СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО

25. Саветовање ветеринара Србије

ЗБОРНИК РАДОВА
И КРАТКИХ САДРЖАЈА

Хотел "Палисад" - Златибор
11. - 14. септембар 2014. год.

Уз мање допуне и измене које нису утицале на стручни део текста а са лекторском корекцијом и техничким уређењем у складу са захтевима издавача, у Зборнику радова су штампани оригинални текстови аутора.

ИЗДАВАЧ

СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК
Проф. др Брана Раденковић-Дамњановић

ТЕХНИЧКИ УРЕДНИК
Тијана Шукић

РЕЦЕНЗЕНТ
Доц. др Владимир Нешић

ШТАМПА
Графопак, Аранђеловац,
Тел. 034/6725-683

ТИРАЖ
500

ОРГАНИЗАТОР
СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО

СУОРГАНИЗАТОРИ
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕУНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ
ВЕТЕРИНАРСКА КОМОРА СРБИЈЕ
УПРАВА ЗА ВЕТЕРИНУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД
-ДЕПАРТМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ

АДРЕСА ОРГАНИЗАТОРА
Српско ветеринарско друштво
Булевар ослобођења бр. 18, Београд
тел/фах: 011/2685-187
www.svd.rs
svd1890@gmail.com

Председник СВД-а
Проф. др Брана Раденковић - Дамњановић
Потпредседник СВД-а
Др сц Драган Рогожарски
Секретар СВД-а
Спец. др вет. мед. Десанка Ћетковић

ОРГАНИЗАЦИОНИ ОДБОР
Председник СВД-а: Проф. др Брана Раденковић-Дамњановић
Председник Програмског одбора: Проф. др Данијела Кировски
Потпредседник СВД-а: Др сц Драган Рогожарски
Секретар СВД-а: Спец. др вет. мед. Десанка Ћетковић
Технички секретар СВД-а: Др вет. мед Катарина Вуловић

ПРОГРАМСКИ ОДБОР
Данијела Кировски, Брана Раденковић-Дамњановић, Будимир Плавшић, Зоран Катринка, Мирјана Ћирић, Зора Мијачевић, Вера Катић, Мирослав Валчић, Драган Шефер, Мирјана Миловановић, Милица Ковачевић-Филиповић, Иван Вујанац, Никола Поповић, Драгиша Траиловић, Радмила Ресановић, Весна Матекало, Оливер Радановић, Маријана Вучинић, Владимир Нешић, Љиљана Јанковић.

ПОЧАСНИ ОДБОР
Снежана Богосављевић Бошковић, Владо Теодоровић, Дејан Бугарски, Грго Тиквицки, Саша Бошковић, Зоран Јевтић, Родољуб Тадић, Драган Роган, Сава Бунчић, Милан Поповић.

СЕКРЕТАРИЈАТ
Војислав Арсенијевић, Милоје Ракоњац, Бобан Ђурић, Зоран Рашић, Милутин Симовић, Миодраг Јовановић, Горан Ђорић, Предраг Поповић, Ненад Јовановић, Бранка Видић, Срђан Козлина, Маријана Вучинић, Љиљана Јанковић, Владимир Нешић, Мирослав Ћирковић, Милан Балтић, Радослав Митровић, Верица Мрвић, Снежана Стевановић-Ђорђевић, Санда Димитријевић, Добрила Јакић-Димић, Милица Лазић, Марко Филиповић, Дарко Бошњак, Милош Петровић, Зоран Дебељак, Слободан Илић, Љубомир Милић, Петар Миловић, Миодраг Никовић, Гордана Жугић, Миленко Стеванчевић.

С А Д Р Ж А Ј

ПЛЕНАРНА ПРЕДАВАЊА

Дејан Бугарски:
АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ СЛУЖБИ СРБИЈЕ СА ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА ХАРМОНИЗАЦИЈУ НОРМАТИВНИХ АКАТА.....15

Fodor László:
ОБУКА ВЕТЕРИНАРА У ЕВРОПИ: СТРУКТУРА, СТАНДАРДИ И ЕВАЛУАЦИЈА.....17

Владимир Нешић:
ПРОФЕСИОНАЛНИ ЕТИЧКИ ИЗАЗОВИ У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ..19

II ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
БИОТЕХНОЛОШКА РЕШЕЊА У СТОЧАРСКОЈ ПРОИЗВОДЊИ

Бреда Јаковац Стајн, Драган Милићевић, Марјана Мохорко:
ЗНАЧАЈ АДИТИВА У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА.....31

Драган Шефер, Светлана Грдовић, Радмила Марковић, Јелена Недељковић Траиловић, Бранко Петрујкић, Стамен Радуловић:
ПРИМЕНА БИОТЕХНОЛОГИЈЕ У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА.....37

Стамен Радуловић, Радмила Марковић, Добрила Јакић Димић, Драган Шефер:
УПОТРЕБА ФИТОБИОТИКА У СТИМУЛАЦИЈИ РАСТА ОДБИЈЕНЕ ПРАСАДИ.....39

III ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
ЗАРАЗНЕ БОЛЕСТИ ЖИВОТИЊА, ВЕТЕРИНАРСКА ИНФЕКТОЛОГИЈА И ЕПИЗООТИОЛОГИЈА

Мирослав Валчић, Будимир Плавшић, Соња Радојичић:
ХИТНЕ МЕРЕ У СЛУЧАЈУ ПОЈАВЉИВАЊА НАРОЧИТО КОНТАГИОЗНИХ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА - СЛИНАВКА И ШАП КАО МОДЕЛ.....43

Соња Радојичић, Милена Живојиновић, Мирослав Валчић, Соња Обреновић, Наташа Стевић, Даница Богуновић:
ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА – СТАЊЕ У ЕВРОПИ И ОКРУЖЕЊУ.....45

Ненад Јовановић, Радивоје Анђелковић, Бранислав Стојановић, Предраг Масловарић, Зоран Јовановић, Драган Патковић, Оливер Стошић, Горан Опачић, Драган Ђурђевић:
УЛОГА ВОЈНЕ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У ВАНРЕДНИМ СИТУАЦИЈАМА ИЗАЗВАНИМ ПОЈАВЉИВАЊЕМ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕНА ЖИВОТИЊА КОЈЕ УГРОЖАВАЈУ ЦЕЛУ ЗЕМЉУ.....47

Милена Живојиновић, Милица Лазић, Славонка Стокић, Александар Живуљ, Будимир Плавшић:
Q ГРОЗНИЦА – АКТУЕЛНА ЗООНОЗА.....51

Зоран Дебељак, Александар Томић, Миодраг Рајковић, Никола Васковић, Казимир Матовић, Дејан Видановић, Александар Жарковић:
ПАСИВНИ НАДЗОР ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ – АБОРТУСИ.....53

Тамаш Петровић, Диана Лупуловић, Душан Петрић, Ана Васић, Ивана Хрњаковић Цвјетковић, Весна Милошевић, Дејан Видановић, Миланко Шеклер, Сава Лазић, Босиљка Ђуричић, Будимир Плавшић, Juan-Carlos Saiz:
ГРОЗНИЦА ЗАПАДНОГ НИЛА, ЗНАЧАЈНА ВИРУСНА ИНФЕКЦИЈА У СРБИЈИ – АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА.....55

Соња Обреновић, Радован Чеканац, Елизабета Ристановић, Драган Бацић, Соња Радојичић, Мирослав Валчић:
ЗНАЧАЈ ПАСА У ЕКО-ЕПИДЕМИОЛОГИЈИ ЛАЈМ БОРЕЛИЗЕ У РЕГИОНУ...57

Мирослав Валчић, Соња Радојичић, Соња Обреновић, Наташа Стевић:
ОСНОВНИ ЕПИЗООТИОЛОШКИ ПРИНЦИПИ АКТИВНОГ НАДЗОРА, КОНТРОЛЕ, СУЗБИЈАЊА И ЕРАДИКАЦИЈЕ ЗАРАЗНИХ БОЛЕСТИ ЖИВОТИЊА 59

Тибор Молнар ,Ференц Кишкароль, Братислав Кисин, Синиша Милић:
АКТУЕЛНА ПРОБЛЕМАТИКА КАРАНТИНИРАЊА КАО ДЕЛА НЕСПЕЦИФИЧНЕ ПРОФИЛАКСЕ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА.....61

Снежана Радивојевић, Божидар Љубић, Ивана Беговић-Лазаревић, Мирјана Миленковић:
КРОЈЦФЕЛД-ЈАКОБОВА БОЛЕСТ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈЕВА.....71

IV ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
АКТУЕЛНА ЗДРАВСТВЕНА ПРОБЛЕМАТИКА КОД ДОМАЋИХ ПАПКАРА

Mathias Ritzmann:
ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ ИНФЕКЦИЈЕ *PCV-2* У ИНТЕНЗИВНОМ УЗГОЈУ СВИЊА.....79

Isabel Hennig-Pauka:
MYCOPASMA HYOPNEUMONIAE И *PRRSV* – УТИЦАЈ НА ЗДРАВЉЕ РЕСПИРАТОРНИХ ОРГАНА СВИЊА.....81

Данијела Кировски, Милица Ковачевић Филиповић, Иван Вујанац, Радиша Продановић:
УЛОГА ПРОТЕОМСКИХ АНАЛИЗА У РАЗЈАШЊЕЊУ ЕТИОПАТОГЕНЕЗЕ МАСНЕ ЈЕТРЕ КРАВА.....83

Владимир Кукољ, Слађан Нешић, Ивана Вучићевић:
ДИСТРИБУЦИЈА ЗВЕЗДАСТИХ ЋЕЛИЈА ЈЕТРЕ И ЊИХОВА УЛОГА У НАСТАНКУ ПАРАЗИТСКЕ ФИБРОЗЕ И ЦИРОЗЕ ЈЕТРЕ КОД ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА 89

Марко Р. Цинцовић, Бранислава Белић, Миленко Стеванчевић, Бојан Тохољ, Александар Поткоњак, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић:
ИСПИТИВАЊЕ ИНСУЛИНСКЕ РЕЗИСТЕНЦИЈЕ КОД КРАВА У ТОПЛОТНОМ И МЕТАБОЛИЧКОМ СТРЕСУ 91

Бранислава Белић, Марко Р. Цинцовић, Маја Дошеновић, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић:
УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ АНТИКОАГУЛАНСА НА ВРЕДНОСТ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА У КРВИ КОД КРАВА 97

Зорана Ковачевић, Драгица Стојановић, Бранислава Белић, Ивана Давидов, Марко Цинцовић, Миодраг Радиновић, Михајло Ердељан:
КОНЦЕНТРАЦИЈА СЕЛЕНА У МЛЕЧНОМ СЕРУМУ КРАВА У РАНОЈ И СРЕДЊОЈ ЛАКТАЦИЈИ.....99

Александар Јовановић, Владимир Обрадовић:
TORSIO UTERI КОД КРАВЕ-ПРИКАЗ СЛУЧАЈА.....105

Ивана Лакић:
МОФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТКИВА ЈЕТРЕ КОД КРАВА У РАНОЈ ЛАКТАЦИЈИ.....107

V ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ

РЕТРОСПЕКТИВА И ПЕРСПЕКТИВА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА У СРБИЈИ

Маријана Вучинић, Катарина Радисављевић, Будимир Плавшић, Маја Андријашевић, Ивана Лазић:
ЧИЊЕНИЦЕ КОЈЕ ЈЕ НЕОПХОДНО ПОЗНАВАТИ РАДИ ОБЕЗБЕЂЕЊА И УНАПРЕЂЕЊА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА.....111

Ивана Лазић:
ОБРАЗОВАЊЕ КАДРОВА О ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА У СРБИЈИ.....117

Елвир Буразеровић:
СТАЊЕ ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА НА ФАРМАМА У СРБИЈИ – ПРЕГЛЕД НАЈВАЖНИЈИХ РЕЗУЛТАТА НАЦИОНАЛНОГ ИСТРАЖИВАЊА КОРИШЋЕЊЕМ ИНДИКАТОРА БАЗИРАНИХ НА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА.....119

Дуња Ковач:
БИХЕЈВИОРИСТИКА - УЛОГА И ЗНАЧАЈ ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ И ДОБРОБИТ ЖИВОТИЊА.....125

Владимир Терзин, Јована Пенезић:
ОСВРТ НА ЗАКОНСКУ РЕГУЛАТИВУ О ЗАШТИТИ ЖИВОТИЊА УСРБИЈИ.....133

VI ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ

Анита Радовановић, Иван Милошевић:
РЕГЕНЕРАЦИЈА ТКИВА И ОРГАНА КРОЗ ФИЛОГЕНЕЗУ И ОНТОГЕНЕЗУ.....141

Даница Марковић, Весна Даниловић, Богомир Болка Прокић:
РЕГЕНЕРАТИВНА МЕДИЦИНА У САНАЦИЈИ КОШТАНИХ ДЕФЕКАТА.....147

Јелена Француски, Милица Ковачевић Филиповић:
МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ СИНОВИЈАЛНЕ ТЕЧНОСТИ ПАСА.....157

Ђорђе Вељовић, Даница Марковић, Драган Ђурђевић, Весна Даниловић, Милица Ковачевић Филиповић, Ђорђе Јанаћковић:
ЕФЕКАТ ПРИСУСТВА ЈОНА СТРОНЦИЈУМА И ВЕЛИЧИНЕ ЗРНА У СТРУКТУРИ КОШТАНИХ ИМПЛАНАТА НА БАЗИ КАЛЦИЈУМ-ХИДРОКСИАПАТИТА НА БИОКОМПАТИБИЛНОСТ И ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈУ МЕЗЕНХИМАЛНИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА.....163

Јанко Мрковачки:
ЛЕЧЕЊЕ ОСТЕОАРТРИТИСА (ОА) ПАСА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА.....171

Јанко Мрковачки:
ЛЕЧЕЊЕ ПОВРЕЂЕНИХ ТЕТИВА, ЛИГАМЕНАТА И ЗГЛОБОВА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА КОД СПОРТСКИХ КОЊА.....173

Милица Ковачевић Филиповић, Јелена Француски:
ХЕМАТОПОЕТСКЕ И МЕЗЕНХИМАЛНЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ: ОСНОВНИ КОНЦЕПТ КЛИНИЧКЕ ПРИМЕНЕ.....175

VII ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
СЛОБОДНЕ ТЕМЕ

Љиљана Јанковић, Брана Раденковић-Дамњановић, Радислава Теодоровић, Милутин Ђорђевић:
ПРОИЗВОДЊА БИОГАСА ИЗ СТАЈЊАКА.....185

