoline klanice. Sa površina u stočnom depou i boksu za omamljivanje izolovan je serotip *S. Mbandaka* koji je kasnije izolovan i sa trupa omamljenih svinja. Ostali serotipovi (*S. Senftenberg*, *S. Menston* i *S. Bredeney*) koji su izolovani sa trupa svinja nisu nađeni na površinama u stočnom depou i boksu za omamljivanje.

Korsak i sar. (2003) pratili su nalaz salmonela duž lanca proizvodnje svinja i mesa svinja. Oni u svom radu navode приметно povećanje kontaminacije salmonelama u klanici. Larsen i sar. (2003) iz SAD-a navode da je tokom pet

uzorkovanja farma-klanica primetno povećanje prevalencije *S. enterica* od farme (3%; 5 od 181 uzorka) do klanice (41%; 74 od 180 uzoraka). Kanađani Letellier i sar. (1999) navode da je prevalencija salmonela u klanici samo 5,2%, ali u ovom slučaju limitirajući faktor je količina uzorka od 1 g cekalnog sadržaja, dok su Korsak i sar. (2003) za uzorak koristili 25 g cekalnog sadržaja od pet životinja. Sa druge strane, nalaz salmonela na trupu zaklanih svinja prema Korsaku i sar. (2003) opada tokom obrade, što govori da se primenjuje dobra proizvođačka praksa i poštuju načela higijene.

Brisevi su u klanici A uzimani sa tri mesta na trupu – grudi, but i koren repa, a u klanici B sa dva mesta na trupu (grudi i but). Najčešći nalaz salmonela bio je na grudima 30,0%, dok je iz uzoraka buta i korena repa bio niži i iznosio je 23,3%, odnosno 13,3% (tabela 3). U tabeli 4 prikazan je broj i procentualna zastupljenost trupova na kojima je salmonela utvrđena u samo jednom (34,4%), dva (8,9%) ili sva tri ispitana uzorka (5,0%) sa trupa.

Tabela 3. Nalaz salmonela na grudima, butu i korenu repa trupa svinja posle omamljivanja / Table 3. *Salmonella findings on breast, leg and tail base of pig carcasses after stunning*

Uzorkovanje (klanica) / <i>Sampling</i> (<i>slaughterhouse</i>)	Grudi / <i>Breast</i>			But / <i>Leg</i>			Koren repa / <i>Tail base</i>			Ukupno / <i>Total</i>		
	n	S	%	n	S	%	n	S	%	n	S	%
I (A)	30	6	20,0	30	0	-	30	0	-	90	6	6,7
II (A)	30	11	36,7	30	7	23,3	30	8	26,7	90	26	28,9
III (B)	30	10	33,3	30	14	46,7	NI	-	-	60	24	40,0
I+II+III	90	27	30,0	90	21	23,3	60	8	13,3	240	56	23,3

Napomena: n – broj pregledanih uzoraka; S – broj pozitivnih uzoraka na salmonelu; NI – nije ispitano / Note: n – number of examined samples; S – number of samples positive to salmonella; NI – not examined

Tabela 4. Broj i procentualna zastupljenost pregledanih trupova sa kojih je salmonela izolovana iz jednog, dva i tri uzorka / Table 4. *Number and percentage of examined carcasses from which salmonella was isolated in one, two, or three samples*

Uzorkovanje (klanica) / <i>Sampling</i> (<i>slaughterhouse</i>)	Trupovi svinja nakon omamljivanja / <i>Pig carcasses after stunning</i>								
	n	S1	%	n	S2	%	n	S3	%
I (A)	30	6	20,0	30	0	-	30	0	-
II (A)	30	9	30,0	30	4	13,3	30	3	10
III (B)	30	16	53,3	30	4	13,3	NI	-	-
I+II+III	90	31	34,4	90	8	8,9	60	3	5

Napomena: n – broj pregledanih trupova (u klanici A je sa svakog trupa uzet bris sa grudi, buta i korena repa, dok je u klanici B uzet sa grudi i buta); S1 – broj trupova sa kojih je salmonela izolovana iz jednog uzorka; S2 – broj trupova sa kojih je salmonela izolovana iz dva uzorka; S3 – broj trupova sa kojih je salmonela izolovana iz tri uzorka; NI – nije ispitano /

Note: n – number of examined carcasses (in Slaughterhouse A smears were taken from each carcass from the breast, leg, and tail base, while in Slaughterhouse B from the breast and leg); S1 – number of carcasses from which salmonella was isolated in one sample; S2 – number of carcasses from which salmonella was isolated in two samples; S3 – number of carcasses from which salmonella was isolated in three samples; NI – not examined

Serotipovi salmonela koji su izolovani sa trupova svinja nakon omamljivanja su *S. Typhimurium*, *S. mbandaka*, *S. senftenberg*, *S. menston* i *S. bredeny*. *S. Typhimurium*, i var. Copenhagen izolovani su sa trupova svinja u klanici A, dok su ostali serotipovi izolovani u klanici B. Najčešće izolovani serotipovi iz uzoraka svinja (Anon, 2002) u većini zemalja EU su: *S. Typhimurium* (57,0%), *S. Derby* (10,4%), *S. Bovismorbificans* (3,2%), *S. Infantis* (2,9%) i *S. Branderburg* (2,0%). Sa druge strane, najčešće izolovani serotipovi iz mesa svinja su: *S. Typhimurium* (37%), *S. Derby* (18%), *S. Infantis* (4%), *S. Enteritidis* (1%), i *S. Anatum* (1%).

Nalaz salmonela na trupovima svinja posle obrade – drugi deo naših istraživanja odnosi se na zastupljenost salmonela na trupovima svinja nakon obrade i rezultati su prikazani u tabeli 5. Na ispitanim trupovima u klanici A nije utvrđena salmonela ni u jednom uzorku sa grudi, buta ili korena repa. Od pregledanih 30 trupova u klanici B, salmonela je izolovana sa tri trupa iz brisa grudi, dok su uzorci buta bili negativni. Izolovani su serotipovi *S. Mbandaka* i *S. Bredeney*. Ako zbirno prikažemo rezultate za sva tri uzorkovanja, procentualna zastupljenost pozitivnih trupova na salmonelu, u odnosu na pregledan broj trupova po završnoj obradi, iznosi 3,3%.

Tabela 5. Nalaz salmonela na koži trupa svinja nakon obrade /
Table 5. Salmonella findings on pig carcass skin after processing

Uzorkovanje (klanica) / <i>Sampling (slaughterhouse)</i>	Trupovi svinja nakon obrade / <i>Pig carcasses after processing</i>		
	n	S	%
I (A)	30	-	-
II (A)	30	-	-
III (B)	30	3 ^G	10,0
I+II+III	90	3	3,3

Napomena: n – broj pregledanih trupova svinja; S – broj pozitivnih trupova na salmonele; G – salmonela izolovana sa kože grudi /

Note: n – Number of examined pig carcasses; S – number of carcasses positive to salmonella; G – salmonella isolated from breast skin

Operacije na liniji klanja mogu imati uticaja na kontaminaciju salmone-lama. Nalaz salmonela može varirati od 0% do 100 %, premda je najčešće između 5% i 30% trupova kontaminirano po završnoj obradi (Osterom and Notermans, 1983; Morgan i sar., 1987). U klanici B, trupovi se posle izbrijavanja dlaka spuštaju na pod, a zatim podižu na kolosek, gde se na jednom radnom mestu otvaraju trupovi, vade unutrašnji organi i trupovi rasecaju na polutke. Sigurno da kritičan momenat na ovakvoj liniji predstavlja spuštanje trupova na pod (po izbrijavanju

dlaka) koji može biti kontaminiran salmonelom. Nalaz salmonela na trupu svinja po završnoj obradi prema podacima iz Italije je 6 % (Bonardi i sar., 2003), Švajcarske 0,2 % (Sauli i sar., 2003) Velike Britanije 5,3% (Davis i sar., 2000), Nemačke 4,7% (Kashborer i sar., 2000).

Zaključak / Conclusion

Iako se kontaminacija/infekcija svinja salmonelama može desiti na bilo kojoj tački od farme do klanice, treba naglasiti da i klanica ima značajnu ulogu u ovom procesu. Površine u stočnom depou i boksu za omamljivanje redovno su kontaminirane salmonelom i mogu predstavljati izvore unakrsne kontaminacije životinja pa i trupova na liniji klanja svinja. Operacije na liniji klanja, takođe mogu imati uticaja na kontaminaciju trupova salmonelama. Samim tim poštovanje dobre proizvodne prakse i dobre higijenske prakse u svim fazama na liniji klanja i obrade su od ključne važnosti za kontrolu kontaminacije trupova svinja salmonelama u klanici.

Literatura / References

1. Alban L, Baptisa FM, Mogelmose V, Sorensen LL, Christensen H, Aabo S, Dahl J. Salmonella surveillance and control for finisher pigs and pork in Denmark – A case study. Food Research International, FRIN-03583. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.050>
2. Anon. Trends and Sources of Zoonotic Agents in Animals, Feedstuffs, Food and Man in the European Union and Norway to the European Commission in accordance with Article 5 of the Directive 92/117/EEC, prepared by the Community Reference Laboratory on the epidemiology of Zoonoses, BgVV, Berlin, Working document SANCO/927/2002, Part 1: 45-122.
3. Berends BR, Van Knapen F, Snijders JM, Mossel DA. Identification and quantification of risk factors regarding salmonella spp., on pork carcasses. Int J Food Microbiol 1997; 36: 199-206.
4. Berends BR, Van Knapen F, Mossel DA, Burt SA, Snijders JMA. Impact on human health of Salmonella spp. on pork in the Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. Int J Food Microbiol 1998a; 44: 219-29.
5. Berends BR, Van Knapen F, Mossel DA, Burt SA, Snijders JM. *Salmonella* spp. On pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. Int J Food Microbiol 1998b; 44: 207-17.
6. Bonardi S, Brindani F, Piyyin G, Lucidi L, Incau MD, Liebana Morabito S. Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and Verocytotoxin Escherichia coli O157 in pigs at slaughter in Italy. Int J Food Microbiol 2003; 85: 101-10.
7. Davis R, Paiba G, Evans S, Dalziel B. Surveys for *Salmonella* in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain. Vet Rec 2000; 147: 695.
8. De Busser VE, Maes D, Houf K, Dewulf J, Imberechts H, Bertrand S, De Zutter L. Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. Int J Food Microbiol 2011; 145: 279-86.

9. De Sadeleer L, Dewulf J, De Zutter L, Van der Stede Y, Ribbens S, De Busser E, Quoilin S, Houf K, Delhalle L, Grijspeerd K, Maes D. A qualitative risk assessment for human salmonellosis due to the consumption of fresh pork in Belgium. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 2008; 78: 34-41.
10. Hurd HS, Gailey JK, Mc Kean JD, Rostagno MH. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment. Berl Muench Tieraerztl Wochenschr 2001a; 114: 382-4.
11. Hurd HS, Gailey JK, McKean JD, Rostagno MH. Rapid infection in market – weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium contaminated environment, Am J Vet Res 2001b; 62: 1194-7.
12. Letellier A, Messier S, Quessy S. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. J Food Prot 1999; 62: 22-5.
13. Karabasil N. Putevi kontaminacije trupova svinja u klanici i njihovo ponašanje u mesu. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd 2006; 78-88.
14. Karabasil N, Kilibarda N, Baltić MŽ, Dimitrijević M, Teodorović V. Nalaz salmonela u stočnom depou klanica za svinje. Zbornik kratkih sadržaja 54. međunarodnog savetovanja industrije mesa. Vrnjačka Banja, 18-20. juni, 2007; 49.
15. Karabasil N, Dimitrijević M, Kilibarda N, Teodorović V, Baltić ŽM. Značaj salmonela u proizvodnji mesa svinja. Veterinarski glasnik 2008; 62(5-6): 259-75.
16. Kashborer A, Protz D, Helmuth R, Nockler K, Conraths FJ, Geue L. *Salmonella* in slaughtered pigs of German origin: an epidemiological study. Eur J Epidemiol 2000; 16: 141-6.
17. Korsak N, Jacob B, Groven B, Etienne G, China B, Ghafir Y, Daube G. *Salmonella* Contamination of Pigs and Pork in an Integrated Pig Production Systems. J Food Prot 2003; 66(7): 1126-33.
18. Kraken S, Alban L, Boes J, Dahl J. Longitudinal Study of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Infection in Three Danish Farrow-to-Finish Swine Herds. J Clin Microbiol 2003; 41(6): 2282-8.
19. Larsen ST, McKean JD, Hurd HS, Rostagno MH, Griffith MH, Wesley IV. Impact of commercial Preharvest Transportation and Holding on the Prevalence of *Salmonella enterica* in Cull Sows. J Food Protect 2003; 66(7): 1134-8.
20. Letellier A, Messier S, Quessy S. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. J Food Prot 1999; 62: 22-5.
21. Mannion C, Fanning J, McLernon J, Lendrum L, Gutierrez M, Duggan S, Egan J. The role of transport, lairage and slaughter processes in the dissemination of *Salmonella* spp. in pigs in Ireland. Food Res Int (in press), 2011.
22. Morgan IR, Krautil FL, Kraven JA. Effect of time in lairage on caecal and carcass salmonella contamination of slaughter pigs. Epidemiol Infect 1987; 98: 323-30.
23. Osterom J, Notermans S. Further research into the possibility of salmonella-free fattening and slaughter pigs. J Hyg (Cambridge) 1983; 91: 59-69.
24. Popoff MY. Antigenic Formulas of the Salmonella Serovas. 8th Edition, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, 2001.
25. Rostagno MH, Hurd HS, McKean JD, Ziemer CJ, Gailey JK, Leite RC. Preslaughter Holding Environment in Pork Plants Is Highly Contaminated with *Salmonella enterica*. Appl Environm Microbiol 2003; 4489-94.
26. Rostagno MH, Hurd HS, McKean JD. *Salmonella enterica* prevalence and serotype distribution in swine at slaughter. Proceedings of the Seventh International Safe-pork Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, Verona, Italy, May 9–11, 2007; 153-5.

27. Rostagno MH, Eicher SD, Lay Jr DC. Does pre-slaughter stress affect pork safety risk? Proceedings of the 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, July 18-21, 2010; 176.
28. Sauli I, Danuser J, Wenk C, Stark KD. Evaluation of the Safety Assurance Level for Salmonella spp. throughout the Food production Chain in Switzerland. J Food Prot 2003; 66(7): 1139-45.
29. Small A, Reid CA, Avery SM, Karabasil N, Crowley C, Buncic S. Potential for the spread of Escherichia coli O 157, Salmonella, Campylobacter in the Lairage Environment at Abattoirs. J Food Prot 2002; 65(6): 931-6.
30. Swanenburg M, Urlings HAP, Keuzenkamp DA, Snijders JMA. Salmonella in the Lairage of Pig Slaughterhouses. J Food Prot 2001, 64(1): 12.

ENGLISH

SALMONELLA ON PIG CARCASSES DURING SLAUGHTER AND PROCESSING

N. Karabasil, Nataša Pavličević, Nataša Galić, Mirjana Dimitrijević, Jasna Lončina, Jelena Ivanović, M. Ž. Baltić

Salmonella is one of the most important zoonotic pathogens and the consumption of pork meat is one of the major sources of human infection. The aim of this study was to investigate the presence of salmonella on pig carcasses. Samples were taken from slaughterhouse A in two instances (sampling I and II, a total of 300 samples) and in slaughterhouse B once (sampling III, a total of 120 samples), from pork carcasses after stunning and after the processing. Of the total number of examined samples, the percentage of positive samples for salmonella from pork carcasses after stunning was 46.7% (90/42), and samples from the carcasses after processing 3.3% (90/3). Operations taking place on the slaughter line could have an effect on the salmonella contamination of carcasses.

Key words: salmonella, pigs, surfaces, contamination

РУССКИЙ

РЕЗУЛЬТАТ САЛЬМОНЕЛЛ НА ТУЛОВИЩАХ СВИНЕЙ В ТЕЧЕНИЕ УБОЯ И ОБРАБОТКИ

Н. Карабасил, Наташа Павичевич, Наташа Галич, Миряна Димитриевич, Ясна Лончина, Елена Иванович, М. Ж. Балтич

Сальмонеллы относятся к более важным патогенам, а мясо свиней один из главных источников инфекции потребителей. Цель этой работы испытать присутствие сальмонелл на туловищах свиньи после приманивания и после окончания обработки. Отборы проб проведены в две скотобойни (скотобойня А и скотобойня Б). Образцы из скотобойни А взяты в два крата (отбор проб I и II, совокупно 300 образцов) а в скотобойне Б однажды (отбор проб III, совокупно 120 образцов), с туловищей свиней после приманивания и по законченной обработке. От

совокупного числа осмотренных образцов, процент положительных образцов на сальмонеллу, на туловищах после приманивания 46,7% (90/3). Операции на линии убоя, могут иметь влияния на контаминацию туловищей сальмонеллами.

Ключевые слова: сальмонелла, свиньи, туловища, контаминация

**ISTRAŽIVANJE DEGRADACIJE AFLATOKSINA M₁
U MLIJEKU***
INVESTIGATION OF AFLATOXIN M₁ DEGRADATION IN MILK

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

Aflatoksin M₁ je veoma toksičan metabolit aflatoksina B₁ i B₂. S obzirom na to da je jedan od najpotentnijih hepatokarcinogena, mutagena, teratogena i imunosupresora, a hrana za životinje često bude kontaminirana aflatoksinogenim gljivicama i aflatoksinima, moguća je i kontaminacija mlijeka i mliječnih proizvoda aflatoksinom M₁.

Vještački kontaminirano mlijeko aflatoksinom M₁ je bilo podvrgnuto uticaju fizikalnih procesa (uticaj niske temperature od -18°C i izlaganja mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni), te uticaju vremena držanja (od 1 do 12 mjeseci), kao i uticaju kombinacija navedenih postupaka, nakon čega je praćen nivo degradacije aflatoksina M₁.

Uzorci vještački kontaminiranog mlijeka, nakon pojedinačno provedenih postupaka su podvrgavani istraživanjima uz korištenje ELISA metode.

Primjećeno je neznatno smanjenje koncentracije toksina, što ukazuje na to da vrijeme i temperatura od -18°C ne utiču znatnije na koncentraciju aflatoksina M₁ u vještački kontaminiranom sirovom mlijeku, dok postupak tretiranja mlijeka mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni nije značajnije uticao na postotak apsorbance aflatoksina M₁.

Ključne riječi: mlijeko, aflatoksin, ELISA

Uvod / Introduction

Aflatoksin M₁ je veoma toksičan 4-hidroksilirani metabolit aflatoksina B₁ i B₂. S obzirom na to da se javlja u mlijeku sisara koji su hranjeni hranom kontaminiranom spomenutim aflatoksinima, oznaku M je dobio od engleske riječi *milk* (mlijeko). S obzirom na to da je jedan od najpotentnijih hepatokarcinogena,

* Rad primljen za štampu 27. 03. 2012. godine

** Mr sc. Ahmed Smajlović, dr sc. Mehmed Muminović, profesor, dr sc. Indira Mujezinović, docent, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Bosna i Hercegovina; dr sc. med. vet. Vitomir Čupić, profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Srbija

mutagena, teratogena i imunosupresora, a hrana za životinje često bude kontaminirana aflatoksinogenim gljivicama i aflatoksinima, moguća je i kontaminacija mlijeka i mliječnih proizvoda aflatoksinom M₁. Zbog toga je i veoma značajna njegova blagovremena detekcija i određivanje koncentracije u mlijeku i mliječnim proizvodima za ishranu ljudi (Eaton i Groopman, 1994; Prandini i sar., 2009).

U literaturi postoje različiti, pa čak i oprečni podaci o tome da neki postupci koji su uobičajeni kod obrade i držanja mlijeka, kao što su skladištenje i zamrzavanje na -18°C utiču, odnosno ne utiču značajno na nivo aflatoksina M₁ u mlijeku (Manorama i Singh, 1995). Postoje određeni podaci o uticaju mikrotalasa na aflatoksin B₁ u supstratima biljnog porijekla kao što je kikiriki (Prado i Oliveira, 1996). Međutim, u literaturi nismo uspjeli naći podatke o uticaju mikrotalasa na stabilnost aflatoksina M₁ u vještački kontaminiranom mlijeku, što smo željeli provjeriti. Također, želja nam je bila da provjerimo stabilnost aflatoksina M₁ u vještački kontaminiranom mlijeku skladištenom na niskim temperaturama tokom dužeg vremenskog perioda (do godinu dana).

Postoje različiti literaturni podaci da neki postupci koji su uobičajeni kod obrade i držanja mlijeka, kao što su držanje tokom 4-6 dana na 0°C (Rustom, 1997; Stoloff i sar., 1975; Manorama i Singh, 1995), smrzavanje 0 do 80 dana na -18°C (Aman, 1995; Stoloff i sar., 1975) ili tokom 6 dana na -18°C (Manorama i Singh, 1995), pasterizacija (Applebaum i sar. 1982; Manorama i Singh, 1995) i kuhanje (Stoloff i sar., 1975; Manorama i Singh, 1995; CAST, 2003), utiču na nivo aflatoksina M₁ u mlijeku. S te strane, za očekivati je da i drugi fizikalni procesi, kao što su mikrotalasi, mogu također uticati na nivo aflatoksina M₁ u mlijeku. Pošto takvih podataka u literaturi nema, naš zadatak je bio da se provjeri i eventualno utvrdi kakav je uticaj tretiranja uzoraka mlijeka mikrotalasima na degradaciju aflatoksina M₁.

Ovoj pretpostavci ide u prilog to što istovremeno ima podataka da neki postupci obrade i držanja mlijeka, kao što su držanje 17 dana na 4°C (Stoloff i sar., 1975), smrzavanje tokom 120 dana na -18°C (Manorama i Singh, 1995), zatim tokom nekoliko mjeseci na -18°C (Eaton i Groopman, 1994), pasterizacije (Krogh, 1987; Park i Liang, 1993; Roginski, 2002; Stoloff i sar., 1975; CAST, 2003) i kuhanja (Aman, 1995; Eaton i Groopman, 1994; Roginski, 2002) ne utiču značajno na nivo aflatoksina u mlijeku. Kako su rezultati navedenih autora uglavnom oprečni, za pretpostaviti je da bi naši rezultati, dobijeni pod određenim uvjetima provođenja nekih fizikalnih postupaka, mogli potvrditi rezultate jedne ili druge grupe autora i prvi put prezentirati uticaj mikrotalasa na nivo aflatoksina M₁ u uzorcima vještački kontaminiranog mlijeka.

Zbog svega navedenog, cilj našeg rada bio je:

1. utvrditi uticaj mikrotalasa na degradaciju aflatoksina M₁ u vještački kontaminiranom sirovom mlijeku i
2. utvrditi uticaj trajanja skladištenja uzoraka mlijeka na temperaturi od -18°C na nivo aflatoksina M₁ u vještački kontaminiranom sirovom mlijeku.

Materijal i metode istraživanja / Material and methods

Istraživanje je provedeno tokom 12 mjeseci. Prvo je obavljeno jedno-kratno uzorkovanje ukupno 120 litara mlijeka koje je zaleđeno na temperaturi od -18°C. Nakon toga, mlijeko je vještački kontaminirano aflatoksinom M₁ u koncentraciji od 0,05 µg/kg, a što je i maksimalna dozvoljena količina ovog toksina u sirovom mlijeku prema Regulativi EC 1881/2006 i Pravilniku o maksimalnim dozvoljenim količinama određenih kontaminanata u hrani (Službeni glasnik BiH 37/09). Koncentracija toksina je provjeravana u 6 turnusa: nakon jednog, dva, tri, četiri i šest mjeseci i nakon godinu dana.

Vještački kontaminirano mlijeko aflatoksinom M₁ je bilo podvrgnuto uticaju fizikalnih procesa (uticaj niskih temperatura oko -18°C i izlaganja mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni), te uticaju vremena držanja (1 mjesec, 2 mjeseca, 3 mjeseca, 4 mjeseca, 6 mjeseci i godinu dana), kao i uticaju kombinacija navedenih postupaka, nakon čega je praćen nivo degradacije aflatoksina M₁.

Izlaganje mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni se provodilo nakon odmrzavanja mlijeka u trajanju od 5 minuta na 700 W.

Uzorci vještački kontaminiranog mlijeka, nakon pojedinačno provedenih postupaka su podvrgavani istraživanjima uz korištenje enzimske imunosorpcione analize (ELISA), koja se danas najčešće koristi za rutinsku dijagnostiku aflatoksina M₁ (Shephard i sar., 2011). Za korištenje ELISA metode smo se odlučili jer je ELISA jednostavna, dovoljno precizna, jeftina i pouzdana metoda za analizu više uzoraka u kratkom vremenskom periodu, a korišten je komercijalni Ridascreen® Aflatoksin M₁ (e-Biopharm, Njemačka).

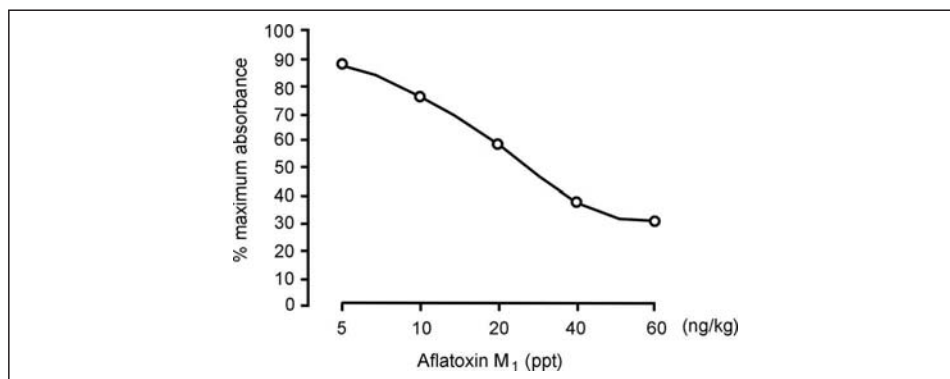
Za interpretiranje rezultata, treba istaći da je postotak apsorbance obrnuto proporcionalan koncentraciji toksina, odnosno, što je postotak apsorbance viši, koncentracija aflatoksina M₁ u uzorku mlijeka je niža. Apsorpcija ili apsorbance aflatoksina M₁ obilježenog enzim-konjugatom iskazuje se kao postotak apsorbance prilikom izračunavanja dobivenih rezultata.

Procenat apsorpcije je dobivan tako što su srednje vrijednosti apsorpcije, koje su dobivene za standarde i uzorke, dijeljene s apsorpcionom vrijednošću prvog (nultog) standarda i množene sa 100. Tako je nulti standard jednak 100%, a apsorpcione vrijednosti se označavaju u procentima.

$$\frac{\text{Apsorpcija (apsorbanca) standarda (ili uzorka)}}{\text{Apsorpcija (apsorbanca) nultog standarda}} \times 100 = \% \text{apsorpcije (apsorbance)}$$

Izračunate vrijednosti za standarde se unose u koordinatni sistem na semilogaritamskom grafičkom papiru nasuprot koncentraciji aflatoksina M₁ u ng/l. Kalibraciona krivulja bi trebala biti linearna u rasponu od 10-40 ng/l (ppt). Koncentracija aflatoksina M₁ u ng/l koja odgovara apsorpciji svakog uzorka može se pročitati s kalibracione krivulje. Da bi se dobila stvarna koncentracija aflatok-

sina M₁ u ng/l koja se nalazi u uzorku, koncentracija očitana s kalibracione krivulje se mora dalje umnožiti s odgovarajućim faktorom razrjeđenja, a taj faktor kod mlijeka iznosi 1 (shema 1).



Shema 1. Originalna kalibraciona krivulja analitičkog kita Ridascreen® Aflatoxin M₁ /
Schematic presentation 1. Original calibration curve for analytical kit Ridascreen Aflatoxin M₁

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

S obzirom na to da je mlijeko često kontaminirano različitim mikroorganizmima ili njihovim toksinima, kako tokom procesa samog nastanka mlijeka u mliječnoj žlijezdi, tako i tokom procesa proizvodnje i prerade, značajno mjesto u higijeni mlijeka predstavlja kontaminacija aflatoksinom M₁, koja se dešava nakon metaboličkog prelaza aflatoksina B₁ u aflatoksin M₁, u jetri životinje.

Ovo saznanje je navelo veliki broj autora da pokušaju pojačati nivo degradacije ovog toksina u mlijeku, primjenom različitih fizikalnih procesa (smrzavanje, pasterizacija, kuhanje i sl.), direktnim ili indirektnim putem. Nažalost, dobijeni rezultati bili su oprečni i nisu pružili valjanu informaciju o efektima pomenu-tih fizikalnih procesa u smislu podobnosti kontaminiranog mlijeka u ljudskoj ishrani.

Vodeći se oprečnim navodima nekih autora, želeli smo da provjerimo da li podvrgavanje vještački kontaminiranog sirovog mlijeka aflatoksinom M₁ različitim temperaturnim režimima dovodi do njegove degradacije.

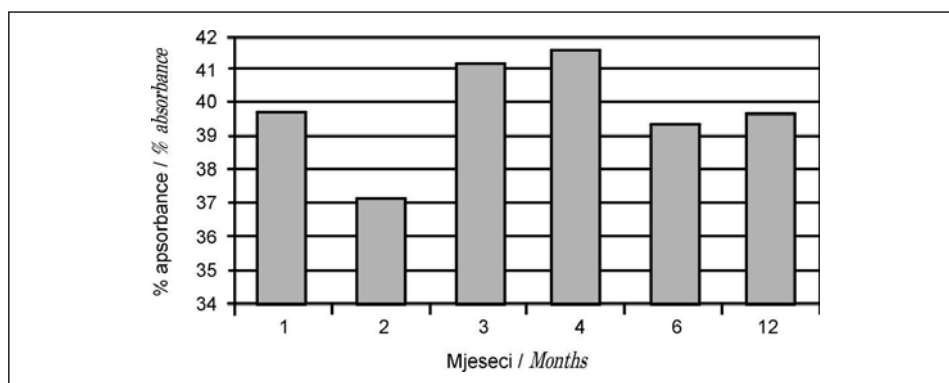
Smrzavanje je jedan od fizikalnih postupaka koji služi za održavanje uzoraka mlijeka prije analize, odnosno njegove upotrebe. Veliki broj autora bavio se proučavanjem stabilnosti aflatoksina M₁ u smrznutom mlijeku. Nalaze prema kojima temperatura od -18°C tokom određenog vremenskog perioda ne utiče značajnije na koncentraciju aflatoksina M₁ u mlijeku navode McKinney i sar. (cit. Manorama i Singh, 1995). Oni su mlijeko kontaminirano aflatoksinom M₁ držali 120 dana na -18°C, kada je došlo do polagane degradacije toksina (za 13%) u

prvih 30 dana. S druge strane, Stoloff i saradnici (1975), u sličnoj studiji, dobili su manji procenat degradacije aflatoksina M_1 u mlijeku, kroz duži vremenski period, dok Eaton i Groopman (1994) smatraju da skladištenje tokom nekoliko mjeseci na temperaturi od -18°C ne utiče značajnije na sadržaj ovog toksina u mlijeku i mliječnim proizvodima.

Sa nalazima navedenih autora se slažu i naši nalazi jer nakon provedenog istraživanja u trajanju od 12 mjeseci i provjeravanja koncentracije aflatoksina M_1 u 6 navedenih turnusa, primjećeno je neznatno smanjenje koncentracije toksina, što ukazuje da vrijeme i temperature od -18°C ne utiču znatnije na koncentraciju aflatoksina M_1 u vještački kontaminiranom sirovom mlijeku.

Dobiveni rezultati upućuju na to da je postupak smrzavanja mlijeka na temperaturi od -18°C neznatno uticao na postotak apsorbance, tako da je taj postotak bio najviši nakon 4 mjeseca – 41,68%, a najniži nakon prvog – 37,19% (graf. 1).

Neravnomjerna distribucija aflatoksina M_1 obično je uzrokovana vještačkom kontaminacijom mlijeka, što nije slučaj pri prirodnoj kontaminaciji kod koje dolazi do metaboličkog prelaza aflatoksina B_1 u aflatoksin M_1 u jetri životinje koji se izlučuje mlijekom.



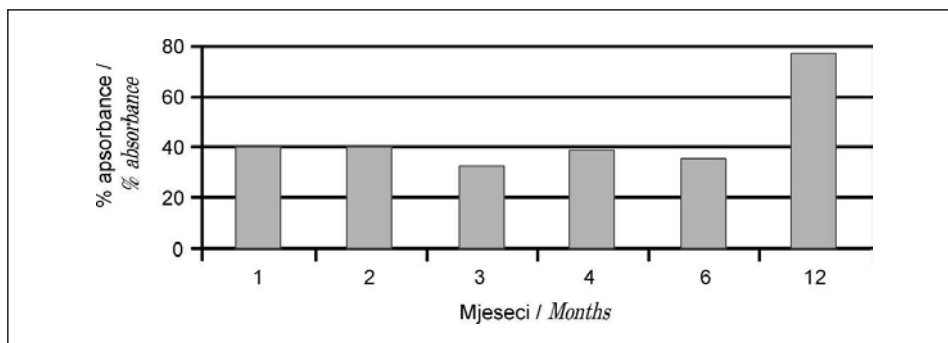
Grafikon 1. Uticaj vremena držanja i temperature (-18°C) na postotak apsorbance aflatoksina M_1 /

Graph 1. Effect of time of maintenance and temperature (-18°C) on percentage of aflatoxin aflatoxin M_1 absorbance

U procesima industrijske obrade i prerade mlijeka, kao i procesima proizvodnje mliječnih proizvoda, termička obrada mlijeka mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni se, najvjerovatnije, uopšte ne koristi. Budući da u dostupnoj literaturi nema podataka o tome da je neko, termički ili tehnološki proces koji se zasniva na upotrebi mikrotalasa, pokušao primjeniti u degradaciji aflatoksina M_1 u mlijeku ni u eksperimentalne ni u komercijalne svrhe, naši pokazatelji za sada čine usamljen primjer.