Зоран Д. Јевтић:
МЕЛ-МЕД У ПРОШЛОСТИ, ОБРЕДИМА И НАРОДНОЈ МЕДИЦИНИ.....193

Нада Плавша, Тамаш Петровић, Игор Стојанов, Вујадин Вуковић:
ВИРУСИ ПЧЕЛА - ЗНАЧАЈАН ПАТОГЕН У СЛАБЉЕЊУ ПЧЕЛИЊЕ ЗАЈЕДНИЦЕ.....195

Младен Петровић, Татјана Пустахија, Светлана Илић, Зорица Шегуљев:
ЕПИДЕМИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТРИХИНЕЛОЗЕ У АП ВОЈВОДИНИ У ПЕРИОДУ ОД 2004. ДО 2013. ГОДИНЕ.....201

Гордана Анђелић-Бузаџић, Иван Павловић, Јовица Николовски:
РАЗВОЈНИ ПУТ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У МАЧВАНСКОМ ОКРУГУ У 19. И 20. ВЕКУ.....209

Ивана Нешић, Милош Благојевић, Зоран Зорић, Милена Ђорђевић, Славољуб Јовић, Зденка Благојевић:
A. POPLITEA КОД СЛЕПОГ КУЧЕТА (*SPALAX LEUCODON*).....215

Милош Благојевић, Душко Витровић, Ивана Адамовић, Ивана Нешић, Милена Ђорђевић, Зденка Благојевић:
A. RENALIS КОД ТЕКУНИЦЕ (*CITELLUS CITELLUS*).....219

Миливоје Урошевић, Дарко Дробњак, Георги Христозов, Милан Урошевић, Јусуф Ограк, Драгутин Матаругић, Петар Стојић:
ОСНОВНИ МОРФОМЕТРИЈСКИ ПАРАМЕТРИ БУГАРСКОГ ОВЧАРСКОГ ПСА.....223

VIII ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
БЕЗБЕДНОСТ ХРАНЕ

Бранко Велебит, Бранкица Лакићевић, Бранка Боровић:
ГМО У ЛАНЦУ ПРОИЗВОДЊЕ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА.....233

Весна Матекало-Сверак, Весна Јанковић, Данка Спирић:
ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ АЛЕРГЕНА У ЛАНЦУ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА.....241

Вера Катић, Станко Бобош:
COXIELLA BURNETII - СТАРИ НОВИ ЗООНОТСКИ АГЕНС ПРЕНОСИВ ХРАНОМ.....249

Зоран Ђерић, Сејад Мачкић:
УТИЦАЈ ТЕХНОЛОШКИХ ПОСТУПАКА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ АФЛАТОКСИНА М1 У МЛИЈЕЧНИМ ПРОИЗВОДИМА.....259

Миодраг Радиновић, Станко Бобош, Марија Пајић, Анамариа Галфи:
УТИЦАЈ УЗРОЧНИКА МАСТИТИСА НА ХИГИЈЕНСКУ ИСПРАВНОСТ МЛЕКА.....267

Драган Роган, Весна Лалошевић, Николина Новаков, Бојана Видовић:
ПРЕВЕНТИВНИ АНТИМИКРОБНИ ТРЕТМАНИ НА ФАРМАМА ГОВЕДА У ЦИЉУ СМАЊЕЊА КОНТАМИНАЦИЈЕ МЕСА У КЛАНИЦАМА И КОНСЕКВЕНТНОГ ТРОВАЊА ЉУДИ ХРАНОМ.....273

IX ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
МАЛА ПРАКСА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ

Војислав Илић:
МЕЂУЉУДСКИ ОДНОСИ У МАЛОЈ ПРАКСИ.....283

Милан Јовановић, Јелена Француски, Милош Вучићевић:
УЛОГА ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ У РАДУ МАЛЕ КЛИНИЧКЕ ПРАКСЕ.....287

Вања Крстић, Драган Ристановић:
САВРЕМЕНЕ ИНСТРУМЕНТАЛНЕ МЕТОДЕ У МАЛОЈ ПРАКСИ.....293

Дарко Давитков, Милош Вучићевић, Јевросима Стевановић, Вања Крстић, Бојан Гајић, Урош Главинић, Зоран Станимировић:
ЗНАЧАЈ *PCR-RFLP* МЕТОДЕ У ПРЕЦИЗНОЈ, СПЕЦИЈСКОЈ ИДЕНТИФИКАЦИЈИ УЗРОЧНИКА БАБЕЗИОЗЕ ПАСА.....299

Маја Васиљевић, Вања Крстић, Роберт Трујановић:
УПОРЕДНА АНАЛИЗА ПАРАМЕТАРА ИНТРАОПЕРАТИВНОГ И ПОСТОПЕРАТИВНОГ БОЛА КОД КУЈА ПРИЛИКОМ ЛАПАРОСКОПСКЕ И КЛАСИЧНЕ ОВАРИЕКТОМИЈЕ.....305

Дајана Слијепчевић:
ПОЛИЦИСТИЧНО ОБОЉЕЊЕ БУБРЕГА МАЧАКА - ЗАСТУПЉЕНОСТ У ПОПУЛАЦИЈИ ПЕРСИЈСКИХ МАЧАКА; ПОРЕЂЕЊЕ УЛТРАЗВУЧНЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ И ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ И ПОЈЕДИНИХ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА.....311

Тамара Илић, Жолт Бечкеи, Тамаш Петровић, Никола Васковић, Павле Гавриловић, Санда Димитријевић:
ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЕНДОПАРАЗИТОЗА ДИВЉИХ КАНИДА У ПОЈЕДИНИМ РЕГИОНИМА ЗЕМЉЕ СРБИЈЕ.....319

Божидар Аћимовић:
МОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ДИСТРИБУЦИЈА
МАЛИГНИХ МЕЛАНОМА КОД ПАСА У БИОПСИЈСКОМ МАТЕРИЈАЛУ.....321

Ференц Чордаш, Иван Павловић, Тамаш Чордаш, Bela Lengyel:
ПРВИ НАЛАЗ *LINGUATULA SERRATA* КОД ПАСА У ВОЈВОДИНИ.....323

Александар Поткоњак, Сара Савић, Љубица Спасојевић, Вук Врачар, Николина Новаков, Александар Бурсаћ, Огњен Стеванчевић, Ненад Стојанац:
НАЛАЗ АНТИТЕЛА НА УЗОРОЧНИКЕ *RICKETTSIA CONORII* И *BABESIA CANIS* КОД ЛОВАЧКИХ ПАСА У ВОЈВОДИНИ.....327

X ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
АКТУЕЛНА ПАТОЛОГИЈА ОБОЉЕЊА КОЊА

Драгиша Траиловић:
АКТУЕЛНА ПАТОЛОГИЈА ЦЕНТРАЛНОГ НЕРВНОГ СИСТЕМА
У СРБИЈИ И СУСЕДНИМ ЗЕМЉАМА.....335

Стефан Ђоковић:
ХЕРПЕСВИРУСНИ МИЈЕЛОЕНЦЕФАЛИТИС КОЊА.....347

Зоран Петеј, Драгиша Траиловић:
ЛЕУКОЕНЦЕФАЛОМАЛАЦИЈА КОЊА - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА.....351

Михајло Ердељан, Ивана Давидов, Зорана Ковачевић, Младен Иђушки:
СЕРОПРЕВАЛЕНЦА ИНФУЕНЦЕ КОД КОЊА НА ТЕРИТОРИЈИ
ВОЈВОДИНЕ.....357

Бојан Тохољ, Велибор Кујача, Миленко Стеванчевић,
Јован Спасојевић, Александар Ачански:
КАСТРАЦИЈА ПАСТУВА КОМПЛЕТНОГ АБДОМИНАЛНОГ
КРИПТОРХИДА МЕТОДОМ ПАРАИНГВИНАЛНЕ ЛАПАРАТОМИЈЕ
- ПРИКАЗ СЛУЧАЈА.....363

Слободан Стеванов, Сара Савић:
АРТРИТИС - РЕШИВ ИЛИ НЕРЕШИВ ПРОБЛЕМ.....369

XI ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ
ЖИВИНАРСТВО

Радмила Ресановић:
КЛИНИЧКИ АСПЕКТИ ИМУНОСУПРЕСИЈЕ ЖИВИНЕ.....377

Милош Вучићевић, Радмила Ресановић:
ИНФЕКТИВНИ БРОНХИТИС ЖИВИНЕ.....379

Данка Маслић Стрижак, Љиљана Спалевић, Радмила Ресановић:
ТЕХНОПАТИЈЕ ТЕШКИХ ЛИНИЈСКИХ ХИБРИДА ЖИВИНЕ.....389

Гордана Жугић, Јелена Анђелковић, Милијана Голубовић:
СТАТУС КОКЦИДИОСТАТИКА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ
И ЕВРОПСКОЈ УНИЈИ.....397

ИНДЕКС АУТОРА 405

Пленарна предавања

---

1. АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ СЛУЖБИ СРБИЈЕ СА ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА ХАРМОНИЗАЦИЈУ НОРМАТИВНИХ АКАТА

2. ОБУКА ВЕТЕРИНАРА У ЕВРОПИ: СТРУКТУРА, СТАНДАРДИ И ЕВАЛУАЦИЈА

3. ПРОФЕСИОНАЛНИ ЕТИЧКИ ИЗАЗОВИ У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ

АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ СЛУЖБИ СРБИЈЕ СА ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА ХАРМОНИЗАЦИЈУ НОРМАТИВНИХ АКАТА

CURRENT SITUATION IN VETERINARY SERVICE OF SERBIA WITH SPECIAL EMPHASIS ON HARMONIZATION OF LEGISLATION

Дејан Бугарски

Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине Републике Србије

Кратак садржај

Од момента добијања статуса државе кандидата за приступање Европској унији (ЕУ), Република Србија је преузела обавезу да усвоји и примени прописе који важе на подручју ЕУ. Та обавеза укључује и прописе из области здравствене заштите и добробити животиња, безбедности хране животињског порекла и ветеринарског јавног здравља. Ови прописи, без обзира што се на њиховој хармонизацији ради већ читаву деценију, морају бити у потпуности пренети у национално законодавство и примењени даном приступања ЕУ, односно и раније уколико се остварује размена добара и услуга са земљама чланицама ЕУ.

У контексту реформе ветеринарске службе, све промене које ће настати у периоду који је пред нама, односиће се како на пружање одговарајућих ветеринарских услуга, које ће гарантовати висок ниво заштите добробити животиња, али и на безбедност хране животињског порекла, јер је управо ветеринарска служба та која може да пружи неопходне гаранције. Степен реформи службе, која представља национално и глобално добро, мора бити подигнут на задовољавајући ниво, како би се оправдало очекивање друштва у целини. Са друге стране, није искључена ни одговорност самих произвођача хране, јер су они директно одговорни за квалитет и сугурност производње животиња, прераде и промета хране, уз неопходно обезбеђивање конкурентности и опстанака на тржишту. Да би оправдали захтеве за заштиту потрошача, ови субјекти морају да уведу и одрже систем управљања квалитетом, следљивост и документованост процеса, чиме преузимају потпуну одговорност, како за квалитет, тако и за безбедност хране.

Правни основ који је до сада обезбеђен доношењем кровних ветеринарских прописа, првенствено Закона о ветеринарству, Закона о безбедности хране, Закона о добробити животиња, Закона о лековима и медицинским средствима и доношењем читавог низа подзаконских аката, подлеже сталном усавршавању и унапређењу, уз непрестано усаглашавање према новодонетим прописима. Сама ЕУ управо мења свој ветеринарски законодавни оквир и у наредних неколико година он ће бити у потпуности промењен, како би сама примена била поједностављена.

Уз разумевање овог изазова, ветеринарска служба би морала да пронађе капацитете да се издигне на ниво службе од посебног значаја и да реформише све своје структуре, како образовне, тако и административне и оне које су посвећене теренском раду. Улога Српског ветеринарског друштва у овом процесу може бити веома значајна и корисна.

Кључне речи: ветеринарство, безбедност хране, хармонизација прописа, реформа ветеринарске службе

VETERINARY TRAINING IN EUROPE: STRUCTURE, STANDARDS AND EVALUATION

ОБУКА ВЕТЕРИНАРА У ЕВРОПИ: СТРУКТУРА, СТАНДАРДИ И ЕВАЛУАЦИЈА

László Fodor

Szent István University, Faculty of Veterinary Science, Hungary

Veterinary training together with 6 other professions (medical doctor, dentist, pharmacologist, general nurse, midwife and architect) belongs to the controlled professions, where the structure and content of the training, and the skills and competences of the graduates (Day1 competency) are defined by a European Directive.

Evaluation of veterinary training in the different countries of Europe was launched in 1986, now it is managed by the European Association of Establishments for Veterinary Education (EAEVE) and the Federation of Veterinarians of Europe (FVE). It is the only profession specific evaluation in Europe, where experts compare similar programs. In addition to the principles of the European Association for Quality Assurance In Higher Education (ENQA) the evaluation system of EAEVE examines also on the profession specific conditions of the veterinary training.

The EAEVE evaluation consists of two stages. The first stage focuses on the professional aspects of the training, its compliancy to the requirements laid down in the European Directives 2005/36/EC and 2013/55/EC is examined. In the framework of the second stage the quality assurance system of the teaching, research and service activity of the school is evaluated. The Consultative Site Visit is a special form of the evaluation, which intends to help the establishments in preparing full visits. It targets a professional evaluation but its report is not public.

Schools prepare self evaluation reports (SER). In the first stage SER the main characteristics of the school (history, structure, finances, curriculum, infrastructure, teaching staff, total staff, number of students and graduates, clinical and post mortem case load etc.) are presented. The statistical evaluation is supported by 20 indicators like the ratio of student/teacher, student/staff, clinical cases/graduates, post mortem cases/graduates, herd health visits/graduates etc. Stage 2 SER includes 12 chapters on quality assurance of the school.

The professional evaluation of the school is carried out by a five-member-team, including one each expert of basic sciences, animal production and food hygiene, while the clinical activities are evaluated by one expert from academia and one practitioner. The most experienced member is nominated to be the chair and the team is complete with a student and a coordinator. The quality assurance system of the school is examined by two experts. In the case of consultative site visits a team of 2-3 members are sent.

The report of the team is evaluated by the European Committee of Veterinary Education (ECOVE). If no major deficiencies are identified, the school will be Approved/Accredited, in case of one major deficiency it will be categorised as Conditionally Approved/Accredited, while two or more major deficiencies will result Non Approval/Accreditation. The report together with the SER will be made public on the EAEVE website. If the deficiencies are rectified within 5 years, the schools can ask a revisit.

Approval or Accreditation are acknowledgements of the activity of the school, however several examples show that Conditional or Non Approval/Accreditation can also be beneficial for the school, if the results of the international evaluation support it in gaining additional financial support from the government.

ПРОФЕСИОНАЛНИ ЕТИЧКИ ИЗАЗОВИ У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ

Владимир Нешић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Просечан ветеринар се свакодневно сусреће са етичким изазовима. Ветеринари су професионалци који често морају одмах да донесу одлуке које утичу на судбину животиња, као и на животе људи који их поседују или брину о њима. Међутим, не захтева свака одлука јединствено етичко разматрање или пресуду, иако ће, без обзира на област ветерине у којој раде, ветеринари често бити суочени са изазовима, који немају увек јасно решење. У оваквим ситуацијама ветеринари морају да донесу одлуку, која након тога може да буде доведена у питање или да има исход који није очекиван. У процесу доношења одлука увек постоје различити интереси у игри, који се сви морају узети у обзир и пажљиво размотрити: животиња, власник, трећа страна (која може да буде друштво у целини) и ветеринар.

У раду ће бити речи о основним етичким вредностима, као и о најчешћим професионалним етичким изазовима у ветеринарској медицини.

Кључне речи: етика, професионални изазови, ветеринарска медицина

PROFESSIONAL ETHICAL CHALLENGES IN VETERINARY MEDICINE

Vladimir Nešić

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

An average practicing veterinarian meets ethical challenges on a day-to-day basis. Veterinarians are professionals who must make ad hoc decisions that influence the fate of animals and affect the lives of the people who own or look after them. However, not every decision requires an unique ethical or moral consideration or judgement, although, no matter in what field a veterinarian works, be it clinical practice, research, education, or public health, he or she will always be faced with dilemmas that have no obvious solution. In these situations they have to make a decision, but in the knowledge that afterwards it may be questioned or have an outcome that was never intended. In the process of making decisions there are invariably different interests at stake, all of which must be considered; there are those of the animal, the owner, a third party (which may be society as a whole) and of the veterinarian.

This paper will discuss the basic ethical values, as well as the most common professional ethical challenges in veterinary medicine.

Key words: ethics, professional challenges, veterinary medicine

Шта се подразумева под етиком?

Реч «етика» може да се тумачи двојако, и та два значења се често мешају и преплићу (1).

Етика 1 је низ принципа или уверења, који управљају нашим виђењем доброг и лошег, исправног и погрешног, онога што је праведно и неправедно. Дакле, то су морална правила за која верујемо да важе за друштво, нас и/или неку подгрупу друштва, као што смо ми ветеринари.

Унутар саме етике 1 разликује се социјална, лична и професионална етика.

Социјална етика обухвата етичка правила за која верујемо да су универзално обавезујућа за све чланове друштва и која управљају нашим социјалним понашањем. Без таквих етичких правила ми не бисмо могли да коегзистирамо, владали би хаос и анархија и цивилизација би била непознат појам. Ова правила не морају да буду иста за сва друштва, јер постоје бројне етичке варијације у разним друштвима. Дакле, у нашем друштву постоји генерална социјална етика, око које се махом сви слажемо, која нас везује и са нама управља.

Међутим, социјална етика не контролише све области нашег живота које су етички релевантне - неки делови понашања су остављени на дискрецији појединцу, тј. контролише их његова *лична етика.* Ствари типа - шта неко чита, које је неко вере и сл. су препуштене појединцу унутар друштва и његовом смислу о томе шта је исправно и погрешно или добро и лоше. Битно је да се напомене да како се друштво мења и еволуира, неке норме понашања је померају из области социјалне етике, ка области личне етике (нпр. сексуално понашање). С друге стране, многе области понашања, које су некад контролисане од стране личне етике, прешле су у домен социјалне етике. Дакле, одређено понашање постаје ствар етике друштва онда када постане очигледно да је начин на који лична етика регулише такво понашање, неправедан (нпр. третман животиња у друштву је имало за последицу доношење Закона о добробити).

Трећа компонента етике 1 је *професионална етика.* Чланови неке професије су, пре свега, чланови друштва и самим тим су обавезни свим аспектима социјалне етике - да не краду, убијају, крше уговоре и сл. Међутим, професионалци, као што су ветеринари, правници или лекари, имају одређену функцију и делатност унутар једног друштва, која је витална за функционисање тог друштва. Обављање оваквих делатности захтева одређену стручност, тренинг, искуство, као и способност деловања у специфичним ситуацијама у којима се обичне особе, махом, никада не налазе. Демократска друштва су се показала толерантним према професионалцима, сматрајући да ће они сами боље разумети етичке проблеме са којима се суочавају, него што би то чинило друштво у целини. Стога, друштво таквим професионалцима препушта да сами одреде правила понашања у одређеним ситуацијама.

Другим речима, социјална етика даје нека генерална етичка правила и смернице за делатност професионалаца, а од професионалних подгрупа друштва тражи да развију сопствену етику за специфичне ситуације, са којима се они свакодневно срећу. Због овакве ситуације, професионална етика заузима позицију негде између социјалне и личне етике, јер, нити се односи на све чланове друштва, нити су главне компоненте овакве етике препуштене контроли појединца. Уколико нека професија не успе да функционише у складу са професионалном етиком, која је у хармонији са социјалном етиком, онда може да дође до значајног губитка аутономије дотичне професије. Ветеринарска медицина се суочава са могућом ограниченом употребом антибиотика управо због социјалног страха од неконтролисане и нерационалне употребе лекова (резистенција, резидуе и сл.).

С друге стране, **етика 2** је логично, рационално истраживање етике 1, с циљем да се етички принципи оправдају или да се неке нелогичности разјасне. Самим тим, етика 2 представља грану филозофије, односно филозофску дисциплину. Иако су ветеринари често фрустрирани филозофским питањима, скоро сви су «притајени морални филозофи», чији је интерес за филозофију очигледан тек када добију прилику да се «открију». Важност етике 2 се управо огледа у томе, што је напредак у етици могућ само уколико се етика 1 константно критички посматра и истражује.

Етика и право

Етика и право су сличне, а у неким својим аспектима веома блиске области, с тим што је етика екстензивнија, а право интензивније. Дакле, етика обухвата врло широку област човековог живота, и у индивидуалном и у социјалном смислу. Етика је уз то и дифузна, што значи да данас не постоје јединствени морални корпуси, састављени од јасно дефинисаних и општеважећих вредности и норми које људи безрезервно следе. Право, пак, регулише (санкционише) уже (мање широко) подручје индивидуалног и социјалног живота људи, но на систематски и прецизан, интензивнији начин. Док се не може говорити о једном, јединственом моралу, право је у свакој држави једно (2).

Бројна су питања, дилеме и контроверзе који се јављају у релацији право-етика. На пример, ако је особа НН починила злочин (убила животињу), а истражне радње и правна процедура (због недостатка доказа, захваљујући вештим адвокатима одбране, корумпираности суда) не буду довољне да стварни злочинац буде и осуђен, шта је у таквом случају са истином, а шта са етиком. Ова контроверза се решава старим принципом: нико није крив ако се не докаже супротно (пресумција невиности). А дух овог начела проистиче из става да је већа морална штета осудити невиног, него ослободити злочинца.

Данашња друштва карактерише одсуство јединственог моралног корпуса, због чега успостављање владавине права има све већи значај у

обезбеђивању релативне стабилности заједничког живота људи. Као што је већ речено, право данас у развијеним земљама санкционише и оно што је доскора спадало у домен личне етике (односи између супружника, родитеља и деце, сексуална оријентација појединца, однос људи према животињама и биљкама).

Етика и право се увек преклапају, али делимично, јер право никада не обухвата све оно што спада у поретке моралних вредности и норми. Оно што се санкционише правом понекад нема уопште везе с етиком, али и обрнуто. Када се њихова кршења сасвим поклапају (убиство, крађа, превара...) она се не стапају и то због различитости санкција, тј. свака од њих има своју санкцију. Правна санкција је хетерономна, тј. одређује је држава (спољна сила) својим законима. Морална санкција је (када код починиоца постоји развијена морална свест) аутономна - грижа савести, осећање кривице, кајање, нелагода.

Дакле, санкције представљају темељ разлике између етике и права. У најкраћем, казна за неуважавање/непоштовање моралних вредности и кршење моралних норми је унутрашња, аутономна (осећање кривице, грижа савести, незадовољство собом, неспокојство, нелагода, страх...). Понекад кршење неке моралне норме производи и спољашњу казну (неодобравање, прекор, осуда, презир, гнушање до искључења особе која је починила морални преступ из примарне групе, као што су пријатељи, вршњаци, породица, колеге..., којој он припада, односно везе са другом особом). С друге стране, правна санкција је превасходно спољашња, хетерономна (2).

«Основни изазов»

Ветеринарска етика је компликована оним што се назива «основним изазовом» за ветеринарску медицину, а то је, да ли је примарна одговорност ветеринара према пацијенту (животиња) или клијенту (власник)? Под којим условима ветеринар треба да се залаже за животиње, упркос жељама клијента? Под којим околностима би ветеринар требало да попусти пред економским или другим интересима, тј. да ли да се прилагоди потребама клијента или пацијента? У вези са овим постоје бројна питања и изазови и као резултат тога настају етичке дилеме, које могу да доведу до проблема у пружању услуга. Док се тај проблем не реши, професионална етика ће остати фрагментирана и контрадикторна (3).

Ветеринарска медицина је јединствена по томе што има близанца у медицини и пољопривреди. Као грана медицине има етичку основу која представља пацијента, а као грана пољопривреде има економску намену и представља клијента. Овај дуализам неминовно доводи до неразумевања оних изван професије и сукоба интереса у оквиру саме професије.

Као пример, наводи се уобичајени сценарио из свакодневне праксе ветеринара.

Власник тражи од ветеринара да лиши живота физички здравог пса, због проблема у понашању, на његов изричити захтев. Можда власник нема

стрпљења да реши проблем понашања пса, или се можда сели и не може да пронађе нови стамбени простор, који је прихватљив за животињу. С друге стране, ветеринар има потребу да задовољи власника, а ако штити интерес животиње, ризикује да га изгуби. Ветеринар је неминовно у конфликту. Разлози због којих ветеринари пристају на лишавање живота могу да буду следећи:

- власник има непобитно право да диктира шта да ради са његовом својином;

- ветеринар је дужан да прати упутства клијента;

- најбољи начин за решавање непријатности јесте да се она елиминише, а не да се решава проблем и да се спречава његово понављање.

Очигледно је да у овом случају постоје и друга решења, осим лишавања живота. Власник може да се научи како да исправи понашање животиње. Помоћ може да се обезбеди и усвајањем животиње. У сваком случају, не постоји исправан или погрешан начин код овог поједностављеног сценарија. Пример је представљен само да стимулише разматрање све присутнијих проблематичних етичких дилема са којима се суочавају ветеринари.

Ево још неколико примера:

- Власник захтева да се болесна животиња одржи у животу, иако је еутаназија хуманија. Да ли ветеринар треба да испоштује власника?

- Власник захтева естетску интервенцију на псу која укључује известан ризик и која није дозвољена по закону. Да ли операција треба да буде изведена?

- Власник је добронамеран «колектор» са неколико стотина мачака, који троши огромне количине новца на ветеринарске услуге, али очигледно не може да обезбеди идеално окружење за толико животиња. Да ли ветеринар треба да саветује власника да није у стању да се брине о толиком броју кућних љубимаца? Да ли треба да се предложи интервенција социјалних и здравствених радника?

-Током прегледа пса, ветеринар је установио доказе који сугеришу, не на случајну трауму, него на највероватније учешће у илегалним борбама паса. Да ли ветеринар треба о томе да обавести органе власти?

На сва ова питања нема правих или погрешних одговора. Сваки ветеринар ће морати да се руководи по својој савести, уз поштовање етичких принципа, правила професије и културних ограничења. Али изазов за професију је да се клијентели и широј јавности, посебно у урбаним подручјима, ветеринари представе не као сервис професије у пољопривреди, већ као благонаклони старатељи и учесници у систему здравствене заштите у заједници (4).

У ветеринарској медицини основни принцип би био примарна обавеза да се штите интереси животиња, како би се осигурало њихово ослобађање од патње. Ветеринари прво треба да размотре добробит пацијента, и да због користи за пацијента треба да превазиђу личне користи или зараду на терапији. Ми такође сносимо обавезу да обезбедимо све могуће мере предострожности да би се смањила патња тих животиња. У време глобалног друштва постоји све више забринутости за добробит животиња и очување животне средине и све

већи број клијената ће активно тражити оне ветеринари који поступају са више етике оријентисане према животињама.

Пошто пацијенти не могу да говоре за себе, њихове интересе заиста и треба да заступа образовани и брижни професионалац, а не активисти које покреће емоција или власници опредељени искључиво економским мотивом. Професионални изазови са којима се суочавају ветеринари су још сложенији, нарочито ако се узме у обзир и све већа свест шире јавности која се односи на добробит животиња. У оваквој ситуацији, морална интуиција, која је незаменљива, није довољна да реши ове комплексне проблеме. Сагласност о етичким аспектима најчешћих дилема би требало да доведе до усвајања колективне политике, која онда може да буде легално формализована, када се за то јави потреба. Само акутна свест о етичким дилемама и способност да се критички размишља, може да помогне у доношењу одговарајућих одлука и проналажењу прихватљивих компромиса (5).

«Други изазов»

Ветеринари и лекари поседују нешто што психолози у свим људским културама називају «Ескулапов ауторитет», ауторитет који се добија способношћу неког да лечи. Лекари су тај ауторитет врло паметно искористили. У хуманој медицини лекари су ти који одлучују шта спада под болесно, а шта не, а то им је омогућено на основу страхопоштовања које им њихови пацијенти указују, Ескулаповог ауторитета, чињенице да су медицински рачуни углавном покривени здравственим осигурањем, као и чињенице да се човеково здравље вреднује више од новца. Ово није случај код ветеринара. Они углавном немају изграђен Ескулапов ауторитет и често се дешава да се људи који никада не би довели у питање ауторитет лекара, са ветеринаром препиру око сваке ситнице. Такође, рачуни за негу животиња нису покривени здравственим осигурањем, нити људи животиње стављају изнад вредности новца, већ им напротив одређују новчану вредност, која често не прелази њихову тржишну вредност, наравно са изузецима у одређеним сегментима власничке популације. Додатно, људи животињу доводе код ветеринара када они сами процене да нешто није у реду. На крају, проценат популације који користи ветеринарске услуге је далеко мањи од процента који користи лекарске услуге. Као резултат свега овога ветеринари су доведени у позицију где не могу одређено стање да прогласе за болесно и да очекују од власника да ће прихватити лечење таквог једног стања. У ветеринарској медицини власници су ти који одређују шта је болесно и шта треба лечити. Ове одлуке нису научно поткрепљене већ се изводе на основу економске рачунице.