Postoje podaci (Farg i sar., 1996; Prado i Oliveira, 1996; CAST, 2003) da se aflatoksini mogu degradirati pod uticajem mikrotalasna, u mikrotalasnoj rerni. Naime, Prado i Oliveira (1996) su vršili ispitivanja o degradaciji aflatoksina (B₁ i G₁) u kikirikiju u mikrovalnoj rerni (jačina 0,8 kW) u trajanju 3 i 6 minuta. Rezultati su pokazali da je došlo do degradacije oba aflatoksina u količinama od 41,52% do 69,56% u uzorku koji je bio izložen mikrovalovima tokom 6 minuta. Također su Farag i sar. (1996) uradili opširnu studiju o uništavanju aflatoksina u kikirikiju korištenjem mikrotalasne rerne. Oni su koristili različite koncentracije aflatoksina B₁, B₂, G₁ i G₂, varirali su dužinu vremena izlaganja i jačinu mikrotalasa. Došli su do zaključaka da je degradacija aflatoksina bila veća s povećanjem temperature u mikrovalnoj rerni i produžavanjem vremena ekspozicije mikrotalasima.

Budući da dostupna literatura ne raspolaže pokazateljima šta se dešava s aflatoksinom M₁ u mlijeku i mliječnim proizvodima tokom izlaganja mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni, u našim istraživanjima pokušalo se odgovoriti na to pitanje. U našim istraživanjima, izlaganje mlijeka kontaminiranog aflatoksinom M₁ mikrotalasima (700 W) tokom 5 minuta ne utiče značajnije na postotak apsorbance i koncentraciju aflatoksina M₁ u mlijeku niti u jednom od 6 turnusa provedenog eksperimenta.



Grafikon 2. Uticaj vremena držanja na temperaturi od -18°C i mikrovalova na postotak apsorbance aflatoksina M₁ /

Graph 2. Effect of time of maintenance at a temperature of -18°C and microwaves on percentage of aflatoxin M₁ absorbance

Dobiveni rezultati pokazuju da je postotak apsorbance u mlijeku tretiranom mikrotalasima najviši nakon 12 mjeseci – 79,04%, a najniži nakon 3 mjeseca – 33,27%. To ukazuje na to da postupak tretiranja mlijeka mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni nije značajnije uticao na postotak apsorbance aflatoksina M₁. Jedino je kombinovani postupak držanja mlijeka tokom 12 mjeseci na temperaturi od -18°C, a nakon toga izlaganja mikrotalasima, doveo do značajnijeg povećanja postotka apsorbance tj. smanjenja koncentracije aflatoksina M₁ (graf. 2).

Zaključak / Conclusion

1. Niske temperature skladištenja (-18°C) tokom perioda do 12 mjeseci nisu ispoljile značajniji uticaj na smanjenje koncentracije aflatoksina M₁ u mlijeku, vjerovatno zbog efekta konzervacije koga niske temperature izazivaju kod toksina.

2. Izlaganje mikrotalasima u mikrotalasnoj rerni (700 W) tokom 5 minuta nije značajnije smanjilo koncentraciju aflatoksina M₁ u mlijeku vjerovatno zbog termostabilnosti aflatoksina M₁.

Literatura / References

1. Aman IM. Stability of Aflatoxin M₁ in milk samples. *Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel* 1995; 17(5-6): 161-3.
2. Applebaum RS, Brackett RE, Wiseman DW, Marth EH. Aflatoxin: Toxicity to Dairy Cattle and Occurrence in Milk and Milk Products – a Review. *J Food Protect* 1982; 45(8): 752-77.
3. Council for Agricultural Science and Technology (CAST): *Mycotoxins – Risk in Plant, Animal and Human Systems*. Ames, Iowa, 2003.
4. Eaton DL, Groopman JD. *The Toxicology of Aflatoxins – Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. Academic Press, 1994.
5. Farag RS, Rashed MM, Abo Hagger MAA. Aflatoxin destruction by microwave heating. *Int J Food Sci Nutr* 1996; 47(3): 197-208.
6. Krogh P. *Mycotoxins in food*. Academic Press, 1987.
7. Manorama, Singh RS. Mycotoxins in milk and milk products – a review. *J Dairy Foods Home Sci* 1995; 14(3): 101-7.
8. Park DL, Liang B. Perspectives on aflatoxin control for human food and animal feed. *Trends in Food Science and Technology* 1993, 4: 334-2.
9. Prado G, Oliveira SD. Microwave oven effect on the destruction of aflatoxin on peanuts. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 1996; 56(2): 21-4.
10. Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G. On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(5): 984-91.
11. Roginski H. *Encyclopedia of Dairy Science*. Academic Press Inc. 2002.
12. Rustom IYS. Aflatoxin in food and feed: Occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem* 1997; 59(1): 57-67.
13. Shephard GS i sar. Development in mycotoxin analysis: an update for 2009-2010. *World Mycotoxin Journal* 2011; 4(1): 3-28.
14. Stoloff L, Trucksess M, Hardin N, Francis OJ, Hayes JR, Polan CE, Campbell TC. Stability of aflatoxin M in milk. *J Dairy Sci* 1975; 58(12): 1789-93.
15. Pravilnik o maksimalnim dozvoljenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Službeni glasnik BIH 37/09, 2009. 16. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, 2006.

ENGLISH

INVESTIGATION OF AFLATOXIN M₁ DEGRADATION IN MILK

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

Aflatoxin M₁ is a highly toxic 4-hydroxylated metabolite of aflatoxins B₁ and B₂. It is one of the most potent hepatocarcinogens, mutagens, teratogens and immunosuppressors. Feed is often contaminated with aflatoxigenic moulds and aflatoxins with a high possibility of contaminating milk and dairy products with aflatoxin M₁. Samples of artificially contaminated milk were exposed to the effects of physical conditions (temperature of -18°C and for microwaves in a microwave oven), time (during the period from 1 to 12 months) and a combination of the above mentioned conditions. Following this, levels of aflatoxin M₁ degradation were established by using the ELISA method.

An insignificant decrease in concentration of toxin was observed which indicates that a temperature of -18°C does not significantly influence the concentration of aflatoxin M₁ in the artificially contaminated milk. At the same time, treatment of milk with microwaves in a microwave oven showed an insignificant influence on the percentage of aflatoxin M₁ absorbance.

Key words: milk, ELISA, aflatoxin M₁

РУССКИЙ

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕГРАДАЦИИ АФЛАТОКСИНА M₁ В МОЛОКЕ

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

Афлатоксин M₁ очень токсический метаболит афлатоксина B₁ и B₂. Принимая во внимание, что один из потенциейших гепатокарциногенов, мутагенов, тератогенов и иммуносупрессоров, а корм для животных часто будет загрязнённый афлатоксиногенными грибами и афлатоксинами, большая и возможность контаминации молока и молочных продуктов афлатоксином M₁.

Искусственно контаминированное молоко афлатоксином M₁ было подвергнуто воздействию физических процессов (воздействие низких температур от -18°C и выставления микроволнам в микроволновой духовке), да воздействию времени держания (от 1 до 12 месяцев), словно и воздействию комбинаций приведённых поступков, после чего слежен уровень деградации афлатоксина M₁.

Причины искусственно контаминированного молока, после отдельно проведённых поступков подверганы исследованиями при пользовании ELISA метода.

Замечено незначительное уменьшение концентрации токсинов, что указывает, что время и температуры от -18°C не воздействуют более зачительно на концентрацию афлатоксина M₁ в искусственно контаминированном сыром молоке, пока поступок отношения к молоку микровонами в микроволновой духовке не более зачительно влиял на процент абсорбенцы афлатоксина M₁.

Ключевые слова: молоко, афлатоксин, ELISA

**ISPITIVANJE UTICAJA MAGNEZIJUMA, CINKA I BAKRA NA
IZLUČIVANJE KADMIJUMA KOD KUNIĆA***
*INVESTIGATIONS OF EFFECTS OF MAGNESIUM, ZINC AND
COPPER ON CADMIUM EXCRETION IN RABBITS*

**Zorica Bulat, Danijela Đukić-Ćosić, Aleksandra Buha, V. Čupić,
Z. Pavlović, Vesna Matović****

Kadmijum (Cd) je danas jedan od najznačajnijih metalnih otrova, kako u oblasti profesionalne tako i ekotoksikologije. U organizmu, Cd štetno deluje na bubrege, jetru, kosti, testise itd., a na osnovu dokaza da na ljudima izaziva karcinom pluća svrstan je i u I grupu karcinogena. I pored brojnih literaturnih podataka o štetnim efektima Cd, interakcije kadmijuma i bioelemenata kao značajnog mehanizma toksičnosti kadmijuma, još uvek nisu dovoljno razjašnjene. S obzirom na to da dosadašnji podaci ukazuju na pozitivan efekat suplementacije pojedinim bioelementima na toksičnost i sadržaj kadmijuma u organizmu, cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj povećanog istovremenog unosa magnezijuma, cinka i bakra na urinarnu eliminaciju kadmijuma kod kunića izloženih kadmijumu.

Kunići su bili podeljeni u dve grupe: I Cd grupa – životinje su 28 dana primale per os 10 mg Cd/kg t.m/dan i II grupa – Cd+ (Mg+Zn+Cu): 10 mg Cd/kg t.m. + 40 mg Mg/kg t.m, 20 mg Zn/kg t.m. i 10 mg Cu/kg t.m/dan. Dnevni urin je sakupljan 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25. i 28. dana eksperimenta. Nakon razaranja uzoraka urina uz pomoć koncentrovanih HNO₃ i HClO₄ (4:1), koncentracija metala je određena metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije.

Suplementacija magnezijumom, cinkom i bakrom nije dovela do značajne promene u eliminaciji kadmijuma urinom kod životinja trovanih kadmijumom u poređenju sa životinjama koje su primale samo kadmijum, dok je koncentracija sva tri primenjena bioelementa u urinu bila

* Rad primljen za štampu 27. 03. 2012. godine

** Dr sc. Zorica Bulat, docent, dr sc. Danijela Đukić-Ćosić, asistent, Aleksandra Buha, asistent, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Srbija; dr sc. med. vet. Vitomir Čupić, profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Srbija; dr sc. Zoran Pavlović, Zavod za javno zdravlje Požarevac, Srbija; dr sc. Vesna Matović, profesor, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Srbija

značajno povećana. Može se zaključiti da istovremeno davanje povećanih doza cinka, bakra i magnezijuma ne ispoljava pozitivan efekat na eliminaciju kadmijuma u uslovima trovanja kunića kadmijumom.

Cljučne reči: kadmijum, bioelementi, suplementacija, urin, kunić

Uvod / Introduction

Pored toga što je kadmijum (Cd) značajan industrijski otrov, poslednjih decenija mu se pridaje sve veći značaj kao zagađivaču životne sredine koji ugrožava zdravlje opšte populacije, te ga američki izvori (The Agency for Toxic Substances and Disease Registry i Environmental Protection Agency) svrstavaju na sedmo mesto od dvadeset najvažnijih otrova (ATSDR, 2011). Kao rizične grupe za povišenu izloženost kadmijumu se osim radnika, posebno zaposlenih u fabrikama niki-kadmijum baterija, svrstavaju i populacije koje žive u oblastima kontaminiranim kadmijumom, pušači – jer duvanski dim sadrži relativno visoke koncentracije ovog metala, osobe sa specifičnim navikama u ishrani – jer i određene vrste namirnica predstavljaju značajan izvor unošenja kadmijuma, kao i dijabetičari i žene (Järup i sar., 1998).

Pored efekata na bubrege, jetru, kosti i pluća, poznatih već dugi niz godina, i njegovi potvrđeni kancerogeni uticaji na ljude (IARC, 1993), novija istraživanja ukazuju na to da i niske doze ovog metala mogu dovesti do toksičnog odgovora (Bhattacharyya, 2009), kao i da postoji veza između izloženosti kadmijumu i danas posebno aktuelnih bolesti kao što su šećerna bolest, bolesti tireoidne itd. (Edwards i Prozialeck, 2009; Pilat-Marcinkiewicz i sar., 2002). Pri tome, uobičajena helatna terapija trovanja metalima ne daje željene rezultate, te se može reći da terapija trovanja kadmijumom nije rešena.

Među brojnim mehanizmima toksičnosti kadmijuma jedan od bitnih predstavljaju interakcije Cd sa bioelementima, pri čemu se ove interakcije odigraju na nivou resorpcije, distribucije tj. ulaska metala u samu ćeliju, kao i eliminacije, a Cd može uticati i na biološke funkcije bioelemenata.

Danas se smatra da toksičnost kadmijuma, barem jednim delom, potiče od remećenja metabolizma Zn. Zbog toga se kadmijum i naziva antimetabolitom cinka, iako je utvrđeno da kadmijum utiče na homeostazu i drugih bioelemenata, kao što su bakar, magnezijum, selen, mangan, molibden, natrijum, kalijum, hrom itd (Moulis, 2010; Nordberg i sar., 2007; Task Group on Metal Interactions, 1978).

S obzirom na to da je prethodnim istraživanjima utvrđeno da kadmijum izaziva disbalans bioelemenata, najčešće u smislu deficita, kao i činjenice da terapija i profilaksa hroničnog trovanja kadmijumom nisu rešeni, usledila su ispitivanja *vice versa*, tj. ispitivanja povećanog unosa pojedinih bioelemenata, posebno Zn i Se, ali i Mg na toksičnost Cd. Rezultati ovih istraživanja su pokazali da pojedini bioelementi mogu bar delimično da spreče toksične efekte izazvane kad-

mijumom i smanje njegov sadržaj u organizmu (Brzóška i sar., 2007; Bulat i sar., 2008; Đukić-Čosić i sar., 2007; Lazarus i sar., 2009; Matović i sar., 2010b). Međutim, malo je podataka o istovremenoj primeni više esencijalnih katjona na kretanje Cd u organizmu. Ako se pođe od saznanja o pozitivnim efektima pojedinih bioeleminata može se pretpostaviti da se istovremenom primenom mogu dobiti bolji rezultati te je cilj ovog rada bio da se ispita uticaj suplementacije cinkom, bakrom i magnezijumom na urinarnu eliminaciju ovog toksičnog metala kod kunića izloženih kadmijumu. Za praćenje efekata Zn, Cu i Mg je korišćen urin. Sadržaj Cd u urinu je najbolji parametar nivoa izloženosti, jer, za razliku od krvi u kojoj koncentracija Cd ukazuje na trenutnu izloženost, Cd u urinu odražava ukupno telesno opterećenje kadmijumom (ATSDR, 2008). Osim toga, želeli smo da uporedimo sadržaj bioeleminata u urinu kunića izloženih kadmijumu sa njihovim sadržajem u urinu po istovremenoj aplikaciji kadmijuma i bioeleminata.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ispitivanja su obavljena na kunićima *Oryctolagus cuniculus*–*Belgian hare*, starim oko godinu dana i težine 2,5 kg – 3,5 kg, koji su uzgajani na farmi za uzgoj laboratorijskih životinja Instituta za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Tokom rada sa životinjama poštovani su etički principi rada na laboratorijskim životinjama Vojnomedicinske akademije u Beogradu koji striktno poštuju pravila Evropske zajednice iz ove oblasti (European Community Guidelines, EEC Directive of 1986; 86/609/EEC).

Životinje su čuvane u vivarijumu, na temperaturi $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ i relativnoj vlažnosti vazduha $50\% \pm 10\%$, sa ciklusom svetlost/tama (12 h/12 h), a bile su smeštene po jedna u metalnom kavezu za kuniće (dimenzija 30,5 cm x 32,0 cm x 50,0 cm). Hrana (Smeša K 16%, hrana za kuniće u peletiranom obliku, Veterinarski zavod, Subotica) i voda su bile dostupne 24 sata dnevno, izuzev tokom boravka u metaboličkim kavezima, kada hrana nije bila dostupna. Radi prilagođavanja, životinje su boravile 7 – 10 dana pre početka eksperimenta u prostorijama vivarijuma. Sva uzorkovanja i aplikovanja su obavljana u vivarijumu, u isto doba dana (od 8 h do 12 h) da bi se obezbedio isti vremenski razmak uzorkovanja u svim grupama radi pravilnog poređenja i da bi se izbegle eventualne cirkadijalne varijacije u sadržaju bioeleminata u krvi.

Voda za piće je sadržala oko 148 $\mu\text{g/L}$ cinka, 10 $\mu\text{g/L}$ bakra, 15 mg /L magnezijuma. U hrani je određen sledeći sadržaj bioeleminata: 91 mg Zn/kg, 21 mg Cu/kg, 2,4 g Mg/kg. Sadržaj kadmijuma je i u vodi i u hrani bio ispod nivoa detekcije primenjene analitičke metode (AAS).

Sve eksperimentalne životinje su podeljene u dve eksperimentalne grupe, po osam jedinki u svakoj:

- **1. grupa – Cd grupa:** životinje koje su dobijale *per os* 10 mg Cd/kg t.m. u obliku vodenog rastvora kadmijum-hlorida, svakodnevno tokom 28 dana. Ovu dozu smo odabrali na osnovu naših prethodnih ispitivanja, kao i ispitivanja

drugih autora kojima je utvrđeno da navedena količina Cd davana oralnim putem za duži vremenski period izaziva efekte trovanja kadmijumom, ali ne dovodi do oštećenja bubrega (Brzüska i sar., 2001; Soldatović i sar., 1998).

• **2. grupa – Cd + (Mg+Zn+Cu) grupa:** životinje koje su tretirane *per os* sa 10 mg Cd/kg t.m. u obliku vodenog rastvora kadmijum-hlorida, 40 mg Mg/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Mg-acetata, 20 mg Zn/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Zn-sulfata i 10 mg Cu/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Cu-sulfata svakodnevno tokom 28 dana.

Svi rastvori su aplikovani orogastričnom tubom. Rastvor magnezijum-acetata je aplikovan 1 sat, a rastvori cink-sulfata i bakar-sulfata 2 sata po davanju rastvora kadmijum-hlorida.

Za analizu je sakupljan urin u određenim vremenskim intervalima tokom eksperimenta: 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25. i 28. dana, a uziman je uvek ujutro pre aplikovanja naredne doze Cd i bioelemenata. Za analizu urina, koji je sakupljan u metaboličkim kavezima u periodu od 24 časa, korišćeni su uzorci od 50 ml urina ili manje, u zavisnosti od količine sakupljenog urina. Od svih uzoraka urina rađene su dve paralelne probe, a za dalja izračunavanja je korišćena srednja vrednost. Priprema uzoraka urina za merenje sadržaja metala je vršena razaranjem koncentrovanom HNO_3 i HClO_4 u odnosu 4:1 uz zagrevanje na pešćanom kupatilu.

Sadržaj ispitivanih metala (Cd, Mg, Zn i Cu) je određen u urinu metodom plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS) na aparatu GBC 932AA (Australija). Korišćena je oksidaciona vrsta plamena, acetilen-vazduh. Hemijske interferencije pri određivanju magnezijuma su uklanjane dodatkom pufernog rastvora cezijum hlorid-lantan hlorida (Merck, Darmstadt).

Statistička analiza je urađena primenom Mann-Whitney-jevog testa. Upoređene su vrednosti u svakoj grupi životinja radi utvrđivanja statistički značajnih razlika u sadržaju ispitivanih metala u urinu u određenim danima ispitivanja u poređenju sa kontrolnom vrednosti (nulti dan ispitivanja). Isti test je primenjen i radi utvrđivanja statistički značajnih razlika u sadržaju ispitivanih metala u urinu među grupama za svaki dan ispitivanja. Uslov za statističku značajnost rezultata je $p \leq 0,05$. Sve kalkulacije su urađene pomoću EXCEL 2007 i SPSS paketa, verzija 11 za Windows.

Rezultati / Results

Koncentracije Cd u urinu u Cd i Cd+(Mg+Zn+Cu) grupama (tabela 1), u svim ispitivanim vremenima, značajno su veće ($p < 0,001$) od vrednosti određene na početku ispitivanja, nultog dana. Vrednosti sadržaja kadmijuma u urinu su upoređene i po danima između ove dve grupe, ali nije dobijena statistički značajna razlika.

Tabela 1. Efekti istovremene primene Mg, Zn i Cu na sadržaj Cd u urinu kunića trovanih kadmijumom /

Table 1. Effects of simultaneous application of Mg, Zn and Cu on Cd content in urine of rabbits poisoned with cadmium

Dan / Day	Cd (µmol/L)	
	Grupe / Groups	
	Cd ¹⁾	Cd+(Mg+Zn+Cu) ²⁾
0	0,20 0,05-0,47	0,20 0,09-0,55
10	1,32*** 0,30-3,52	1,09*** 0,55-1,99
15	1,20*** 0,46-2,87	0,80*** 0,51-2,12
17	2,00*** 0,75-5,78	1,15*** 0,56-3,26
19	2,72*** 1,00-5,53	1,57*** 0,33-3,30
21	2,26*** 0,90-5,83	1,65*** 0,46-4,66
23	2,02*** 0,60-5,30	1,58*** 1,08-5,32
25	2,46*** 0,44-4,15	1,51*** 0,84-5,32
28	1,38*** 0,45-5,32	1,12*** 0,40-3,37

¹⁾ Cd grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana;

²⁾ Cd+(Mg+Zn+Cu) grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan+40 mg Mg/kg t.m/dan+20 mg Zn/kg t.m/dan+10 mg Cu/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana. Vrednosti su izražene kao medijane i opsezi. Označene vrednosti se razlikuju značajno ($p<0,05$; Mann Witney test) od * kontrole (dan 0) i † Cd grupe. *† $p<0,05$; ***†† $p<0,01$; ***††† $p<0,001$ /

¹⁾ Cd group-10 mg Cd/kg b.m/day, p.o. during 28 days; /

²⁾ Cd+(Mg+Zn+Cu) group-10 mg Cd/kg b.m/day+40 mg Mg/kg b.m/day+20 mg Zn/kg b.m/day+10 mg Cu/kg b.m/day, p.o. during 28 days. Values are expressed as median and ranges.

Marked values differ significantly ($p<0,05$; Mann Whitney u test) from * control (day 0) and Cd group.

* † $p<0,05$; ***†† $p<0,01$; ***††† $p<0,001$

Izrazito pojačano izlučivanje magnezijuma urinom je konstatovano u Cd grupi od 17. dana, a u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi od 10. dana pa do kraja ispitivanja u poređenju sa nultim danom ($p<0,001$) (tabela 2). Poređenjem vrednosti Mg u urinu dve grupe dobijeno je da je od 10. do 23. dana nivo Mg u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi značajno viši nego u Cd grupi.

Značajno povišen sadržaj Zn u urinu u poređenju sa nultim vremenom dokazan je u grupi koja je uz Cd primala i sva tri bioelementa od 10. dana ($p<0,01$) pa do kraja ispitivanja ($p<0,01$ i $p<0,001$), dok je u grupi koja je primala samo Cd značajan porast konstatovan 21. i 23. dana (tabela 2). Izlučivanje Zn uri-

nom u grupi Cd + (Mg + Zn + Cu) značajno je povećano u poređenju sa Cd grupom 15, 19. i 25. dana.

Tabela 2. Efekti istovremene primene Mg, Zn i Cu na njihov sadržaj u urinu kunića trovanih kadmijumom /
Table 2. Effects of simultaneous application of Mg, Zn and Cu on their content in urine of rabbits poisoned with cadmium

Dan / Day	Zn (μmol/L)		Cu (μmol/L)		Mg (mmol/L)	
	Grupe / Groups					
	Cd ¹⁾	Cd+ (Mg+Zn+Cu) ²⁾	Cd	Cd+ (Mg+Zn+Cu)	Cd	Cd+ (Mg+Zn+Cu)
0	7,30 4,88-17,69	11,23 4,47-16,55	0,90 0,39-1,36	0,92 0,48-1,80	21,67 13,35-32,72	21,13 14,84-36,21
10	11,33 4,02-28,81	20,58** 10,73-39,57	1,27 0,31-2,70	4,61****†† 2,22-9,20	24,68 15,77-68,85	61,85****† 37,29-118,75
15	12,92 6,12-23,16	33,85***† 13,83-40,17	1,25 0,53-2,76	4,91***† 0,97-8,44	25,34 16,47-60,16	71,88****†† 56,69-126,72
17	12,28 5,96-39,47	29,80** 10,22-87,43	1,03 0,37-4,30	3,29****†† 1,70-10,09	49,85** 26,39-55,48	87,30****†† 39,76-111,96
19	12,34 7,34-33,04	19,92***† 10,40-61,23	1,41* 0,54-5,53	3,98***† 1,17-8,39	40,42* 11,40-54,20	80,04***† 25,58-131,62
21	19,50* 7,93-44,31	32,94** 10,99-79,51	1,86** 0,97-3,98	4,98****† 1,96-7,34	40,67** 25,58-70,91	83,01****†† 54,73-128,94
23	27,69* 5,63-39,66	38,22*** 15,72-114,51	1,59* 0,63-4,08	4,39***† 1,69-8,64	47,90** 24,83-63,51	80,52****† 41,08-123,99
25	14,79 6,48-29,03	36,87***† 11,86-56,83	1,16* 0,83-3,93	4,50****† 2,42-9,25	52,53* 17,39-87,82	81,87*** 55,86-113,63
28	15,87 4,09-48,30	25,44*** 15,18-52,66	1,64* 0,58-3,32	4,96****† 1,45-7,11	48,41* 20,26-90,57	66,88*** 27,12-170,29

¹⁾Cd grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana;

²⁾Cd + (Mg + Zn + Cu) grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan + 40 mg Mg/kg t.m/dan + 20 mg Zn/kg t.m/dan + 10 mg Cu/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana. Vrednosti su izražene kao medijane i opsezi.

Označene vrednosti se razlikuju značajno ($p < 0,05$; Mann Witney test) od *kontrola (dan 0) i † Cd grupe. *† $p < 0,05$; ***†† $p < 0,01$; ***††† $p < 0,001$ /

¹⁾Cd group - 10 mg Cd/kg b.m/day, p.o. during 28 days;

²⁾Cd + (Mg + Zn + Cu) group - 10 mg Cd/kg b.m/day + 40 mg Mg/kg b.m/day + 20 mg Zn/kg b.m/day + 10 mg Cu/kg b.m/day, p.o. during 28 days. Values are expressed as median and ranges.

Marked values differ significantly ($p < 0,05$; Mann Whitney u test) from * control (day 0) and † Cd group. *† $p < 0,05$; *†† $p < 0,01$; ***††† $p < 0,001$

Promene u sadržaju bakra u urinu u smeru pojačanog izlučivanja u poređenju sa nultim danom se registruju od 19. dana ($p < 0,05$) u grupi koja je primala samo Cd, a u grupi Cd + (Mg + Zn + Cu) već od 10. dana pa sve do kraja ispitivanja ($p < 0,01$ i $p < 0,001$) (tabela 2). Sadržaj Cu u urinu Cd + (Mg + Zn + Cu) grupe je značajno viši u poređenju sa Cd grupom u svim ispitivanim vremenima.

Diskusija / Discussion

Suplementacija bioelementima u uslovima hronične izloženosti kadmijumu zauzima značajno mesto u nalaženju terapije trovanja kadmijumom. Rezultati dosadašnjih ispitivanja ukazuju na značajan gubitak bioelemenata kod životinja izloženih kadmijumu (Brzúska i sar., 2007; Wang i sar., 2011), kao i pozitivnu korelaciju između sadržaja Cd i npr. Zn ili Cu u urinu ljudi (Plamenac Bulat i sar., 2009a; Watanabe i sar., 2000). Naša prethodna studija na kunićima je pokazala da subakutno trovanje kadmijumom u dozi od 10 mg/kg dovodi do pojačane eliminacije Mg, Zn i Cu (Matović i sar., 2010a; Soldatović i sar., 1998). Osim toga, naša ispitivanja sprovedena na radnicima u fabrici nikl-kadmijumovih baterija su pokazala da izloženost kadmijumu rezultira statistički značajnim povećanjem eliminacije Zn putem urina (Plamenac Bulat i sar., 2009a). Ispitivanja u suprotnom pravcu, tj, uticaj suplementacije pojedinih bioelemenata na eliminaciju kadmijuma su malobrojna i ne daju koherentan odgovor (Barbier i sar., 2004; Brzúska i sar., 2007; Liu i sar., 1994).

Rezultati ovog rada pokazuju da primena sva tri bioelementa zajedno kod kunića hronično izloženih kadmijumu ne dovodi do statistički značajne promene u koncentraciji kadmijuma u urinu tokom četiri nedelje eksperimenta u poređenju sa Cd grupom, iako se u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi zapaža trend smanjenja koncentracije Cd u urinu. Činjenica je da su naša prethodna ispitivanja vršena pod istim eksperimentalnim uslovima ukazala na to da je primena sva tri bioelementa zajedno dovela do smanjenja koncentracije Cd i u krvi i pojedinim organima, naročito bubrezima (Plamenac Bulat, 2009b). Ovi rezultati su objašnjeni interakcijama Cd i bioelemenata, u smislu antagonizma, koje se dešavaju na nivou resorpcije u digestivnom traktu, ali i mogućom pojačanom bilijarnom ekskrecijom Cd iz organizma.

Da bi se objasnili efekti zajedničkog davanja Zn, Cu i Mg na sadržaj Cd u urinu kunića izloženih kadmijumu, o čemu ne postoje literaturni podaci, neophodno je poznavanje procesa i mehanizama kojima svaki od pojedinih bioelemenata utiče na eliminaciju Cd iz organizma, a što, međutim, do sada nije u potpunosti razjašnjeno. Rezultati ispitivanja na ovcama koje su primale kadmijum i cink putem hrane pokazali su da suplementacija cinkom smanjuje eliminaciju kadmijuma urinom, ali značajno povećava eliminaciju Cd fecesom u poređenju sa grupom koja je primala samo Cd (Phillips i sar., 2004). Brzoska i sar. (2007) su pokazali da primena različitih doza Cd i Zn putem vode za piće u trajanju od 6 i 12 meseci nije imala nikakav efekat na eliminaciju kadmijuma urinom kod muških pacova. Grupa autora predvođena Jacquillet-om i Barbier-om je (Barbier i sar., 2004; Jacquillet i sar., 2006) vršila brojna ispitivanja o štetnim efektima kadmijuma na funkciju bubrega, kao i o protektivnoj ulozi cinka, zaključivši da cink prevenira promene u renalnoj funkciji do kojih dovodi izloženost kadmijumu, iako nema uticaja na sadržaj kadmijuma u bubrežnom tkivu. Rezultati istih autora pokazuju da su interakcije Cd i Zn na nivou nefrona pacova dozno-zavisne i da visoke doze Zn

promovišu eliminaciju Cd putem urina (Barbier i sar., 2004). U okviru problematike interakcije kadmijuma i bioeleminata na nivou urinarne eliminacije neophodno je pomenuti i rezultate Liu i sar. (1994) koji su ispitali uticaj s.c. predtretmana cinkom ili bakrom, kao i njihovog zajedničkog davanja na izlučivanje kadmijuma urinom, pri čemu su zaključili da suplementacija cinkom nema efekta na urinarnu ekskreciju kadmijuma, ali da se pod istim uslovima, ukoliko se Cd primeni u obliku Cd-MT, značajno povećava koncentracija Cd u urinu. Što se tiče uticaja samog Cu na urinarnu eliminaciju Cd, predtretman bakrom smanjuje urinarnu ekskreciju kadmijuma u poređenju sa životinjama koje su primale samo kadmijum, kako slobodan tako i u obliku Cd-MT. Istovremena primena Zn i Cu pre davanja kadmijuma, pak pojačava eliminaciju kadmijuma putem urina kod pacova.

Naši prethodni rezultati pokazuju da primena Mg, Zn ili Cu *per se* kod kunića trovanih kadmijumom ne izaziva značajne promene u eliminaciji kadmijuma (Matović i sar., 2010a) iako je suplementacija Zn ili Mg rezultovala smanjenjem, a Cu povećanjem koncentracije u krvi i pojedinim organima. Ukoliko uporedimo ove rezultate sa rezultatima dobijenim u ovom radu može se zaključiti da je efekat zajedničke primene Mg, Zn i Cu najbližnji efektu do koga je doveo sam Zn, što se može objasniti izraženim interakcijama Cd i Zn.