У нашем друштву ветеринари немају Ескулапов ауторитет, међутим то није само наша кривица или недостатак кредибилитета, већ чињеница да објекат наше делатности - животиња, нема цену већу од тржишне. Животињин живот је јефтин и није случајно што у очима закона животиња представља приватну

својину. Наравно, постоје и власници који свог љубимца сматрају чланом породице када ветеринар има сву слободу да износи своја научно поткрепљена мишљења. Ипак, и у оваквим ситуацијама, финалну одлуку доноси власник, када се ветеринар може сусрести и са новим обрнутим проблемом, нпр. тврдња власника да му је животиња болесна, чак и ако се докаже супротно. У хуманој медицини такав пацијент би био упућен на психијатријско одељење. У ветеринарској медицини ветеринар мора да донесе одлуку да ли да изгуби пацијента, да ли да услужи захтеву власника, или, што се најчешће и дешава, да услужи власниково ментално стање професионално, тј. да лечи самог власника. На тај начин, ветеринари врло често служе као психијатри.

Из тих разлога, ветеринарска едукација треба да буде више фокусирана на односе са људима, него хумана медицина, јер у ветерини власници су ти који доносе крајњу одлуку. Како морални статус и морална вредност животиња буде расли, рашће и вредност људима који их лече и тако ће се створити прилика да ветеринарска медицина напредује (6).

Да ли су ветеринари колеге или супарници?

Још један изазов, који доводи до срозавања угледа целој професији, односи се на све присутнију агресивну конкуренцију међу ветеринарима.

Наиме, многи ветеринари су забринути по питању позитивног економског биланса њиховог пословања. Чињеница је да ветеринари углавном немају ни приближно адекватну финансијску надокнаду у поређењу са другим професијама сличне важности, потребног нивоа образовања и континуиране едукације. Забринутост ветеринара у вези са њиховом способношћу да остваре адекватне приходе допринела је проналажењу нових начина за стварањем додатног профита, нпр. у виду продаје непрофесионалних производа, али је покренула и питање како ветеринари практичари могу да коегзистирају са колегама на тржишту. Питање уважавања надметања и односа између доктора ветеринарске медицине може очекивано да нарасте по броју и интензитету у зависности од повећања економског притиска. Са сигурношћу може да се тврди да је питање етике најнезгодније за ветеринаре који су конкуренција једни другима. Да ли је дозвољено рећи клијенту да је други ветеринар погрешио? Да ли је етички критиковати другог ветеринара? Да ли се ветеринари могу повезати и удружити своје снаге да унапреде ветеринарску струку, чак и у условима ако буду наговарани од стране других ветеринара да буду још агресивнији према конкуренцији? Укратко, да ли ветеринари треба једни друге да сматрају колегама или супарницима?

Какве год да су користи од равноправне и фер конкуренције када је у питању роба широке потрошње, питање је да ли конкуренција у класичном смислу служи интересима клијената, животиња и ветеринара. Чињеница је да конкуренција често доводи до побољшања у квалитету, цени и доступности робе широке потрошње. Насупрот овоме, због специфичности професије,

постоје посебне чињенице које се односе на пружање ветеринарских услуга, које покрећу питања о сналажљивости агресивних, изузетно активних конкурената међу ветеринарима.

Постоје два основна разлога због којих није у интересу клијената и пацијената да ветеринари практичари активно учествују у беспоштедној борби за клијенте (3).

Прво, ако се ветеринар такмичи са колегама за клијенте, он мора да убеди потенцијалне клијенте да је из неког разлога за њих предност ако дођу код њега. Конкуренција често наводи такмичаре да дају непријатне изјаве о својим конкурентима. То значи да конкуренција углавном захтева тежњу за освајањем клијената других ветеринара. То је углавном тешко урадити, а да при том не говорите људима које желите за своје клијенте да њихов садашњи ветеринар неоправдава њихово поверење. Једна од опасности критиковања колега је то што на тај начин може да дође до срозавања угледа, и то не само личног, већ професије у целини. С друге стране, конкуренција је углавном најчешћи разлог зашто се велики број ветеринара труди да пружи врхунске услуге. Тако на пример, неки ветеринари поседују специјалну опрему или ангажују специјалисте за пружање услуга које други ветеринари практичари не пружају. Неки се труде да буду погоднији у смислу локације, код неких време операције траје краће, некима су цене услуга ниже, а неки ће имати ветеринаре који се боље сналазе са специфичним власницима и животињама. Како било, клијентима је на услузи велики број ветеринарских субјеката, са широком понудом услуга. Дакле, да би убедили власнике да напусте своје тренутне ветеринаре и пређу код њих, неки ветеринари ће морати да преваре или обману људе, све у циљу остављања доброг утиска.

Други, главни разлог разбуктале конкуренције међу ветеринарима, који неће донети добро, ни клијентима, ни животињама, ни професији, је погрешно тумачење природе тржишта ветеринарских услуга. Анализом статистичких података стиче се утисак да недовољан број људи доводи своје животиње ветеринару. Наиме, многе животиње не добијају никакву ветеринарску негу, а доста животиња, које су некада и биле код ветеринара, би требало доводити чешће. Ови подаци су још драстичнији када су у питању мачке и птице, поготово што је данас све већи број мачака, и што је проценат власника птица који траже ветеринарске услуге, изузетно мали. С тим у вези, свакако да конкуренција неће повећати број људи који доводе животиње, нити ће убедити људе који већ доводе своје љубимце, да то раде чешће. Пре ће се десити то да таква конкуренција, као борба ветеринара за исти посао, просто преусмери клијенте на следећег ветеринара, па на следећег и тако редом. Ветеринарима би дакле боље било да промовишу позитивне стране пружања ветеринарских услуга оним људима који још увек немају сталног ветеринара, него да се такмиче за сталне клијенте других ветеринара. Тада би се суочили са критичном чињеницом да треба да убеђују људе да омогуће својим животињама

најбољу могућу негу. Свакако да би се могло расправљати на тему да ли конкуренција у правом смислу може неком да помогне у неком моменту, али тек у ситуацији када би тржиште ветеринарских услуга било довољно велико и стално. Надметање међу произвођачима телевизора или компјутера на пример, погодује потрошачима, зато што је потражња за том робом увек присутна. Овде конкуренција дакле функционише тако што одржава квалитет на високом нивоу, са истовремено нижом ценом за оне који потражују те производе. Таква ситуација сталне потражње која стимулише конкуренцију да буде у функцији добробити купаца и корисника услуга, вероватно никада неће бити одлика тржишта ветеринарских услуга. Ветеринари ће увек имати проблем са убеђивањем власника који им доводе животиње, да то уопште треба да раде. То је тако зато што су пацијенти ветеринара - животиње, које не могу да одлучују. Мада постоји пуно људи који веома воде рачуна о својим животињама, ипак има и оних који немају пуно обзира према њима. Сигурно је да здравствена заштита животиња у многим домаћинствима неће имати исту важност као здравствена заштита људи, нити ће бити у предности у односу на велики број немедицинских трошкова људи. Власници су спремни да потроше углавном само миноран и неопходан део свог прихода на здравствену заштиту својих животиња. Из тих разлога ветеринарима је велики проблем да убеде довољно људи да користе њихове услуге, а када почну да их користе, да то чине довољно често. Ово убеђивање је од важности и за ветеринаре и за животиње, управо зато што оскудни ресурси којима располаже наша професија не би требало да се разбацују на исрпљујуће такмичарске односе и борбе за исте клијенте, када ове борбе засигурно не увећавају број потенцијалних клијената, већ напротив, имају тенденцију да створе лош имиџ обема конкурентним странама, и да баце лоше светло на професију у целини.

Закључак

Чињеница је да су ветеринари, као професионалци, лоше припремљени да се суоче са етичким изазовима, који могу да буду непријатно забрињавајући. Као прво, ветеринари могу да буду често фрустрирани филозофским питањима. Као пословни људи, они су свесни да је економска исплативост одлука заснованих искључиво на питању морала мала. Као студенти, ветеринари углавном нису имали формалну обуку у решавању ветеринарско-етичких дилема, а буквално су и у несташици рационалне дискусије о етици. Као медицински радници, ветеринари имају јединствене изазове, са свега неколико упоредних аналога у хуманој медицини. А практично је немогуће избећи етичке изазове и дилеме у ветеринарској медицини.

Истовремено, све више постаје императив да ветеринари морају не само да примењују етичке принципе у својој пракси, већ и да преузму лидерску улогу и да поставе високе моралне позиције. Ово посебно из разлога што људи изван професије све више заступају став да ветеринари често имају неетичке

поступке. Зато ветеринари морају све више и више да проналазе решења у етичким аргументима, а потребно је и да континуирано повећавају своје техничко знање и вештине. Ово је нарочито важно из разлога што је битно да ветеринарима и даље буду препуштене релевантне етичке одлуке, јер једино ми можемо да разумемо етичке дилеме које из наших поступака настају. Ако се сами не бринемо о нашој професији, друштво ће то урадити за нас - законима и прописима. Другим речима, контрола ће бити одузета ветеринарима и дата у руке закону, које углавном не пишу ветеринари, него особе које не разумеју ветерину, и који би највероватније ограничио и смањио аутономију ветеринара.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Rollin BE, 2006, Veterinary medical ethics, second edition, Blackwell publishing, 3-101. 2. Karel Turza, 2007, Medicina i društvo - Uvod u medicinsku etiku*, "Libri medicorum*", Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd. 3. Tannenbaum J, 1995, Veterinary ethics, second edition, Mosby Year Book. 4. Phil Arkow, 1998, Application of ethics to animal welfare, Applied Animal Behaviour Science, 59(1):193-200. 5. Fentener van Vlissingen, Martje, 2001, Professional ethics in veterinary science - considering the consequences as a tool for problem solving Veterinary Sciences Tomorrow, volume 1, Igitur. 6. Rollin BE, 1990, Veterinary and animal ethics. In: Law and ethics of the veterinary profession. Ed. J.F. Wilson. Priority Press Ltd, Yardley, PA, USA.

Пленарни радови

---

2. ЗАСЕДАЊЕ

1. ЗНАЧАЈ АДИТИВА У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА

2. ПРИМЕНА БИОТЕХНОЛОГИЈЕ У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА

3. УПОТРЕБА ФИТОБИОТИКА У СТИМУЛАЦИЈИ РАСТА ОДБИЈЕНЕ ПРАСАДИ

УПОТРЕБА АДИТИВА У ХРАНИ ЗА ЖИВОТИЊЕ С ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА КОКЦИДИОСТАТИКЕ

Бреда Јаковац-Страјн[1], Драган Милићевић[2], Марјана Мохорко[3]

[1]Ветеринарски факултет, Универзитет у Љубљани, Словенија; [2]Институт за хигијену и технологију меса, Београд; [3]Агенција за безбедност хране, ветеринарство и заштиту биља Републике Словеније

Кратак садржај

Адитиви обухватају разноврсне материје које додате храни за животиње у малим количинама имају за циљ да повећају укупну хранљиву вредност хране, да постигну њено боље искоришћавање, односно да се у крајњем циљу повећа производња и побољша квалитет хране анималног порекла, уз очување здравља животиња. Адитиви се не могу ставити у производњу, промет или употребу без претходне ауторизације (категорија и функционална група) којом се на научно заснованим принципима гарантује да адитиви немају штетни ефекат на здравље људи и/или животиња или животну средину.

Употреба кокцидиостатика у храни за животиње је регулисана законским прописима који се доста разликују у зависности од земље. У овом раду приказан је преглед законске регулативе која се односи на употребу кокцидиостатика у земљама ЕУ.

За разлику од других земаља у којима се кокцидиостатици третирају као ветеринарски лекови за употребу у профилактичке сврхе, у земљама ЕУ кокцидиостатици се третирају као адитиви храни за животиње и не подлежу регистрацији Европске агенције за лекове. Наиме, кокцидиостатици су сврстани у специфичну групу адитива као „кокцидиостатици и хистомоностатици“.

THE USE OF ADDITIVES, WITH AN EMPHASIS ON COCCIDIOSTATS IN ANIMAL NUTRITION

Breda Jakovac-Strajn[1], Dragan Milićević[2], Marjana Mohorko[3]

[1]Veterinary Faculty, University of Ljubljana, Slovenia; [2]Institute for meat hygiene and technology, Belgrade; [3]Administration for food safety, veterinary sector and plant protection, Slovenia

Abstract

Feed additives are products used in animal nutrition for purposes of improving the quality of feed and/or the quality of food from animal origin, and/or to improve the animals' performance and health, e.g. providing enhanced digestibility of the feed materials. Feed additives may not be put on the market unless authorisation has been given following a scientific evaluation demonstrating that the additive has no harmful effects, on human and animal health and on the environment.

Products as coccidiostats have in the different countries of the world a different legislative status. This paper presents an overview of coccidiostats in EU legislation.

Unlike in certain other countries (outside the European Union), products as coccidiostats have in the EU legislation been excluded from the scope of legislation governing the veterinary medicinal products. Namely, coccidiostats have been classified into a specific group (category) of feed additives, called "coccidiostats and histomonostats".

INTRODUCTION

Intensive stock-farming demanded expansive use of veterinary drugs for therapeutic as well as preventing purposes in the last decade. In the case of therapeutic use, medications are applied most often to cure digestion tract and respiratory system diseases with poultry, pigs and calves as well as mastitis with cows. In the case of prophylactic use, they are applied for prevention of animals from stress caused by changed nutrition, weaning, transport, and other, for animals, not usual situations. In spite of the fact that in last years big attention was paid to new technologies of stock-farming and improvement of stable conditions, intensive stock-farming is still dependent on the application of drugs. The reason is that medication additives influence economy of animal production. However, long-term use of drugs is hazardous in respect to ecology and animal and human health. It demands thorough knowledge on their bioaccumulation, chronic toxicity and interactions of their residues in food of animal origin. Since there is more and more clear that it is impossible to offer good quality food of animal origin with reasonable price without collaboration of farmers, slaughter and meat industry, examination on drug residues is not important only in the final food products, but also in feeds and living animals. Actually, the whole production chain from feed to the final product must be controlled in order to protect animal and indirectly human health.

The use of many antibiotics, coccidiostats and antibacterial growth promoters as feed additives has been prohibited in Europe since 2006 by Commission Recommendation 2005/925/EC. This recommendation lists medicinal substances that should be monitored and the substances are divided into two groups; medicinal substances authorised as feed additives for certain animal species or categories and medicinal substances no longer authorised as feed additives. Following this ban of antibiotics such as tylosin, virginiamycin and spiramycin as feed additives no antibiotics other than coccidiostats and histomonostats can be marketed and used as feed additives within the European Union. These coccidiostats are halofuginone (1).

COCCIDIOSTATS AS FEED ADDITIVES

In EU and worldwide among drugs used as additives in feedingstuffs, coccidiostats are most frequently used. The ionophores salinomycin, narasin, monensin, lasalocid, maduramicin and semduramicin and the chemical coccidiostats robenidine, decoquinate, halofuginone, nicarbazin and diclazuril are licensed in the EU as zootechnical feed additives under Regulation 1831/2003/EC. Evaluation of feed additives by the European Food Safety Authority (EFSA), regarding consumer safety, may require the establishment of maximum residue levels (MRLs) and subsequent regulatory control may be required as part of this scientific evaluation. The coccidiostats amprolium, decoquinate, diclazuril, halofuginone, lasalocid, monensin A and toltrazuril are also licensed as veterinary drugs and have had MRLs established under Regulation (EC) No. 470/2009.

Coccidiostats (robenidine, nicarbazin, diclazuril, decoquinate, semduramicin, lasalocid, monensin, salinomycin, narasin, maduramicin) constitute the main choice to fight against coccidiosis. Coccidiosis is a parasitic disease of the intestinal tract caused by unicellular organisms. The disease is highly contagious and spreads from one animal to another by contact with infected faeces. Coccidiosis is a major disease in poultry as well as

in many other hosts. During the production of feed containing coccidiostats as feed additives, unavoidable carry-over of the coccidiostats from target to non target feed occur from the use of the same production lines. This may lead to high concentrations of coccidiostats in non-target feed; which could harm certain species and also accumulation of coccidiostats may be a risk to human health (1).

The polyether ionophores lasalocid, monensin, salinomycin, narasin, maduramicin, and semduramicin are widely used feed additives in the poultry industry to prevent and control coccidiosis caused by the genus *Eimeria*. They are added to feeds as their sodium salts at levels of 75-125 mg/kg (lasalocid), 60-125 mg/kg (monensin), 20-70 mg/kg (salinomycin), 60-70 mg/kg (narasin), 5 mg/kg (maduramicin), and 20-25 mg/kg (semduramicin). Broiler chickens receive coccidiostats via feed during their entire lifespan, whereas for egg-laying birds the use of coccidiostats is forbidden (1).

Due to the extensive use of coccidiostats, the safety of these compounds has been tested in many animal experiments (in both target and nontarget animal species). Although monensin, salinomycin, narasin, and maduramicin are forbidden for laying hens, these compounds were not found to have significant effects, for instance, on egg production or shell thickness when used at the permitted levels. The safe dose levels of coccidiostats for cattle have been noted

to be lower than the feeding levels for poultry, for example, monensin 30-45 mg/kg, lasalocid 10-35 mg/kg, and narasin 25 mg/kg. Although maduramicin 0-10 mg/kg and semduramicin 0-25 mg/kg were reported to have no effects on horses, in a feeding trial on horses with narasin at the level of 80 mg/kg, some reduction in feed intake was observed. Coccidiostats are not used in human medicine because of their cardiovascular effects, and indeed lasalocid (<1.0 μM) has been found to cause contraction of the human heart in test systems. However, the residues of coccidiostats in food have not induced any short-term clinical symptoms in humans (2).

A withdrawal period of 5 days is required for lasalocid, salinomycin, narasin, maduramicin, and semduramicin, and 3 days for monensin in order to avoid coccidiostat residues in edible tissues, although there is no risk to consumers' health from ingestion of coccidiostats residues in tissues of animals exposed to feed cross-contaminated up to a level of 10% (e.g., 4-6). Lasalocid, monensin, and salinomycin are used for laying birds up to the age of 12-16 weeks, depending on the additive. None of the coccidiostats are licensed for the use in egg-laying birds and therefore eggs should be free from coccidiostats contamination. Nonetheless, residues of polyether ionophores have been detected in European eggs at levels from 0.3 to <40 μg/kg. In addition, traces of polyether ionophores have found in different European poultry tissues at levels of 0.04-4.2 μg/kg. However, in most samples the concentrations of these compounds have been below the limits of quantification (1).

As we mentioned before, with the use of coccidiostats in feedingstuffs, care must be taken regarding recommended levels and contraindications with non-target animals to avoid serious health problems of animals, which can be caused by a misuse of particular drugs. Moreover, care must be taken to avoid residues of drugs in food of animal origin (3,4,5). Due to confusion with drugs during preparation of particular feedingstuffs and cross-contamination (carry-over) between different batches of feedingstuffs in feed mills it can happen that drugs or their residues are present in feedingstuffs for non-target animals. The outcome can be serious health problems of non-target animals and on the other hand health risk for people, who consume food derived from these animal (6,7).

Products as coccidiostats have in the different countries of the world a different legislative status. Unlike in certain other countries (outside the European Union), products as coccidiostats have in the EU legislation been excluded from the scope of legislation governing the veterinary medicinal products. Namely, coccidiostats have been classified into a specific group (category) of feed additives, called "coccidiostats and histomonostats".

It needs to be pointed out, that to date no product as feed additive has been granted the marketing authorisation as a histomonostat.

Feed additives are products used in animal nutrition for the purposes of quality improvement of animal feed and/or food of animal origin, and/or improving animal production characteristics. Such products include the microorganisms or preparations with one or several functions that are normally attributed to feed additives (according to Article 2(2)(a) of Regulation 1831/2003/EC), and as such, they are not intended for the direct feeding to animals.

The basic legislative act governing the placing on the market and use of feed additives in the European Union is the Regulation 1831/2003/EC. Its provisions are directly applicable in all the EU Member States. The fundamental principle of Regulation 1831/2003/EC is that only feed additives which have been granted the marketing authorisation shall be placed on the market within the EU, or processed and used in animal feeding (in compliance with that particular marketing authorisation).

Within the authorisation procedure, feed additives are required to pass the auditing procedure where, inter alia, the safety and efficacy of each particular feed additive is evaluated and verified in the light of its target use. Within the authorisation procedure, the roles of the European Commission, EFSA, CRL (Commission Reference Laboratory) for feed additives, and of the Member States, are well defined.

Marketing authorisations granted to coccidiostats as feed additives are limited in time and they are linked to the holder of authorisation only. Each particular authorisation granted to a particular coccidiostat specifies, inter alia, the category into which that particular feed additive has been classified, the identification number of the product, the conditions and restrictions of its use are defined, as for instance, the maximum and the minimum content of the active substance in compound feeds, the use of product in feed intended for the particular target species or categories of animals, the additional requirements concerning the identification, definition of the maximum residue limits (MRLs) in foodstuffs of animal origin, the withdrawal period, the methods of analysis, and similar.

In order to improve the overview of feed additives, and thereby, to improve the legal safety, the EU register of Feed Additives was set up in compliance with Regulation 1831/2003/EC, which is constantly amended and supplemented. The Register is devoid of legal value and it serves as a tool only for the rapid access to and review of feed additives which have been granted the marketing authorisation for placing on the market and use within the EU.

The Register is kept by the European Commission, and it is accessible in the English version only. On 11 July 2014, the 191st version of the Register was published, including 27 products which have been granted the marketing authorisation as feed additives with coccidiostatic effect, for use in animal feed intended for certain target species and categories of animals. Each product as coccidiostat was granted a particular authorisation that was linked to the authorisation holder only.

There were only little data regarding the cross-contamination and the concentration of coccidiostats published in the last decade. It was reported by EFSA (8,9,10), that within the survey of 254 feed samples on lasalocid, salinomycin, monensin, semduramicin, maduramicin, robenidine, halofuginone, and diclazuril in Czech republic in the year 2006, in only two samples for pigs the residues of coccidiostats were found. One of them contained 8.41 mg/kg of lasalocid (LOD of the analytical method was 5 mg/kg) and the other one 0.5 mg/kg of monensin (LOQ was 0.2 mg/kg). In Denmark, 111 feed samples were inspected on the cross-contamination with coccidiostats between 2004 and 2007. Most often, in 13 samples, salinomycin was found (at levels between 0.07 mg/kg and 2.95 mg/kg). Two samples contained monensin (0.034 mg/kg and 2.46 mg/kg) and one sample contained lasalocid at the level of 0.26 mg/kg. As reported by EFSA, there is a relatively little incidence of residues of coccidiostats in feed registered in the Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). In the period from April 2002 to April 2006, eight cases of cross-contamination with lasalocid at the

levels between 0.003 and 12.07 mg/kg, three cases of cross-contamination with salinomycin (1.0 mg/kg, 1.9 mg/kg, and 6.1 mg/kg), and two cases of cross-contamination with monensin (3.19 mg/kg and 11.4 mg/kg) were registered. There were also a feed for non-target animal species containing 64.6 mg/kg of lasalocid, two complete feedingstuffs for turkeys containing 79 mg/kg and 135 mg/kg of salinomycin, and two mineral feedingstuffs for dairy cows containing 722 and 830 mg/kg of salinomycin registered. These high levels could not be caused by cross-contamination, but were most likely caused by accidental contamination.

It is being investigated intensively worldwide which amounts of coccidiostats and other drugs residues in food of animal origin are still acceptable, because it was realised that food without any least amount of residues is not possible to be produced. The European Commission has established official maximum contents of polyether ionophores in feed (lasalocid 1.25 mg/kg; narasin 0.7 mg/kg; salinomycin 0.7 mg/kg; monensin 1.25 mg/kg; semduramicin 0.25 mg/kg; maduramicin 0.05 mg/kg) (Regulation 124/2009/EC). Moreover, EU legislation on undesirable substances in animal feed setting maximum levels of unavoidable carry-over of coccidiostats or histomonostats in non-target feed (Directive 2009/8/EC) was issued. It assists the control on the presence of coccidiostats in feedingstuffs, premixtures and concentrates based on Regulation 1831/2003/EC (European Parliament and the Council, 2003) and Regulation 882/2004/EC (European Parliament and the Council, 2004).

Manufacturers of premixes and compound feeds, using in the production process the coccidiostats, shall dedicate specific attention to measures for the prevention and/or minimisation of risks of cross-contamination of animal feed intended for the non-target species. Within the business's own internal HACCP System developed within the establishment, the systems and procedures shall be developed which shall guarantee the safety of feed products finally delivered to end users.

The unavoidable cross-contamination and transfer of residues from one production batch to another may occur during the production process of animal feed containing coccidiostats. Such unavoidable transfer may occur also in the case of animal feed, where the coccidiostat contained therein has not been granted authorisation for use in animal feed.

Taking into account the good manufacturing practices, the EU legislation (Section VII of Annex I to Directive 32/2002/EC) lays down the maximum admissible levels for the content of (the authorised) active substances of coccidiostats in animal feed intended for the non-target animal species, taking into account the ALARA (as low as reasonably attainable) principle. For the less susceptible species, a 3% unavoidable cross-contamination has been defined, and for the more susceptible target species and for the "in-withdrawal period feed", the 1% unavoidable cross-contamination has been defined.

In Serbia, the type and amount of coccidiostats which is added to animal feed prescribed by the Regulation on feed quality (OJ of RS, No. 113/12 and 27/14) (11) and which is an integral part of the "List of permitted additives in animal feed". Coccidiostats outside of the list should be approved by Medicines and Medical Devices Agency of Serbia (ALIMS). Therefore, national marketing authorizations for medicinal products, including coccidiostats are issued in Serbia. Although Serbia is not yet a member of the EU, when marketing medicinal products, there is a possibility of recognizing and accepting expert oppinions and performed clinical trials, in line with the Declaration of Helsinki, as well as the study on bioequivalence and bioavailability, with the applications processed in accordance with the internationally reckognized standards, and with medicinal products that have already been marketed.

To conclude it has to be mentioned, that the veterinary pharmaceuticals and their metabolites can pose a serious threat to the environment. Substances are excreted in the active form mostly with the excreta of treated animals. This waste matter can be used as manure for fertilising agricultural land. Thereby the active substances and their degradation products can come in direct contact with nontarget soil organisms and with leaching can also reach aquifers.

Research so far (12) has indicated that coccidiostats could pose a potential threat to terrestrial and aquatic ecosystems, but there are still considerable gaps in our knowledge. Especially in groundwater their concentrations, degradation rates and possible effects are unknown.

LITERATURA:

1. Cronly M, Behan P, Foley B, Malone E, Shearan P, Regan L, 2011, Determination of eleven coccidiostats in animal feed by liquid chromatography tandem mass spectrometry at cross contamination levels, Anal. Chim. Acta 700, 26-33. 2. Rokka M, Jestoi M, Peltonen K, 2013, Trace Level Determination of Polyether Ionophores in Feed. BioMed Res. Article ID 151363, http://dx.doi.org/10.1155/2013/151363. 3. Kennedy DG, Blanchflower WJ, Huhges PJ, McCaughey WJ, 1996, The incidence and cause of lasalocid residues in eggs in Nothern Ireland. Food Addit. Contam. 7, 787-94. 4. Kennedy DG, Cannavan A, McCracken RJ, 2000, Regulatory problems caused by contamination, a frequently overlooked cause of veterinary drug residues. J. Chromatogr. A 882, 37-52. 5. Noser J, Wenk P, Sutter A, Schneider, P, 2006, Kokzidiostatika in Eiern, Geflügelfleisch und Futtermitteln: Eine Stichproben-Kontrolle über den nordwestschweizer Markt. Mitt. Lebensm. Hyg. 97, 107-20. 6. Strauch W, 2003, Is contamination-free feed production realistic? Feed Tech 7 (7), 23-5. 7. McEvoy JDG, 2002, Contamintion of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a reviev of regulatory aspects, incidence and control. Anal. Chim. Acta 473, 3-26. 8. European Food Safety Authority (EFSA), 2007, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by lasalocid authorised for use as a feed additive. EFSA J. 553, 1-46. 9. European Food Safety Authority (EFSA), 2008a, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by salinomycin authorised for use as a feed additive, EFSA J. 591, 1-38. 10. European Food Safety Authority (EFSA), 2008b, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by monensin authorised for use as a feed additive. EFSA J. 592, 1-40. 11. Pravilnik o izmeni Pravilnika o kvalitetu hrane za životinje (Sl. glasnik RS, 27/14). 12. Žižek S i sar., 2011, Does menensin in chicken manure from poultry farms pose a threat to soil vertebrates? Chemosphere 4, 517-23.