Nameće se zaključak da kadmijum, iako ima izrazita nefrotoksična svojstva i nije esencijalni katjon, obilato koristi brojne transportne puteve u sistemu reapsorpcije u bubrežnom tkivu, što značajno otežava njegovu eliminaciju putem urina sve dok ne dođe do tubularne disfunkcije koju karakteriše porast koncentracije kadmijuma, ali i proteina, amino kiselina, bikarbonata itd. u urinu, patološkog stanja sličnog Fankonijevom sindromu. Pored toga što su primarno mesto kadmijumove toksičnosti zbog svoje specifične strukture, proksimalne tubule su ogromne luminalne površine, brojnih mitohondrija i lako propusnih međucelijskih prostora, visoko efikasne u reapsorpciji nutritienata, proteina, ali i kadmijuma. Reapsorpciju Cd olakšava i njegova sposobnost jonske i molekulske mimikrije, koja mu omogućava da koristi brojne transportne sisteme za proteinske strukture i jonske nosače DMT1, TRPM, ZIP itd. Može se pretpostaviti da primena bioeleminata dovodi do smanjenja reapsorpcije Cd u proksimalnim tubulima (PT) kao rezultat kompeticije na nivou jonskih nosača (Vesey, 2010). U prilog ovoj hipotezi idu ispitivanja na izolovanim PT pacova i kunića koja pokazuju da primena Fe, Zn ili Ca uz Cd značajno smanjuje reapsorpciju, a olakšava eliminaciju Cd (Wang i sar., 2010). Međutim, rezultati nekih drugih autora kao i naših prethodnih i ovih ispitivanja nisu u saglasnosti sa ovom pretpostavkom.

Pri analizi uticaja primene Zn, Cu i Mg u uslovima produžene izloženosti kadmijumu na eliminaciju ovog toksičnog metala urinom, ne mogu da se zanemare ni interakcije između samih bioeleminata. Treba imati u vidu da se nijedan od esencijalnih katjona ne može posmatrati pojedinačno, jer njihova apsorpcija, zadržavanje u organima i tkivima, kao i eliminacija direktno zavise od sadržaja drugih bioelemenata, bilo da su oni agonisti ili antagonisti. U ovom radu je konstatovan porast koncentracije Mg, Zn i Cu u urinu kako kunića trovanih kadmi-

jumom tako suplementiranih kunića u odnosu na početak ispitivanja (nulti dan). Naši rezultati ukazuju na izražen uticaj Cd na eliminaciju bioeleminata Mg, Zn i Cu urinom, pri čemu je koncentracija Mg i Zn čak slična nivoima ovih bioeleminata u uslovima suplementacija visokim pojedinačnim dozama bioeleminata. Veći porast koncentracije bakra u urinu suplementiranih životinja u odnosu na grupu koja je bila izložena samo kadmijumu bar delimično se može objasniti drugačijom prirodnom interakcijom kadmijuma sa Mg i Zn u odnosu na interakcije sa Cu. Treba istaći i da u uslovima kotretmana bioelementima do statistički značajnog povećanja eliminacije Mg, Zn i Cu dolazi već posle prvog ispitivanja (10. dan), dok je ovaj efekat odložen kod životinja koje su tretirane samo kadmijumom i javlja se najranije posle 17. dana posle primene magnezijuma.

Zaključak / Conclusion

Rezultati ovog rada pokazuju da suplementacija Zn, Cu i Mg nema uticaja na sadržaj Cd u urinu kunića subakutno trovanih kadmijumom te opovrgavaju pretpostavku da zbirno davanje bioeleminata može dovesti do izraženijih efekata na eliminaciju Cd putem urina nego pojedinačno davanje navedenih bioeleminata.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva nauke i prosvete Republike Srbije, III46009 „Unapređenje i razvoj higijenskih i tehnoloških postupaka u proizvodnji namirnica životinjskog porekla u cilju dobijanja kvalitetnih i bezbednih proizvoda konkurentnih na svetskom tržištu“ u oblasti Poljoprivreda i hrana (potprojekat „Hemijski kontaminanti hrane“). /

This work has been financed by funds of the Ministry for Science and Education of the Republic of Serbia within project III46009 "Promotion and development of hygiene and technological procedures in production of food articles of animal origin aimed at securing quality and safe products that are competitive on the world market" in the area Agriculture and Food (subproject Chemical food contaminants).

Literatura / References

1. ATSDR. Draft toxicological profile for cadmium. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2008.
2. ATSDR. Priority List of Hazardous Substance. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2011.
3. Bhattacharyya MH. Cadmium osteotoxicity in experimental animals: Mechanisms and relationship to human exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 258-65.
4. Barbier O, Jacquillet G, Tauc M, Poujeol P, Coughnon M. Acute study of interaction among cadmium, calcium, and zinc transport along the rat nephron in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287: 1067-75.
5. Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk M, Galazyn-Sidorczuk M, Rogalska J. The effect of zinc supply on cadmium-induced changes in the tibia of rats. *Food Chem Toxicol* 2001; 39: 729-37.
6. Brzoska MM, Rogalska J, Galazyn-Sidorczuk M, Jurczuk M, Roszczenko A, Kulikowska-Karpińska E, Moniuszko-Jakoniuk J. Effect of zinc supplementation on bone

- metabolism in male rats chronically exposed to cadmium. *Toxicology* 2007; 237: 89-103.
7. Bulat ZP, Đukić-Ćosić D, Maličević Ž, Bulat P, Matović V. Zinc or magnesium supplementation modulates Cd intoxication in blood, kidney, spleen, and bone of rabbits. *Biol Trace Elem Res* 2008; 124: 110-7.
 8. Đukić-Ćosić D, Ninković M, Maličević Ž, Matović V, Soldatović D. Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnes Res* 2007; 20: 1-10.
 9. Edwards JR, Prozialeck WC. Cadmium, diabetes and chronic kidney disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 289-93.
 10. International Agency for Research on Cancer (IARC). Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. In: *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. IARC Scientific Publications, Lyon, 1993; 119-237.
 11. Jacquillet G, Barbier O, Cougnon M, Tauc M, Namorado MC, Martin D, Reyes JL, Poujeol P. Zinc protects renal function during cadmium intoxication in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: 127-37.
 12. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998; 24(Suppl. 1): 1-51.
 13. Lazarus M, Orct T, Jurasović J, Blanuša M. The effect of dietary selenium supplementation on cadmium absorption and retention in suckling rats. *Biometals* 2009; 22: 973-83.
 14. Liu X, Jin T, Nordberg GF, Sjöström M, Zhou Y. Influence of zinc and copper administration on metal disposition in rats with cadmium-metallothionein-induced nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 126: 84-90.
 15. Matović V, Plamenac Bulat Z, Đukić-Ćosić D, Soldatović D. Zinc, copper or magnesium supplementation against cadmium toxicity: an experimental study. In: Blanc G, Moreau D (Eds.): *Biometals: molecular structures, binding properties and applications*. Nova Science Publisher, New York, 2010a; 1-31.
 16. Matović V, Plamenac Bulat Z, Đukić-Ćosić D, Soldatović D. Antagonism between cadmium and magnesium: a possible role of magnesium in therapy of cadmium intoxication. *Magnes Res* 2010b; 23: 19-26.
 17. Moulis JM. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. *Biometals* 2010; 23: 877-996.
 18. Nordberg GF, Gerhardsson L, Broberg K, Mumtaz M, Ruiz P, Fowler BA. Interactions in Metal Toxicology. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg L (Eds.): *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam 2007; 446-86.
 19. Phillips CJC, Chiy PC, Omed HM. The effects of cadmium in feed, and its amelioration with zinc, on element balances in sheep. *J Animal Sci* 2004; 82: 2489-502.
 20. Pilat-Marcinkiewicz B, Sawicki B, Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Effect of chronic administration of cadmium on the rat thyroid: radioimmunological and immunohistochemical studies. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; 40(2): 189-90.
 21. Plamenac Bulat Z, Đukic-Ćosić D, Đokić M, Bulat P, Matović V. Blood and urine cadmium and bioelements profile in nickel-cadmium battery workers in Serbia. *Toxicol Ind Health* 2009a; 25: 129-35.
 22. Plamenac Bulat Z. Interakcije kadmijuma i bioelemeanta cinka, bakra i magnezijuma kod ljudi i kunića izloženih kadmijumu (Interactions of cadmium and bioele-

- ments zinc, copper and magnesium in humans and rabbits exposed to cadmium), PhD thesis. Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, 2009b.
23. Soldatović D, Matović V, Vujanović D, Stojanović Z. Contribution to interaction between magnesium and toxic metals: the effect of prolonged cadmium intoxication on magnesium metabolism in rabbits. *Magnes Res* 1998; 11: 283-8.
24. Task Group on Metal Interactions. Factors influencing metabolism and toxicity of metals: a consensus report. *Environ Health Perspect* 1978; 25: 3-42.
25. Vesey DA. Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney proximal tubule: Focus on the interaction with essential metals. *Toxicol Lett* 2010; 198: 13-9.
26. Wang Y, Zalups RK, Barfuss DW. Potential mechanisms involved in the absorptive transport of cadmium in isolated perfused rabbit renal proximal tubules. *Toxicol Lett* 2010; 193: 61-8.
27. Wang L, Zhou X, Yang D, Wang Z. Effects of lead and/or cadmium on the distribution patterns of some essential trace elements in immature female rats. *Hum Exp Toxicol* 2011; DOI: 10.1177/0960327111405865.
28. Watanabe T, Zhang ZW, Moon CS, Shimbo S, Nakatsuka H, Matsuda-Inoguchi N, Higashikawa K, Ikeda M. Cadmium exposure of women in general populations in Japan during 1991–1997 compared with 1977–1981. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 26-34.

ENGLISH

**INVESTIGATIONS OF EFFECTS OF MAGNESIUM, ZINC AND COPPER ON
CADMIUM EXCRETION IN RABBITS**

**Zorica Bulat, Danijela Đukić-Ćosić, Aleksandra Buha, V. Ćupić, Z. Pavlović,
Vesna Matović**

Cadmium (Cd) is today one of the most significant metal poisons, both in the area of professional as well as of eco toxicology. In the organism, cadmium has a harmful effect on the kidneys, liver, bones, testicles, etc., and, based on evidence in humans that it causes lung carcinoma, it has been placed in the first group of carcinogens. In spite of numerous data in literature on the harmful effects of cadmium, the interactions between cadmium and bioelements as a significant mechanism for cadmium toxicity have still not been sufficiently explained. Since the data so far point to a positive effect of supplementation with certain bioelements regarding toxicity and cadmium content in the organism, the objective of this work was to investigate the effect of increased simultaneous intake of magnesium, zinc and copper on urinary elimination of cadmium in rabbits exposed to cadmium.

Rabbits were divided into two groups: Cd group – for a period of 28 days the animals received *per os* 10 mg Cd/kg b.m/day and Cd+(Mg+Zn+Cu) group - 10 mg Cd/kg b.m. + 40 mg Mg/kg b.m, 20 mg Zn/kg b.m. and 10 mg Cu/kg b.m/day. Daily urine was collected on days 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25, and 28 of the experiment. Following decomposition of urine samples with the help of concentrated HNO₃ and HClO₄ (4:1), the metal concentration was determined using the method of atomic absorption spectrophotometry.

Supplementation with magnesium, zinc and copper did not result in significant changes in the elimination of cadmium through urine in animals poisoned with cad-

mium, in comparison with the animals that were administered only cadmium, while the concentration of all three applied bioelements in urine was significantly increased. It can be concluded that the simultaneous administration of increased doses of zinc, copper and magnesium does not have a positive effect on the elimination of cadmium in conditions when rabbits are poisoned with cadmium.

Key words: cadmium, bioelements, supplementation, urine, rabbit

РУССКИЙ

ИСПЫТАНИЕ ВЛИЯНИЯ МАГНИЯ, ЦИНКА И МЕДИ НА ВЫДЕЛЕНИЕ КАДМИЯ У КРОЛИКОВ

**Зорица Булат, Данела Джукич-Чосич, Александра Буха, В. Чупич,
З. Павлович, Весна Матович**

Кадмий (Cd) в настоящее время один из самых значительных металлических ядов, как в области профессиональной так и экотоксикологии. В организме Cd вредно действует на почки, печень, кости, яички и т.д., а на основе доказательства на людях, что вызывает карциному лёгких распределен в I группу карциногенов. И возле численных литературных данных о вредных эффектах Cd, интеракции кадмия и биоэлементов как значительного механизма токсичности кадмия, суть всё ещё недостаточно разъяснены. Принимая во внимание, что бывшие данные указывают на положительный эффект добавления некоторыми биоэлементами на токсичность и содержание кадмия в организма, цель этой работы была испытать влияние увеличенного одновременного введения магния, цинка и меди на мочевую элиминацию кадмия у кроликов подвергнутых кадмию.

Кролики были разделены в две группы: I Cd группа - животные 28 дней принимали *per os* 10 мг Cd/кг м.т./день и Cd + (Mg + Zn + Cu) II группа - 10 мг Cd/кг м.т., 20 мг Zn/кг м.т. и 10 мг Cu/кг м.т./день. Дневная моча накапливалась 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25 и 28 дней эксперимента. После разрушения образчиков мочи с помощью концентрированных HNO_3 и HClO_4 (4:1), концентрация металла определена методом атомной абсорбционной спектрофотометрии.

Добавление магнием, цинком и медью не привело до значительного изменения в элиминации кадмия мочей у животных, отравленных кадмием в сравнении с животными, принимаемые только кадмий, пока концентрация все три применённых биоэлемента в моче была значительно увеличенная. Можно оделать вывод, что одновременная дача, увеличенных доз цинка, меди и магния не проявляет положительный эффект на элиминацию кадмия в условиях отравления кроликов кадмием.

Ключевые слова: кадмий, биоэлементы, добавление, моча, кролик

**MOGUĆNOST PRIMENE ETARSKIH ULJA U
VETERINARSKOJ MEDICINI I STOČARSTVU S POSEBNIM
OSVRTOM NA ETARSKO ULJE ORIGANA***
*POSSIBILITY FOR USE ESSENTIAL OILS IN VETERINARY MEDICINE
AND ANIMAL HUSBANDRY WITH SPECIAL EMPHASIS ON
OREGANO OIL*

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

U radu su izložena novija saznanja o mogućnosti primene etarskog ulja origana u veterinarskoj medicini i stočarstvu. U prvom delu rada izneta je definicija i način dobijanja etarskih ulja, mogućnosti primene etarskih ulja, zainteresovanost nauke za etarska ulja, klasifikacija etarskih ulja na osnovu njihove primene u humanoj i veterinarskoj medicini. Drugi deo rada se odnosi na osobine etarskog ulja origana, njegove osnovne aktivne sastojke, karvakrol i timol, i mogućnost primene u veterinarskoj medicini i stočarstvu. Ulje origana ima široku mogućnost primene u ishrani domaćih životinja, u lečenju kokcidioze i kandidijaze domaćih životinja. Može da se primeni kao larvicid, repelent, insekticid i akaricid. Koristi se i u akvakulturi za lečenje bolesti riba prouzrokovanih bakterijama i parazitima, za dezinfekciju jaja i za dezinfekciju stajnjaka. Najveći potencijal etarskog ulja origana je mogućnost njegove primene u organskoj poljoprivredi i organskom stočarstvu.

Ključne reči: origano, etarsko ulje, veterinarska medicina, stočarstvo

Uvod / Introduction

Postoji veliki broj primarnih i sekundarnih biljnih proizvoda. Sekundarni biljni metaboliti štite biljke od predatora, uglavnom biljojeda, od patogenih i kompetitorskih vrsta. Imaju ulogu u adaptaciji na određene abiotičke čin-

* Rad primljen za štampu 07. 04. 2011. godine

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

ioce ili služe kao „biljni feromoni“ za privlačenje polinatora i odbijanje štetnih insekata. Verovatna je i kombinacija svih nabrojanih funkcija. Etarska ulja su sekundarni metaboliti nekih lekovitih i začinskih biljaka. Stvaraju se u različitim delovima biljaka kao što su list, cvet, seme, stablo, koren, rizom, ljuska, plod, bobica i dr. Uskladišteni su u sekretornim ćelijama, šupljinama, kanalima, ćelijama epiderma ili u žlezdanim trihomama biljaka. Zastupljenost u biljkama zavisi, pre svega, od klimatskih i sezonskih uslova, geografskih područja, vremena žetve (branja), metoda ekstrakcije, ali i od faze rasta biljke. Hemijski sastav etarskih ulja zavisi takođe od mnogih činilaca kao što su ekogeografski lokalitet, količina padavina, broj sunčanih dana i dužina svetlosnog perioda, sastav i osobine zemljišta, pa čak i doba dana kada je obavljena berba biljaka. Glavni sastojci etarskih ulja su terpeni. Ekstrakcija etarskih ulja iz biljaka obavlja se hidrodestilacijom, hidrodifuzijom, efluracijom, hladnim presovanjem, ekstrakcijom parom, rastvaračima, mikrotalasima ili ugljen-dioksidom. Cilj hemijske analize etarskih ulja je da se identifikuje i kvantifikuje što veći broj njihovih sastojaka i oceni kvalitet. Analiza sastava etarskih ulja uglavnom se obavlja metodom gasne hromatografije i gasne hromatografije spregnute sa masenom spektrometrijom (Hamid i sar., 2011).

Upotreba etarskih ulja / *Essential oils application in practice*

Etarska ulja imaju široku primenu. Koriste se u prehrambenoj industriji i industriji alkoholnih i bezalkoholnih pića, kulinarstvu, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji, humanoj i veterinarskoj medicini, u zaštiti bilja, kao industrijski dezodoransi (proizvodnja i prerada guma, plastike, hartije, tekstila, boja), u duvanskoj industriji i kao biocidi (baktericidi, fungicidi, virucidi), insekticidi i antiparazitici. Posebno je značajno istaći da dejstvo etarskih ulja na bakterije, gljivice, viruse, ektoparazite, endoparazite i insekte obezbeđuje njihovu primenu u humanoj i veterinarskoj medicini, zaštiti bilja i proizvodnji hrane. Zbog baktericidnog, fungicidnog i virucidnog delovanja, etarska ulja koriste se u terapiji bolesti prozrokovanih mikroorganizmima, ali i u terapiji neinfektivnih bolesti jer poseduju hipolipidemijsko, hipotenzivno, vazodilatatorno, hepatoprotektivno, antitumorsko, antikancerogeno, antidijabetsko, spazmolitičko, antiinflamatorno, antielastazno, sedativno, analgetičko, antikoagulantno, antireumatsko i druga dejstva. Etarska ulja deluju repelentno, insekticidno i kao ekto i endo paraziticidi (Bakkali i sar., 2008; Reichling i sar., 2009; Hieu i sar., 2010; Neiro i sar., 2010; Hamid i sar., 2011). Novijim istraživanjima dokazano je da u eukariotskim ćelijama etarska ulja deluju prooksidativno. Na ćelije mikroorganizama deluju citotoksično u zavisnosti od vrste i koncentracije. Etarska ulja uglavnom nemaju genotoksičan potencijal (Bakkali i sar., 2008). To su vrlo kompleksne prirodne mešavine koje mogu da sadrže od 20 do 60, pa i više hemijskih jedinjenja u različitim koncentracijama. Ipak, svoju biološku aktivnost ostvaruju zahvaljujući delovanju svega dva do tri hemijska jedinjenja, koja se u etarskim uljima nalaze u koncentracijama od 20% do 70%. Tako, glavna biološki aktivna jedinjenja ulja origana su karvakrol i timol.

Zainteresovanost nauke za etarska ulja / *Scientific interest in essential oils*

Predmet naučnih interesovanja u budućnosti je razvoj analitičkih metoda za detaljnu i preciznu kvantitativnu i kvalitativnu analizu etarskih ulja; biodiverzitet biljnih vrsta od kojih mogu da se dobiju već dobro poznata etarska ulja, ali i biodiverzitet novih biljnih vrsta sa novim etarskim uljima; kultivacija biljnih vrsta od kojih se dobijaju etarska ulja najboljeg kvaliteta u smislu biološke efikasnosti i količine; proizvodnja sintetičkih etarskih ulja i biosinteza etarskih ulja od genetski modifikovanih biljnih vrsta; proizvodnja etarskih ulja iz otpadne materije biljnog porekla; primena rezultata o biološkoj aktivnosti i efikasnosti etarskih ulja dobijenih u ogledima *in vitro* i *in vivo* na čoveka i životinje i upoznavanje sinergizma i antagonizma između etarskih ulja i etarskih ulja i drugih jedinjenja, bilo da se nalaze u biološkim sistemima ili su sintetički proizvedeni u cilju primene u različite svrhe (Franz, 2010; Hamid i sar., 2011).

Posebno interesovanje za primenu etarskih ulja postoji u oblasti stočarstva, veterinarske medicine i zaštite bilja jer deluju na mikroorganizme, endo i ekto parazite, insekte i fotofagne insekte i biljne patogene. Dva su osnovna razloga za ovo interesovanje. Zahtev proizvođača i potrošača za namirnicama animalnog i biljnog porekla bez sadržaja rezidua antibiotika i pesticida predstavlja, svakako, prvi razlog, a drugi je pronalaženje efikasnih mera kontrole rezistencije mikroorganizama i insekata na antibiotike i pesticide. Kako većina etarskih ulja svoju mikrobicidnu i parazitocidnu aktivnost ostvaruje u vrlo niskim koncentracijama (0,1 g/kg hrane), to im omogućava široku primenu, posebno u stočarstvu, u lečenju bolesti životinja prouzrokovanih mikroorganizmima i parazitima. Međutim, nedovoljno je poznat stepen toksičnosti etarskih ulja za farmske životinje, njihova fotosenzitivnost, moguća preosetljivost životinja na njih, mogućnost da ostavljaju rezidue u namirnicama životinjskog i biljnog porekla, kao i da menjaju miris i ukus hrane. Takođe, svako etarsko ulje za koje se proceni da može da se primenjuje u stočarstvu, veterinarskoj medicini i zaštiti bilja mora da bude registrovano od lokalnih institucija za registraciju lekova, pesticida i alternativnih materija koje se koriste u medicini i zaštiti bilja (Baser i Franz, 2010). Pojedina etarska ulja, kao što je slučaj sa uljem origana, imaju izrazito jak miris. Kada se dodaju u hranu za životinje, mogu da menjaju hranidbene oblike ponašanja životinja, odnosno da prouzrokuju averziju ili neofobiju (strah od novog i nepoznatog). Da bi se ovo sprečilo potrebno je da se životinje postepeno prilagođavaju na nov miris i ukus hrane, što obično prouzrokuje izgladnjivanje i mršavljenje. Ovo je suprotno dobrobiti životinja kao što je u suprotnosti i sa ekonomskim ulaganjima, zahtevima i ciljevima u stočarstvu (Symeon i sar., 2010).

Upotreba etarskih ulja u humanoj i veterinarskoj medicini / *Essential oils application in human and veterinary medicine*

Na osnovu svojih bioloških i farmakoloških dejstava, etarska ulja primenjuvana u humanoj medicini dele se na ulja koja deluju: 1) antiseptički, antibak-

terijski, antivirusno i antigljivično; 2) na proces granulacije i zarastanje rana; 3) analgetički, antiinflamatorno, antitoksično i hiperemično; 4) relaksantno, sedativno i antidepresivno; 5) spazmolitički, diuretički i na procese varenja; 6) kao imunostimulatori i stabilizatori hormonskih funkcija; 7) insekticidno i repelentno; 8) mukolitički i ekspektorantno i 9) deodorantno (Steflitsch i Steflitsch, 2008).

Baser i Franz (2010) su klasifikovali etarska ulja koja se primenjuju ili mogu da se primene u veterinarskoj medicini u sledeće grupe: 1) etarska ulja koja privlače životinje (atraktanti) – npr. etarsko ulje valerijane i nepete privlači mačke; 2) etarska ulja koja odbijaju životinje (repelenti) – npr. ulje mente odbija miševe, ulje citronele odbija pse i mačke, cinamaldehyd odbija mačke; 3) etarska ulja sa insekticidnim, repelentnim i antiparazitskim delovanjem; 4) etarska ulja koja se koriste u ishrani životinja i 5) etarska ulja koja se koriste u lečenju životinja.

Biološki efekti etarskog ulja origana / *Biological effects of oregano essential oil*

Pretkliničkim i kliničkim istraživanjima dokazano je da etarsko ulje origana ili njegovi aktivni sastojci (karvakrol, timol, ruzmarinska kiselina) deluju na gram-pozitivne i gram-negativne bakterije, gljivice i kvasce – uzročnike infekcija kod čoveka i životinja; da deluju antiinflamatorno, antielastazno, imunostimulativno, antioksidativno, neuroprotektivno, antihiperглиkemijski, kardioprotektivno, antitrombogeno, angiogeno, spazmolitički, analgetički, anksiolitički; da smanjuju nivo holesterola i triglicerida; da imaju antimutageno, antigenotoksično i antiproliferativno dejstvo i štite ćelije od oštećenja nukleinskih kiselina oksidativnim, mitogenim agensima i radijacijom, kao i antikancerogeno, antihepatotoksično i hepatoprotektivno dejstvo. Slična dejstva ima i karvakrol, najznačajniji aktivni sastojak ulja origana (Baser, 2008; Singletary, 2010). Pored nabrojanih, bitno je istaći da ulje origana i njegovi glavni sastojci, karvakrol i timol, poseduju insekticidno dejstvo. Etarsko ulje origana poseduje angiogenu aktivnost, koja je nepoželjna u lečenju tumora, ali poželjna u lečenju oštećenja tkiva prouzrokovanih infarktima (Goze i sar., 2010).

Biološka i farmakološka dejstva ulja origana potiču uglavnom od njegovih aktivnih sastojaka, karvakrola i timola. Karvakrol i timol su monoterpeni iz grupe fenola. Timol je izomer karvakrola kojeg u ulju origana ima manje od karvakrola (Bakkali i sar., 2008; Baser, 2008). Međutim, koja će aktivna komponenta biti dominantna u etarskom ulju zavisi i od ekogeografskog lokaliteta. Količina aktivnih principa u etarskom ulju origana ispoljava dnevna variranja i to u zavisnosti od razvojnog stadijuma biljke (Wogiatzi i sar., 2009). U odnosu na sadržaj i odnos karvakrola i timola, postoje različiti hemotipovi origana, a to su karvakrol, timol, karvakrol/timol i timol/karvakrol hemotip.

Upotreba etarskog ulja origana u veterinarskoj medicini / *Oregano essential oil application in veterinary medicine*

Ulje origana kao i njegovi aktivni sastojci, karvakrol i timol, primenjuju se u veterinarskoj medicini.

Upotreba etarskog ulja origana u ishrani domaćih životinja – Korist od dodavanja etarskog ulja origana u hranu za životinje ispoljava se u stimulaciji apetita, varenja, imunološkog sistema i cirkulacije krvi, kao i u antibakterijskoj, antitoksidikalnoj, anthelmintičkoj, antivirusnoj i antiinflamatornoj aktivnosti. Ulje origana sprečava ili usporava oksidativne procese u organizmu životinja, a posle klanja životinja sprečava oksidativne procese u mesu. Deluje mikrobicidno i utiče na fermentativne procese u digestivnom traktu životinja menjanjem sastava njegove mikroflore. Suplementacija ishrane nosilja uljem origana ne utiče na novost, konzumaciju i konverziju hrane, masu i izgled jaja, prečnik žumanca, masu, boju i debljinu ljuske jaja, ali usporava lipidnu oksidaciju u ljusci i žumančima (Florou-Paneri i sar., 2005). Međutim, dokazano je da etarsko ulje origana primenjavano u koncentraciji od 0,3%, 0,7% i 1% koncentracijski zavisno poboljšava proizvodne rezultate brojlera (Fotea i sar., 2010). Ulje origana povećava indeks prašenja i broj živorođene prasadi, a smanjuje mortalitet krmača, broj izlučenja iz priploda i broj mrtvorođene prasadi (Allan i Bilkei, 2005). Ne utiče na palatabilnost, konzumaciju hrane, prirast prasadi i kvalitet mesa (Ragland i sar., 2008; Simitzis i sar., 2010). Suplementacija ishrane jagnjadi u tovu uljem origana ne utiče na telesnu masu, prirast i mesnatost, ali utiče na pojačanje intenziteta boje, povećanje pH mesa i sprečava lipidnu oksidaciju u zamrznutom i u odmrznutom jagnećem mesu (Simitzis i sar., 2008).

Upotreba ulja origana u lečenju kokcidioze – Etarsko ulje origana efikasno je u lečenju kokcidioze brojlera prouzrokovane bakterijom *Eimeria tenella* (Silva i sar., 2009). Aktivni principi etarskog ulja origana, karvakrol i timol, u odnosu 1:1, koriste se za lečenje kokcidioze brojlera prouzrokovane bakterijom *E. acervulina* (Greathead i Kamel, 2006). Novija istraživanja ukazuju da je etarsko ulje origana efikasno i u lečenju kokcidioze jagnjadi, teladi i gmizavaca (Singelton i sar., 2006).

Mogućnost primene ulja origana u dezinfekciji jaja – Etarsko ulje origana primenjavano je fumigacijom u koncentraciji od 0,55 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ i 0,75 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ tokom 3 i 6 časova. Dokazano je značajno smanjenje broja mikroorganizama na ljusci jaja, a inhibicija rasta se povećavala sa porastom koncentracije organovog ulja i bila je značajno veća od redukcije prouzrokovane dezinficijensom formaldehidom. Zbog ovakvog dejstva etarsko ulje origana može da se koristi kao prirodni dezinficijens ljuske jaja (Copur i sar., 2010).

Mogućnost primene ulja origana u terapiji mastitisa – Etarsko ulje origana može da se primeni u terapiji supkliničkih mastitisa kod krava (Toshiaki i sar., 2005). Hanafi i sar. (2010) su ispitivali efikasnost vodenog ekstrakta origana (*Origanum vulgare*) u lečenju mastitisa kod koza prouzrokovanog bakterijom *Aspergillus flavus*. U uslovima *in vitro* minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) vodenog ekstrakta origana bila je veća od 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, a minimalna fungicidna koncentracija (MFC) je bila veća od 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Vodeni ekstrakt origana, dodavan u hranu koza, bio je efikasan i u terapiji eksperimentalno prouzrokovanog mastitisa

istim uzročnikom i ispoljio je jače antiinflamatorno i antioksidativno dejstvo od komercijalnog fungicidnog preparata.

Upotreba ulja origana u lečenju kandidijaze životinja – Cleff i sar. (2010) su ispitivali antimikotičko dejstvo etarskog ulja origana iz vrste *Origanum vulgare* na kliničke izolate *Candida* spp. u uslovima *in vitro*. Paralelno su testirali osetljivost 6 kliničkih izolata sa vaginalne sluzokože kuja, jedan sa kože psa i jedan izolat od kapucin. Svi izolati su bili osetljivi na etarsko ulje origana. Vrednost MIC etarskog ulja origana za kliničke izolate sa sluzokože iznosila je $2,72 \mu\text{L mL}^{-1}$, dok je MFC iznosila $5 \mu\text{L mL}^{-1}$. Ovi istraživači zaključuju da etarsko ulje origana može da se koristi kao alternativna terapija antimikoticima u lečenju kandidijaze životinja.

Uticaj ulja origana i njegovih aktivnih principa na centralni nervni sistem i druge organske sisteme eksperimentalnih životinja – Interesantni su rezultati istraživanja do kojih su došli Mechan i sar. (2011). Ovi istraživači navode da je za dobro fizičko i psihičko zdravlje balansirana ishrana od presudnog značaja i da mora da sadrži dovoljne količine mikronutritijenata, etarskih masnih kiselina, aminokiselina i antioksidanasa. Monoaminski neurotransmiteri, serotonin, dopamin i noradrenalin, koji su bitni za raspoloženje, osećaj anksioznosti, svesnost, regulaciju sna i apetit, upravo potiču od aminokiselina iz hrane. Ogleđima na eksperimentalnim životinjama, Mechan i sar. (2011) su ustanovili da ekstrakt lišća origana povećava nivo ekstracelularnog serotonina i sprečava degradaciju monoaminskih neurotransmitera u mozgu. Ovaj nalaz može značajno da doprinese primeni origana u poboljšanju mentalnog zdravlja životinja i čoveka. Dokazan je anksiolitički efekat karvakrola kod eksperimentalnih životinja. Karvakrol ne deluje na lokomotornu aktivnost životinja (Melo i sar., 2010), dok karvakrol i timol imaju i analgetičko dejstvo (Steflitsch i Steflitsch, 2008). Ovi monoterpeni dobijeni iz etarskog ulja origana ili drugih biljaka mnogo su potentniji agonisti za termosenzitivne jonske kanale (TRPV3 – transient receptor potential vanilloid-3) u keratocitima kože i nervnim ćelijama, te se njihov analgetički efekat odvija preko ovog mehanizma (Sherkheli i sar., 2009).