EU regulatives:

- Regulation 1831/2003/EC of the European Parliament and Council on additives for use in animal nutrition (OJ L 268, 18.10.2003), and amendments
- Regulation 882/200/EC of the European Parliament and of the Council of official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules (OJ L 165, 30.4.2004), and amendments
- Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed (OJ L 140, 30.5.2002) and amendments
- EU register of feed additives: http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives_en.htm
- Regulation 124/2009/EC setting maximum levels for the presence of coccidiostats or histomonostats in food resulting from the unavoidable carry-over of these substances in non-target feed. Off. J. Eur. Communities L 40, 7-11.
- Directive 2009/8/EC amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels of unavoidable carry-over of coccidiostats or histomonostats in non-target feed. Off. J. Eur. Communities L 40, 19-25.

ПРИМЕНА БИОТЕХНОЛОГИЈЕ У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА[1]

Драган Шефер, Светлана Грдовић, Радмила Марковић, Јелена Недељковић-Траиловић, Бранко Петрујкић, Стамен Радуловић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Храна за животиње треба истовремено да обједини више циљева тј. треба да обезбеди добро здравље животиња, добре производне и репродуктивне перформансе, смањи загађивање човекове околине али и да утиче на намирнице анималног порекла, да их поред основним хранљивим материјама, снабде и одређеним корисним материјама које могу да делују превентивно на појаву разних обољења људи у савременим условима живљења.

Овај комплексан задатак подразумева примену научних сазнања из области биотехнологије у област производње хране за животиње, а такође укључује и употребу специфичних хранива насталих као резултат најновијих достигнућа из појединих научних дисциплина, као што су молекуларна биологија и генетски инжењеринг. Као резултат истраживања у овим областима створени су варијетети житарица и легуминоза са побољшаним нутритивним својствима. Са друге стране, да би се добио безбедан производ, односно намирница анималног порекла, намеће се употреба супстанци природног порекла (као што су пробиотци, пребиотици, фитобиотици, ензими, хелати) које ће допринети бољој сварљивости и потпунијем искоришћавању одређених хранљивих материја из хранива. На тај начин се у значајној мери смањује део несварених материја и загађивање земљишта и атмосфере.

Коришћење специфичних додатака у исхрани животиња, а који су проистекли из биотехнолошких истраживања, је најчешће када се желе превазићи проблеми везани за одређени ниво производње или здравствено стање животиња. Ту се убраја група нехранидбених ингредијената која има за циљ да регулише микрофлору дигестивног тракта, pH, прираст, модификује процесе метаболизма и слично.

Кључне речи: биотехнологија, интензивно сточарство, исхрана

1 Рад ће у целости бити објављен у часопису „Ветеринарски гласник“

APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL NUTRITION

Dragan Šefer, Svetlana Grdović, Radmila Marković, Jelena Nedeljković-Trailović, Branko Petrujkić, Stamen Radulović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Food for the animals to simultaneously combine multiple objectives, ie. should provide good animal health, good production and reproductive performance, reduce pollution of the environment and influence the foods of animal origin, in addition to basic nutrients, supply and certain useful substances that can act preventively on the occurrence of various diseases in humans in modern living conditions. This complex task involves the application of scientific knowledge in the field of biotechnology in the production of animal feed, and also includes the use of specific nutrients incurred as a result of the latest developments in individual disciplines such as molecular biology and genetic engineering. As a result of research in these areas has created varieties of cereals and legumes with improved nutritional properties. On the other hand, in order to obtain a safe product, that is food of animal origin, there is the use of substances of natural origin (such as probiotci, prebiotics, phytobiotics, enzymes, chelating forms), which will lead to better digestibility and a more complete utilization of certain nutrients from nutrients. In this way, it significantly reduces the portion of undigested substances and pollution of soil and the atmosphere.

The use of specific additives in animal nutrition, and arising from biotechnology research, is usually when you want to overcome the problems associated with a certain level of production and health životinja. There is one group ingredients which aims to regulate the digestive tract microflora, pH, increase, modify metabolic processes and the like.

Keywords: biotechnology, intensive farming, nutrition

УПОТРЕБА ФИТОБИОТИКА У СТИМУЛАЦИЈИ РАСТА ОДБИЈЕНЕ ПРАСАДИ[1]

Стамен Радуловић[1], Радмила Марковић[1], Добрила Јакић Димић[2], Драган Шефер[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Научни институт за ветеринарство Србије, Београд

Кратак садржај

Фитогени додаци храни за животиње (фитобиотици) представљају једињења биљног порекла која се користе у исхрани животиња са циљем унапређења њихове продуктивности путем побољшања производних резултата животиња, својстава хране, као и квалитета намирница анималног порекла. Наведени додаци омогућавају стимулацију раста животиња коришћењем њихових природних физиолошких потенцијала и механизама обезбеђујући услове за остварење генетски пројектованог обима производње.

Подаци о употреби фитобиотика као стимулатора раста су непотпуни и често врло контрадикторни, а нарочито они који се односе на њихов утицај на здравствено стање и производне резултате у одгоју прасади. С обзиром на актуелност и значај наведене проблематике организован је оглед исхране по групно-контролном систему. Оглед је трајао 40 дана, а подељен је у две фазе од по 20 дана. Огледом је обухваћено 24 прасади, мелези шведског ландраса и пиетрена, одбијених од крмаче у старости од 35 дана. Испитивања су изведена на прасадима оба пола, просечне телесне масе 8,61±1,59 kg која су одмах након одбијања распоређена у један од два хранидбена третмана. Контролна група прасади храњена је смешом без стимулатора раста, док је огледна група добијала храну са додатком препарата фитобиотика (Enviva EO 101, Danisco Animal Nutrition) у количини препорученој од стране произвођача (0,1 kg/t). Смеше за исхрану прасади су биле формулисане у складу са препорукама NRC (1998), као и AEC (1993) и у потпуности су одговарале њиховим нутритивним захтевима.

Током огледа није дошло до поремећаја здравственог стања и/или испољавања клиничких знакова обољења. Контролна група прасади храњена смешама без додатог стимулатора раста постигла је телесну масу (25,32±6,31 kg), дневни прираст (0,42±0,12 kg), конзумацију (0,89 kg) и конверзију хране (2,119) уобичајену за дату расу, старост и услове држања. Коришћењем препарата фитобиотика као стимулатора раста постигнути су бољи производни резултати у односу на контролну групу, засновани на већој постигнутој телесној маси (27,19±4,77kg), већем оствареном просечном дневном приросту (0,46±0,09 kg) и бољој конверзији хране (2,043). Коришћење фитобиотика као алтернативне могућности у стимулацији раста прасади у одгоју има своје нутритивно, медицинско и економско оправдање.

Кључне речи: фитобиотици, прасад, стимулатори раста

THE USE OF PHYTOBIOTICS IN GROWTH STIMULATION OF WEANED PIGS

Stamen Radulović[1], Radmila Marković[1], Dobrila Jakić Dimić[2], Dragan Šefer[1]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Institute of veterinary medicine of Serbia, Belgrade

Abstract

Phytogene feed additives (phytobiotics) are plant origin compounds used in animal nutrition in order to improve their productivity by improving the production performance of animals, feed properties and the quality of food of animal origin. Theese additives enables the stimulation of growth of animals by using their natural and physiological potentials and mechanisms providing them conditions for the realization of the genetically projected production volumes.

Data on the use of phytobiotics as growth stimulators are incomplete and often very contradictory, especially those related to their impact on the health and performance of weaned pigs. Given the relevance and importance of these issues the feeding trial was organized by the group-control system. The experiment lasted 40 days and was divided into two phases of 20 days each. Trial was conducted on 24 piglets, F1 generation of Swedish Landrace and Pietrain, weaned from sows at the age of 35 days. Tests were carried out on piglets, with an average body weight of 8.61±1.59 kg, which were arranged immediately after the weaning in to the one of two feeding treatments. The control group was fed a mixture without growth promoters, while the experimental group received diet containing preparation of phytobiotic (Enviva EO 101, Danisco Animal Nutrition) in the amount recommended by the manufacturer (0.1 kg/t). Mixtures for piglets nutrition were formulated in accordance with the recommendations of the NRC (1998), and AEC (1993) and fully met their nutritional requirements.

During the experiment, there was no disturbance of health and/or the manifestation of clinical signs of disease. The control group, fed a diet without added growth stimulators, achieved a body weight (25.32±6.31 kg), averagy daily gain (0.42±0.12 kg), consumption (0.89 kg) and feed conversion (2.119) normal for a given race, age and housing conditions. The use of preparation of phytobiotic as growth promoter led to the better production results compared to the control group, based on the higher body weight (27.19±4.77 kg), a higher average daily gain (0.46±0.09 kg) and better feed conversion (2.043). The use of phytobiotic, as a alternative option in growth stimulation of weaned pigs, has its nutritive, medical and economic justification.

Key words: phytobiotics, pigs, growth promoters

Пленарни радови

---

3. ЗАСЕДАЊЕ

1. ХИТНЕ МЕРЕ У СЛУЧАЈУ ПОЈАВЉИВАЊА НАРОЧИТО КОНТАГИОЗНИХ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА - СЛИНАВКА И ШАП КАО МОДЕЛ

2. ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА – СТАЊЕ У ЕВРОПИ И ОКРУЖЕЊУ

3. УЛОГА ВОЈНЕ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У ВАНРЕДНИМ СИТУАЦИЈАМА ИЗАЗВАНИМ ПОЈАВЉИВАЊЕМ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕНА ЖИВОТИЊА КОЈЕ УГРОЖАВАЈУ ЦЕЛУ ЗЕМЉУ

4. Q ГРОЗНИЦА – АКТУЕЛНА ЗООНОЗА

5. ПАСИВНИ НАДЗОР ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ – АБОРТУСИ

6. ГРОЗНИЦА ЗАПАДНОГ НИЛА, ЗНАЧАЈНА ВИРУСНА ИНФЕКЦИЈА У СРБИЈИ – АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА

7. ЗНАЧАЈ ПАСА У ЕКО-ЕПИДЕМИОЛОГИЈИ ЛАЈМ БОРЕЛИЗЕ У РЕГИОНУ

8. ОСНОВНИ ЕПИЗООТИОЛОШКИ ПРИНЦИПИ АКТИВНОГ НАДЗОРА, КОНТРОЛЕ, СУЗБИЈАЊА И ЕРАДИКАЦИЈЕ ЗАРАЗНИХ БОЛЕСТИ ЖИВОТИЊА

9. АКТУЕЛНА ПРОБЛЕМАТИКА КАРАНТИНИРАЊА КАО ДЕЛА НЕСПЕЦИФИЧНЕ ПРОФИЛАКСЕ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА

10. КРОЈЦФЕЛД-ЈАКОБОВА БОЛЕСТ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈЕВА

ХИТНЕ МЕРЕ У СЛУЧАЈУ ПОЈАВЉИВАЊА НАРОЧИТО КОНТАГИОЗНИХ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА - СЛИНАВКА И ШАП КАО МОДЕЛ

Мирослав Валчић[1], Будимир Плавшић[2], Соња Радојичић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду, [2]Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине РС

Кратак садржај

Начини како ветеринари једне земље контролишу, сузбијају и искорењују нарочито опасне заразне болести животиња представљају параметре процене организације и спремности ветеринарске службе. Због својих епизоотиолошких карактеристика, често се као модел узима обољење - слинавка и шап. У протекле две деценије, подзаконска регулатива ветеринарске службе развијала се између осталог и у правцу дефинисања Кризних планова који су предвиђени за случај појављивања појединих инфективних обољења. Међутим, само постојање кризних планова не представља и гаранцију да ће мере које су прописане бити са успехом и спроведене. Наиме, један од основних елемената Кризног плана јесте предвиђање обуке институција и појединаца који треба да у случају, на пример појаве СиШ-а, преузму одговорност. Тренинзи у реалном простору и времену обављају се за потребе ветеринарских служби већег броја земаља и то на локацијама које су могуће као жаришта епизоотије. Овакве обуке су често организоване од стране међународних организација (FAO, OIE), комплексне су и обухватају неколико сегмената. Полазна основа јесте упознавање са епизоотиолошким карактеристикама самог обољења. У том сегменту обуке нагласак се ставља на практично познавање свих аспеката појављивања, ширења и сузбијања обољења. Следе основни принципи организације ветеринарске службе, као и учешће других делова државних система. Наиме, успех у борби против нарочито опасних заразних болести животиња великим делом зависи од сарадње ветеринарске службе са осталим сегментима извршне централне и локалне власти (финансије, одбрана, економија, екологија итд.). Практични рад на терену обухвата постављање „задатка“ на фарми при чему се бира она организација сточарске производње каква се најчешће среће у датом региону. У овом сегменту од кључног значаја је добро познавање упутства који је део Кризиног плана. У овом приручнику, описани су практични кораци који се односе на рад ветеринара као и сточара на фарми, рад и организација дијагностичке лабораторије, као и поступци ветеринарских инспектора и државних органа на фарми и током целе акције сузбијања и искорењивања Слинавке и шапа. Са бољим познавањем епизоотиолошких карактеристика слинавке и шапа, са изменама у технологијама производње у сточарству, као и са променама у организацији ветеринарске службе, мењају се и начини обуке ветеринара за случај појављивања слинавке и шапа.

***Захвалница**: Рад је финансиран средствима пројеката ТР 37015 и ТР 31088, Министарства науке и технолошког развоја Р. Србије*

URGENT PROCEDURES IN THE CASE OF AN OUTBREAK OF HIGHLY CONTAGIOUS INFECTIOUS DISEASES OF ANIMALS - FOOT AND MOUTH DISEASE AS A MODEL

Miroslav Valčić[1], Budimir Plavšić[2], Sonja Radojičić[1]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade, [2]Veterinary directorate, Minister of agriculture and environmental protection RS

Abstract

The procedures on how veterinarians react during outbreaks of highly contagious diseases of animals reflect the status and practical organization of the veterinary service. Due to its epizootical characteristics, Foot-and Mouth disease (FMD) is often used as a model. In the last two decades, veterinary legislation evolved in the direction of defining Contingency plans (Plan) in cases of epizootia, FMD in particular. However, the Contingency plans *per se* are not the only prerequisite and they do not guarantee that prescribed procedures will be successfully fulfilled. One of the basic elements of the Plan is training of the institutions and personnel who are responsible for the Plan realization. Training and education in real time and location are usually organized by international organizations (FAO, OIE) and not only for one country. Such trainings are complex and usually are divided into segments. The first segment deals with epizootiological characteristics of the disease: practical knowledge of occurrence, distribution, spread, control and eradication of the infectious disease. The next segment is about basic principles of the veterinary service, as well as organization of different state and private Institutions which are foreseen to combat the disease. That means that success usually is the result of the cooperation between different state and local services and institutions (finance, defense, economy, ecology etc). Practical work in the field encompasses the „problem“ that is to be solved. Usually, it is an infected farm that is in the region where the disease is expected to occur. In this phase, a good knowledge of the Manual, as a part of the Contingency plan, is of utmost importance. The manual gives practical step by step details of the duties of the farmer, farm veterinarian, work and organization of laboratories, as well as procedures for inspectors and other state Institutions. Evolution of the training programs and plans is a result of better knowledge of the FMD epizootiological characteristics, changes in animal technology and production, as well as changes in the veterinary service organization.

ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА - СТАЊЕ У ЕВРОПИ И ОКРУЖЕЊУ

Соња Радојичић[1], Милена Живојиновић[2], Мирослав Валчић[1], Соња Обреновић[1], Наташа Стевић[1], Даница Богуновић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]ВСИ Пожаревац

Кратак садржај

Афричка куга свиња је веома контагиозна егзотична болест свиња изазвана вирусом из фамилије *Asfarviridae*. Степен морбидитета је висок и обично износи 100% код прве појаве болести, док морталитет значајно варира и зависи од вируленције соја који је изазвао инфекцију и креће се од 0 до 100%. Узрочник је изузетно отпоран у спољашњој средини. Болест се ендемски јавља на територији Африке, а посебан значај у њеном одржавању имају крпељи, који су и биолошки вектори вируса. На територију Европе је уношена неколико пута (Шпанија, Португалија, Италија), а у неким деловима се јавља и данас (Сардинија). Током 2007. године болест је унешена на територију Грузије, а затим се раширила на делове Русије и Белорусије, Јерменије, Казахстана и других земља у окружењу. На ширење болести у Грузији је посебан значај имало одуство адекватне дијагностике и непрепознавање болести. Најновија појава афричке куге код дивљих свиња на територији Пољске и Литваније (прелиминарни извештаји од фебруара 2014. године) указује на потенцијал ширења и значај мониторинга, имајући у виду да специфична терапија и профилакса за ову болест не постоји. Сличност са класичном кугом свиња (ККС), као и програм искорењивања ове болести на територији наше земље који подразумева престанак вакцинације простив ККС, указује на нужност мониторинга обе болести, не само код домаћих, већ и код дивљих свиња. Чињеница да је искорењивање болести у Португалији и Шпанији трајало преко 30 година, висока контагиозност, постојање нисковирулентних сојева које је тешко дијагностиковати, и улога дивљих свиња у ширењу болести, указују на значај овог проблема. Сврха и резултат мониторинга је у директној вези са избором дијагностичких тестова који ће се користити, имајући у виду велике разлике у њиховој осетљивости и специфичности.

EPIZOOTIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF AFRICAN SWINE FEVER IN EUROPE AND THE SURROUNDING REGION

Sonja Radojičić[1], Milena Živojinović[2], Miroslav Valčić[1], Sonja Obrenović[1], Nataša Stević[1], Danica Bogunović[1]

[1] Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Veterinary specialist institute, Požarevac

Abstract

African swine fever is exceptionally contagious, exotic disease of pigs caused by virus from *Asfarviridae* family. When the first outbreak occurs, the morbidity rate is very high and usually amounts to 100%, whereas mortality rate extremely varies and depends on virulence of virus isolates and may range from 0 to 100%. African swine virus is extremely resistant in environmental conditions. The disease is endemic in African territory where ticks as biological vector of viruses play an important role in transmission and persistence of viruses. The disease was introduced several times on the territory of Europe (Spain, Portugal, Italy), and in feral pigs in Sardinia, Italy, where the disease is still endemic today. African swine fever was introduced in Georgia, 2007, then spread in Russia, Belorussia, Armenia, Azerbaijan and other countries in the region. Lack of adequate diagnostic procedures and not recognizing the disease, were important factors for spreading the disease in Georgia. Recent outbreaks of African swine fever in wild boars in Poland and Lithuania (preliminary reports from February 2014) show high potential of spreading the disease and significance of monitoring, since there are no specific therapy or vaccine. Similarity to classical swine fever as well as the implementation of The Eradication Program in Republic of Serbia, which means ending of vaccination, require systematic and active monitoring and differential diagnosis for CSF and ASF. As eradication of African swine fever, in Spain and Portugal, took more than 30 years, high contagious potential, low virulent isolates of viruses which are difficult to diagnose, role of feral pigs in transmission and epizootiology disease highlight this problem.

УЛОГА ВОЈНЕ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У ВАНРЕДНИМ СИТУАЦИЈАМА ИЗАЗВАНИМ ПОЈАВЉИВАЊЕМ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА КОЈЕ УГРОЖАВАЈУ ЦЕЛУ ЗЕМЉУ

Ненад Јовановић[1], Радивоје Анђелковић[1], Бранислав Стојановић[1], Предраг Масловарић[1], Зоран Јовановић[1], Драган Патковић[1], Оливер Стошић[2], Горан Опачић[2], Драган Ђурђевић[3]

[1]Управа за војно здравство Министарства одбране РС; [2]Центар ветеринарске службе Министарства одбране РС; [3]Војномедицинска академија, Београд

Кратак садржај

Уназад 20 година на територији Републике Србије десили су се многобројни догађаји битни и за целокупну ветеринарску струку, а који по дефиницији спадају у ванредне ситуације: земљотреси - Мионица 1998. и 1999. године, Трстеник 1999. године, Параћин 2006. године, Краљево 2010. године, затим, поплаве - 2005. године Јаша Томић, 2006. године Потисје и Подунавље, 2014. године региони западне (Посавотамнава) и централне Србије (Поморавље), потом појаву заразних болести животиња која су у вишем или мањем степену погодили територију Републике Србије, као и пожаре ширих размера. Дешавања пре, током и непосредно након НАТО бомбардовања 1999. године такође убрајамо у категорију ванредних ситуација који представљају њихову кулминацију.

У Србији су се у наведеном периоду десиле многобројне друштвено-политичке и економске промене које су се директно одразиле и на окружење у којем функционише ветеринарска струка. Истовремено је трансформација захватила и промене у организацији војне ветеринарске службе, чија је бројност смањена, а задаци, пројектовани за све Уставом дефинисане три мисије војске, повећани. Данашња улога војне ветеринарске службе је дефинисана законском регулативом која регулише систем одбране и ветеринарску струку, а задаци се реализују кроз јединствени систем војног здравства и део јавног здравља Републике Србије.

Да би ветеринарска служба могла адекватно да одговори на све постављене задатке, укључујући учешће у трећој мисији војске која се односи на хуманитарну асистенцију у ванредним ситуацијама и катастрофама, неопходно је обезбедити одговарајуће услове, дефинисати обавезе сваког субјекта и извршити координацију рада са цивилним структурама. На основу дефинисаних циљева праве се планови, упутства и елаборати за рад, чије се активирање врши у складу са насталом ситуацијом.

Квалитетна припрема војне ветеринарске службе и ветеринарске струке у целини је основа за правовремено и ефикасно реаговање у случају проглашења ванредних ситуација. У циљу припрема за ванредне ситуације врши се обука и кондиционирање ветеринарских радника за различите поступке које их могу очекивати. На основу процењених потреба у средствима, опреми и објектима обезбеђује се одговарајућа логистичка подршка. Логистичка подршка се обезбеђује набавком и чувањем претходно процењених количина средстава и опреме, њиховим занављањем, као и ослонцем и активирањем капацитета националне логистике.

У раду су приказани задаци и обавезе војне ветеринарске службе које су њени припадници обављали у протеклом периоду, а који су везани за праћење кретања, мере за спречавање настанка и деловање у случају појаве нарочито опасних заразних болести животиња, са тежиштем на болестима зоонозног карактера. Поред тога, дати

су основни принципи на којима се заснива рад ветеринарске службе у фази припрема, приликом појаве, трајања и након престанка ванредне ситуације, са краћом анализом и проблемима у раду.

Кључне речи: Војна ветеринарска служба, трећа мисија војске, ванредне ситуације, хуманитарна асистенција, нарочито опасне заразне болести

ROLE OF MILITARY VETERINARY SERVICE IN EMERGIENCE CAUSED BY APPEARANCE OF INFECTIOUS DISEASES OF ANIMALS ENDANGERIN TERITORY OF WHOLE COUNTRY

Nenad Jovanović[1], Radivoje Anđelković[1], Branislav Stojanović[1], Predrag Maslovarić[1], Zoran Jovanović[1], Dragan Patković[1], Oliver Stošić[2], Goran Opačić[2], Dragan Đurđević[3]

[1]Military Health Department MoD RS; [2]Centre of Veterinary Service RS; [3]Military Medical Academy, Belgrade

Abstract

On the territory of the Republic of Serbia, 20 years ago, took place many important events for the entire veterinary profession, which by definition in emergencies: earthquakes (Mionica 1998 and 1999, Trstenik 1999, Paraćin 2006, Kraljevo 2010), floods (2005 - Jaša Tomić, 2006 - Potisje, Podunavlje, 2014 - regions of Western /Posavotamnava/ and Central Serbia /Pomoravlje/), the emergence of infectious diseases that are at a higher or lesser degree affected the territory of the Republic of Serbia, as well as large-scale wildfires. In this category we`ve counted war time during NATO bombing operations in 1999., who was representative of their culmination.

In Serbia in same period were occurred many socio-political and economic changes that had direct effect on the environment in which it operates and the veterinary profession. At the same time the transformation affected the changes in the organization of military veterinary service whose numbers decreased, and the assignments are designed for all constitutionally defined three missions of Serbian Armed Forces. Today, the role of military veterinary service is defined by legislation that regulates the defense system and the veterinary profession, and objectives are realized through a unique system of Military Health Care and Public Health of R. Serbia

In order to veterinary services may not adequately address all the tasks including participation in the 3rd Mission of SAF relating to humanitarian assistance in emergency, it is necessary to provide the appropriate conditions, define the responsibilities of each entity and have to coordinate the work with civil authorities. Based on defined goals We have to make plans, instructions and reports for work, whose activation is carried out in accordance with new situation.

The proper preparation of military veterinary services and whole veterinary profession is the foundation for the timely and efficient response in the event of Emergency. In order to prepare for Emergencies are training and education of veterinary staff for the various procedures what we could expect. Based on the estimated needs in the resources, equipment and facilities to provide adequate logistical support. Logistical support was provided by the acquisition and preservation of previously estimated amounts of funds and equipment, their rolling over, as well as the support of and activating the capacity of the national logistics.

This work presents the tasks and duties of military veterinary services to its members performed in the past, and who are bound to follow the movement, measures to prevent the occurrence and activity in the case of especially dangerous infectious diseases of animals, focused on zoonotic diseases. In addition, given the fundamental principles underlying the operation of veterinary services in the preparation phase, during occurrence, duration and post-emergency time with a short analysis of the problems in the work.

Key words: Military Veterinary Service, the 3rd Mission of SAF, Emergency, Humanitarian assistance, Especially dangerous infectious diseases.

КЈУ ГРОЗНИЦА - АКТУЕЛНА ЗООНОЗА

Милена Живојиновић[1], Милица Лазић[1], Славонка Стокић[1], Александар Живуљ[2], Будимир Плавшић[3]

[1]ВСИ Пожаревац; [2]ВСИ Панчево; [3]Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине РС

Кратак садржај

Кју грозница је заразно обољење животиња и људи (зооноза), чији је узрочник *Coxiella burnetii*. Први пут је Кју грозница установљена 1935. године у Аустрији, када је и узрочник назван *Rickettsia burnetii*. У току II светског рата болест се у већем обиму појавила код војника на територији Русије и Балкана и тада добија назив "балкански грип". На територији бивше СФРЈ први случајеви су утврђени 1947. године у Хрватској, док је у Србији забележена као епидемија код војника у Панчеву 1949. године. На територији епизоотиолошког подручја ВСИ Пожаревац први пут је дијагностикована 2007. године у стаду коза, непосредно после уношења новонабављених животиња са територије југа Србије. Болест је раширена у свету, са изузетком Новог Зеланда. Код људи је обољење везано за занимање оболелих и контакта са животињама (кланице, ветеринари, фармери). Преношење се одвија првенствено инхалацијом аеросола са контаминираног земљишта или животињског отпада, али има и забележених случајева у урбаним срединама, без откривања извора. Примарни резервоари су овце, козе и краве. Инфекција је потврђена код многобројних врста кичмењака, укључујући дивље животиње, морске сисаре, домаће сисаре, птице и рептиле. *Coxiella burnetii* је изолована из 40 врста крпеља и документована је инфекција људи преко крпеља. Говеда, овце, козе и пси су пре свега домаћини у секундарним жариштима. Инфекција животиња настаје директним контактом, аерогено, алиментарно и преко коже. Код говеда је доказана и интраутерина инфекција. Код инфицираних јединки настаје септикемија, код животиња насељавање вимена и материце, док се код људи често развија бронхопнеумонија. Узрочник се излучује побаченим плодом, плацентом, млеком, фецесом, урином. У Европи је присутна Кју грозница, али права епизоотиолошка и епидемиолошка ситуација није позната, јер се програми надзора и контроле болести разликују у појединим земљама. Постоји предлог за хармонизацију мониторинга, начина контроле и пријављивања Кју грознице (EFSA, 2010; Sidi-Boumedine, 2010), као и начина валидације дијагностичких метода и развоја референтних стандарда (*Chapter 1.1.4 Principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases, OIE Manuel*) али до сада није утврђен златни стандард за дијагностику. Због некарактеристичних и непрепознатљивих знакова болести, велики број случајева инфекције, и код животиња и код људи, није дијагностикован. У циљу дијагностике обољења неопходно је применити више различитих лабораторијских тестова чији ће се резултати тумачити на нивоу испитиваног запата (стада), као и одредити параметре за утврђивање сумње и потврде сумње на појаву ове заразне болести (врста узорка, врста лабораторијских тестова, епизоотиолошки подаци). Крајњи циљ је дефинисање програма контроле и методологије надзора Кју грознице која се мора увек посматрати са заједничког аспекта хумане и ветеринарске медицине.