Ekološki aspekti upotrebe ulja origana – Ulje origana, karvakrol i timol mogu da se koriste i kao ekološki sanitizeri za dezinfekciju otpadnih voda, vazduha i stajnjaka (Vučinić, 2012). Glavni sastojci etarskog ulja origana, karvakrol i timol, mogu da spreče stvaranje isparljivih masnih kiselina iz stajnjaka goveda, čime značajno doprinose smanjenju zagađenja vazduha ovim jedinjenjima. Ovaj efekat postižu inhibicijom aktivnosti anaeroba u stajnjaku. Pod anaerobnim uslovima ni karvakrol ni timol ne podležu degradaciji, dok pod aerobnim podležu. Zato, ne postoji ni ekološka opasnost za zemljište od upotrebe stajnjaka skladištenog pod anaerobnim uslovima, kojem su dodati ovi sastojci etarskog ulja origana (Varel, 2002). Etarsko ulje origana i njegov aktivni sastojak karvakrol mogu da se upotrebe i za dezinfekciju „sivih voda“, odnosno otpadnih voda iz domaćinstva bez fekalnih sastojaka (Winward i sar., 2008).

Ulje origana kao repelent, larvicid, insekticid i akaricid – Etarsko ulje origana, karvakrol i timol mogu da se koriste i kao ekološki insekticidi i akaricidi u humanoj i veterinarskoj medicini (Vučinić i sar., 2011). Ispitivan je uticaj etarskog ulja iz vrsta *Origanum onites* L. i *Origanum minutiflorum* na larve komarca *Culex pipiens* L. Ustanovljeno je da karvakrol, aktivni sastojak etarskog ulja origana ima larvicidno dejstvo (Cetin i Yanikoglu, 2006), a kompletno ulje insekticidno dejstvo na biljne štetočine i štetočine na uskladištenim proizvodima (Ayvaz i sar., 2010). Etarsko ulje origana ima umeren stepen repelentne aktivnosti protiv *Stomoxys calcitrans* (Hieu i sar., 2010), a zadovoljavajuće akaricidno dejstvo protiv krpelja kod domaćih životinja (Coskun i sar., 2008).

Upotreba ulja origana u akvakulturi – Ulje origana može uspešno da se primenjuje u terapiji infekcija kod riba prouzrokovanih mikroorganizmima i parazitima (Athanasopoulou i sar., 2010). Posebno široku primenu u ribarstvu našo je karvakrol. Koristi se u lečenju mnogih bolesti riba, kao anestetik, fitoaditiv i za konzervisanje jestivih proizvoda od riba (Vučinić i sar., 2012). Efikasno deluje na mnoge uzročnike bolesti riba: *Saprolegnia ferax*, *Saprolegnia parasitica*, *Edwardsiella tarda*, *Aeromonas hydrophilia*, *Streptococcus iniae* itd.

Karvakrol i timol mogu da se primenjuju u humanoj i veterinarskoj medicini, stočarstvu, pčelarstvu, ribarstvu, zaštiti i bezbednosti namirnica i zaštiti bilja. Interesovanje nauke za praktičnu primenu ulja origana ne opada, već, naprotiv, iz godine u godinu sve više raste. Jedan od razloga je i moguća primena ulja origana i njegovih aktivnih principa, karvakrola i timola u organskoj poljoprivredi i organskom stočarstvu.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je realizovan po projektu TR 31087 MNTRS / *The work was realized within project TR 31087 MNTRS*

Literatura / References

1. Allan P, Bilkei G. Oregano improves reproductive performance of sows. *Theriogenology* 2005; 63(3): 716–21.
2. Athanasopoulou F, Yiagnisis M, Bitchava K. Use of Oregano Essential Oil for the Control of Parasite and Microbial Diseases of Mediterranean Fish. *Proceedings of the WAVMA International Aquatic Veterinary Conference 2010*, Athens, Greece, 11-14, July 2010, 13-4.
3. Ayvaz A, Sagdic O, Karaborklu S, Ozturk I. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *J Insect Sci* 2010; 10: 21.
4. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(2): 446-75.
5. Baser KHC, Franz C. Essential Oils Used in Veterinary Medicine. In: Baser KHC, Buchbauer G, editors. *Handbook of Essential Oils Science, Technology and Applications*. Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010: 881-94.

6. Baser KNC. Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils. *Curr Pharmaceut Design* 2008; 14(29): 3106-19.
7. 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.
8. Cleff MB, Meinerz AR, Xavier M, Schuch LF, Meireles MCA, Rodrigues MRA, de Mello JRB. *In vitro* activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. *Braz J Microbiol* 2010; 41(1): 116-23.
9. Copur G, Arslan M, Duru M, Baylan M, Canogullari S, Aksan E. Use of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil as hatching egg disinfectant. *Afr J Biotechnol* 2010; 8(17): 2531-8.
10. Coskun S, Girisgin O, Kürkcüoglu M, Malyer H, Girisgin AO, Kyrýmer N, Baser KH. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). *Parasitol Res* 2008; 103(2): 259-61.
11. Florou-Paneri P, Nikolakakis I, Giannenas I, Koidis A, Botsoglou E, Dotas V, Mitsopoulos I. Hen performance and egg quality as affected by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. *Int J Poult Sci* 2005; 4(7): 449-54.
12. Fotea L, Costachescu E, Hoha G, Leonte D. The effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L) on broiler performance. *Lucrari stiintifice*, 2010: 53(Seria Zootehnie), 491-4.
13. Franz CM. Essential oil research: past, present and future. *Flavour Fragr J* 2010; 25(3), 112-3.
14. Goze I, Cetin A, Goze A. Investigation of effects of essential oils of *Origanum minutiflorum* O Schwarz PH Davis and *Cyclotrichium niveum* (Labiatae) plants on angiogenesis in shell-less chick embryo culture. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(14): 2156-60.
15. Greathead H, Kamel C. Encapsulated plant extracts to fight coccidiosis. *Feed Mix* 2006; 14: 18-21.
16. Hamid AA, Aiyelaagbe OO, Usman LA. Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. *Int J Curr Res* 2011; 33(2): 86-98.
17. Hanafi EM, Danial EN, Abd El Razik KA. Antimycotic agent for treatment of mycotic mastitis in goat. *IJAR* 2010; 2(4): 307-13.
18. Hieu TT, Kim S-I, Lee S-G, Ahn Y-J. Repellency to *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) of Plant Essential Oils Alone or in Combination with *Calophyllum inophyllum* Nut Oil. *J Med Entomol* 2010; 47(4): 575-80.
19. Mechan AO, Fowler A, Seifert N, Rieger H, Wohrle T, Etheve S, Wyss A, Schuler G, Colletto B, Kilpert C, Aston J, Elliot JM, Goralczyk R, Mohajeri MH. Monoamine reuptake inhibition and mood-enhancing potential of a specified oregano extract. *Brit J Nutr* 2011; 105(8): 1150-63.
20. Melo FH, Venâncio ET, de Sousa DP, de França Fonteles MM, de Vasconcelos SM, Viana GS, de Sousa FC. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. *Fundam Clin Pharmacol* 2010; 24(4): 437-43.
21. Neiro LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour Technol* 2010; 101(1): 372-8.
22. Ragland D, Stevenson D, Hill MA. Oregano oil and multi-component carbohydrates as alternatives to antimicrobials in nursery diets. *J Swine Health Prod* 2008; 16(5): 238-43.

23. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. *Forsch Komplementmed* 2009; 16(2): 79-90.
24. Sherkheli MA, Benecke H, Doerner JF, Kletke O, Vogt-Eisele AK, Gisselmann G, Hatt H. Monoterpenoids induce agonist-specific desensitization of transient receptor potential vanilloid-3 (TRPV3) ion channels. *J Pharm Pharm Sci* 2009; 12(1): 116-28.
25. Silva MA, Pessotti BMS, Zanini SF, Colnago GL, Rodrigues MRA, Carvalho N, Zanini MS, Martins IVF. *Ciencia Rural* 2009; 39(5): 1471-7.
26. Simitzis PE, Symeon GK, Charismiadou MA, Bizelis JA, Deligeorgis SG. The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. *Meat Sci* 2010; 84(4): 670-6.
27. Simitzis PE, Deligeorgis SG, Bizelis JA, Dardamani A, Theodosiou I, Fegeros K. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Sci* 2008; 79(2): 217-23.
28. Singletary K. Oregano: Overview of the Literature on Health Benefits. *Nutr Today* 2010; 45(3): 129-38.
29. Singleton CB, Mitchell M, Riggs S, Diaz O. Evaluating Quikon® Med as a Coccidiocide for Inland Bearded Dragons (*Pogona vitticeps*). *J Exot Pet Med* 2006; 15(4): 269-73.
30. Steflitsch W, Steflitsch M. Clinical aromatherapy. *J Men's Health* 2008; 5(1): 74-85.
31. Symeon GK, Zintilas C, Demiris N, Bizelis IA, Deligeorgis SG. Effects of Oregano Essential Oil Dietary Supplementation on the Feeding and Drinking Behaviour as Well as the Activity of Broilers *Int J Poult Sci* 2010; 9(4): 401-5.
32. Toshiaki O, Mamoru S, Kazumasa M. Effects of Oregano essential oil preparations on the cell count of raw milk. *Sustainable Livestock Production and Human Welfare* 2005; 59(1): 187-91.
33. Varel VH. Livestock manure odor abatement with plant-derived oils and nitrogen conservation with urease inhibitors: A review. *J Anim. Sci* 2002; 80 (E. Suppl. 2): E1–E7.
34. Vučinić M. Mogućnost primene etarskih ulja kao ekoloških sanitizera za dezinfekciju otpadnih voda, vazduha i stajnjaka. Zbornik radova 23. savetovanja iz DDD – „Jedan svet, jedno zdravlje“. Fruška gora, Srbija, 24-27. maj, 2012a: 281-6.
35. Vučinić M, Nedeljković-Trailović J, Trailović S, Ivanović S, Milovanović M, Krnjaić D. Karvakrol kao ekološki insekticid i akaricid od značaja za humanu i veterinarsku medicinu. *Vet glasnik* 2011; 65(5-6): 433-41.
36. Vučinić M, Nedeljković-Trailović J, Trailović S, Ivanović S, Milovanović M, Krnjaić D. Mogućnost primene karvakrola i etarskih ulja bogatih karvakrolom u ribarstvu. Zbornik kratkih sadržaja 17. savetovanja doktora veterinarske medicine Republike Srpske (Bosna i Hercegovina). Teslić, Republika Srpska (Bosna i Hercegovina), 27-30. jun, 2012b: 121-2.
37. Winward GP, Avery LM, Stephenson T, Jefferson B. Essential oils for the disinfection of grey water. *Water Res* 2008; 42(8-9): 2260-8.
38. Wogiatzi E, Gougoulas N, Papachatzis A, Vagelas I, Chouliaras N. Chemical composition and antimicrobial effects of Grek *Origanum* species essential oil. *Biotechnol & Biotechnol Eq* 2009; 23(3): 1322-4.

ENGLISH

POSSIBILITY FOR USE ESSENTIAL OILS IN VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL HUSBANDRY WITH SPECIAL EMPHASIS ON OREGANO OIL

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

The paper reviews the latest studies on possible applications of oregano essential oil in veterinary medicine and animal livestock production. The first part of the paper deals with the definition of essential oils, possibilities for their extraction from plants, possibilities for their application in human and veterinary medicine, the interest of a science in essential oils, and, essential oils classification based on their use in human and veterinary medicine. The second part of the review deals with the properties of oregano essential oil, its main active principles, carvacrol and thymol and its application in veterinary medicine and animal livestock production. Oregano essential oil may be applied in animal feed, in the treatment of coccidiosis of domestic animals and candidiasis. It can be applied as a larvicide, repellent, insecticide and acaricide. It is used in aquaculture to treat fish diseases caused by bacteria and parasites or in the hatchery industry as a disinfectant for eggs or for disinfection of manure. The greatest potential of oregano essential oil is the possibility of its application in organic agriculture and organic animal husbandry.

Key words: oregano, essential oil, veterinary medicine, livestock production

РУССКИЙ

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ И ЖИВОТНОВОДСТВЕ С ОТДЕЛЬНЫМ ВЗГЛЯДОМ НАЗАД НА ЭФИРНОЕ МАСЛО ОРЕГАНА

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

В работе вынесены более новые познания о возможности применения эфирного масла орегана в ветеринарной медицине и животноводстве. В первой части работы вынесена дефиниция и способ получения эфирных масел, возможности применения эфирных масел на основе их применения в гуманной и ветеринарной медицине. Вторая часть работы относится к свойствам эфирного масла орегана, его основные активные принципы, карвакрол и тимол и возможность применения в ветеринарной медицине и животноводстве. Масло орегано имеет широкую возможность применения в кормлении домашних животных, в лечении кокцидиоза и кандидоза домашних животных. Может применяться как ларвоцид, репеллент, инсектицид и акарицид. Пользуется и в аквакультуре для лечения болезней рыб, возбуждённых бактериями и паразитами, для дезинфекции яиц и дезинфекции навозов. Наиболее большой потенциал эфирного масла орегана возможность его применения в органическом сельском хозяйстве и органическом животноводстве.

Ключевые слова: орегано, эфирное масло, ветеринарная медицина, животноводство

BIOSIGURNOST I MASTITISI U INTENZIVNOJ PROIZVODNJI MLEKA KRAVA* *BIOSECURITY AND MASTITIS IN INTENSIVE DAIRY PRODUCTION*

**S. Boboš, Z. Rašić, M. Radinović, Z. Mašić, Marija Pajić,
Annamaria Galfi, Milica Bošković****

*Novonabavljene životinje unete u stado sa visokom produkcijom mleka mogu biti inficirane mikroorganizmima patogenim za mlečnu žlezdu i predstavljaju potencijalni rizik za pojavu infekcija kod krava na farmi. Taj rizik ne može se izbeći u potpunosti, ali se može svesti na minimum preduzimanjem biosigurnosnih mera koje treba da imaju pisanu politiku za biosigurnost razvijenu sa nadzornom (veterinarskom) službom – kada se nabavljaju starije krave, one se kupuju sa celim laktacijama sa podatkom o broju somatskih ćelija u mleku, kao i bakterijskim pregledom mleka iz četvrti vimena negativnim na patogene mikroorganizme vimena; novonabavljene krave treba da potiču iz stada u kojih je geometrijska sredina broja somatskih ćelija manja od 200.000; stado mora da ima pojedinačni SCC zapisnik ili broj somatskih ćelija za svaku kravu najmanje dvomesečno za prethodnih 6 meseci; stado ne sme da ima bilo kakvu istoriju o *Streptococcus agalactiae* za poslednje dve godine; stado treba da bude slobodno od bovine virusne dijareje (BVD) ili vakcinisano; vlasnik stada mora da bude spreman da pruži sve navedene informacije. Naša zemlja je prihvatila standarde za kvalitet mleka i higijensku ispravnost koji su usklađeni sa standardima EU. Predložene biosigurnosne mere, izložene u ovom radu, omogućile bi određivanje zdravstvenog statusa stada i nivo biosigurnosti za mastitis na komercijalnim farmama u intenzivnoj proizvodnji mleka.*

Ključne reči: krava, mastitis, patogeni, somatske ćelije, biosigurnost

* Rad primljen za štampu 23. 04. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Stanko Boboš, redovni profesor, dr sc. med. vet. Zoran Rašić*, docent, mr sc. med. vet. Miodrag Radinović, asistent, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Katedra za veterinarsku medicinu; dr sc. med. vet. Zoran Mašić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad; Marija Pajić, dr vet. med., asistent, Annamaria Galfi, dr vet. med., stipendista Ministarstva prosvete i nauke, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Katedra za veterinarsku medicinu; dr Milica Bošković, docent, Univerzitet u Beogradu, Fakultet za bezbednost

Uvod / Introduction

Uzgajivači visokomlečnih krava naročito treba da obrate pažnju na primarno patogene uzročnike mastitisa. Kod krava inficiranih specifičnim patogenim mikroorganizmima koji se luče mlekom, a ne ispoljavaju organoleptičke promene u mleku, mere kontrole i dijagnostike neophodne su da bi se sprečilo njihovo unošenje u zapat. U poslednjih deset godina, određeni patogeni mikroorganizmi dobijaju značaj, a svoj primarni lokus imaju u mlečnoj žlezdi ili na površini kože vimena i luče se mlekom – *Mycoplasma* i meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus* (MRSA). Podatke o raširenosti *Mycoplasma* infekcija vimena u nekim većim farmama SAD iznose Gonsales i Wilson (2003); Boboš i sar. (2010). Uzročnika koji nema primarni lokus u mlečnoj žlezdi, kao što je virus Bovine virusne dijareje, treba takođe razmotriti u smislu održavanja zdravlja vimena krava kroz proveru biosigurnosti iako direktno nije uzročnik mastitisa. U ovom radu pristupićemo programu kontrole bolesti mlečne žlezde krava i merama biosigurnosti stada.

Infekcija, mastitis i zdravstveni status stada / *Infection, mastitis and health status of herd*

Podaci iz literature u zemljama sa razvijenom mlekarskom industrijom ukazuju na to da na mlečnim farmama krave nisu inficirane streptokokama (*Streptococcus agalactiae*) (Sampimon i sar., 2008; Anderson i sar., 2003; Radinović i sar., 2009). U mnogim zemljama obavezno je iskorenjivanje ove infekcije kod krava u stadima koja su još pozitivna (Boboš i sar., 1995). Strategija iskorenjivanja podrazumeva bakteriološko ispitivanje mleka svih krava, kontrolu broja somatskih ćelija u određenim vremenskim intervalima. Boboš i sar. (2000) predlažu i bakteriološku dijagnozu za sve krave sa obolelim vimenom i kontrolisanje svih junica u osmom mesecu graviditeta i post partalno.

Organske mlečne farme sa restriktivnom primenom antibiotika u lečenju intramamarnih infekcija (IMI) su pod rizikom izbijanja infekcija *Streptococcus agalactiae*, ako se u stado unese krava sa IMI čiji je uzročnik *Streptococcus agalactiae*. Međutim, verovatnoća da će se infekcija proširiti na veći deo stada je relativno niska zbog prihvaćenih procedura zdravstvenog nadzora stada (Zadoks i Schukken, 2006; Barkema i sar., 2008).

Infekcije vimena krava uzrokovane stafilokokom (*Staphylococcus aureus*) su potvrđene na velikom broju farmi sa intenzivnom proizvodnjom mleka, programi njihovog suzbijanja su dugotrajni i ne uvek uspešni (Boboš i Plavšić, 2005; Katić i sar., 1990; Boboš i sar., 1991). Navedeni mikroorganizam, pored toga što dovodi do pojave mastitisa, kod krava produkuje enterotoksine koji su termostabilni i njihov nalaz u mleku predstavlja opasnost za zdravlje ljudi. Ispitivanjem 133 izolata *Staphylococcus aureus* iz mleka vimena krava dokazan je nalaz stafilokoknog enterotoksina u četrnaest (14) izolata (Boboš i Vidić, 2005).

Tabela 1. Produkcija koagulaza i enterotoksina iz izolata roda *Staphylococcus*
Table 1. Production of coagulase and enterotoxins in isolated *Staphylococcus*

Mikroorganizam / <i>Microorganism</i>	Broj izolata / <i>Number of isolates</i>	Produkcija koagulaze / <i>Coagulase production</i>	Enterotoksini / <i>Enterotoxins</i>			
			A	B	C	D
<i>Staphylococcus aureus</i>	133	+	4	1	9	–
Koagulaza negativne <i>Staphylococcus</i> / <i>Coagulase negative Staphylococcus</i>	108	–	–	–	1	–

Nalaz MRSA u krava sa supkliničkim mastitisom na nekim farmama predstavlja ozbiljan zdravstveni, ekonomski i proizvodni problem, pa su uzgajivači goveda i mužaci na farmama pod velikim rizikom od infekcija (Vandenbroucke-Grauls i Beaujean, 2006).

Genotipizacijom 28 sojeva MRSA ukazano je na njihovu identičnost i na mogućnost prenošenja uzročnika između čoveka i životinja (Juhász-Kaszyntzky i sar., 2007). Zbog značaja infekcija kod ljudi prouzrokovane navedenim uzročnikom utvrđeno je da i neki sojevi *Staphylococcus aureus* kloksacilin / oksacilin rezistentni, mogu biti MRSA pa postoje ozbiljne indicije za primenu kloksacilina u lečenju krava koji je po antimikrobnom spektru sličan meticilinu/oksacilinu. To veterinarskoj službi nameće zadatak da prati MRSA infekcije krava na farmama u cilju bezbednosti javnog zdravlja u čemu je neophodno da bude uključena mlekarska industrija (Boboš i Vidić, 2001).

Prevalencija *Mycoplasma mastitisa* kod krava je aktuelna širom sveta (Fox i sar., 2005). Najčešći uzročnik kliničkog mastitisa krava na velikim farmama u Južnoj Americi su *Mycoplasmae*. Da bi se izbegla infekcija vimena kontrolni postupci su efikasni i u kontroli *Mycoplasma mastitisa* (Boboš i sar., 2010). Sveobuhvatan pristup borbi od *Mycoplasma mastitisa* podrazumeva „testiraj i ukloni“ i drugačiji je od pristupa programa kontrole infekcije vimena bakterijama *Streptococcus agalactiae* i *Staphylococcus aureus*. Širenju *Mycoplasma* infekcija vimena i pojava epidemija putem internog prenosa ili prenosa patogenih *Mycoplasma* sa životinje na životinju koje su asimptomatski nosioci pogoduju: loša higijena, infekcije vimena sa drugim uzročnicima i nekontrolisana primena antibiotika.

Značaj infekcija koje indirektno dovode do pojava mastitisa u stadu / *Importance of infections that indirectly lead to occurrence of mastitis in herd*

Neke infekcije goveda koje ne izazivaju klinički mastitis mogu imati indirektan uticaj na učestalost pojave mastitisa u stadu, kao što je to slučaj sa BVDV infekcijom. U Norveškoj, zapati muznih krava kod kojih je bilo značajno povećanje BVDV infekcije imali su stopu incidencije kliničkog mastitisa za 7% višu od zapata krava koje nisu obolele od BVDV. U francuskoj studiji koja obrađuje broj mastitisa kod krava i broj somatskih ćelija u mleku krava zapata nezaraženih BVDV, broj so-

matskih ćelija je bio manji u odnosu na mleko stada pozitivnih na BVDV (Beaudeau i sar., 2005). Virus leukoze goveda, BHV1 mogu takođe da igraju indirektnu ulogu u pojavi mastitisa zbog svojih imunosupresivnih svojstava (Wellenberg i sar., 2002). Na broj somatskih ćelija kod krava i stadnom mleku, kao i na njihovoj proizvodnji u laktaciji, utiče inficiranost krava *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. ELISA-pozitivne krave imale su za 1,4 puta veći broj somatskih ćelija u 1 ml mleka od ELISA negativnih krava (Tiwari i sar., 2005). Kao rezultat navedenih nalaza krave bez MAP infekcije bile su znatno starije kada su poslate na ekonomsko iskorišćenje nego one sa MAP infekcijom krave (Buergelt i Duncan, 1978).

Većina patogena koja se prenosi hranom, kao što su *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* i *E.coli* O157:H7, ne izazivaju mastitise, ali doprinose riziku od mastitisa. Na farmama goveda dokazano je prisustvo *E. coli* O157 na distalnim delovima ekstremiteta (Nastasijević, 2008), što ugrožava mere biosigurnosti zbog intermitentnih svojstava navedenog mikroorganizma, a čije je izlučenje dokazano u fecesu. Međutim, određeni sojevi *E.coli* dovode do perakutnog i akutnog mastitisa koji se često završavaju propadanjem obolele četvrti ili celog vimena, a nisu retki slučajevi endotoksičnog šoka i totalne pareze životinje, najčešće u post partalnom periodu (Boboš i sar., 2010). Neki od ovih patogena su obično prisutni na farmama visokoproduktivnih krava (Murinda i sar., 2004) i nemoguće je da se preduzmu biosigurnosne mere za sprečavanje njihove eliminacije iz stada. Na primer, za smanjenje učestalosti pojave *Listeria monocytogenes*, kvalitet silaže je važniji od biosigurnosnih mera.

Mere kontrole u cilju sprečavanja unošenja patogena uzročnika mastitisa / *Control measures for preventing intake of pathogens that cause mastitis*

Novonabavljene krave unete u stado sa visokom produkcijom mleka mogu biti inficirane patogenima mlečne žlezde i predstavljaju potencijalni rizik za pojavu infekcija kod krava na farmi (Boboš i sar., 2000). Taj rizik se ne može izbeći u potpunosti, ali se može svesti na minimum preduzimanjem biosigurnosnih mera.

Na mnogim farmama u Engleskoj i Novom Zelandu prema podacima (Bradley i sar., 2007; Zadoks, 2007) ambijentna mikroflora ima značajnu ulogu u nastajanju mastitisa krava. Sa pojavom ovog mastitisa dolazi do zanemarivanja specifičnih patogena vimena zbog nepoštovanja osnovne kontrolne procedure. Da do navedenih pojava ne bi došlo farmeri odnosno farme treba da imaju pisanu politiku biosigurnosti razvijenu u saradnji sa nadzornom (veterinarskom) službom.

– Kada se nabavljaju starije krave, one se kupuju sa celim laktacijama i SCC zapisom, kao i bakterijskim pregledom mleka iz četvrti vimena negativnim na patogene vimena.

- Novonabavljene krave treba da potiču iz stada u kojih je geometrijska sredina broja somatskih ćelija manja od 200.000.

- Stado mora da ima pojedinačni SCC zapisnik za svaku kravu najmanje dvomesečno za prethodnih 6 meseci.

- Stado ne sme da ima bilo kakvu istoriju o *Streptococcus agalactiae* za poslednje dve godine.

- Stado treba da bude slobodno od BVD ili vakcinisano.

- Vlasnik stada mora biti spreman da pruži sve navedene informacije.

Kako bi se rizik od infektivnih mastitisa smanjio, važno je da krave ispunjavaju određene uslove:

- Krava nikada ne sme imati više od 200.000 SCC/ml mleka u toku laktacije.

- Krava treba da ima najmanje na tri poslednje kontrole broj somatskih ćelija manji od 100.000/ml mleka.

A pre uvođenja u stado novokupljene životinje (krave) treba preduzeti sledeće mere:

- Krava mora da bude slobodna od kontagioznih mikroorganizama, odnosno da joj CMT bude negativan u tri uzastopna dana ako je u ranoj laktaciji.

- Krava mora da se muze sve dok svi testovi nisu negativni tri uzastopna dana.

- Krava se vraća prodavcu ako se bilo koja abnormalnost mlečne žlezde nađe u roku od dve nedelje od kupovine.

Na porodičnim farmama, ljudima nezaposlenim na gazdinstvu ne sme biti dozvoljen rad sa kravama (muža itd.). Na pomenutim farmama psi i mačke su potencijalne kliconoše posebno *Strep. canis*, što može da dovede do epidemije mastitisa kod krava (Tikofsky i Zadoks, 2005). Psi i mačke su takođe rezervoari *Streptococcus agalactiae* i MRSA, ali sojevi koji su izolovani kod njih najčešće su humanog porekla.

Važan aspekt u kontroli mastitisa sastoji se u sprečavanju prenosa infekcije na prijemčive životinje. Četiri decenije star plan (Neave i sar., 1969) i dalje je dobra osnova za kontrolu mastitisa na farmama. Farme sa povećanim brojem somatskih ćelija u mleku krava iz istog stada ne sprovode dezinfekciju vimena posle muže i klinički mastitis tretiraju nedovoljno dugo, dok se na farmama krava sa niskim procentom mastitisa i niskim brojem somatskih ćelija u stadnom mleku redovno proverava rad sistema za mužu, obavlja suva priprema vimena i uopšte održava bolja higijena (Boboš i sar., 2006). Iako su podaci dostupni, određene grupe farmera su nezainteresovane za to, što ima za posledicu visok broj mastitisa i povećan broj somatskih ćelija. Tako se, kroz kvalitet mleka farmer sankcioniše (Wilson i sar., 1995). Kako u svetu postoji trend za povećanje broja krava na farmama, kupovina životinja je neminovnost što implicira rizik od unošenja novih IMI. Međutim sa uvećanjem stada javlja se i potreba za više visokokvalifikovanog osoblja, što pruža veću mogućnost za investiranje u laboratorijska ispitivanja i razvoj biosigurnosnih programa.

Mere biosigurnosti unutar stada i između stada /

Biosecurity measures within herd and between herds

Zbog tehnološkog napretka mogućnost identifikacije životinja i kontrole visokoproduktivnih krava na regionalnom i nacionalnom nivou porasla je za poslednjih deset godina (Zadoks i Schukken, 2006). Razmena informacija doprinosi kontroli pojava mastitisa unutar farmi i između farmi. Zbog potrošačke zainteresovanosti za poreklo mleka i mlečnih proizvoda, u nekim zemljama je porasla potreba da se uđe u trag izolovanim patogenima, životinja i hrane animalnog porekla. Podsticaji za investiranje u biosigurnost uključuju dostupnost korišćenja dijagnostičkih laboratorija naročito u slučajevima kada zemlja daje stimulacije za izvoz. Naša zemlja je prihvatila standarde za kvalitet mleka i higijensku ispravnost koji su usklađeni sa standardima EU. Predložene biosigurnosne mere, izložene u ovom radu, omogućile bi određivanje zdravstvenog statusa stada i nivo biosigurnosti za mastitis na komercijalnim farmama u intenzivnoj proizvodnji mleka.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je realizovan po projektu TR-31034 / *The work was realized within project TR-31034.*

Literatura / References

1. Andersen HJ, Pedersen LH, Aarestrup FM, Chriél M. Evaluation of the surveillance program of *Streptococcus agalactiae* in Danish dairy herds. J. Dairy Sci 2003; 86: 1233-9.
2. Barkema HW, Green MJ, Bradley AJ, Zadoks RN. Biosecurity and mastitis. NMC 47th Annual Meeting Proceedings, 20-23 January, 2008: 64-74.
3. Beaudeau F, Fourichon C, Robert A, Joly A, Seegers H. Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7252 dairy herds in Brittany (western France). Prev Vet Med 2005; 72: 163-7.
4. Boboš S, Ilić M, Vidić B, Božić M. Primena određenih mera za suzbijanje stafilokoknog mastitisa na jednoj farmi krava u našim proizvodnim uslovima. Vet glasnik 1991; 45(11-12): 803-7.
5. Boboš S, Lalošević V, Dugalić Vrnđić N, Radinović M, Mihajlović-Ukropina M, Mirčeta J. Primena programa preventive i terapije u suzbijanju mastitisa krava. Savremena poljoprivreda 2006; 55(3-4): 170-3.
6. Boboš S, Plavšić M. Tehnologija držanja visoko-produktivnih krava kao preduslov za dobijanje zdravstveno bezbednog i kvalitetnog mleka. Vet glasnik 2005; 59(1-2): 189-99.
7. Boboš S, Radinović M, Pajić M. Coliform cow mastitis and treatment measures. Veterinary medicine, Inter-departmental subject scientific collection. Kharkov, 2010; 94: 108-10.
8. Boboš S, Radinović M, Pajić M. Dijagnostika, terapija i preventiva mastitisa izazvanog bakterijama *Mycoplasma* spp. Naučni simpozijum oboljenja mlečne žlezde. 14-17. oktobar, 2010.
9. Boboš S, Stojanović L, Vidić B, Bugarski D. *Staphylococcus aureus* isolated from cows' udder with subclinical mastitis and their biochemical and toxical features.

- Proceedings of the II. Middle European Congress of the II. Middle-European Congress for Buiatrics. 11-13. may, 2000: 239-41.
10. Boboš S, Vidić B: Preventiva i terapija mastitisa. Simpozijum mastitis i kvalitet mleka, Zbornik radova 2001: 61-6.
 11. Boboš S, Vidić B. Relation between production of entero toxins and creation of coagulase in *Staphylococcus*. Veterinary medicine, Inter-departmental subject scientific collection. Kharkov, 2005; 85: 19-22.
 12. Boboš S, Vidić B, Bugarski D, Čobanović K. Mastitis u krava: Uzročnici i programi sprečavanja. Jugoslovenski mlekarski simpozijum: Savremeni trendovi u mlekarstvu. Zbornik radova, 2000: 32-6.
 13. Boboš S, Vidić B, Pupavac V. Uvođenje novih programa suzbijanja mastitisa krava u cilju povećanja i poboljšanja kvaliteta mleka. Zbornik radova Naučog skupa "Unapređenje zdravstvene zaštite životinja i proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla". Novi Sad, 1995: 91-6.
 14. Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green ME. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. Vet Rec 2007; 160: 253-7.
 15. Buerge CD, Duncan JR. Age and milk production data of cattle culled from a dairy herd with paratuberculosis. J Am Vet Med Assoc 1978; 173: 478-80.
 16. Fox LK, Kirk JH, Britten A. *Mycoplasma* mastitis: a review of transmission and control. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2005; 52: 153-60.
 17. González RN, Wilson DJ. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2003; 19: 199-221.
 18. Juhász-Kaszanyitzky E, Jánosi S, Somogyi P, Dán A, van der Graaf-van Bloois L van Duijkeren E, Wagenaar JA. MRSA transmission between cows and humans. Emerg Infect Dis 2007; 13: 630-2.
 19. Katić V, Boboš S, Jurca J. Značaj preventivnih mera u suzbijanju mastitisa. Veterinaski glasnik 1990; (3-4): 299-308.
 20. Murinda SE, Nguyen LT, Nam HM, Almeida RA, Headrick SJ, Oliver SP. Detection of sorbitol-negative and sorbitol-positive Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, and *Salmonella* spp. in dairy farm environmental samples. Foodborne Pathog Dis 2004; 1: 97-104.
 21. Nastasijević I. Ocena rizika i kontrole opcije za *Escherichia coli* O157 u lancu sirovog goveđeg mesa. Doktorska disertacija, Novi Sad, 2008.
 22. Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG, Westgarth DR. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. J Dairy Sci 1969; 52: 696-707.
 23. Radinović M, Boboš S, Nešić M, Mihajlović-Ukropina M, Kujača V. Nalaz *Streptococcus agalactiae* u vimenu krava, mere kontrole i eradikacije. Savremena poljoprivreda 2009; 58(1-2): 136-40.
 24. Sampimon OC, Barkema HW, Berebds I, Sol J, Lam T. Prevalence of intramammary infection in Dutch dairy herds. J Dairy Res 2009; 76(2): 129-36.
 25. Tikofsky LL, Zadoks RN. Cross-infection between cats and cows: origin and control of *Streptococcus canis* mastitis in a dairy herd. J Dairy Sci 2005; 88: 2707-13.
 26. Tiwari A, VanLeeuwen JA, Dohoo IR, Stryhn H, Keefe GP, Haddad JP. Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. Vet Microbiol 2005; 109: 147-58.

27. Vandenbroucke-Grauls CM, Beaujean DJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig breeders and cattle breeders. Ned Tijdschr Geneesk 2006; 150: 1710-2.
28. Wellenberg GJ, van der Poel WH, van Oirschot JT. Viral infections and bovine mastitis: a review. Vet Microbiol 2002; 88: 27-45.
29. Wilson DJ, González RN, Sears PM. Segregation or use of separate milking units for cows infected with *Staphylococcus aureus*: effects on prevalence of infection and bulk tank somatic cell count. J Dairy Sci 1995; 78: 2083-5.
30. Zadoks RN. Sources and epidemiology of *Streptococcus uberis*, with special emphasis on mastitis in dairy cattle. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2007; 2(030): 15.
31. Zadoks RN, Schukken YH. Use molecular epidemiology in veterinary practice. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2006; 22: 229-61.

ENGLISH

BIOSECURITY AND MASTITIS IN INTENSIVE DAIRY PRODUCTION

S. Boboš, Z. Rašić, M. Radinović, Z. Mašić, Marija Pajić, Annamaria Galfi, Milica Bošković

Newly purchased animals that enter a herd with high milk production can be infected with pathogens of the mammary gland and are a potential risk of infection to the cows on the farm. This risk cannot be avoided entirely, but it can be minimized by taking biosecurity measures that should be written as a policy developed for biosecurity oversight of veterinary service: when older cows are purchased, they should be bought with complete lactations and SCC records, and bacterial examination of milk from the udder quarters must be negative for pathogens of the udder; newly purchased cows should come from herds in which the geometric mean somatic cell count is less than 200,000. The herd must have individual cow SCC recorded at least bimonthly for the previous 6 months; the herd must not have had any history of *Strep. agalactiae* infection in the last 2 years, the herd should be BVDV-free or vaccinated, and the herd owner must be honest and willing to provide all this information. Our country has accepted the standards for milk quality and hygienic properties that comply with EU standards. The proposed biosafety measures presented in this paper enable the determination of the health status of the herd and the biosecurity level of mastitis in commercial farming in intensive dairy production.

Keywords: cows, mastitis, pathogens, somatic cells, biosecurity

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И МАСТИТЫ В ИНТЕНСИВНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОКА КОРОВ

С. Бобош, З. Рашич, М. Радинович, З. Машич, Мария Паич, *Annamaria Galfi*,
Милица Бошковиц

Новоприобретённые животные внесены в стадо с высокой продукцией молока могут быть заражены патогенами молочной железы и представляют собой потенциальный риск для явления инфекций у коров на ферме. Этот риск можно избежать полностью, но можно свести на минимум принятием биобезопасных мер, которым надо иметь писанную политику для биобезопасности, развитую с надзорной (ветеринарной) службой: когда приобретаются более старые коровы, они покупаются с целыми лактациями SCC записью, словно и бактериальным осмотром молока из четверти вымени отрицательным на патогены вымени; новоприобретённым коровам надо происходить из стад в которых геометрический центр числа соматических клеток меньше 200.000; стадо должно иметь отдельный SCC протокол для каждой коровы меньше всего двухмесячно для предыдущих 6 месяцев; стаду нельзя иметь хоть какую-нибудь историю о *Streptococcus agalactiae* для последних два года; стаду надо быть свободно од BVD (ВДКРС) или вакцинировано; владелец стада должен быть готовым "дать" все приведённые информации. Наша страна приняла стандарты для качества молока и гигиеническую исправность, согласованные с стандартами ЕУ. Предложенные биобезопасные меры, изложенные в этой работе, дали бы возможность определение здравоохранительного статуса стада и уровень биобезопасности для мастита на коммерческих фермах в интенсивном производстве молока.

Ключевые слова: корова, мастит, патогены, соматические клетки, биобезопасность

**OSNOVNE PROCEDURE U DIJAGNOSTICI MALIGNIH
OBOLJENJA KOD PASA I MAČAKA***
*GENERAL PROCEDURES IN DIAGNOSIS OF MALIGNANT DISEASES
IN DOGS AND CATS*

M. Jovanović, Mirjana Milovanović, V. Krstić, Vojislav Ilić**

Tumori se javljaju kod svih domaćih i divljih životinja. Najčešće se dijagnostikuju kod pasa i mačaka, a njihov broj raste iz godine u godinu. Poslednjih godina se smatra da je kancer najčešći uzrok uginuća kućnih ljubimaca. Brza i pouzdana dijagnoza je od velike važnosti jer omogućava doktoru veterinarske medicine da započne terapiju i da da prognozu. Rana dijagnostika ima za cilj da omogući otkrivanje neoplastičnih oboljenja pre nego što dođe do širenja tumora i tako omogućiti pravovremenu terapiju i poveća šanse za izlečenje životinje. Dijagnoza tumora se postavlja na osnovu anamneze, kliničke slike i specijalnih dijagnostičkih procedura. Od dijagnostičkih procedura najčešće se koriste laboratorijska dijagnostika, citologija, biopsija i patohistologija, imidžing dijagnostika (rendgenografija i rendgenoskopija, ultrazvučna dijagnostika, endoskopija, kompjuterska tomografija, magnetna rezonanca i scintigrafija) i molekularna dijagnostika. Svaka od ovih metoda ima svoje prednosti i nedostatke, koji se tiču cene, dostupnosti, osetljivosti, specifičnosti i kvaliteta anatomskih u odnosu na funkcionalne slike. Svaka od ovih tehnika ima svoje polje primene i svaka od njih donosi drugačije i dopunske informacije s obzirom na prirodu i položaj primarne lezije i postojanje metastaza.

Ključne reči: neoplazija, dijagnostika, psi, mačke

Uvod / Introduction

Malo je disciplina u veterinarskoj medicini koje su poslednjih godina postigle toliki napredak i koje su predmet tolikog interesovanja kao onkologija. Ona je interdisciplinarna, jer za uspeh zahteva saradnju različitih specijalista.

* Rad primljen za štampu 22. 02. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Milan Jovanović, docent, dr sc. med. vet. Mirjana Milovanović, docent, dr sc. med. vet. Vanja Krstić, redovni profesor, dr sc. med. vet. Vojislav Ilić, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Srbija

Kada tokom kliničkog pregleda posumnjamo na maligno oboljenje, potrebno je primeniti osnovne procedure u dijagnostici i tretmanu takvih pacijenata.

Dijagnoza tumora se postavlja na osnovu anamneze, kliničke slike i dijagnostičkih procedura. Pored postavljanja dijagnoze, cilj nam je i određivanje stadijuma bolesti. Od dijagnostičkih procedura koristimo: 1) laboratorijsku dijagnostiku, 2) citologiju, 3) biopsiju i histopatologiju, 4) imidžing dijagnostiku (rendgenografiju, rendgenoskopiju, ultrazvučnu dijagnostiku – UZ, endoskopiju, kompjutersku tomografiju – CT, magnetnu rezonancu – MR, scintigrafiju - nuklearna medicina) i 5) molekularnu dijagnostiku.

Imidžing dijagnostika ima važnu ulogu u vođenju pacijenata sa kancerom. Ove tehnike se primenjuju da bi se, prilikom pregleda pacijenta, ispitali priroda i položaj primarne lezije na koju se sumnja, da se utvrde metastaze, da se posmatra progresija lezije ili njen odgovor na terapiju (Dennis, 2003).

Primarne dijagnostičke imidžing tehnike koje se koriste u veterinarskoj medicini su radiografija i ultrasonografija i one su komplementarne. Za ispitivanje lezija u mozgu ove tehnike su neadekvatne i moraju se primeniti magnetna rezonanca ili kompjuterska tomografija, pošto one prikazuju patološke promene sa mnogo detaljnijom slikom tkiva nego radiografija i ultrasonografija. Takođe, MR i CT su korisne za procenu većine tumora gde je planirana teža operacija ili radioterapija. One se po pravilu sprovode u referentnom centru gde će se vršiti i tretman, kako bi se osiguralo dobijanje što prikladnijeg seta slika (Wisner i Polland, 2004). Gama scintigrafija sa radionukleidima pogodna je za otkrivanje skrivenih metastaza, na primer tokom pregleda skeleta. Ova tehnika se koristi relativno retko u veterinarskoj medicini, uglavnom zbog nedostatka opreme (Dennis, 2003).

Svaka od imidžing tehnika ima svoje prednosti i mane koje se tiču cene, dostupnosti, osetljivosti, specifičnosti i kvaliteta anatomskih u odnosu na funkcionalne slike. U svakom slučaju, sigurno je da se nekoliko tehnika mora primeniti, od kojih svaka donosi drugačije i dopunske informacije s obzirom na prirodu i položaj primarne lezije i prisustvo metastaza.

Postupak i prognoza za svaku jedinku sa kancerom će zavisi od prirode i stepena oboljenja. Ako želimo da terapija uspe, histološki tip i stepen tumora, kao i njegova veličina i anatomsko prostiranje moraju biti definisani pre tretmana. Takođe je važno da se ustanove moguće hematološke i metaboličke komplikacije u vezi sa oboljenjem i da se utvrdi postojanje konkurentnih bolesti, jer svi ovi faktori utiču na odabir metoda terapije i prognozu, odnosno hoće li pacijent uopšte biti podvrgnut lečenju ili ne (Ogolvie i Moore, 2006).

Ciljevi početnog ispitivanja pacijenta sa kancerom treba da budu sledeći: postaviti dijagnozu na osnovu histološkog tipa i stepena oboljenja, determinisati anatomske granice ili faze bolesti, utvrditi postojanje komplikacija u vezi sa tumorom i utvrditi postojanje bilo kakvog konkurentnog poremećaja (Morris i Dobson, 2001).

Laboratorijska ispitivanja / *Laboratory investigations*

Značajan deo pri postavljanju dijagnoze i procene kliničkog stadijuma kod malignih oboljenja imaju laboratorijska ispitivanja. Ovim ispitivanjima utvrđujemo prisustvo paraneoplastičnih sindroma i/ili konkurentnih oboljenja, koja nisu povezana sa samim neoplastičnim oboljenjem (Jovanović i Andrić, 2008). Laboratorijske analize podrazumevaju kompletnu krvnu sliku, biohemijske analize krvi (radi utvrđivanja postojanja poremećaja u funkciji različitih organa koja nastaju usled paraneoplastičnog sindroma, samih neoplazmi ili podudarnih bolesti) i analize urina (posebno kod neoplazmi urinarnog sistema). Pored ovih analiza preporučuje se da se kod mačaka urade i testovi na mačiju leukemiju (FeLV) i mačiju imunodeficijenciju (FIV) jer je ustanovljena povezanost između nastanka limfoma i ovih virusnih infekcija (Jovanović, 2009; Jovanović i sar., 2009; Hahn, 2002; Ogilvie i Moore, 2006).

Citologija / *Cytology*

Citologija je u mnogim slučajevima prvi korak ka postavljanju dijagnoze. Citološka dijagnostika kliničaru pomaže da identifikuje bolest (napravi razliku između inflamatornog i neoplastičnog procesa), determiniše sledeću dijagnostičku proceduru (biopsija, laparoskopija, ekstirpacija *in toto*...) i u nekim slučajevima da da prognozu (Marinković i sar., 2009).

Postoji nekoliko metoda dobijanja citoloških uzoraka: eksfolijativna citologija, abrazivna citologija i aspiraciona/tankoiglena biopsija (FNAB, fine needle aspiration biopsy). Svaka od ovih metoda ima svoje područje primene zavisno od organa, tkiva ili eksudata koji treba citološki ispitati (Cowell i sar., 2008; Thrall, 2007). Poseban aspekt je biopsija koštane srži, radi citološkog ispitivanja dobijenog uzorka, na primer kod limfoma, ali i kod dijagnostikovanja drugih primarnih tumora, metastaza u koštanoj srži ili prisustva paraneoplastičnog sindroma (Jovanović i sar., 2009a).

Primenom citološke metode nekada je moguće postaviti definitivnu dijagnozu određenog tumora (tumor mast ćelija, limfom), ali češće citologija daje samo jasnu klasifikaciju lezije. Citološka dijagnostika pomaže da diferencijalno dijagnostički razlikujemo etiologiju lezija koje u kliničkom i makroskopsko-morfološkom smislu izgledaju slično. Pri tom se misli na razlikovanje inflamatornih od neoplastičnih promena (razlikovanje hematoma i apscesa od tumora, razlikovanje limfadenitisa od limfoproliferativnih oboljenja-leukoza), razlikovanje benignih od malignih neoplazmi (Cowell i sar., 2008). Citološka dijagnostika nam omogućava identifikaciju porekla ćelija (epitelijalne, mezenhimske, okrugle ćelije). Tako, ako uzorak sadrži epitelijalne ćelije sa malignim karakteristikama biće klasifikovan kao karcinom (Villiers i sar., 1998; Villiers, 2003).

Biopsija / *Biopsy*

Biopsija je jedna od najvažnijih dijagnostičkih procedura koja se izvodi kod životinja sa kancerom. Ona predstavlja „zlatni standard“ u dijagnostikovanju malignih oboljenja. Rezultati biopsije moraju se tumačiti pažljivo i zajedno sa rezultatima drugih dijagnostičkih procedura (krvna slika, radiografija, ultrazvuk, CT, MR i dr.). Uzorak dobijen biopsijom je od koristi samo kada je valjano uzet i pripremljen i kada je protumačen od strane iskusnog patologa (Ogilvie i Moore, 2006). Biopsijom se dobijaju uzorci za citološku i histološku analizu i određuje gradacija tumora („grading“), odnosno biološke karakteristike tumora na osnovu patohistoloških parametara (pleomorfizam, broj mitotičkih ćelija itd.).

Dobijanje uzoraka tkiva je neophodno kod ispitivanja solidnih tumora. Na osnovu rezultata citoloških i histoloških analiza isečka tkiva, definiše se tip tumorskih ćelija i dobija informacija o aktivnosti tumora (Butinar, 2009; Tozon i Butinar, 2006). Važno je da ove informacije dobijemo pre početka tretmana kako bismo odabrali optimalan plan terapije. (White, 2003; Withrow i Ehrhart, 2007).

Pri izvođenju biopsije mora se obezbediti minimalan rizik širenja neoplastičnih ćelija. Rizik moguće hematogene ili limfogene distribucije tumorskih ćelija sa primarnog na udaljena mesta u organizmu tokom pravilnog izvođenja biopsije je minimalan ili ne postoji. Iako tumorske ćelije mogu biti dislocirane tokom zahvata, danas je prihvaćeno mišljenje da one retko rezultiraju udaljenim metastazama. Međutim, lokalna diseminacija tumorskih ćelija u okolna tkiva je moguća. Tumorske ćelije mogu biti raširene tokom neadekvatnog rukovanja tumorskim tkivom u toku biopsije ili zbog posledičnog krvarenja iz rane ili razvoja seroma posle obavljene biopsije. Krvarenja treba zaustaviti, a mrtve prostore obraditi kako bismo sprečili nastanak hematoma i seroma (White, 2003).

Postoji više načina biopsija kod malignih promena i to su perkutana biopsija, incizijska biopsija, ekscizijska biopsija i intraoperativna biopsija.

Perkutana biopsija / *Percutaneous biopsy*

Perkutana biopsija se može izvoditi kao iglena ili kao probojna („punch“) biopsija. Probojna biopsija se izvodi pomoću specijalnog kružnog instrumenta tzv. punch biopsera, različitog promera, koji se posle sterilizacije mogu ponovo koristiti. Promer biopsera je najčešće od 2 do 6 mm. Generalno, uvek je bolje koristiti instrumente za punch biopsiju sa većim promerom, jer se tako dobija veći uzorak i olakšava rad patologa prilikom postavljanja histološke dijagnoze. Kada god je moguće, potrebno je uzeti veći broj uzoraka i to sa mesta prelaza normalnog u promenjeno tkivo (Withrow i Ehrhart, 2007).

Iglenom biopsijom („needle core biopsy“) dobijamo značajno više ćelija nego tankoiglenom biopsijom (FNAB), pri čemu, uprkos maloj količini tkiva, uzorak zadržava originalan raspored ćelija. Ovaj metod je posebno efektivan kod uzorkovanja tkiva tumora koji se nalaze bliže površini ili se mogu palpirati dovoljno dobro da bi se fiksirali tokom izvođenja procedure. Međutim, instrumentima za

igleni biopsiju moguće je dobiti i uzorke tkiva iz unutrašnjih organa uz minimalnu hiruršku intervenciju. Ovo se radi najčešće navođenjem pomoću ultrazvuka (jetra, prostata), ali je u tim slučajevima potrebno uvođenje životinje u opštu anesteziju (White, 2003).

Incizijska biopsija / *Incision biopsy*

Incizijska biopsija daje pouzdanije rezultate u poređenju sa perkutanom biopsijom sa iglom, ali nažalost, zahteva sedaciju i lokalnu anesteziju ili, što je često prihvatljivije i brže, kratkotrajnu opštu anesteziju. Kada planiramo biopsiju u obzir moramo uzeti sve mogućnosti, kako bismo sva tkiva zahvaćena biopsijom mogli u potpunosti iseći kod konačne operacije. Obično je najbolje da hirurug koji radi biopsiju radi i definitivnu operaciju. Povećan oprez omogućava da povrede zdravih struktura budu što manje. Nastanak i veličinu mogućeg hematoma treba smanjiti što bržom hemostazom (Butinar 2009; Butinar i Rajec, 2009).

Ekscizijska biopsija / *Excision biopsy*

Ekscizijska biopsija znači odstranjivanje kompletnog tumora i slanje materijala na histološku analizu. Ova vrsta biopsije je prihvatljiva kod svih marnih tumora u kuja koje nisu sterilisane ili su sterilisane nakon 2,5 godine starosti, ali i kod svih tumora, koji mogu biti odstranjeni u potpunosti sa minimalnim oštećenjima i kada nije ustanovljena metastaza.

Intraoperativna biopsija / *Intraoperative biopsy*

Često se radi i intraoperativna biopsija kada tumor nije resektibilan, kad očekujemo da se tumor može nakon histološke diagnoze lečiti drugim sredstvima ili kada vlasnici životinje očekuju dijagnozu pre odluke o eutanaziji. Često se elektivna intraoperativna biopsija radi za postavljanje drugih, a ne tumorskih bolesti, npr. imunskih i upalnih bolesti creva (Butinar, 2009).

Tkivni uzorci se najbolje fiksiraju u 10% puferovanom neutralnom rastvoru formalina. Uzorci se transportuju u dovoljno velikim staklenim ili plastičnim posudama tako da čine 10% od zapremine dodatog rastvora za fiksaciju. Veliki uzorci tkiva se redom iseku do maksimalno 1 cm debljine kako bi se osigurala dobra fiksacija (White, 2003). Veoma male i tanke uzorke trebalo bi izbegavati jer proces fiksacije deformiše arhitekturu tkiva. Sveži uzorci trebalo bi da se drže u rastvoru za fiksaciju 24 do 48 časova.

Imidžing dijagnostika / *Imaging diagnostics*

Da bismo utvrdili stepen raširenosti neke promene i mogućnost pojave metastaza služimo se i drugim dijagnostičkim metodama – rendgenskim i ultrazvučnim pregledom, endoskopijom, pri čemu sve ovo možemo proširiti i najnovijim vizuelnim tehnikama ako smo u mogućnosti (CT, MR, scintigrafija).

Rendgenografija je najšire korišćena metoda imidžing dijagnostike u veterinarskoj praksi i to prvenstveno zbog jednostavnosti izvođenja ove procedure, dostupnosti, kao i niske cene. Koristi se za otkrivanje mnogih primarnih i metastatskih tumora, njihovo lokalizovanje, a od pomoći je i kod planiranja mesta biopsije. Rendgenska dijagnostika se dobro pokazala kod pregleda kostiju kao i organa grudne duplje, jer pluća ispunjena vazduhom daju dobar kontrast. S druge strane, mogućnosti za rendgensko prikazivanje trbušnih organa su vrlo ograničene i uslovljene primenom kontrastnih sredstava, jer svi organi daju senku mekog tkiva i dolazi do sumacije i nemogućnosti razlikovanja pojedinih organa (Dennis, 2003; Šehić i Butković, 2002).

Uspeh rendgenskog pregleda zavisi od adekvatne pripreme pacijenta i celishodnog planiranja samog pregleda. Radiološko ispitivanje ne može biti početna faza ispitivanja, niti treba da prethodi kliničkom pregledu. Cilj rendgenske analize je da potvrdi i dopuni klinički nalaz ili da otkloni sumnju na postojanje oboljenja. Osim utvrđivanja topografsko-anatomske položaja, morfologije (oblik, veličina), dobijaju se i podaci o fiziološkoj aktivnosti pojedinih organa (ritmički pokreti, tonus, motilitet, brzina punjenja i pražnjenja kontrastom, peristaltički pokreti creva, prohodnost lumena) (Krstić i Krstić, 2007; Francuski i sar., 2010).

Ultrasonografija je metoda dijagnostike koja je komplementarna sa rendgenografijom i koja se danas sve više koristi u svakodnevnoj veterinarskoj praksi. Od ostalih dijagnostičkih procedura ultrasonografiju izdvaja jednostavnost izvođenja, neinvazivnost, odsustvo štetnog jonizujućeg zračenja i relativno niska cena. Pregled se dobro podnosi i zahteva minimalnu pripremu pacijenta, a, pored toga što pruža neophodne informacije o položaju i veličini organa, omogućava i vizuelizaciju fokalnih i difuznih patoloških promena u parenhimu organa. Pregled pomoću ultrazvuka danas predstavlja metod izbora u dijagnostici oboljenja jetre (a to se može reći i za slezinu, pankreas, bubrege). Ultrasonografija se posebno korisnom pokazala pri pregledu onkoloških pacijenata, i to u utvrđivanju primarnih lezija mekih tkiva kao i u potrazi za metastazama u mekim tkivima (uglavnom abdominalnim). Upotreba u dijagnostici oboljenja skeletnog sistema je vrlo ograničena (Dennis, 2003).

Magnetna rezonanca (MR) predstavlja najsavremeniju dijagnostičku slikovnu metodu. MR se koristi za primarnu dijagnostiku oboljenja (na primer CNS tumora) i evaluaciju veličine tumora radi izbora i planiranja terapije. Često je ova metoda dijagnostike ključna u donošenju odluke da li se na neki tumor može delovati terapijom ili ne može. Iako se ovom metodom mogu pregledati svi delovi tela, MR se ipak najviše koristi u dijagnostici lezija CNS-a, pa se danas smatra metodom izbora u pregledu CNS-a (Forest, 2007).

Kompjuterska tomografija (CT) se primenjuje za pregled celog tela ili bilo kog dela tela, a u onkologiji se najčešće koristi za detekciju primarnih tumora i metastaza na plućima, jetri, pankreasu, slezini, nadbubrežnim žlezdama, mozgu, kičmi, kao i u telesnim šupljinama. Metodom CT, uz upotrebu kontrasta, moguće je detektovati male nodule unutar jetre, slezine i mišićne koji nisu vidljivi na

UZ pregledu. CT daje mnogo više informacija prilikom pregleda nosne šupljine, lobanje, maksile, mandibule, karlice i kostiju kičmenog stuba nego što je to slučaj sa radiografijom (Wisner i Pollard, 2004). Takođe, kompjuterska tomografija se pokazala boljom metodom od MR kada se radi pregled koštanih struktura ili plućnog tkiva. CT je drastično povećala mogućnosti identifikacije pulmonarnih metastaza.

Molekularna dijagnostika / *Molecular diagnostics*

Istraživanja na polju molekularne biologije i genetike promenila su shvatanje biologije tumora. Tehnološki napredak danas daje mogućnost da se ova saznanja primene u kliničkoj praksi u formi novih dijagnostičkih testova i planova terapije. Od metoda molekularne dijagnostike u veterinarskoj medicini se najčešće koriste citogenetika i polimeraza lančana reakcija u ispitivanju DNK, „northern blot“ i reverzna transkriptaza-polimeraza lančana reakcija u ispitivanju RNK, „western blot“ i imunohistohemija u ispitivanju proteina (Preziosi i sar., 2004; Knuutila, 2004; Paoloni i Khanna, 2007).

Pregled regionalnih limfnih čvorova / *Examination of regional lymph nodes*

Kod pacijenata sa neoplastičnim oboljenjem moramo pregledati lokalne i regionalne limfne čvorove, koji dreniraju područje u kome se nalazi tumor, čime proveravamo prisustvo potencijalnih metastaza. Periferne i sve limfne čvorove koje je moguće palpirati pregledamo palpacijom, a za ostale koristimo druge vizuelne tehnike (RTG, UZ, CT, MRI). Limfnim putem obično metastaziraju mastocitom, maligni melanom i epitelni tumori (karcinomi, adenokarcinomi), druge vrste tumora, kao na pr. sarkomi, metastaziraju hematogeno i stvaraju udaljene metastaze u parenhimatoznim organima (pluća, jetra, slezina). Bez obzira na vrstu tumora neophodan je pregled limfnih čvorova, radi određivanja stepena kliničkog stadijuma bolesti (Jovanović i sar., 2009).

Palpacijom utvrđujemo promene u veličini, obliku i konzistenciji. U slučaju odstupanja nekog od parametra pribegavamo tankoiglenoj biopsiji. U početnoj fazi metastatične bolesti zbog manjeg broja neoplastičnih ćelija, „zlatni standard“ je histološki pregled, za koji je neophodna totalna anestezija i hirurški zahvat.

Zbog velike osetljivosti ćelija limfnih čvorova, neophodno je raditi tankoiglenu biopsiju ali bez aspiracije. Pri punkciji submandibularnih limfnih čvorova moramo voditi računa o blizini pljuvačnih žlezda, koje možemo pogrešno zameniti sa limfnim čvorovima. Ako sumnjamo na maligni limfom, svakako treba izbegavati punkciju submandibularnih limfnih čvorova, jer je cela regija reaktivno promenjena zbog patoloških promena u usnoj šupljini, što nam može remetiti rezultate. Obično se u tom slučaju punktiraju preskapularni ili poplitealni limfni čvorovi.

Određivanje stadijuma razvoja tumora / *Determination-rating of stages of tumor development*

Određivanje stadijuma, stepena razvoja tumora (engl. *staging*) je zadatak kliničkog onkologa jer se odvija na živoj životinji, pri čemu je važno poštovati sve kriterijume koji su određeni za pojedine tumore. Histološki tip tumora i njegova malignost su dva osnovna faktora koja određuju „biološko ponašanje“ tumora. Klinički stadijum određuje raširenost bolesti, a sa tim su povezani način lečenja i prognoza. Tako je u veterinarsoj medicini preuzet i prilagođen model klasifikacije iz humane medicine „TNM classification of Tumours in Domestic Animals“, koji određivanje stadijuma tumora zasniva na tri osnovna parametra (Dobson, 2003):

T – (T1-T4) veličina tumora (*tumor size*). Precizno se određuje veličina tumora, broj tumora i način širenja odnosno zahvaćenost okolnog tkiva.

N – (N1-N3) zahvaćenost limfnih čvorova (*limphnode involvement*). Određuje se zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova ili onih čvorova koji su češće zahvaćeni kod nekog tipa tumora. Postoje i podstadijumi a – kada nema simptoma oboljenja i podstadijum b – sa simptomima.

M – (M0-M1) prisustvo metastaza (*distant metastasis*). Utrđuje se primenom različitih dijagnostičkih postupaka (rendgenografija, ultrazvuk, kompjuterska tomografija itd.). Prisustvo metastaza automatski svaki tumor stavlja u klinički najteži stepen malignosti.

Ovaj sistem određivanja stadijuma razvoja tumora se primenjuje za svaku vrstu (lokalizaciju) tumora posebno kada je veličina tumora u pritanju (T). Za stepenovanje tumora pored kliničkih parametara značajne su i histološke karakteristike tumora kao što su mitotski indeks i stepen diferencijacije ćelija, stepen pleomorfizma, prisustvo nekroze, invazivnost i limfocitna infiltracija. Takođe su veoma važni parametri citoloških obeležja samih tumorskih ćelija kao što su opšte karakteristike (celularnost, pleomorfizam), karakteristike jedra (veličina, odnos jedra i citoplazme, oblik i broj jedara), kao i citoplazmatske karakteristike (bazofilija, vakuolizacija).

Literatura / References

1. Butinar J. Principi hirurške onkologije. Zbornik radova 10. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Kragujevac, Srbija, 2008: 6-20.
2. Butinar J, Rajec A. Onkologija malih životinja – Pristup i odnos prema pacijentu i vlasniku životinje: Analgezija malih životinja obolelih od raka. Zbornik radova 10. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Kragujevac, Srbija, 2008: 2-6.
3. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, DeNikola DB. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. 3rd edition. Mosby Elsevier, St Louis 2008.
4. Dennis R. Imaging tumors. In: Dobson JM, Lascelles XBD editors. Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition, BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 41-60.

5. Dobson MJ. TNM classification and clinical staging. In: Dobson JM, Lascelles XBD editors. *Manual of Canine and Feline Oncology*. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 18-20.
6. Forest JL. Diagnostic imaging in oncology. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). *Small Animal Clinical Oncology*. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 96-111.
7. Francuski J, Jovanović M, Lazarević Macanović M. Limfom mačaka – Prikaz slučaja. Zbornik radova 12. regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Clinica veterinaria 2010, Subotica, Srbija, 2010: 151-2.
8. Hahn AK. *Veterinary Oncology*, Butterworth-Heinemann, Boston US, 2002.
9. Jovanović M, Andrić N. Paraneoplastični sindrom kod pasa i mačaka, Zbornik radova X regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja. Clinica veterinaria 2008, Krgujevac, Srbija, 2008: 20-5.
10. Jovanović M. Zašto mala praksa ne može bez laboratorijske dijagnostike? Zbornik referata Veterinarska medicina život i zdravlje 8. kongresa veterinara Srbije Beograd, 2009: 523-31.
11. Jovanović M, Krstić V, Ilić V. Maligna oboljenja pasa i mačaka, Zbornik predavanja sa XXX seminara za inovacije znanja veterinara. Beograd, Srbija, 2009: 105-15.
12. Jovanović M, Ilić V, Čalić M. Biopsija kostne srži kod pasa i mačaka, Zbornik kratkih sadržaja 14. godišnjeg savetovanja veterinara Republike Srpske/Bosna i Hercegovina. Jahorina, 2009a: 210-1.
13. Knuutila S. Cytogenetics and molecular pathology in cancer diagnostics. *Ann Med* 2004; 36: 162-71.
14. Krstić N, Krstić V. Rendgenološka i endoskopska dijagnostika oboljenja digestivnog i respiratornog sistema pasa i mačaka, autori, Beograd. 2007.
15. Marinković D, Jovanović M, Krstić V, Aleksić-Kovačević S. Citološka dijagnostika pasa i mačaka, Veterinarski žurnal Republike Srpske (Veterinary Journal of Republic of Srpska) 2009; 9(1): 67-73.
16. Morris J, Dobson J. *Small Animal Oncology*, Blackwell Science Ltd, Oxford 2001.
17. Ogilvie KG, Moore SA. Managing the canine cancer patient a practical guide to compassionate care. Veterinary learning systems Mesia Media USA. 2006.
18. Paoloni CM, Khanna C. Molecular diagnostic. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). *Small Animal Clinical Oncology*, 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 134-46.
19. Preziosi R, Morini M, Sarli G. Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 554-61.
20. Šehić M, Butković V. Rendgenografska i ultrasonografska dijagnostika tumora. U Graberević Ž (ed). *Veterinarska onkologija*. DSK-FALKO Zagreb, Hrvatska, 2002: 253-301.
21. Thrall MA. Diagnostic cytology in clinical oncology. In: Witrow JS, Vail MD. (ed.): *Small Animal Clinical Oncology*. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007. 112-33.
22. Tozon N, Butinar J. Dijagnostika i lečenje raka kod malih životinja. Zbornik predavanja VIII savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Neum, Bosna i Hercegovina, 2006.
23. Villiers EDJ i sar. Collection and preparation of smears for cytological examination. In: *Practice* 20. BSAVA, 1998: 370-7.
24. Villiers E. Cytology. In: Dobson JM, Lascelles XBD. *Manual of Canine and Feline Oncology*. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 24-37.

25. White ASR. Core, incisional and excisional biopsy. In: Dobson JM, Lascelles XBD. Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 41-60.
26. Wisner ER, Pollard RE. Trends in veterinary cancer imaging. Vet Comp Oncol 2004; 2(2): 49-74.
27. Withrow JS, Ehrhart PN. Biopsy principles. In: Witrow JS, Vail MD (ed.): Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier. US, 2007: 147-53.

ENGLISH

GENERAL PROCEDURES IN DIAGNOSIS OF MALIGNANT DISEASES IN DOGS AND CATS

M. Jovanović, Mirjana Milovanović, V. Krstić, V. Ilić

Tumors occur in all domestic and wild animals. They are most often diagnosed in dogs and cats, and their numbers increase from year to year. In the recent years, cancer is believed to be the most frequent cause of pet deaths. A speedy and reliable diagnosis is of paramount importance because it enables the veterinarian to begin therapy and make a prognosis. The objective of an early diagnosis is to enable the detection of neoplastic diseases before the tumor spreads throughout the organism, consequently enabling the timely administration of therapy and providing greater chances for curing the animal. A tumor is diagnosed on the grounds of the anamnesis, clinical picture, and special diagnostic procedures. The most frequently applied diagnostic procedures are laboratory diagnostics, cytology, biopsy and pathohistology, imaging diagnostics (roentgenography and roentgenoscopy, ultrasound diagnostics, endoscopy, computer tomography, magnetic resonance, and scintigraphy) and molecular diagnostics. Each of these methods has its advantages and faults in connection with costs, availability, sensitivity, specificity and quality of anatomic vs functional pictures. Every one of these techniques has its own field of implementation and each one provides different and additional information in connection with the nature and position of the primary lesion and the presence of metastases.

Key words: neoplasia, diagnostics, dogs, cats.

РУССКИЙ

ОСНОВНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ В ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У СОБАК И КОШЕК

М. Йованович, Миряна Милованович, В. Крстич, В. Илич

Опухоли являются у всех домашних и диких животных. Чаще всего диагностируются у собак, и кошек, а их число растёт из года в год. Последних лет считается, что канцер самая частая причина околени домашних любимцев. Быстрый и надёжный диагноз очень важный ибо даёт возможность ветеринару начать терапию и дать прогной. Ранняя диагностика имеет для цели дать возможность открытие неопластических забоеваний прежде чем доходит до расширения опухоли

по организму и так делает возможным своевременную терапию и увеличит шансы для излечения животного. Диагноз опухоли поставляется на основе анамнеза, клинической картины и специальных диагностических процедур. От диагностических процедур чаще всего пользуются: лабораторная диагностика, цитология, биопсия и патогистология, имидж диагностика (рентгенография и рентгеноскопия, ультразвуковая диагностика, эндоскопия, компьютерная томография, магнитный резонанс и сцинтиграфия) и молекулярная диагностика. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки связано для вопроса цены, доступности, чувствительности, специфичности и качества анатомических в отношении функциональных картин. Каждая из этих техник имеет своё поле применения и каждая из них приносит иные и дополнительные информации принимая во внимание на природу и положение первичного повреждения и присутствие метастазов.

Ключевые слова: неоплазия, диагностика, собаки, кошки

**OSNOVNE TERAPIJSKE PROCEDURE U ONKOLOGIJI
PASA I MAČAKA***
*GENERAL PROCEDURES IN DIAGNOSIS OF MALIGNANT DISEASES
IN DOGS AND CATS*

M. Jovanović, Mirjana Milovanović, V. Ilić, V. Krstić**

Brza i pouzdana dijagnoza malignog oboljenja je od velike važnosti jer omogućava doktoru veterinarske medicine da započne adekvatnu terapiju i da odgovarajuću prognozu. U zavisnosti od forme i tipa malignog procesa mogu se primeniti sledeće terapijske metode: hirurška terapija, radioterapija (terapija zračenjem), hemoterapija, imunoterapija, molekularna-genska ciljna terapija, elektrohemoterpija i elektrogenska terapija, krio terapija – krio hirurgija, hipertermija, fotodinamska terapija i potporna terapija. Vrlo često u terapiji malignih oboljenja kod pasa i mačaka koristimo dve ili više terapijskih metoda. Prednosti i nedostaci ovih metoda tiču se cene, dostupnosti, osetljivosti, specifičnosti i kvaliteta. Svaka od njih ima svoje polje primene i pruža drugačije informacije s obzirom na prirodu i položaj primarne lezije, postojanje metastaza kao i mogućih komplikacija koje su česte kod onkoloških pacijenata.

Ključne reči: neoplazija, terapija, radioterapija, hemioterapija, psi, mačke

Uvod / Introduction

U terapiji malignih oboljenja kod pasa i mačaka, pre izrade adekvatnog terapijskog protokola, postavljamo dva osnovna pitanja – da li je moguće izlečiti pacijenta, ili terapijom želimo da postignemo što bolji kvalitet života u što dužem vremenskom periodu. Takođe, uzimamo u obzir šta je „najbolje za tumor“, šta je najbolje za pacijenta, a šta za vlasnika odnosno porodicu (Hahn, 2002; Butinar i Rajec, 2008). Kod onkoloških pacijenata postoje dva osnovna terapijska prilaza – kurativna i paliativna terapija. Kurativna terapija u onkologiji podrazumeva

* Rad primljen za štampu 22. 02. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Milan Jovanović, docent, dr sc. med. vet. Mirjana Milovanović, docent, dr sc. med. vet. Vojislav Ilić, vanredni profesor, dr sc. med. vet. Vanja Krstić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Srbija

„Mogućnost kontrole primarnog ili metastatskog tumora duže od jedne godine sa konvencionalnim terapijama za određeni tip tumora“. Palijativna terapija se sprovodi kod onkoloških pacijenata u terminalnoj fazi bolesti koji nisu odgovorili na primenjenu kurativnu terapiju (Svetska Zdravstvena Organizacija-WHO). Ona obuhvata kontrolu bola i otklanjanje drugih simptoma, zajedno sa psihološkim, sociološkim i emotivnim aspektom. Srž palijativne terapije je bolji kvalitet života za pacijenta i porodicu (Jovanović i sar., 2009; Jovanović i sar., 2010; Butinar i Rajec, 2008; Hahn, 2002).

Postupak i prognoza za svaku individuu sa kancerom zavise od prirode i stepena oboljenja. Pre tretmana definišu se histološki tip i stepen tumora, kao i njegova veličina i anatomsko prostiranje. Pored toga, važno je da se ustanove moguće hematološke i metaboličke komplikacije i da se utvrdi postojanje konkurentnih bolesti, jer svi ovi faktori utiču na odabir metoda terapije i prognozu – hoće li pacijent biti podvrgnut lečenju ili ne. Terapijski efekat se sastoji u izazivanju produžene remisije, uz minimalnu toksičnost i nuspojave. To je važno, jer vlasnici teško prihvataju kada njihovi ljubimci pokazuju simptome intoksikacije usled hemoterapije (Ogilvie i Moor, 2006). Kliničar treba da objasni vlasniku biološko ponašanje tumora, verovatnoću uspeha i kakav je ishod bolesti sa terapijom ili bez nje. Isto tako, vlasniku obolele životinje je potrebno predočiti da poboljšanje zdravstvenog stanja tokom sprovođenja terapije nije i kraj terapije.

Tabela 1. Najčešće primenjivani tipovi terapije kod pojedinih malignih oboljenja pasa i mačaka /

Table 1. Most frequently applied types of therapy for certain malignant diseases in dogs and cats

Tip tumora / <i>Type of tumor</i>	Tip tretmana / <i>Type of treatment</i>
Limfomi / <i>Lymphomas</i>	Hemioterapija (dostupno više protokola) / <i>Chemotherapy (several protocols available)</i>
Tumori mast ćelija / <i>Tumors of mast cells</i>	Hemioterapija, hirurgija (+/-zračenje) / <i>Chemotherapy, surgery (+/-radiation)</i>
Fibrosarkomi / <i>Fibrosarcomas</i>	Hirurgija +/- hemioterapija, zračenje / <i>Surgery +/- chemotherapy, radiation</i>
Tumoru usne duplje / <i>Tumors of the oral cavity</i>	Hirurgija, sa rekonstrukcijom / <i>Surgery, with reconstruction</i>
Tumori mlečne žlezde / <i>Tumors of the mammary gland</i>	Hirurgija (+/-hemioterapija) / <i>Surgery (+/- chemotherapy)</i>
Osteosarkom / <i>Osteosarcomas</i>	Hirurgija + hemioterapija / <i>Surgery + chemotherapy</i>
Hemangiosarkom / <i>Hemangiosarcomas</i>	Hirurgija + hemioterapija / <i>Surgery + chemotherapy</i>
Tumori kože / <i>Tumors of the skin</i>	Hirurgija +/- hemioterapija, zračenje / <i>Surgery +/- chemotherapy, radiation</i>
Transitional Cell Carcinomas / <i>Transitional cell carcinomas</i>	Hirurgija + hemioterapija / <i>Surgery + chemotherapy</i>
Nediferencirani sarkomi / <i>Nondifferentiated sarcomas</i>	Hirurgija +/- Hemioterapija, zračenje / <i>Surgery +/- chemotherapy, radiation</i>

U zavisnosti od forme i tipa malignog procesa mogu se primeniti sledeće terapijske metode: hirurška terapija, radioterapija, hemioterapija, imuno-terapija, molekularna-genska ciljna terapija, elektrohemoterpija i elektrogenska terapija, krio terapija – krio hirurgija, hipertermija, fotodinamska terapija i potporna terapija (Hahn, 2002; Ogilvie i Moor, 2006; Butinar, 2008). Vrlo često u terapiji malignih oboljenja kod pasa i mačaka koristimo dve ili više terapijskih metoda, što je prikazano i u tabeli 1.

Onkološka hirurgija / *Oncological surgery*

U veterinarskoj onkologiji hirurgija ostaje do daljnjeg najefikasnija metoda lečenja malignih oboljenja. U humanoj medicini se smatra da 50% pacijenata obolelih od raka može biti izlečeno, od toga 50% hiruškim metodama, 40% radioterapijom i 10% hemioterapijom. Procenat izlečenja karcinoma hirurškim zahvatom kod životinja je još veći (Butinar i Rajec, 2009; Winthrow, 2007). U poređenju sa drugim modalitetima tretmana, operacija lokalizovanog tumora omogućava neposredno izlečenje, ona nije karcinogena, imunosupresivna i nema lokalne toksične efekte. Sa odgovarajućim anestetičkim i analgetskim protokolima i pridržavanjem principa onkološke operacije, mortalitet povezan sa anestezijom i samom operacijom je minimalizovan.

Onkološka hirurgija ima sledeće ciljeve: postavljanje dijagnoze – biopsija, konačni (terapijski) tretman za čvrste pojedinačne tumore i tumore niskog stepena malignosti, citoredukciju mase tumora pre radioterapije, kontrolu bola ili drugih simptoma bolesti (amputacija uda u slučajevima bolnih tumora ili patoloških fraktura), profilaksu (sterilizacija kuja), kontrolu mogućih metastaza (Butinar i Tozon, 2006; Capak i Matićić, 2002; Lascalles, 2003).

Primarni cilj operativnog tretmana bilo kog tumora, bilo da je benigni ili maligni, jeste da se fizički odstrane sve ćelije tumora, kao i margine normalnog tkiva prilikom hiruške ekscizije. Pravilo je da minimalne margine, ako je to moguće, budu 2-3 cm (Winthrow, 2007; Tozon i Butinar, 2006; Capak i Matićić, 2002; Lascalles, 2003).

Hemioterapija / *Chemotherapy*

Hemioterapija je lečenje ljudi ili životinja hemijskim sredstvima koja sprečavaju rast novotvorenina. Ta hemijska sredstva su onkolitici (antineoplastična sredstva ili citostatici). Ovaj vid terapije se u veterinarskoj medicini koristi kao samostalni vid lečenja ili u kombinaciji sa ostalim metodama lečenja tumora. Za uspešnu primenu neophodno je uvažiti osnovne principe lečenja, uzeti u obzir sporedne efekte, tehniku pripreme i aplikacije izabranih lekova (Hahn, 2002; Ogilvie i Moor, 2006; Lana, 2003).

Hemioterapeutici sprečavaju razvoj tumorskih ćelija i u zavisnosti od svog dejstva podeljeni su u dve grupe. Prvu grupu čine ciklus-zavisni hemoterapeutici, koji deluju na ćelije i ubijaju ih u toku mitoze i sinteze DNK, a drugu grupu

čine ciklus-ne zavisni, koji ubijaju ćelije u svim fazama ćelijskog ciklusa. Kombinacija više antineoplastičnih lekova dovodi do toga da oni različitim mehanizmima napadaju tumorske ćelije u različitim stadijumima ćelijskog ciklusa, dajući sinergistički efekat, čime se postiže viši nivo tumorocidnog dejstva sa minimalnom toksičnošću (Chun i sar., 2007; Hahn, 2002; Žubčić, 2002). Ako se ne unište sve tumorske ćelije može se očekivati ponovni razvoj procesa i nastanak simptoma bolesti. Dužina remisije zavisi od vrste i stepena razvijenosti malignog procesa. Postoje različiti programi (protokoli) za pojedinačnu ili kombinovanu terapiju malignih oboljenja kod pasa i mačaka i oni se menjaju u zavisnosti od iskustva i razvoja lekova.

Pri odabiru leka neophodno je uzeti u obzir sve činioce vezane za samu bolest, kao i želje i mogućnosti vlasnika. Vrlo je važno uzeti u obzir toksična dejstva lekova, bilo da ih koristimo pojedinačno ili u kombinaciji. Većina citostatika izaziva supresiju kostne srži u manjem ili većem stepenu, sa posledičnom anemijom, neutropenijom i trombocitopenijom. Takođe, većina tih lekova toksična je za gastrointestinalni trakt, te je neophodno primeniti antiemetike da bi se ublažili negativni efekti leka. Kod mačaka se tokom terapije sa ciklofosfamidom javlja alopecija, hemoragični cistitis. Doksorubicin izaziva akutnu ili hroničnu insuficijenciju bubrega, alergijsku reakciju i znakove akutne dispnoje. Slično je i kod primene *L-asparaginaze*. *Bleomicin* izaziva fibrozu pluća, sa posledičnim otežanim disanjem. Apsolutno je kontraindикована upotreba *5-fluorouracila* kod mačaka jer dovodi do smetnji u funkciji CNS-a i cisplatina, koji u minimalnim dozama dovodi do emfizema pluća i uginuća životinje. Kod pasa nema apsolutne kontraindikacije za određene lekove, ali i pored toga treba voditi računa o mogućim neželjenim efektima – ciklofosfamid kod 25% pacijenata prouzrokuje hemoragični cistitis, cisplatin je nefrotoksičan (bitna je dovoljna hidracija), doksorubicin može dovesti do akutne ili hronične kardiomiopatije (voditi računo o kumulativnom efektu), *L-asparaginaza* može uzrokovati anafilaksu, diseminovanu intravaskularnu koagulaciju (DIC) i pankreatitis, a lomustodin posle dugotrajne terapije može da prouzrokuje hepatitis (Žubčić, 2002; Chun i sar., 2007).

Prilikom aplikacije lekova, važna je brzina kojom se obavlja, ali i priprema pacijenta (hidracija) i preciznost aplikacije (paravensko umesto i/v davanja prouzrokuje težak dermatitis, čak i nekrozu). Doze citostatika se računaju kao funkcija prema površini tela BSA (Body Surface Area), pre nego prema težini tela, zato što je dotok krvi u organe koji su odgovorni za detoksikaciju (jetra, bubrezi) bliže povezan sa površinom nego sa težinom tela (Hahn, 2002; Ogilvie i moor, 2006; Chun i sar., 2007).

Pronalaženje novih citostatika, sa novim mehanizmom delovanja usmereno je u pravcu sprečavanja angiogeneze i upotrebe ciljnih terapija koje prepoznaju i sprečavaju delovanje intracelularnih onkogenih molekula (na pr. inhibitori tirozin kinaze).

Radioterapija – terapija zračenjem / *Radiotherapy – Radiation therapy*

Primena radioterapije kod malignih procesa zasniva se na delovanju jonizujućeg zračenja i to rendgenskih zraka, gama zraka i elektrona. Dejstvo zraka se zasniva na razaranju ćelija ili onemogućavanju deobe i razmnožavanja istih. Glavni činioci koji utiču na reakciju tkiva, organa ili tumora prema radijaciji jesu brzina razmnožavanja ćelija i urođena osetljivost ćelija. Rezultat bioloških efekata radijacije može se pokazati nakon nekoliko dana, nedelja, meseci ili čak godina. Reakcije tkiva ili organa na zračenje mogu delom zavisiti i od urođene osetljivosti pojedinih ćelija. Nisu sve vrste tkiva u istoj meri osetljive na zračenje. Većina tumorskih ćelija su izuzetno radiosenzitivne i doza od 10-15 cGy obično rezultira kompletnom remisijom. Radijacija se najbolje izvodi spoljašnjim snopom zraka, koristeći 300-400 cGy po frakciji. U grupu osetljivih tkiva na zračenje spadaju limfociti, koštana srž, gonade i tkivo embriona. U grupu srednje osetljivih tkiva na zračenje spadaju epitel, manji krvni sudovi, tkiva u rastu i razvoju i pluća. Grupi srednje otpornih tkiva na zračenje pripadaju koža, epitel jetre i bubrega, štitasta žlezda, nervno tkivo, dok grupi tkiva otpornih na zračenje pripadaju mišići, kosti, hrskavica, vezivno tkivo i zreli eritrociti. Treba naglasiti i to da je većina ćelija sisara podjednako osetljiva na zračenje (Jovanović i sar., 2009; Jovanović i sar., 2010; McNil, 2003; LaRue i Gillette, 2007).

Glavna uloga radioterapije u veterinarskoj onkologiji jeste lečenje bolesti koje se ne mogu hiruški kontrolisati. Tu spadaju i tumori koji zbog veličine i infiltrativnih svojstava ne mogu biti uklonjeni odgovarajućim hiruškim zahvatima. Tumori u nosnim šuplinama, usnoj duplji i promene na ekstremitetima u najvećem broju slučajeva podvrgavaju se radioterapiji. S obzirom na potencijalno dugo vreme oštećenja radijacijom, nije poželjna upotreba ovog oblika tretmana benignih tumora i bolesti koje nemaju neoplastični karakter. U takvim slučajevima se uvek mora pokušati sa primenom alternativnih postupaka lečenja (Šehić, 2002; McNil, 2003; LaRue i Gillette, 2007; Ogilvie i Moor, 2006).

Dva važna činioca koja utiču na reakcije tumora kod zračenja jesu veličina i histološka građa tumora. Opšte je poznato da masivna tumorska tvorovina ima niski odnos ćelija u rastu sa velikim brojem hipoksičnih i zbog toga radiorezistentnih ćelija. Radijacijom je nemoguće postići više od privremenog ublažavanja rasta takvih tumora. Zato se prvo hiruškim zahvatom smanjuje volumen tumora, nakon čega je potrebno izvršiti ozračivanje njegovog ostatka (Šehić, 2002).

Radijacija je vrlo jak oblik terapije, koja uzrokuje niz toksičnih pojava kod pacijenta. Međutim, treba imati na umu da to nije slučaj kod lokalnog ozračivanja površinskih tumora. Kao izvori zračenja kod teleterapije – spoljašnje terapije, koriste se ortovoltazni rendgenski uređaji, linearni akcelerator, ciklotron i dr.

Hipertermija / *Hyperthermia*

Hipertermija je tehnika lečenja raka koja se zasniva na opservaciji da maligne ćelije mogu biti selektivno uništene izlaganjem temperaturama u inter-

valu 42°C-45°C. Mehanizmi ovog selektivnog uništavanja ćelija su kompleksni i podrazumevaju direktnu ćelijsku aktivnost, preko sprečavanja ćelijskog aerobnog metabolizma, sprečavanja sinteze ćelijske nukleinske kiseline i proteina, povećane intracelularne lizozomalne aktivnosti i promene u propustljivosti ćelijskih membrana. Hipertermija takođe deluje direktno na krvne sudove tumora, prouzrokujući zastoj u protoku krvi, trombozu i endotelnu degeneraciju. Hipertermija se koristi kao lokalni/regionalni tretman, često u kombinaciji sa radijacijom, kao i tretman za celo telo, u kombinaciji sa hemioterapijom (Winthrow i sar., 2007; Ogilvie i Moor, 2006).

Elektrohemioterapija i elektrogenska terapija /

Electrochemotherapy and electrogenic therapy

Kod ovih terapija osnova je fizikalni princip stvaranja reverzibilnih promena na membrani ćelija u smislu širenja pora (elektroporacija). Kod elektrohemoterapije na taj način omogućavamo prolaz velikih molekula citostatika u tumorske ćelije, čime znatno jačamo antitumorno dejstvo, a istovremeno, zbog manje doze i lokalne terapije, izbegavamo toksične efekte. U elektrogenskoj terapiji koristimo određene biološke lekove sa poznatim protitumornim delovanjem (citokini, delovi DNA, koji nose zapis za stvaranje aktivnih supstanci). Sa elektroporacijom možemo postići transfekciju – unos materijala u ćelije i time poboljšati njihovo aktivno delovanje (Winthrow i sar., 2007; Ogilvie i Moor, 2006; Argyle, 2007; Argyle, 2003).

Imunoterapija / Immunotherapy

Imunoterapija se primenjuje u cilju izazivanja sistemskog antitumornog odgovora kod pacijenta. Jedan od načina je primena autogene vakcine, dobijene od hemijskim putem modifikovanog ekstrakta tumorskih ćelija u Freund's kompletnom adjuvensu, koja se daje nakon hemioterapije. Produženo preživljavanje je primećeno i pri nespecifičnoj imunostimulaciji putem Freud-ovog adjuvensa. Ipak efekat imunoterapije zavisi od broja tumorskih ćelija na početku imunoterapije. Imunoterapija može direktno uništiti ćelije tumora ili virus inficirane ćelije, stimulacijom specifičnog ili nespecifičnog imunog odgovora. Nespecifičan stimulus indukuje makrofagnu aktivnost, produkciju gama interferona (INF-gama) i ćelija ubica (NK ćelije). Purifikovani stafilokokni protein A može biti imunostimulator jer indukuje citotoksične T limfocite i produkciju INF-gama. (Winthrow i sar., 2007; Ogilvie i Moor, 2006; Biller i Dow, 2007). Ispitivana je aktivnost velikog broja citokina (IL-2, IL-4, IL-6, 8, 10, 12, IFN- α , β , IFN- γ i dr.) na imunološki odgovor kod pacijenata obolelih od malignih oboljenja i ova ispitivanja su pokazala njihov pozitivan efekat (Biller i Dow, 2007).

Osim opisanih terapija, u onkologiji se koriste i druge, kao što su krioterapija (kriohirurgija), primena monoklonskih antitela, fotonidanska terapija itd. Sve ove terapijske procedure su u razvoju i primenjuju se kod manjeg broja tu-

mora, a njihova cena je takva da se retko koriste u kliničkoj praksi (Winthrow i sar., 2007; Ogilvie i Moor, 2006).

Bez obzira na vrstu terapije koja se primenjuje, na njen uspeh utiče veći niz faktora kao što su starost životinje, prisustvo drugih bolesti, lokalizacija i raširenost procesa. Idealan pacijent je onaj kod koga je dijagnoza postavljena rano i gde nije došlo do generalizovanog širenja neoplazmatskih ćelija na visceralne organe. Za uspeh terapije važna je i normalna funkcija bubrega jer se regresijom velikih tumorskih masa oslobađaju azotni otpadni produkti, koji se moraju izlučiti iz organizma. Pre terapije i tokom nje potrebno je kontrolisati koncentraciju uree, zbog kontrole funkcije bubrega i kontrolisati krvnu sliku. Bitne promene u funkciji bubrega ili razvoj trombocitopenije, leukopenije i anemije, utiču na smanjenje doze ili prekid terapije. Pored osnovne terapije, kod malignih oboljenja može da se primeni antibiotska terapija kako bi se smanjio rizik od sekundarnih infekcija. Veoma često se primenjuje i transfuzija pune krvi ili deficitarnih krvnih elemenata (Čalić i sar., 2011; Jovanović i sar., 2011). Kortizonski preparati se koriste u kombinaciji sa hemioterapeutima kako bi prevenirali depresiju hematopoeze svojim stimulativnim dejstvom na koštanu srž, ali nikako pre određivanja terapijskog protokola i primene ostalih hemoterapeutika. Uz terapiju je potrebno poboljšati i ishranu i brigu o oboleloj životinji (Ogilvie, 2002; Winthrow i sar., 2007; Ogilvie i Moor, 2006).

Kao poseban vid terapije kod onkoloških pacijenata u terminalnoj fazi bolesti koji nisu odgovorili na primenjenu kurativnu terapiju, primenjuje se palijativna terapija. Ona podrazumeva primenu enteralne ili parenteralne ishrane, kontrolu bola kod onkoloških pacijenata (Jovanović i Ilić, 2008; Milovanović i sar., 2010) i pružanje odgovarajućeg kvaliteta života obolelim psima i mačkama.

Literatura / References

1. Argyle D. Gene therapy for cancer. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 236-42.
2. Argyle D. Gene therapy. In: Dobson JM, Lascelles XBD. Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester. 2003: 120-5.
3. Biller B, Dow S. Immunotherapy of cancer. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 211-35.
4. Butinar J, Tozon N. Onkološka hirurgija kod malih životinja. Zbornik predavanja VIII savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Neum, Bosna i Hercegovina, 2006.
5. Butinar J. Principi hirurške onkologije. Zbornik radova 10. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Kragujevac, Srbija, 2008: 6-20.
6. Butinar J, Rajec A. Onkologija Malih životinja – Pristup i odnos prema pacijentu i vlasniku životinje: Analgezija malih životinja obolelih od raka. Zbornik radova 10. savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Kragujevac, Srbija, 2008: 2-6.
7. Capak D, Matićić D. Veterinarska kirurška onkologija. U: Graberević Ž. Veterinarska onkologija. DSK-FALKO Zagreb, Hrvatska, 2002: 349-84.

8. Čalić M, Lazarević M, Jovanović M. Transfuzija krvi kod pasa. Zbornik radova sa skupa inovacije znanja u veterini, 2011.
9. Chun R, Garrett L, Vail D. Cancer chemotherapy. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 163-92.
10. Hahn AK. Veterinary Oncology. Butterworth-Heinemann, Boston US, 2002.
11. Jovanović M, Ilić V. Parenteralna ishrana u kliničkoj praksi pasa i mačaka. Zbornik kratkih sadržaja 13. godišnjeg savetovanja veterinaru Republike Srpske/Bosna i Hercegovina, Teslić, 2008: 59-61.
12. Jovanović M, Krstić V, Ilić V. Maligna oboljenja pasa i mačaka, Zbornik predavanja sa XXX seminara za inovacije znanja veterinaru, Beograd, Srbija, 2009: 105-15.
13. Jovanović M, Krstić V, Lazarević M. Transfuzija krvi kod pasa i mačaka. Zbornik predavanja VI simpozijuma o aktuelnim bolestima kod malih životinja, Sarajevo, BiH, Oktobar 2011, 2011, 92-4.
14. Jovanović M, Krstić V, Ilić V. Maligna oboljenja kod pasa i mačaka. Zbornik referata i kratkih sadržaja 21. savetovanja veterinaru Srbije, Zlatibor, 2010, 352-3.
15. Lana S. Chemoterapy In: Dobson JM, Lascelles XBD (ed.). Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 86-103.
16. LaRue S, Gillette E. Radiation therapy. In: Witrow JS, Vail MD (ed.): Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 193-210.
17. Lascelles D. Principles of oncological surgery. In: Dobson JM, Lascelles XBD (ed.). Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester, 2003: 73-85.
18. McNiel E. Radiation therapy. In: Dobson JM, Lascelles XBD (ed.). Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition. BSAVA, Business Park, Gloucester. 2003: 104-14.
19. Milovanović M, Jovanović M, Vučković S, Prostran M. Farmakoterapija kancerskog bola kod pasa i mačaka. Vet glasnik, 2010; 64: 264-75.
20. Ogilvie G. The care of animals with cancer. In: Dobson JM, Lascelles XBD (ed.). Manual of Canine and Feline Oncology. 2nd edition, BSAVA, Business Park, Gloucester. 2003: 68-72.
21. Ogilvie KG, Moore SA. Managing the canine cancer patient a practical guide to compassionate care. Veterinary learning systems Mesia Media USA, 2006.
22. Šehić M. Radioterapija. U: Graberević Ž. Veterinarska onkologija. DSK-FALKO Zagreb, Hrvatska, 2002: 385-98.
23. Tozon N, Butinar J. Dijagnostika i lečenje raka kod malih životinja, Zbornik predavanja VIII savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja. Neum, Bosna i Hercegovina, 2006.
24. Winthrow JS. Surgical oncology, In: Witrow JS, Vail MD (ed.). Small Animal Clinical Oncology. 4th edition, Saunders Elsevier, US, 2007: 157-62.
25. Withrow S, Poulson J, Lucroy M. Miscellaneous tretmants for solit tumors. In: Witrow JS, Vail MD (ed.). Small Animal Clinical Oncology. 4th edition. Saunders Elsevier, US, 2007: 275-90.
26. Žubčić D. Citotoksična terapija neoplazmi. U: Graberević Ž. Veterinarska onkologija. DSK-FALKO, Zagreb, Hrvatska, 2002: 302-48.

ENGLISH

BASIC THERAPEUTIC PROCEDURES IN ONCOLOGY OF DOGS AND CATS

M. Jovanović, Mirjana Milovanović, V. Ilić, V. Krstić

Speedy and reliable diagnostics of a malignant disease is of great importance as it enables the veterinarian to begin administering therapy and to provide the corresponding prognosis. Once the diagnosis is made, the necessary therapeutic procedure is administered. Depending on the form and type of malignant process, the following therapeutic measures can be applied: surgical therapy, radiotherapy (radiation therapy), chemotherapy, immuno therapy, molecular-gene targetted therapy, electrochemotherapy and electrogenic therapy, cryo therapy – cryo surgery, hyperthermia, photodynamic therapy, and supportive therapy. It is quite frequent that two or more therapeutic methods are used in the treatment of malignant diseases in dogs and cats. Each of these methods has its advantages and faults in connection with costs, availability, sensitivity, specificity, and quality. Every one of them has its area of implementation and yields different information depending on the nature and position of the primary lesion, the presence of metastases, as well as possible complications that are frequent in oncology patients.

Key words: neoplasia, therapy, radiotherapy, chemotherapy, dogs, cats

РУССКИЙ

ОСНОВНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕДУРЫ В ОНКОЛОГИИ СОБАК И КОШЕК

М. Йованович, Миряна Милованович, В. Илич, В. Крстич

Быстрый и надёжный диагноз злокачественного заболевания очень важен ибо даёт возможность ветеринару начать терапию и дать соответствующий прогноз. После поставления диагноза приступается отвечающей терапевтической процедуре. В зависимости от формы и типа злокачественного процесса могут применяться следующие терапевтические методы: хирургическая терапия, радиотерапия (терапия излучением), гемотерапия, иммуно терапия, молекулярная-генная целевая терапия, электрогемотерпия и электрогенная терапия, крио терапия - криохирurgia, гипертермия, фотодинамная терапия и опорная терапия. Очень часто в терапии злокачественных заболеваний у собак и кошек пользуем два или больше терапевтических метода. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки, связано для вопроса цены, доступности, чувствительности, специфичности и качества. Каждый из них имеет своё поле применения и приносит иные информации принимая во внимание на природу и положение первичного повреждения, присутствие метастазов словно и возможных осложнений, которые частые у онкологических пациентов.

Ключевые слова: неоплазия, терапия, радиотерапия, гемотерапия, собаки, кошки

VIRUSNI HEPATITIS E – OBOLJENJE LJUDI I ŽIVOTINJA*
VIRAL HEPATITIS E – A DISEASE OF HUMANS AND ANIMALS**B. Kureljušić, V. Ivetić, B. Savić, Jasna Kureljušić, N. Jezdimirović****

Virus hepatitisa E je ubikvitaran u svim područjima sveta u kojima postoji proizvodnja svinja. Infekcija se javlja kod nekoliko životinjskih vrsta i uglavnom protiče asimptomatski. Sojevi virusa izolovani od svinja i ljudi su genetski slični, što ukazuje na potencijalni zoonotski karakter bolesti i mogućnost da su svinje, a možda i druge vrste životinja obolele od virusnog hepatitisa E izvor infekcije za ljude. Virus svinjskog hepatitisa E, koji je sličan virusu hepatitisa E kod ljudi, prvi put je izolovan i opisan u SAD 1997. godine. Infekcija svinja izazvana virusom hepatitisa E nastaje fekooralnim putem, ingestijom hrane i vode kontaminirane virusom ili direktnim kontaktom između inficiranih i zdravih životinja. Patogeneza hepatitisa E kod svinja se razlikuje od patogeneze ove infekcije kod ljudi i nije dovoljno istražena. Mada je virusni hepatitis E kod svinja definisan kao supkliničko oboljenje, neki autori opisuju promene u koncentracijama pojedinih biohemijskih parametara u krvnom serumu inficiranih svinja. Histološki se u jetri inficiranih svinja uočavaju blaga do umerena limfocitno-plazmaćelijska infiltracija i fokalna područja nekroze hepatocita.

Virusni hepatitis E je endemsko oboljenje ljudi u Aziji, Africi i Latinskoj Americi. U razvijenim zemljama hepatitis E se sporadično javlja kod ljudi, ali vremenom dobija na značaju naročito u Japanu, Severnoj Americi i Evropi, zbog putovanja stanovništva iz tih područja u endemske regione ili zbog konzumiranja termički netretiranog mesa divljih svinja kao i proizvoda od termički netretiranog mesa. Bezbednost hrane jeste veoma značajan aspekt u epidemiologiji virusnog hepatitisa E, s obzirom na to da meso i proizvodi od svinjskog mesa mogu biti kontaminirani virusom hepatitisa E. Dodatni pokazatelji zoonotskog potencijala virusa, a zbog čega se ovo oboljenje svrstava u grupu profesionalnih oboljenja farmera i doktora veterinarske medicine, jeste nalaz antitela na virus hepatitisa E kod farmera i doktora veterinarske

* Rad primljen za štampu 05. 03. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Branislav Kureljušić, istraživač-saradnik, dr sc. med. vet. Vojin Ivetić, viši naučni saradnik, dr sc. med. vet. Božidar Savić, naučni saradnik, Jasna Kureljušić, dr vet. med., istraživač-pripravnik, Nemanja Jezdimirović, dr vet. med., istraživač pripravnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

medicine koji rade na farmama svinja, a pri tome ne pokazuju kliničke znake oboljenja.

S obzirom na činjenicu da je virusni hepatitis E potvrđen na farmama svinja u Srbiji i zemljama u okruženju sa epizootiološkog i epidemiološkog stanovišta trebalo bi striktno poštovati biosigurnosne mere i pridržavati se principa dobre proizvođačke i higijenske prakse na farmama svinja. U budućnosti bi trebalo u zakonsku regulativu naše zemlje uvrstiti i ovo oboljenje u svrhu dobijanja higijenski bezbednih namirnica životinjskog porekla.

Ključne reči: hepatitis E, zoonoza, svinja

Uvod / Introduction

Više od 60% novootkrivenih infektivnih agenasa u poslednjih nekoliko decenija koji izazivaju oboljenja kod ljudi vode poreklo od životinja ili namirnica životinjskog porekla. Pored najpoznatijih, virusa humane imunodeficijencije i virusa influence, u ovu grupu spada i virus hepatitisa E (HEV), koji iako ne izaziva klinički manifestno oboljenje kod svinja i ekonomske gubitke, dobija sve više na značaju zbog njegovog zoonotskog potencijala, ali i nedovoljnog poznavanja epizootiologije i patogeneze oboljenja koje izaziva (Meng i Halbur, 2006).

Virus hepatitisa E je široko rasprostranjen u svim područjima sveta u kojima se gaje svinje. Pored svinja, infekcija se javlja i kod drugih životinjskih vrsta kod kojih protiče asimptomatski. Tako je oboljenje serološki dijagnostikovano kod ovaca, koza, goveda, konja, pasa, zečeva, kokošaka, glodara, jelena i divljih svinja (Meng, 2010).

Virus svinjskog hepatitisa E je prvi put izolovan i opisan u SAD 1997. godine (Meng i sar., 1997). On je sličan virusu hepatitisa E koji izaziva oboljenje kod ljudi. Infekcija svinja virusom hepatitisa E nastaje fekooralnim putem, ingestijom hrane ili vode kontaminirane virusom ili direktnim kontaktom između inficiranih i zdravih životinja (Kasorndorkbua i sar., 2004). Patogeneza hepatitisa E kod svinja se razlikuje od ove infekcije kod ljudi i nije dovoljno istražena (Meng i sar., 1997). Mada je hepatitis E kod svinja definisan kao supkliničko oboljenje, neki autori opisuju promene u koncentracijama AST i ALT u krvnom serumu inficiranih svinja (Bouwknegt i sar., 2009). Pored toga, histološki se u jetri kod inficiranih svinja uočavaju blaga do umerena limfocitno-plazmaćelijska infiltracija i fokalna područja nekroze hepatocita (Halbur i sar., 2001; Kureljušić i sar., 2011; Kureljušić i sar., 2012).

Bezbednost hrane jeste veoma značajan aspekt u epidemiologiji hepatitisa E, s obzirom na to da meso i proizvodi od svinjskog mesa mogu biti kontaminirani virusom hepatitisa E. Istraživanja u SAD su pokazala da je oko 11% svinjskih jetri koje se prodaju na tržištu kontaminirano virusom hepatitisa E. Međutim, ohrabrujuća je činjenica da virus može biti inaktivisan uobičajenim pos-

tupcima termičke obrade, mada temperatura od 56°C u toku jednog časa ne može da inaktivise virus (Feagins i sar., 2008).

Dodatni pokazatelj zoonotskog potencijala virusa, a koji svrstava ovo oboljenje u grupu profesionalnih oboljenja, jeste nalaz antitela na virus hepatitisa E kod farmera i veterinaru koji rade na farmama svinja, a pri tome ne pokazuju kliničke znake oboljenja (Galiana i sar., 2008).

U literaturi postoji dosta podataka o prevalenciji HEV infekcije kod svinja u različitim zemljama sveta. Osim toga, brojna istraživanja su bazirana na molekularnoj epizootiologiji i genotipizaciji virusa hepatitisa E. Međutim, podaci o patogenezi i mehanizmu nastanka oštećenja hepatocita kod svinja inficiranih virusom hepatitisa E su oskudni. Ovim radom sumirana su dosadašnja saznanja o infekciji izazvanoj virusom hepatitisa E kod ljudi i kod svinja i istaknut je zoonotski potencijal ovog virusa.

Osnovne karakteristike virusa hepatitisa E /

Basic characteristics of hepatitis E virus

Virus hepatitisa E je prvobitno bio klasifikovan u familiju *Caliciviridae*. Kasnije je izvršena reklasifikacija, pa je virus svrstan u familiju *Hepeviridae* i rod *Hepevirus*, čiji je za sada jedini član. Ovaj rod uključuje sve sojeve otkrivene kod ljudi i kod životinja (Emerson i Purcell, 2003). Kod ljudi je virus prvi put otkriven 1983. godine metodom imunske elektronske mikroskopije (Balayan i sar., 1983). Međutim, još je sredinom XX veka u Nju Delhiju, u Indiji, opisana (preko vode) velika epidemija hepatitisa koji nije ličio ni na A ni na B hepatitis pa je bio označen kao non-A, non-B hepatitis. Epidemija je nastala usled konzumiranja kontaminirane vode, a tek je 1980. godine, ispitivanjem zamrznutih seruma od obolelih osoba, serološki dokazano da se radi o novom oboljenju – hepatitisu E (Worm i sar., 2002). Virus svinjskog hepatitisa E, koji je sličan virusu hepatitisa E kod ljudi, prvi put je izolovan i opisan u SAD 1997. godine (Meng i sar., 1997). Virus hepatitisa E ne poseduje omotač, poseduje pozitivno orijentisanu jednolančanu RNK, a dijametar se kreće od 27 nm do 34 nm (Emerson i sar., 2004). Virusni genom sadrži tri „open reading frames“ (ORF) regiona. ORF1 se nalazi na 5' kraju i kodira nestrukturane proteine uključujući RNK zavisnu RNK polimerazu. U okviru ORF1 regiona se nalazi hipervarijabilni region bogat prolinom, za koji se smatra da je odgovoran za replikaciju virusa *in vitro* i *in vivo* uslovima, mada biološki i patogenetski značaj ovog regiona i dalje ostaje nepoznat. ORF2 se nalazi na 3' kraju i kodira proteine kapsida, a ORF3 se nalazi između ORF1 i ORF2 regiona i kodira jedan mali protein sa nejasnom funkcijom (Lu i sar., 2005; Li i sar., 2006; Meng, 2010).

Postoje četiri genotipa virusa hepatitisa E, čije su osnovne karakteristike date u tabeli 1. Kao što se može videti iz tabele 1, genotipovi 1, 3 i 4 inficiraju i ljude i životinje, dok genotip 2 inficira isključivo čoveka. Uprkos razlikama koje postoje u sekvencama nukleotida kod ova četiri genotipa virusa, ne postoji mogućnost serološkog razlikovanja i epitopi pokazuju unakrsnu reaktivnost (Li i sar., 2005).

Tabela 1. Prikaz osnovnih karakteristika genotipova virusa hepatitisa E
Table 1. Basic characteristics for genotypes of hepatitis E virus

Genotip / <i>Genotype</i>	Broj suptipova / <i>Number of subtypes</i>	Prijemčiva vrsta / <i>Susceptible species</i>	Geografska distribucija / <i>Geographic distribution</i>
Genotip 1 / <i>Genotype 1</i>	5	čovjek, svinja / <i>humans, pig</i>	Azija, Afrika / <i>Asia, Africa</i>
Genotip 2 / <i>Genotype 2</i>	2	čovjek / <i>humans</i>	Azija, Afrika, Čad, Meksiko, Nigerija / <i>Asia, Africa, Chad, Mexico, Nigeria</i>
Genotip 3 / <i>Genotype 3</i>	10	čovjek, svinja, divlja svinja, jelen / <i>Humans, pig, wild boar, deer</i>	Severna Amerika, Evropa, Japan / <i>North America, Europe, Japan</i>
Genotip 4 / <i>Genotype 4</i>	7	čovjek, svinja, divlja svinja, jelen / <i>Humans, pig, wild boar, deer</i>	Azija / <i>Asia</i>

Postoji i virus hepatitisa E patogen za ptice, koji je prvi put izolovan u SAD 2001. godine iz žuči pilića obolelih od hepatitis-splenomegalija sindroma (Huang i sar., 2004).

Epidemiologija – epizootiologija virusnog hepatitisa E / *Epidemiology – epizootiology of viral hepatitis*

Epidemiološka ispitivanja su pokazala da je infekcija virusom hepatitisa E endemski prisutna u Srbiji, s obzirom na činjenicu da je u humanoj populaciji ustanovljena seroprevalencija od 14,4% (78/538). Naime, seroprevalencija HEV infekcije u zemljama u kojima ona nije endemična kreće se od 1,1% do 3% (Delić i sar., 2003.). U Srbiji je ustanovljena naročito visoka seroprevalencija anti-HEV IgG kod muških homoseksualaca i kod prostitutki, što se objašnjava stilom života i odsustvom preventivnih higijenskih mera. Otkrivena je i visoka seroprevalencija kod dobrovoljnih davalaca krvi 16,9% (35/206), što se objašnjava lošim ekonomskim prilikama, ali i niskim stepenom lične i kolektivne higijene, kao i neregulisanim snabdevanjem pijaćom vodom u nekim ruralnim područjima. Pored toga, navodi se da je hepatitis E kod ljudi samoograničavajuća bolest i da vrlo često protiče u supkliničkoj formi (Delić i sar., 2003).

U Srbiji su 2008. godine, a potom i 2010. objavljeni rezultati ispitivanja koji ukazuju na to da je HEV prisutan i u populaciji svinja u Srbiji (Petrović i sar., 2008; Savić i sar., 2010; Kureljušić i sar., 2010b; Lupulovic i sar., 2010). Prisustvo HEV RNK je utvrđeno RT-PCR metodom, kako u zbirnim uzorcima fecesa tako i u zbirnim uzorcima tkiva (slezina, jetra i mezenterijalni limfni čvorovi). Devet (30%) od 30 ispitanih zbirnih uzoraka fecesa sa 3 farme i 9 (45%) od 20 ispitanih uzoraka tkiva sa dve farme su bili pozitivni na prisustvo genoma virusa hepatitisa E. Prisustvo HEV RNK nije utvrđeno u 10 zbirnih uzoraka fecesa divljih svinja, kao ni u 15 zbirnih uzoraka tkiva svinja iz seoskih dvorišta (Petrović i sar., 2008). U drugom ispitivanju od ukupno 4 ispitane farme infekcija virusom hepatitisa E je us-

tanovljena na dve (50%). Ukupno je ispitano 233 svinje, od kojih je kod 12 u fecesu metodom RT-PCR dokazana HEV RNK (5,15%). Prevalencija ekskrecije virusa fecesom se kretala od 7,5% do 7,96% u zavisnosti od farme. Ni kod jednog praseta na sisi, kao ni kod jedne ispitane krmače nije dokazano izlučivanje virusa. U kategoriji prasadi u odgoju od ukupno 61 ispitano praseta kod 9 je dokazana HEV RNK u fecesu (14,75%), dok je u kategoriji svinja u tovu od ukupno 92 ispitane svinje kod 3 utvrđeno izlučivanje virusa fecesom (3,26%) (Kureljušić i sar., 2010b). Drugi autori su ispitujući serume svinja iz individualnih gazdinstava ELISA metodom ustanovili seroprevalenciju od 34,6% (Lupulović i sar., 2010).

U epizootiologiji HEV infekcije svinja značajnu ulogu imaju i divlje svinje za koje je dokazano da su rezervoari različitih virusa, bakterija i parazita, te tako mogu biti inficirane i virusom hepatitisa E (Takahashi i sar., 2004). U jednom ispitivanju je RT-PCR metodom dokazano da je 2,5% ispitanih jetri poreklom od ustreljenih divljih svinja bilo pozitivno na prisustvo nukleinske kiseline hepatitisa E virusa (Takahashi i sar., 2004). Ovo je naročito značajno kada je u pitanju slobodno držanje u ekstenzivnom gajenju svinja. U takvoj situaciji divlje svinje dolaze u direktan kontakt sa domaćim svinjama, ponekad se čak i međusobno pare, tako da postoji mogućnost prenošenja infekcije putem krvi ili fekooralnim putem. Sa ovog aspekta u našoj zemlji bi bilo interesantno područje Srema, gde je i dalje zastupljeno ekstenzivno gajenje svinja u šumama pored reke Save i gde domaće svinje dolaze u direktan kontakt sa divljim svinjama. Međutim, preliminarnim ispitivanjima zastupljenosti HEV infekcije kod divljih svinja u Srbiji, u kojima su metodom RT-PCR ispitani uzorci tkiva (slezina, jetra i mezenterijalni limfni čvorovi), ova infekcija nije potvrđena u populaciji divljih svinja (Petrović i sar., 2008). U našem istraživanju ispitani smo serume poreklom od 36 divljih svinja iz različitih delova Srbije i ustanovili seroprevalenciju od 27,78% (nepublikovani rezultati).

Patogeneza i klinička slika virusnog hepatitisa E /

Pathogenesis and clinical picture of viral hepatitis E

Infekcija svinja virusom hepatitisa E, slično kao kod ljudi, nastaje fekooralnim putem ingestijom hrane i vode kontaminirane virusom ili direktnim kontaktom između inficiranih i zdravih životinja (Kasorndorkbua i sar., 2004). U prilog ovome govori i peroralna eksperimentalna infekcija svinja, gde je dokazano da se virus hepatitisa E prenosi na zdrave svinje koje su u kohabitaciji sa eksperimentalno inficiranim svinjama (Casas i sar., 2008). Patogeneza HEV infekcije kod svinja se razlikuje od patogeneze ove infekcije kod ljudi i nije dovoljno istražena (Meng i sar., 1997). Period koji protekne od momenta infekcije do pojave virusa u fecesu varira i iznosi od 1 do 4 nedelje, a izlučivanje virusa traje do 7 nedelja (Halbur i sar., 2001; Meng i sar., 1998). U eksperimentalnim ispitivanjima je utvrđeno da se posle kontaktne infekcije virus može ustanoviti u fecesu 7. dana, a viremija nastaje 20. dana od momenta infekcije i traje oko 10 dana. Izlučivanje virusa prema drugim podacima može trajati oko 3 nedelje (Bouwknegt i sar., 2009; Kasorndorkbua i sar., 2004). Vrhunac ekskrecije virusa se javlja najčešće kod svinja

u porastu, odnosno u periodu od 10 do 12 nedelja starosti (Meng i sar., 1997). Razlog ovome je verovatno postojanje protektivnog prirodnog pasivnog imuniteta kod prasadi u prvim nedeljama života koji stižu putem kolostruma (Martelli i sar., 2008). Nasuprot tome, drugo istraživanje je pokazalo da i prasad mlađa od 2 meseca takođe mogu oboleti. Naime, od ispitanih 40 uzoraka jetre metodom RT-PCR, kod 18 prasadi na sisi (54,5%) ustanovljena je nukleinska kiselina virusa hepatitisa E (Lee i sar., 2007). Ovakav nalaz se može objasniti niskim nivoima kolostralnih antitela kod krmača ili zakasnelim uzimanjem kolostruma u dovoljnoj količini od strane prasadi.

Infekcija virusom hepatitisa E kod svinja protiče uglavnom asimptomatski (Halbur i sar., 2001; Lee i sar., 2008a). Ispitivanja koja potvrđuju ovu činjenicu sprovedli su istraživači u Holandiji, pri čemu su RT-PCR metodom ispitali fečese poreklom od 9 svinja sa dijarejom pri čemu ni kod jedne svinje nije ustanovljena nukleinska kiselina virusa hepatitisa E u fecesu (van der Poel i sar., 2001). U drugom istraživanju kod eksperimentalno inficirane prasadi stare 3 nedelje, nije bilo kliničkih simptoma oboljenja izuzev kod 1 jedinke. Obolelo prase je imalo blagu dijareju, a kod ostalih jedinki koje nisu ispoljavale kliničku sliku bolesti, pri patoanatomskom pregledu jedino je ustanovljeno blago uvećanje mezenterijalnih limfnih čvorova (Lee i sar., 2008b). Histološki se u jetri kod eksperimentalno inficiranih svinja uočavaju blaga limfocitno-plazmaćelijska infiltracija i fokalna područja nekroze hepatocita. Distribucija virusa hepatitisa E u tkivima je praćena metodom *in situ* hibridizacije, pri čemu je jetra pokazivala najveći stepen pozitivne reakcije. Pozitivan signal je uočen u citoplazmi hepatocita, zatim u Kupferovim ćelijama, epitelnim ćelijama žučnih kanalića i limfocitima. Pozitivan signal nije uočen u degenerisanim hepatocitima. Sa mnogo manje učestalosti svinjski HEV je nađen u ekstrahepatičnim tkivima kao što su limfni čvorovi, tonzile, slezina, tanko i debelo crevo. Veća količina virusne cDNK koja se eksprimira u hepatocitima ukazuje na to da su ove ćelije glavno mesto replikacije virusa hepatitisa E (Lee i sar., 2008b). Međutim, druga ispitivanja u kojima je sprovedena eksperimentalna infekcija svinja svinjskim i humanim sojem virusa, a potom RT-PCR metodom praćena distribucija virusne RNK, ukazala su na to da su ćelije žučnih kanala, žučne kese i intestinalnog sistema mesta gde se replikacija virusa odvija vrlo intenzivno (Halbur i sar., 2001). Pretpostavlja se da se primarna ekstrahepatična replikacija virusa hepatitisa E odvija u ćelijama gastrointestinalnog sistema, a da tek potom virus pri primarnoj viremiji stiže u jetru. Posle replikacije u jetri, virus se oslobađa u žuč i fecesom izlučuje u spoljašnju sredinu (Meng i Halbur, 2006). Patogeneza virusnog hepatitisa E je vrlo složena i do danas nedovoljno jasna kako kod ljudi tako i kod svinja.

Generalno uzevši, oštećenje ćelija jetre virusima može nastati kao posledica direktnog delovanja virusa ili indirektno, usled antivirusnog imunskog odgovora domaćina ili kombinacijom jednog i drugog. Moguće je da snažan imunološki odgovor dovodi do efikasnog uklanjanja virusa i oštećenja jetre različitog stepena, a slabiji imunološki odgovor dovodi do perzistencije virusa i oštećenja

jetre slabijeg intenziteta (Srivastava i sar., 2007). Mehanizmi koji regulišu intenzitet imunološkog odgovora su verovatno od ključnog značaja u odbrani organizma i od ovog virusa. Istraživanja u kojima je praćen ćelijski imunološki odgovor na infekciju virusom hepatitisa E kod ljudi pokazala su da je oštećenje jetre imunološki posredovano i da nastaje najverovatnije kao posledica delovanja citotoksičnih T-limfocita i ćelija prirodnih ubica (NK ćelije) (Prabhu i sar., 2011). Imunofenotipizacijom mononuklearnog ćelijskog infiltrata u jetri svinja prirodno inficiranih virusom hepatitisa E ustanovljeno je da dominantnu ćelijsku populaciju u mononuklearnom ćelijskom infiltratu čine CD3 pozitivni limfociti (T-limfociti). Populacija CD79 pozitivnih limfocita (B-limfociti) manje je zastupljena (Kureljušić i sar., 2010a).

Patomorfološki nalaz kod virusnog hepatitisa E /

Pathomorphological finding for viral hepatitis E

U literaturi koja se odnosi na stepen i tip oštećenja hepatocita virusom hepatitisa E postoje različiti podaci, ali s obzirom na to da je ovo oboljenje novijeg datuma, nema mnogo podataka koji se odnose na patomorfološke promene. U jednom ispitivanju su 4 praseta prirodno inficirana svinjskim virusom hepatitisa E obdukovana tokom akutnog stadijuma infekcije. Patoanatomske promene nisu uočene na jetri kao ni na ostalih 18 ispitanih tkiva i organa tokom obdukcije. Međutim, kod sva 4 praseta, histopatološkim pregledom je ustanovljen hepatitis, koji se karakterisao blagim do umerenim multifokalnim i periportnim limfocitno-plazmaćelijskim infiltratom, sa područjima blage fokalne nekroze hepatocita (Meng i sar., 1997). Ovakve histopatološke nalaze u jetri potvrđuju i drugi autori (Halbur i sar., 2001; Lee i sar., 2007; de Deus i sar., 2007; Kureljušić i sar., 2010a). Pored hepatitisa, kod sva 4 praseta je uočen blagi multifokalni limfocitno-plazmaćelijski intersticijski nefritis (Meng i sar., 1997).

Pri jednoj eksperimentalnoj infekciji svinja makroskopske promene nisu uočene prilikom obdukcije, dok su histopatološke promene uočene u jetri, žučnoj kesici, ileumu i limfnim čvorovima. Histološki, uočen je multifokalni limfocitni hepatitis 28. dana posle infekcije, a u žučnoj kesici slabo izražen limfocitni infiltrat lokalizovan subepitelno kod 3 svinje. Osim toga, blaga do umerena hiperplazija Pajerovih ploča je uočena kod svih ispitanih, izuzev kod 1 svinje. Blaga do srednje izražena hiperplazija u limfnim čvorovima je uočena kod 4 od 12 ispitanih svinja. Kod 4 svinje je uočeno povećanje aktivnosti enzima AST i ALT koji ukazuju na proces napredovanja oštećenja jetre tokom HEV infekcije (Bouwknegt i sar., 2009).

Hepatitis E kod ljudi / *Hepatitis E in humans*

Prvo saznanje da je hepatitis E potencijalna zoonoza potiče još iz 1990. godine, kada je uspela eksperimentalna infekcija svinja u centralnoj Aziji sa humanim sojem virusa (Balayan i sar., 1990). Od tada pa do danas, veliki je broj slučajeva kod kojih postoji opravdana sumnja na prenošenje infekcije sa životinja

na ljude, kao i prenošenje virusa preko namirnica životinjskog porekla, ali je mali broj potvrđenih slučajeva (Takahashi i sar., 2004).

Virus svinjskog hepatitisa E je ubikvitaran virus kod svinja širom sveta i ima zoonotski potencijal. Stoga, postoje dva ključna problema kada je u pitanju HEV: 1. Infekcija virusom hepatitisa E je infekcija visokorizičnih grupa kao što su doktori veterinarske medicine, zatim odgajivači svinja i 2. Svinjski virus hepatitisa E prenosi se putem svinjskih ksenograftova u ljudske recipijente pri ksenotransplantaciji, a time i na druge ljude. Potencijalni ksenozoonotski rizik se može prevenirati adekvatnim ispitivanjem i striktnim poštovanjem procedure za svinje donore (Meng, 2003; Meng i Halbur, 2006).

Infekcija kod ljudi protiče akutnim tokom, a u literaturi se navodi da 0,5%-3% obolelih ima fulminantnu formu hepatitisa E, koja može imati i letalan ishod (Milošev-Žilović i sar., 2003). Hepatitis E kod ljudi je sličan hepatitisu A, jer ne dovodi do hroničnog oboljenja jetre i ciroze, što nije slučaj sa hepatitisom B i C (Mast i Krawczynski, 1996). Međutim, novija ispitivanja su pokazala da infekcija virusom hepatitisa E može biti i hroničnog toka kod imunokompromitovanih pacijenata obolelih od sindroma stečene humane imunodeficijencije (AIDS), kod pacijenata kod kojih je urađena transplantacija kao i kod pacijenata sa hematološkim malignim oboljenjima (Kamar i sar., 2008; Ollier i sar., 2009; Dalton i sar., 2009).

Virus hepatitisa E je uzročnik hepatitisa E kod ljudi i predstavlja veoma važan zdravstveni problem u mnogim nerazvijenim zemljama Azije i Afrike. Infekcija nastaje orofekalnim putem, mada su opisani i slučajevi prenošenja virusa i preko transfuzije krvi. Klinički se oboljenje kod ljudi karakteriše žuticom, hepatomegalijom, anoreksijom, abdominalnim bolom, povraćanjem i povišenom temperaturom i uglavnom protiče akutnim tokom. Osim u kliničkoj, oboljenje se može javiti i u supkliničkoj formi kada nema izraženih simptoma infekcije. Inkubacioni period iznosi od 15 do 40 dana, a povećanje aktivnosti jetrih enzima se javlja u dva perioda tokom trajanja kliničkih simptoma sa jednim međuperiodom u trajanju od oko nedelju dana sa normalizacijom njihove aktivnosti. Povišena aktivnost alanin-aminotransferaze (ALT) može trajati od 1 do 2 nedelje posle nestanka klinički vidljivih znakova oboljenja. IgM antitela se pojavljuju tokom akutne faze i nestaju za 3 do 6 meseci, dok IgG antitela perzistiraju od 2 do 13 godina. Histološki se u jetri kod ljudi obolelih od hepatitisa E uočava portalni triaditis,olestaza, inflamacija lobulusa i degeneracija hepatocita. Stopa mortaliteta od ove infekcije je niska (manje od 1%) ali može biti značajna kod trudnica i dostizati 25% (Balayan, 1997; Jameel, 1999; Worm i sar., 2002; Emerson i Purcell, 2003).

Vakcinacija kao metod kontrole ove bolesti u humanoj populaciji će u budućnosti verovatno biti dostupna, s obzirom na to da se radi na razvijanju rekombinantne vakcine za ljude. Nemogućnost efikasne kultivacije virusa hepatitisa E na ćelijskim kulturama u velikoj meri ograničava razumevanje biologije i mehanizama delovanja virusa i usporava napredak u razvoju same vakcine (Meng, 2010).

Metode dijagnostike hepatitisa E / *Diagnostic methods for hepatitis E*

Pošto je kod svinja infekcija virusom hepatitisa E asimptomatska, dijagnostika se rutinski ne sprovodi. Međutim, razvijene su brojne metode dijagnostike pre svega u naučnoistraživačke svrhe. U dijagnostici HEV infekcije kod svinja se mogu koristiti indirektna i direktne metode dijagnostike. Indirektna metode su zasnovane na dokazivanju serokonverzije odnosno imunoglobulina klase G i klase M. Ove serološke metode se primenjuju širom sveta u cilju utvrđivanja seroprevalencije HEV infekcije u humanoj populaciji kao i u populaciji različitih vrsta domaćih i divljih životinja. Najčešće korišćena serološka metoda za utvrđivanje serokonverzije je indirektna ELISA (de Deus i sar., 2007; Casas i sar., 2008). S obzirom na to da je zasnovana na dokazivanju serokonverzije, odnosno antitela, indirektna ELISA smatra se nepouzdanom metodom u dijagnostici u akutnoj fazi bolesti, kada još nije došlo do sinteze antitela. Pouzdanim se smatraju direktne metode, koje utvrđuju antigen virusa hepatitisa E direktno u uzorku. Mada je u literaturi opisana izolacija virusa u kulturi tkiva i njegov citopatogeni efekat, izolacija svinjskog virusa hepatitisa E u kulturi tkiva je vrlo teška, tako da se preporučuje upotreba drugih dijagnostičkih postupaka (Jameel, 1999). Od direktnih metoda u dijagnostici HEV infekcije mogu se koristiti RT-PCR, *in situ* hibridizacija i imunohistochemijske metode.

Zaključak / *Conclusion*

Pojava akutnog hepatitisa E kod ljudi u razvijenim zemljama se možda potcenjuje zbog toga što se javljaju sporadični slučajevi koji se često ne dijagnostikuju kao hepatitis E. Pored toga, infekcija virusom hepatitisa E kod ljudi često protiče asimptomatski. Odgovarajuća lična higijena i, uopšte, primena higijenskih mera na javnim mestima, zatim farmama svinja, može smanjiti rizik od prenošenja ovog virusa. Ukoliko se sporadični slučajevi hepatitisa E kod ljudi i dalje budu javljali kao rezultat konzumiranja nedovoljno termički obrađenog svinjskog mesa, trebalo bi, u tom slučaju, raditi na eliminaciji virusa hepatitisa E u komercijalnoj svinjarskoj proizvodnji.

Pošto je hepatitis E dokazan i na farmama svinja u Srbiji, kao i u zemljama u okruženju, sa epizootičkog i epidemiološkog stanovišta trebalo bi striktno poštovati biosigurnosne mere i pridržavati se principa dobre proizvodnjačke i higijenske prakse na farmama svinja. U budućnosti bi svakako trebalo očekivati da se u zakonsku regulativu naše zemlje uvrsti i ovo oboljenje, kako bi se mogao obavljati odgovarajući monitoring svinja na farmama, kao i zaklanih svinja na klanicama u svrhu dobijanja higijenski bezbednih namirnica životinjskog porekla.

ZAHVALNICA / *ACKNOWLEDGEMENT* :

Rad je realizovan po projektima III 46009 i TR 31062 koji se finansiraju od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije / *The work was realized within projects III 46009 and TR 31062 which are financed by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia.*

Literatura / References

1. Balayan MS, Andjaparadize AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, Poleschuk VF. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983; 20(1): 23-31.
2. Balayan MS, Usmanov RK, Zamyatina NA, Djumalieva DI, Karas FR. Brief report: Experimental hepatitis E infection in domestic pigs. *J Med Virol* 1990; 32(1): 58-9.
3. Balayan MS. Type E hepatitis: State of the art. *Int J Infect Dis* 1997; 2(2): 113-20.
4. Bouwknegt M, Rutjes SA, Reusken C BEM, Stockhofe-Zurwieden N, Frankena K, de Jong M CM, de Roda Husman M, van der Poel W Hm. The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. *BMC Vet Res* 2009; 5: 7.
5. Casas M, Pina S, de Deus N, Peralta B, Martin M, Segales J. Pigs orally inoculated with swine hepatitis E virus are able to infect contact sentinels. *Proceedings of the 20th IPVS Congress, Durban, South Africa, 22-26 June 2008*: 6.
6. Dalton HR, Bendall RP, Keane FE, Tedder RS, Ijaz S. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N Engl Med* 2009; 361(10): 1025-7.
7. de Deus N, Seminati C, Pina S, Mateu E, Martin M, Segales J. Detection of hepatitis E virus in liver, mesenteric lymph node, serum, bile and faeces of naturally infected pigs affected by different pathological conditions. *Vet Microbiol* 2007; 119(2-4): 105-14.
8. Delić D, Nešić Z, Žerjav S, Pešić I, Popović N, Simonović J. Hepatitis E virus infection in Serbia: Epidemiology and clinical features. *Arch gastroenterohepatol* 2003; 22(3-4): 53-6.
9. Emerson SU, Anderson D, Arankalle A, Meng XJ, Purdy M, Schlauder GG, Tsarev SA. *Hepevirus* In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, (Eds), *Virus Taxonomy: VIII Raport of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*. Elsevier, Academic Press, London, United Kingdom, 2004: 851-5.
10. Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. *Rev Med Virol* 2003; 13(3): 145-54
11. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J of Food Microbiol* 2008; 123(1-2): 32-7.
12. Galiana C, Fernandez-Barredo S, Garcia A, Gomez MT, Perez-Gracia MT. Occupational exposure to hepatitis E virus (HEV) in swine workers. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78(6): 1012-5.
13. Halbur PG, Kasorndorkbua C, Gilbert C, Guenette D, Potters MB, Purcell RH, Emerson SU, Toth ME, Meng XJ. Comparative pathogenesis of infection pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *J Clin Microbiol* 2001; 39(3): 918-23.
14. Huang FF, Sun ZF, Emerson SU, Purcell RH, Shivaprasad HL, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Determination and analysis of the complete genomic sequence of avian hepatitis E virus (avian HEV) and attempts to infect rhesus monkeys with avian HEV. *J Gen Virol* 2004; 85 (Pt 6): 1609-18.
15. Jameel S. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Expert Rev Mol Med* 1999: 1-16.
16. Kamar N, Silves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Peron JM, Guitard J, Cointault O, Esposito L, Abravanel F, Danjoux M, Durand D, Vinel JP, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E

- virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 2008; 358(8): 811-7.
17. Kasorndorkbua C, Guenette DK, Huang FF, Thomas PJ, Meng XJ, Halbur PG. Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *J Clin Microbiol* 2004; 42(11): 5047-52.
 18. Kureljušić B, Ivetić V, Savić B, Kukolj V, Milićević V, Aleksić- Kovačević S. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with swine hepatitis E virus infection. *J Comp Path* 2010a; 143(4): 322
 19. Kureljušić B, Ivetić V, Savić B, Kureljušić J, Jezdimirović N, Milićević V, Knežević M. Hepatitis E – people and animal disease. Book of abstracts, Second International Epizootiology Days, Belgrade, 18-21. April, 2012: 77-9.
 20. Kureljušić B, Ivetić V, Savić B, Maksimović J, Prodanović R, Knežević M. Prevalencija hepatitis E virusne infekcije svinja u farmским uslovima proizvodnje. Zbornik radova osmog simpozijuma Zdravstvena zaštita, selekcija i reprodukcija svinja, Srebrno jezero, Srbija, 3-5. jun 2010b: 50-6.
 21. Kureljušić B, Ivetić V, Savić B, Prodanović R, Kureljušić J, Maksimović Zorić J, Milićević V, Radanović O, Knežević M. Histopatološki nalaz u jetri svinja prirodno inficiranih virusom hepatitisa E. Zbornik radova i kratkih sadržaja, Prvi internacionalni epizootiološki dani. Sijarinska banja, Lebane, 6-9. april, 2011: 18-9.
 22. Lee SH, Kang SC, Kim DY, Bae JH, Kim JH. Detection of swine hepatitis E virus in the porcine hepatic lesion in Jeju Island. *J Vet Sci* 2007; 8(1): 51-5.
 23. Lee YH, Ha Y, Ahn KK, Chae C. Localisation of swine hepatitis E virus in experimentally infected pigs. *Vet J* 2008a; 179(3): 417-21
 24. Lee YH, Ha Y, Ahn KK, Cho KD, Lee BH, Kim SH, Chae C. Comparison of a new synthetic, peptide-derived, polyclonal antibody-based, immunohistochemical test with in situ hybridisation for detection of swine hepatitis E virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Vet J* 2008b; 182(1): 131-5.
 25. Li SW, Zhang J, Li YM, Ou SH, Huang GY, He ZQ, Ge SX, Xian YL, Pang SQ, Ng MH, Xia NS. A bacterially expressed particulate hepatitis E vaccine: antigenicity, immunogenicity and protectivity on primates. *Vaccine* 2005; 23(22): 2893-901.
 26. Li X, Kamili S, Krawczynski K. Quantitative detection of hepatitis E virus RNA and dynamics of viral replication in experimental infection. *J Viral hepat* 2006; 13(12): 835-9.
 27. Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol* 2005; 16 (1): 5-36.
 28. Lupulović D, Lazić S, Prodanov-Radulović J, Jimenez de Oya N, Escribano-Romero E, Saiz JC, Petrović T. First serological study of hepatitis E virus infection in backyard pigs from Serbia. *Food Environ Virol* 2010; 2: 110-3.
 29. Martelli F, Toma S, Di Bartolo I, Inglese N, Caprioli A, Ruggeri FM, Lelli D, Bonci M, Ostanello F. Epidemiology of hepatitis E virus (HEV) strains identified in Italian pigs affected by different pathological conditions. Proceedings of the 20th International Pig Veterinary Society Congress, Durban, South Africa, 22-26 June 2008: 1: 5.
 30. Mast EE, Krawczynski K. Hepatitis E: An overview. *Annu Rev Med* 1996; 47: 257-66.
 31. Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol* 1998, 72(12): 9714-21.

32. Meng XJ, Halbur PG. Swine hepatitis E virus, In: Straw BE, Zimmerman JJ, D Allaire S, Taylor DJ editors. Diseases of swine. 9th ed. Blackwell Publishing, Oxford, 2006: 537-45.
33. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsarevam TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU. A novel virus in swine is closely related to the human Hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(18): 9860-5.
34. Meng XJ. Hepatitis E virus: Animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol* 2010; 140(3-4): 256-65.
35. Meng XJ. Swine hepatitis E virus: Cross species infection and risk in xenotransplantation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2003; 278: 185-216.
36. Milošev-Žilović D, Marković M, Maksin J. Fulminantni tok hepatitisa E – prikaz bolesnika. *Praxis Medica* 2003; 31(1-2): 83-5.
37. Ollier L, Tieulie N, Sanderson F, Heudier P, Giordanengo V, Fuzibet JG, Nicand E. Chronic hepatitis after hepatitis E virus infection in a patient with non-Hodgkin lymphoma taking rituximab. *Ann Intern Med* 2009; 150(6): 430-1.
38. Petrović T, Prodanov J, Došen R, Lazić S. Hepatitis E virusna infekcija kao potencijalna nova zoonoza. Zbornik radova i kratkih sadržaja 20. savetovanja veterinara Srbije (sa međunarodnim učešćem), Zlatibor, Srbija, 24-27. septembar 2008: 150-1.
39. Prabhu SB, Gupta P, Durgapal H, Rath S, Gupta SD, Acharya SK, Panda SK. Study of cellular immune response against hepatitis E virus (HEV). *J Viral Hepat* 2011; 18(8): 587-94.
40. Savić B, Milićević V, Bojkovski J, Kureljušić B, Ivetić V, Pavlović I. Detection rates of the swine torque teno viruses (TTVs), porcine circovirus type 2 (PCV2) and hepatitis E virus (HEV) in the livers of pigs with hepatitis. *Vet Res Commun* 2010; 34(7): 641-8.
41. Srivastava R, Aggarwal R, Jameel S, Puri P, Gupta VK, Ramesh VS, Bhatia S, Naik S. Cellular immune responses in acute hepatitis E virus infection to the viral open reading frame 2 protein. *Viral Immunol* 2007; 20(1): 56-65.
42. Takahashi K, Kitajima N, Abe N, Mishiro S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 2004; 330(2): 501-5.
43. van der Poel WHM, Verschoor F, van der Heide R, Herrera M-I, Vivo A, Kooreman M, de Roda Husman AM. Hepatitis E virus sequences in swine related to sequences in humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(6): 970-6.
44. Worm HC, Schlauder GG, Brandstatter G. Hepatitis E and its emergence in non-endemic areas. *Wien Klin Wochenschr* 2002; 114(15-16): 663-70.

ENGLISH

VIRAL HEPATITIS E – A DISEASE OF HUMANS AND ANIMALS

B. Kureljušić, V. Ivetić, B. Savić, Jasna Kureljušić, N. Jezdimirović

The hepatitis E virus is ubiquitous in all parts of the world where pig production exists. The infection occurs in several animal species and its course is mostly asymptomatic. Viral strains isolated from pigs and humans are genetically similar, which indicates a

potential zoonotic nature of the disease, and the possibility that pigs, and perhaps also other species of animals diseased with viral hepatitis E are a source of infection to humans. The pig hepatitis E virus, which is similar to the hepatitis E virus in humans, was isolated and described for the first time in the USA in 1997. The infection of pigs with hepatitis E virus occurs through faeco-oral transmission, by ingestion of feed and water contaminated with the virus, or through direct contact between infected and healthy animals. The pathogenesis of this infection in pigs differs from its pathogenesis in humans and it has not been sufficiently examined in all its aspects. Even though viral hepatitis E in pigs has been described as a subclinical disease, some authors describe changes in the concentration of certain biochemical parameters in blood serum of the infected pigs. Histologically, a mild to moderate lymphocytic-plasma cellular infiltration is observed in livers of infected pigs, as well as focal areas of hepatocyte necrosis.

Viral hepatitis E is an endemic disease of humans in Asia, Africa, and Latin America. In developed countries, hepatitis E sporadically occurs in humans, but it is becoming of increasing importance in particular in Japan, North America, and Europe, because the populations of these areas travel extensively to the endemic regions or as a result of the consumption of thermally untreated meat of wild boar and products made from thermally untreated meat. Pork products can be contaminated with hepatitis E virus. Further proof that indicates the zoonotic potential of this virus and places this disease among the group of professional diseases of farmers and veterinarians is the finding of antibodies to hepatitis E virus in farmers and veterinarians who work on pig farms without showing any clinical signs of the disease.

Having in mind the fact that viral hepatitis E has been proven in pig farms in Serbia and neighboring countries, there should be strict respect of biosecurity measures from the epidemiological and epidemiological aspects, and the principle of good production and hygiene practice should be adhered to on pig farms. This disease should in future also be included in the legal regulations of our country in order to ensure the production of products of animal origin that are safe from the aspect of hygiene.

Key words: hepatitis E, zoonosis, pig

РУССКИЙ

ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ E - ЗАБОЛЕВАНИЕ ЛЮДЕЙ И ЖИВОТНЫХ

В. Курелюшич, В. Иветич, Б. Савич, Ясна Курелюшич, Н. Ездимирович

Вирус гепатита E везде суший во всех районах мира в которых существует производство свиней. Инфекция является у несколько животных видов и главным образом протекает асимптоматически. Штаммы вируса, изолированные от свиней и людей генетически сходные, что указывает на потенциальный зоонозный характер болезни и возможность, что свиньи, а может быть и другие виды животных заболевшие вирусным гепатитом E источник инфекции для людей. Вирус свиного гепатита E, который сходный вирусу гепатита E людей, впервые изолирован и описан в США 1997. года. Инфекция свиней вирусом гепатита E возникает фекально-оральным путём, внесением корма и воды, контаминированных вирусом или прямым контактом среди инфицированных и здоровых животных. Патогенез этой инфекции у свиней различается от патогенеза у людей и не во всём достаточно исследован. Хотя вирусный гепатит E у свиней определен как подклиническое заболевание, не-

которые авторы описывают изменения в концентрациях отдельных биохимических параметров в кровяном сыворотке инфицированных свиней. Гистологически в печени инфицированных свиней замечается мягкая до умеренно лимфоцитарно-плазматическая инфильтрация и фокальные области некроза гепатоцитов.

Вирусный гепатит E эндемическое заболевание людей в Азии, Африки и Латинской Америки. В развитых странах гепатит E спорадически является у людей, но временно получает на значении особенно в Японии, Северной Америке и Европе, из-за поездки населения из этих районов в эндемические регионы или из-за поездки населения из этих районов и эндемические регионы или из-за потребления термически нестерилизованного мяса диких кабанов словно и продуктов от термически нестерилизованного мяса. Безопасность пищи есть очень значительный аспект в эпидемиологии вирусного гепатита E, принимал во внимание, что мясо и продукты из свиного мяса могут быть контаминированные вирусом гепатита E. Дополнительное доказательство, указывающее на зоонозный потенциал вируса и распределяет это заболевание в группу профессиональных заболеваний фермеров и ветеринаров - результаты антител на вирус гепатита E у фермеров и ветеринаров, работающих на фермах свиней, а при этом не показывают клинические знаки заболевания.

Имея в виду факт, что вирусный гепатит E доказан на фермах свиней в Сербии и странах в окружении, словно и в странах в окружении, с эпизоотологической и эпидемиологической точки зрения нужно было бы пунктуально уважать биобезопасные меры и придерживаться принципов хорошей производственной и гигиенической практики на фермах свиней. В будущем бы нужно было в законную регулятиву нашей страны включить и это заболевание с целью получения гигиенически безопасных пищевых продуктов животного происхождения.

Ключевые слова: гепатит E, зооноза, свинья

**TULAREMIJA U REPUBLICI SRBIJI U PERIODU
2000–2011. GODINE***
*TULAREMIA IN THE REPUBLIC OF SERBIA DURING THE PERIOD
FROM 2000–2011*

J. Marić, Jelena Obrenović, M. Milković, Ana Samokovlija,
Milica Elezović, B. Ljubić, G. Stevanović, Đ. Đuričić, Bosiljka Đuričić**

Tularemija je zarazna bolest zoonoznog karaktera, bakterijske etiologije, koja se javlja pretežno kod glodara, ali i kod drugih vrsta domaćih i divljih sisara, ptica, gmizavaca, riba i ljudi. Uzročnik bolesti je Francisella tularensis. Zbog svojih epidemiološko epizootioloških karakteristika uzročnik je svrstan u grupu bioloških agenasa i korišćen kao biološko oružje. Bolest se karakteriše primarnim lokalnim ulceroznim promenama kože i sluzokože, regionalnim limfadenitisom, izraženom opštom septikemijom i dr. Sumnja na bolest se postavlja na osnovu epizootioloških podataka o pojavi oboljenja ili uginuća zečeva, ovaca i pasa, ali i ljudi.

U periodu posmatranja od dvanaest godina zabeleženo je 317 slučajeva obolevanja ljudi na teritoriji Republike Srbije, bez smrtnog ishoda. Ovo oboljenje je kod životinja potvrđeno samo jednom (2006).

Za uspeh u sprečavanju širenja i suzbijanju tularemije neophodna je saradnja većeg broja stručnih profila, a posebno radnika humane i veterinarske medicine.

Ključne reči: tularemija, epidemiologija, epizootiologija

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

** Jovan Marić, dr vet, istraživač-pripravnik, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sc. Obrenović Jelena, spec. epidemiologije, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Beograd; Miodrag Milković, dr vet., Veterinarska stanica "Bujanovac"; Bujanovac; Samokovlija Ana, dr vet., istraživač-pripravnik, Elezović Milica, dr vet., istraživač-pripravnik, Infektivna klinika, Beograd; prim. dr Ljubić Božidar, epidemiolog, Gradski zavod za javno zdravlje, Beograd; dr med. Goran Stevanović, Infektivna klinika, Beograd; msc ing. Đuričić Đorđe, Prva srpska televizija, Zemun; dr sc. med. vet. Bosiljka Đuričić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Uvod / Introduction

Tularemija je zarazna bolest zoonoznog karaktera, bakterijske etiologije od koje u prirodi najčešće obolevaju glodari (zečevi i kunići) glavni rezervoari infekcije. Javlja se kod velikog broja divljih i domaćih životinja. Kao zoonoza zauzima posebno mesto zbog lakog načina širenja i infektivnosti za čoveka. Interhumano prenošenje nije zabeleženo.

Istorijski podaci govore da je tularemija prvi put opisana 1911. g. u oblasti Tulare u Kaliforniji, kod glodara, kao bolest slična kugi, a po mestu prvog opisa je i dobila naziv (Lolin, 1991; Ellis i sar., 2002). U Srbiji je tularemija prvi put registrovana 1958. g. na području Užica (Parlić i sar., 2008; Šeguljev, 1996; Ljubić i Radivojević, 2008). Uzročnik bolesti je gram negativan, nepokretni kokobacil *Francisella tularensis*, koji ne stvara spore. Zbog svojih epidemiološko epizootičkih karakteristika uzročnik je svrstan u grupu A bioloških agenasa i smatra se da je u nekoliko navrata korišćen kao biološko oružje (Staljingrad, 1942–1943, Japan u Mandžuriji, 1932–1945, Bosna i Hercegovina, 1995. i dr.), (Croddy, 2001; Alibek i sar., 1999).

Bolest se među životinjama najčešće širi direktnim i indirektnim kontaktom, a infekcija nastaje aerogeno, peroralno i perkutano (insektima). Glavni rezervoari i izvori infekcije u prirodi su zečevi, krpelji, vodeni pacovi i miševi.

Etiološki, uzročnik pokazuje izraziti limfotropizam, što govori da se umnožava u korespondentnim limfnim čvorovima na mestu ulaska (najčešće tonzile, submandibularni i retrofaringealni limfni čvorovi i dr.), (Kahn i sar., 2001; Marić i sar., 2011).

Kod ljudi, tularemija protiče u dve forme, sa vidljivim afektom i bez njega (vidljiva ulazna vrata infekcije). Ulceroglandularni, glandularni, okuloglandularni i tonziloglandularni oblici su sa vidljivim afektom, dok su plućni i tifoidni oblici bez vidljivog primarnog afekta (Parlić i sar., 2008; Kostić i sar., 2000).

Dijagnoza bolesti se postavlja na osnovu epidemiološko-epizootičkih ispitivanja, kliničke slike, patomorfološke i laboratorijske potvrde. U laboratorijskoj dijagnostici se koristi reakcija aglutinacije, ELISA metod, PCR metod i biološki ogled (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines of Terrestrial Animals and Bees, 2008., Marić i sar., 2011; Quin i sar., 2002).

Kod ljudi se primenjuje terapija antibioticima, dok se kod životinja ne sprovodi nikakvo lečenje. Obbolele domaće životinje se ubijaju, a kod divljači se vrši pojačani odstrel.

U profilaksi tularemije kod ljudi može se primeniti imunoprofilaksa (ranije se koristila živa atenuirana vakcina, delimično efikasna) za zaštitu onih koji su profesionalno izloženi infekciji.

Cilj rada: Zbog navedenih činjenica, cilj rada je obuhvatio: analizu epidemiološko-epizootičke situacije u periodu od 2000. do 2011. godine na teritoriji Republike Srbije, analizu geografske, starosne, polne i sezonske distribucije i jasno definisanje mera za sprečavanje pojave i kontrolu bolesti.

Materijal i metod rada: Kao materijal za izradu rada korišćeni su epidemiološki podaci, odnosno prijave zaraznih bolesti, izveštaji o širenju zaraznih bolesti, incidenciji, mortalitetu i letalitetu.

Rezultati i diskusija: Na osnovu izvršene opsežne epidemiološke analize pojave tularemije kod ljudi na teritoriji Republike Srbije može se reći da je bolest u periodu od 2000. do 2011. godine registrovana kod 317 osoba (Centar za prevenciju i kontrolu bolesti, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Godišnji izveštaji), (tabela 1).

U priloženoj tabeli se vidi da je zastupljenost tularemije bila najveća u Nišavskom okrugu (130), a zatim u Zaječarskom (39), Pirotskom (31), Pčinjskom (26), Topličkom (24), Rasinskom (23) i Beogradskom (20). Učestalost u ostalim regionima je ispod 10 i vezana je za teritoriju uže Srbije, dok je na teritoriji Vojvodine registrovana pojava bolesti u Zapadnoblačkom regionu (1). Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (WHO), tularemija je registrovana i na teritoriji Kosova i Metohije (izbijanje bolesti 11. novembra 2001. godine, registrovani slučajevi 17. januara, 25. januara i 6. februara 2002. god., redom, 282, 496 i 715 slučajeva, WHO, 2002).

Od ukupnog broja obolelih (317) nije zabeležen ni jedan smrtni slučaj. Stopa incidencije se kretala u rasponu od 1 slučaja 2011. do 59 slučajeva u 2003. godini. Prosečna stopa incidence iznosila je 0,35/100.000 i kretala se od najmanje (0,01) u 2011. godini do najveće (0,79) u 2003. godini (Centar za prevenciju i kontrolu bolesti, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Godišnji izveštaji) (grafikon 1).

Tokom godine tularemija se javlja u svim mesecima, sa najvećim brojem obolelih u januaru 85 (26,81%), februaru 56 (17,67%) i martu 55 (17,35%). Ovo potvrđuje sezonsku pojavu bolesti u kasnu jesen i tokom zime, zbog lovne sezone i povećanog kontakta sa nosiocima uzročnika bolesti. Najmanje slučajeva zabeleženo je u septembru – 6 (1,9%), (Centar za prevenciju i kontrolu bolesti, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Godišnji izveštaji), (tabela 2).

Bolest se javljala najviše kod osoba starijih od 60 godina (84 slučaja), što u ukupnoj strukturi obolelih zauzima 26,5%. Najmlađi oboleli registrovan je u grupi do jedne godine starosti. Što se tiče polno uslovljene distribucije, tu nema značajnije razlike i skoro je podjednak broj obolelih muškaraca 163 (51,42%), i žena 154 (48,58%). Ovo se može objasniti sličnom eksponiranošću muškaraca i žena u odnosu na uzročnika bolesti (Centar za prevenciju i kontrolu bolesti, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Godišnji izveštaji) (tabela 3).

Epizootiološki podaci vezani za navedeni period su dosta oskudni i najčešće ne prate podatke za pojavu bolesti kod ljudi (Radivojević i sar., 2006).

Bez obzira na to što je tularemija već duži vremenski period prisutna u Republici Srbiji (istočni delovi – Vranje, Sokobanja, Kruševac, Mladenovac i dr.) (Kartogram 1) i u zemaljama u okruženju, jedino je pojava oboljenja kod ljudi

Tabela 1. Pojava tularemije kod ljudi po okruzima R. Srbije, 2000–2011. god.
Table 1. Incidence of tularemia in humans according to districts of Serbia in 2000–2011

Okrug / District	2000.	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.	2008.	2009.	2010.	2011.	Ukupno / Total
Beogradski	1		1				16		2				20
Mačvanski													
Kolubarski													
Podunavski						1							1
Bраниčevski						2	1				2		5
Šumadijski									1				1
Pomoravski			3			4					1		8
Borski													
Zaječarski	4	3	2	21	1	8							39
Zlatiborski													
Moravički													
Raški													
Rasinski	4	1			1	12	4		1				23
Nišavski	20	2	8	20	27	20	7	4	15	1	6		130
Toplički	5		2	1	4	4	1	2	4		1		24
Pirotski	9		1	15	2	3	1						31
Jablanički				2	1	1	4						8
Pčinjski		1			1		2	1	2	1	17	1	26
Zapadnoboski						1							1
Ukupno / Total	43	7	17	59	37	56	36	7	25	2	27	1	317

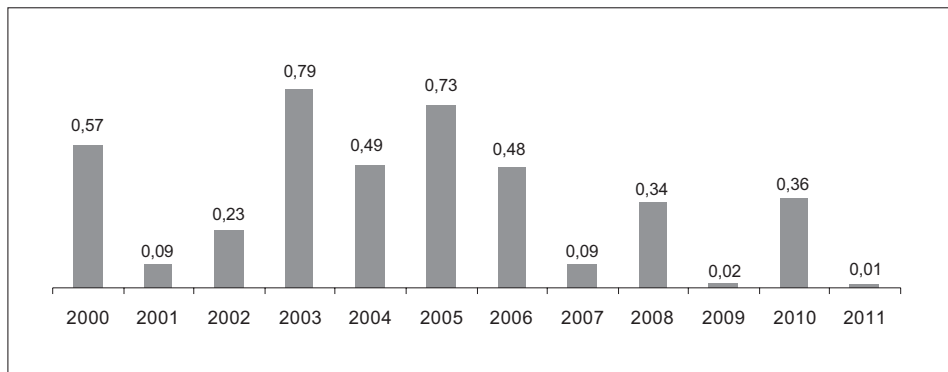
Tabela 2. Učestalost tularemije po mesecima, Srbija, 2000 – 2011. god. /
Table 2. Tularemia cases according to months in Serbia in 2000–2011

Mesec / Month	2000.	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.	2008.	2009.	2010.	2011.	Ukupno / Total
Januar / January	6		4	19	3	18	16	3	5		11		85
Februar / February	5		1	21		9	4		8		7	1	56
Mart / March	16			9	1	18	2		3		6		55
April / April	3			4	1	1	5	1			1		16
Maj / May	2		4	2	2	3			1	1			15
Jun / June	8					3	2				1		14
Jul / July	1					1	4		2				8
Avugust / August	1		2	1	3		2		1				10
Septembar / September		1	2	2	1								6
Oktobar / October	1	1	3	1	8	1		1	1				17
Novembar / November		3	1		11	1			4		1		21
Decembar / December		2			7	1	1	2		1			14
Ukupno / Total	43	7	17	59	37	56	36	7	25	2	27	1	317

Tabela 3. Učestalost tularemije po uzrastu i polu, Srbija, 2000 – 2011. god. /
Table 3. Tularemia cases according to age and sex in Serbia in 2000–2011

Starost / Age	Pol / Sex	2000.	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.	2008.	2009.	2010.	2011.	Ukupno / Total
0	m / m ž / f							1						1
1	m / m ž / f													
2	m / m ž / f													
3	m / m ž / f	1					2							3
4	m / m ž / f													
5	m / m ž / f													
6	m / m ž / f													
7-9	m / m ž / f	1			1	1	1					1		1
10-14	m / m ž / f	1			4	1	1	1		1				5
15-19	m / m ž / f	2	1	1	2	1	2	3				3		9
20-29	m / m ž / f	4		1	2	1	1	1				6		16
30-39	m / m ž / f	3		1	4	2	4	2		2		3		9
40-49	m / m ž / f	3		2	3	3	8	4	1	2	1	1		22
50-59	m / m ž / f	3	1	4	6	4	6	2	1	1		2		13
60+	m / m ž / f	3	2	2	8	8	2	3	1	5		3		26
Ukupno / Total	m ž	20 23	4 3	7 10	34 25	15 22	30 26	19 17	2 5	2 12	2	17 10	1	163 154

tokom 2006. godine u selu Koraćica, opštine Mladenovac, imala za potvrdu i pojavu infekcije kod životinja (ovce), (Radivojević i sar., 2006). U periodu mart–maj 2010. pri ponovnoj pojavi bolesti kod ljudi na jugu Srbije (Pčinjski okrug), provera zdravstvenog statusa kod životinja nije urađena.



Grafikon 1. Stopa incidencije tularemije u Srbiji, 2000 – 2011. god., izražena u odnosu na 100.000 stanovnika /

Graph 1. Incidence of tularemia in Serbia in 2000 – 2011 expressed per 100,000 citizens



Kartogram 1. Širenje tularemije u Republici Srbiji u periodu 2000-2011.

Map presentation 1. Spread of tularemia in Serbia in 2000-2011

Zaključak / Conclusion

Tularemija je već duži vremenski period prisutna kod životinja i ljudi u R. Srbiji. U periodu od 12 godina (od 2000. do 2011), u Srbiji je od tularemije obolelo 317 osoba bez smrtnog ishoda. Oboljenje kod životinja potvrđeno je samo u jednom slučaju (ovce, selo Koraćica, 2006. god). Kontrola bolesti je otežana i usmerena je na smanjenje populacije krpelja, na adekvatnu i blagovremenu dijagnostiku i terapiju kod ljudi. Rad i zaštita laboratorijskog osoblja je na posebnom mestu kada je u pitanju tularemija. Za kompletan uspeh u sprečavanju širenja i suzbijanju tularemije neophodna je saradnja većeg broja stručnih profila a posebno radnika humane i veterinarske medicine.

Literatura / References

1. Alibek K, Handelman S. Biohazard: The Chilling True Story of the Largest Covert Biological Weapons Program in the World – Told from Inside by the Man Who Ran It, New York, 1999.
2. Croddy E. Tularemia, Biological Warfare and the Battle for Stalingrad (1942-1943). Military Medicine 2001; 166(10).
3. David T. Dennis, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Fine AD, Friedlander AM, Hauer J, Layton M, Lillibridge SR, McDade JE, Osterholm MT, O'Toole T, Parker G, Perl TM, Russell PK, Tonat K. Tularemia as a biological weapon, JAMA 2001; 285(21): 2763-73.
4. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev 2002; 15(4): 631-46.
5. Kahn MC, Line S. The Merck Veterinary Manual. 9th Edition. Merck & Co., INC. Whitehouse Station, N.J., USA, 2005: 553-5
6. Kostić V, Jovanović B, Krstić M, Mitrović G, Spasić M, Veličković Z, Lako B, Kostić A. Tularemija, naša prva iskustva. Acta Medica Medianae 2000; 39(1): 73-9.
7. Lolin M. Zarazne bolesti životinja – bakterijske etiologije. Izdanje II. VKS, Beograd, 1991: 113-9.
8. Ljubić B, Radivojević S. Epizootiološka situacija na području Beograda. Zbornik radova i kratkih sadržaja simpozijuma X epizootološki dani, Tara, april 2008: 25-8.
9. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines of Terrestrial Animals and Bees. 6th Edition. OIE, Paris, 2008; 1(2).
10. Marić J, Nedić S., Manić M, Nadaškić M, Tadić V, Đuričić B. Komparativna analiza PCR tehnike u odnosu na ostale metode u dijagnostici tularemije. Zbornik radova XIV simpozijuma Epizootiološki dani Srbije, 2012: 261-2.
11. Marić J, Samokovlija A, Elezović M, Ljubić B, Đuričić B. Tularemija – Aktuelna epizootiološka situacija i mere kontrole, Zbornik radova XIII simpozijuma Epizootiološki dani Srbije, 2011.
12. Parlić M, Milić N, Vukadinović Z, Stevanović J, Stolić A, Samardžić S. Epidemiološki značaj tularemije u Srbiji. Praxis medica 2008; 36(1-2): 55-8.
13. Quin PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial diseases. Chapter 23, Quinn, P.J. i sar. Blackwell Science Ltd. Oxford. UK, 2002: 144-6.

14. Radivojević S, Ljubić B, Đuričić B, Radosavljević M. Prva epidemija tularemije na području Beograda 2006. Zbornik radova i rezimea XVIII savetovanja veterinara Srbije, Zlatibor, 2006: 99.
15. Šeguljev Z, Vuković B, Vidić B, Hristovski M, Grgić Ž. Tularemija, stara bolest i dalje aktuelna. Veterinarski glasnik 1996; 50(7-8): 515-22.

ENGLISH

TULAREMIA IN THE REPUBLIC OF SERBIA DURING THE PERIOD FROM 2000 – 2011

J. Marić, Jelena Obrenović, M. Milković, Ana Samokovlija, Milica Elezović, B. Ljubić, G. Stevanović, Đ. Đuričić, Bosiljka Đuričić

Tularemia is an infective disease of zoonotic character, bacterial etiology, which occurs predominantly among rodents, but also in other species of domestic and wild mammals, birds, reptiles, fish, and humans. The cause of the disease is *Francisella tularensis*. Due to its epidemiological-epizootiological characteristics, the cause belongs to the group of biological agents and it has been used as a biological weapon. The disease is characterized by primary local ulcerous changes on the skin and mucosa, regional lymphadenitis, expressed general septicemia, and other changes. This disease is suspected on the grounds of epizootiological data on the incidence of the disease or the deaths of rabbits, sheep, or dogs, but also humans.

During the observed period of twelve years, 317 cases of infected humans were recorded in the territory of the Republic of Serbia, without any mortal outcomes. The disease was confirmed in animals in only one case (2006.).

In order to ensure full success in preventing the spreading and in the curbing of tularemia it is necessary to secure cooperation among a large number of professionals, in particular those engaged in the fields of human and veterinary medicine.

Key words: tularemia, epidemiology, epizootiology

РУССКИЙ

ТУЛАРЕМИЯ В РЕСПУБЛИКЕ СЕРБИИ В ПЕРИОДЕ ОТ 2000-2001 ГОДА

Й. Марич, Елена Обренович, М. Милкович, Анна Самоковлия, Милица Елезович, Б. Любич, Г. Стеванович, Дж. Джуричич, Босилька Джуричич

Туляремия - заразная болезнь зоонозного характера, бактериологической этиологии, являющаяся преимущественно у грызунов, но и у других видов домашних и диких млекопитающих, птиц, пресмыкающихся, рыб и людей. Возбудитель болезни - *Francisella tularensis*. Из-за своих эпидемиологическо эпизоотологических характеристик возбудитель распределен в группу биологических агентов и использован как биологическое оружие. Болезнь характеризуется первичными локальными язвенными изменениями кожи и слизистой оболочки, региональным лим-

фаденитом, выраженной общей септициемией и пр. Сомнение на болезнь ставится на основе эпизоотологических данных о явлении заболевания или околениа зайцев, овец и собак, но и людей.

В рассматриванном периоде от двенадцати лет записано 317 случаев заболевания людей на территории Республики Сербии, без смертельного исхода, Заболевание у животных подтверждено только в одном случае (2006).

Для комплектного успеха в предупреждение расширения и подавлению туляремии необходимо сотрудничество большего числа специальных профилей, а отдельно рабочих гуманной и ветеринарной медицины.

Ключевые слова: туляремия, эпидемиология, эпизоотология

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, bez podvlačenja i veznika, već razdvojena samo zarezom. Iznad prezimena se zvezdicom (jednom ili više) označava ustanova u kojoj radi autor (autori). Zvezdice se stavljaju u superskriptum na kraju svakog prezimena.

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

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

KRATAK SADRŽAJ

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

PISANJE TEKSTA

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

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

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

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

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

POGLAVLJA RADA

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

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

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

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

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

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

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

Primeri:

1. Članak u časopisu:

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

2. Knjige i druge monografije:

Borojević S. Metodologija eksperimentalnog naučnog rada. 2. izd. Novi Sad: Radnički univerzitet "Radivoje 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, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-72.

4. Rad ili apstrakt u Zborniku radova:

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