Кључне речи: Кју грознице, зооноза, епизоотиологија

Q FEVER - CURRENT ZOONOTIC DISEASE

Milena Živojinović[1], Milica Lazić[1], Slavonka Stokić[1], Aleksandar Živulj[2], Budimir Plavšić[3]

[1]Veterinary specialist institute, Požarevac; [2]Veterinary specialist institute, Pančevo;
[3]Veterinary directorate, Minister of agriculture and environmental protection RS

Abstract

Q fever is a zoonotic disease caused by the bacterium *Coxiella burnetii*, first time described in 1935. in Austria. During The Second World War it was known as "Balkan flu". A first case in former Yugoslavia was 1947. in Croatia. In Serbia first diagnostic case was 1949. among soldiers in Pancevo. The disease is worldwide present with exception of New Zealand. Certain occupations are associated with increased risk for exposure to *C. burnetii* (veterinarians, slaughterhouse, farmers, military units). The most common mode of transmission in humans is inhalation of infectious aerosols directly from birth fluids of infected animals or via inhalation of dust contaminated with dried birth fluids or excreta. Cattle, sheep, and goats are the primary reservoirs for *C. burnetii*. However, infection has been confirmed in multiple vertebrate species, including wildlife, marine mammals, domestic mammals, birds and reptiles. *C. burnetii* has been isolated from approximately 40 species of ticks, and possible tick-borne transmission of *C. burnetii* to humans has been reported. The majority of animal infections are asymptomatic. Clinical illness in ruminants is primarily characterized by reproductive disorders such as abortion, stillbirth, endometritis, mastitis, and infertility. The highest numbers of organisms are shed in birth products, although viable organisms also might be shed in the urine, milk, and feces of infected animals. Q fever is present in Europe, but real epidemiological situation is unknown, because of differences in surveillance, control and reporting in every country. There is a suggestion for harmonization of Q fever surveillance program (EFSA, 2010; Sidi-Boumedine et al., 2010) and validation of diagnostic methods as well as developing of referent standards (Chapter 1.1.4 Principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases, OIE Manuel). In aim to diagnostic every case of disease it's necessary to apply several diagnostic tests. It's also very important to determine parameters for suspicion and confirmation of disease in herd (type of samples, type of diagnostic test, epidemiological data). The final goal is to define control program for Q fever in human and animal population.

Key words: Q fever, zoonotic, disease, epidemiology

ПАСИВНИ НАДЗОР ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ - АБОРТУСИ

Зоран Дебељак, Александар Томић, Миодраг Рајковић, Никола Васковић, Казимир Матовић, Дејан Видановић, Александар Жарковић

Ветеринарски специјалистички институт «Краљево”

Кратак садржај

Међу методама неопходним за квалитетну анализу ризика у епизоотиологији посебан значај имају мониторинг и надзор болести. Циљ мониторинга (посматрања) је одређивање статуса једне или више болести у дефинисаној групацији животиња, на конкретном простору и у временском периоду. Може се реализовати различитим видовима испитивања, као и прикупљањем и анализом података у различитим областима рада ветеринарске службе. Резултати мониторинга могу бити основ за прекид даљих активности, или за вишу фазу предметног проучавања - надзор.

Када се у оквиру мониторинга установе одступања проучаваног здравственог стања (нпр. присуство болести), односно када има потребе за конкретнију, планску акцију, припрема се надзор. Постоји више врста надзора, а у зависности од нивоа активности које предвиђа, надзор може бити пасиван или активан. Оба имају својих предности и недостатака, а избор врсте надзора се врши на основу циљева, расположивих ресурса, финансијских могућности и др.

Спровођење пасивног надзора у циљу установљавања узрока побачаја код домаћих животиња у Републици Србији, који се реализује од 2010. године, значајан је квалитативни помак у области раног откривања инфективних болести домаћих животиња.

Са територије епизоотиолошких подручја ВСИ «Краљево», у току 2012. и 2013. године, у току пасивног надзора, релизовано је лабораторијско испитивање различитих материјала, пореклом од говеда, оваца, коза, крмача и кобила, код којих је дошло до побачаја. У испитиваном периоду прегледано је укупно 212 узорака материјала, и то од говеда 171, оваца 15, коза 7, крмача 18 и од кобила 1 узорак.

Материјал је узоркован од стране подручне теренске ветеринарске службе, уз учешће ветеринарске инспекције и епизоотиолога института. Лабораторијска испитивања су обављана у лабораторијама ВСИ Краљево, као и у другим ветеринарским лабораторијама у Републици Србији.

Достављени материјали, након обдукције и патоанатомског прегледа, лабораторијски су испитани (серолошким, бактериолошким, вирусолошким, паразитолошким и молекуларним испитивањима) на инфективне болести које код појединих животињских врста могу бити потенцијални узрок побачаја. Наведеним лабораторијским испитивањима установљен је већи број заразних болести животиња. Код говеда су дијагностиковане: говеђа вирусна дијареја, листериоза, лептоспироза, хламидиоза, микоплазмоза, као и присуство бактерија салмонела и клостридија врсте. Код оваца је дијагностикована: салмонелоза, ензоотски побачај оваца, листериоза и козји артрит - енцефалит, а код крмача: парвовироза, цирковирусна инфекција и PRRS.

На основу резултата испитивања, а у зависности од анамнестичких клиничких и епизоотиолошких података, вршена су теренска епизоотиолошка истраживања у газдинству са побачајима, као и контактним домаћинствима.

Мониторинг и надзор су саставни део комплексних програма контроле појединих болести, међународног или националног значаја. Реализација пасивног надзора у оквиру установљавања узрока побачаја код домаћих животиња на подручју ВСИ «Краљево» дала је значајан допринос откривању, спречавању ширења и сузбијању инфективних болести домаћих животиња испитиваног подручја.

Кључне речи: мониторинг, надзор, инфективне болести животиња, побачаји

PASSIVE SURVEILLANCE OF INFECTIVE DISEASE IN VETERINARY MEDICINE - ABORTIONS

Zoran Debeljak, Aleksandar Tomić, Miodrag Rajković, Nikola Vasković, Kazimir Matović, Dejan Vidanović, Aleksandar Žarković

Veterinary specialist institute "Kraljevo"

Abstarct

For risk assessment in veterinary epidemiology disease monitoring and surveillance is very important as part of complex control program of some disease. The aim of monitoring was collecting data about health and disease and there determinants in given population over defined time period. Surveillance is a more intensive form of data collecting then monitoring. If the data from monitoring indicate some problem in animal health, we can use surveillance as more active system for investigation of that problem (disease). It may be passive or active which depend of many factors.

Abortions have great significance in domestic animals reproduction pathology. Veterinary service in Republic Serbia, since 2010, start to realize passive surveillance with aim to define cause of abortions.

In this paper we will ilustrate significance disease surveillance system for early detection infective disease as cause of abortion. The aim of this surveillance was to determine a share of infectious agents, especially zoonotic, in their pathogenesis. On epidemiology area of Veterinary specialistic institute Kraljevo, during the last two years (2012-2013), 212 samples from cows, sheep, goats, sows and mares were examined.

Veterinary services, with inspection and epidemiology from regional institute were sampling material for laboratory investigations in Veterinary specialistic institute Kraljevo, or other laboratory.

Standard methods of bacteriological isolation and identification, serological methods and molecular techniques (PCR, Real time PCR) were used. Listeriosis, leptospirosis, mycoplasmoses, chlamidiosis, BVD, CAE, salmonelosis, PRRS, circo and swine parvovirus were proved as causes of infectious abortions.

Disease control program is complex combined system of monitoring and surveillance and after that control and intervention strategies. Monitoring and passive surveillance in Republic Serbia with aim to define cause of abortions was important contributions in early detection, control and eradication some important infective disease of animals.

Key words: monitoring, surveillance, infective disease of animals, abortions

ГРОЗНИЦА ЗАПАДНОГ НИЛА - ЗНАЧАЈНА ВЕКТОРСКА ВИРУСНА ИНФЕКЦИЈА У СРБИЈИ: АКТУЕЛНА СИТУАЦИЈА[1]

Тамаш Петровић[1], Диана Лупуловић[1], Душан Петрић[2], Ана Васић[3], Ивана Хрњаковић Цвјетковић[4], Весна Милошевић[4], Дејан Видановић[5], Миланко Шеклер[5], Сава Лазић[1], Босиљка Ђуричић[3], Будимир Плавшић[6], Juan-Carlos Saiz[7]

[1]Научни институт за ветеринарство Нови Сад; [2]Лабораторија за медицинску и ветеринарску ентомологију, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду; [3]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [4]Институт за јавно здравље Војводине, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду; [5]Ветеринарски специјалистички институт Краљево; [6]Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине РС; [7]Департман за биотехнологију, Национални истраживачки институт за пољопривреду и храну (INIA), Мадрид, Шпанија

Кратак садржај

Вирус Западног Нила (ВЗН) је неуровирулентни, комарцима преносиви флавивирус, зоонотског потенцијала. Вирус се одржава у природи у ензоотском циклусу кружења између птица као домаћина и комараца као вектора вируса али повремено може инфицирати и друге кичмењаке. Инфекција људи и коња може проћи асимптоматично или са различитом клиничком сликом, од благог фебрилног стања до леталног менингоенцефалитиса. Последњих година у централној и јужној Европи, као и у Србији је драматично повећан број, учесталост и тежина обољења са неуролошким поремећајима код птица, људи и коња, представљајући значајан проблем ветеринарског и јавног здравља.

Значајност проблема инфекције ВЗН у Србији је описана преко тренутне епизоотиолошко-епидемиолошке ситуације, базиране на скорашњим подацима о присуству ове инфекције код природних домаћина и вектора, код коња као сентинел животиња и других врста животиња, као и у хуманој популацији. Описани су резултати серолошких испитивања спроведених у Србији на узорцима крвних серума коња узоркованих у различитим периодима током последњих 6 година, као и резултати серолошких испитивања спроведених на узорцима крвних серума других животињских врста, као што су свиње, дивље свиње, срндаћи и пси. Такође, приказани су и анализирани резултати првих истраживања присуства вируса у комарцима векторима и дивљим птицама као природним домаћинима у Србији. Поред тога, представљени су и резултати серолошких истраживања спроведених у хуманој популацији у Србији током последњих неколико година, као и подаци о епидемијама у 2012. и 2013. години.

На основу постојећег знања о епидемиолошкој ситуацији, истакнута је пресудна улога ветеринарске службе у раној детекцији присуства ВЗН, као и текући национални програм надзора присуства ВЗН код сентинел животиња, комараца и дивљих птица у Србији.

Кључне речи: вирус Западног Нила, присуство антитела и вируса, домаће и дивље животиње, људи, комараци, програм надзора, Србија

***Захвалница**: Рад је реализован по пројекту TP31084 финансираном од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије*

WNV INFECTION - AN EMERGENT VECTOR BORNE VIRAL INFECTION IN SERBIA: CURRENT SITUATION

Tamaš Petrović[1], Diana Lupulović[1], Dušan Petrić[2], Ana Vasić[3], Ivana Hrnjaković Cvjetković[4], Vesna Milošević[4], Dejan Vidanović[5], Milanko Šekler[5], Sava Lazić[1], Bosiljka Đuričić[3], Budimir Plavšić[6], Juan-Carlos Saiz[7]

[1]Scienfitic veterinary institute, Novi Sad; [2]Laboratory for Medical and Veterinary Entomology, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad; [3]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [4]Institute of public health of Vojvodina, Faculty of medicine, University of Novi Sad; [5]Veterinary specialist institute, Kraljevo; [6]Veterinary directorate, Minister of agriculture and environmental protection RS; [7]Department of biotechnology, National institute for agricultural and food research (INIA), Madrid, Spain

Abstract

West Nile virus (WNV) is a neurovirulent mosquito-borne *Flavivirus* with zoonotic potential. Virus is maintained in nature in an enzootic transmission cycle between avian hosts and mosquito vectors, but occasionally infects other vertebrates. The infection in horses and humans can be asymptomatic or it can have different clinical manifestations ranging from light febrile diseases to fatal meningoencephalitis. Recently, the number, frequency and severity of outbreaks with neurological consequences for birds, humans and horses have increased dramatically throughout central and south Europe, including Serbia, constituting a serious veterinary and public health problem.

The emergency of WNV infections in Serbia is described through the current epidemiology situation based on recent data on the incidence of WNV infection among virus natural hosts and vectors; sentinel (horses) and other animal species, and in human population. The results of the WNV serology studies conducted on horse blood samples collected in different occasions during the last six years, and the results of the serology studies conducted among other animal species like pigs, wild boars, roe deer and dogs in Serbia are presented and discussed. Also, the results of the first studies on WNV presence in mosquito vectors and in wild birds as virus natural hosts in Serbia are presented and analyzed. In addition, the data on the WNV serology studies conducted in human population in Serbia in the last few years, and the existing data of WNV outbreaks in 2012 and 2013 are included.

Regarding the existing knowledge on WNV epidemiology situation, the crucial role of veterinary service in early detection of WNV presence and ongoing national program of WNV surveillance in sentinel animals, mosquitoes and wild birds are discussed.

Keywords: West Nile virus, antibody and virus detection, domestic and wild animals, human population, mosquitoes, surveillance program, Serbia

ЗНАЧАЈ ПАСА У ЕКО-ЕПИДЕМИОЛОГИЈИ ЛАЈМ БОРЕЛИОЗЕ

Соња Обреновић[1], Радован Чеканац[2], Елизабета Ристановић[2], Драган Бацић[1], Соња Радојичић[1], Мирослав Валчић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Војномедицинска академија, Београд

Кратак садржај

Лајм борелиоза (ЛБ) је мултисистемско, антропозоонозно обољење које изазива *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi* s.l.), примарно дефинисана као једна врста, да би се применом имунолошких и молекуларних метода у оквиру овог комплекса, до данас издиференцирало 19 врста. *B. burgdorferi* s.l. циркулише у природи у систему који укључује крпеље рода *Ixodes* - биолошке векторе, и великом броју животињских врста - резервоара, као што су мишолики глодари, домаће и дивље животиње и птице. У досадашњим истраживањима је доказано да је узрочник ЛБ комплексне грађе, да је болест дијагностички сложена, лечење компликовано ако се не почне благовремено и са одговарајућом терапијом, и да је профилакса ЛБ као природно-жаришне инфекције сложена, и за сада непотпуна.

Прогласити неку област за ендемско подручје ЛБ је тежак и сложен задатак, посебно када је преваленција случајева обољења код људи ниска. Степен ризика за настанак инфекције код људи у значајној мери зависи од врсте делатности (групе у ризику) и предмет је истраживања многих епидемиолошких студија. Међутим, испитивање могућности контакта људи са крпељима је показало да ово није довољан критеријум у процени ризика за настанак ЛБ. У одређивању ендемске области неопходно је испитати заступљеност вектора, однос вектор-домаћин, као и преваленцију антиборелијалних антитела у животињама резервоарима. Утврђивање раширености крпеља, хватање и испитивање малих глодара и других дивљих животиња на присуство борелија, представљају тежак и временски захтеван посао. Такође, подаци о серопреваленцији код дивљих животиња не могу се директно применити у процени ризика за појаву ЛБ људи, који ретко или уопше немају контакт са шумским подручјима.

Имајући у виду блиску везу између паса и људи, као и њихове сличне активности у природи, бројна истраживања указују на значај паса као резервоара *B. burgdorferi* s.l, и истичу ову врсту животиња као индикатора ризичних подручја за ЛБ. Због повезаности фактора ризика за инфекцију људи и паса *B. burgdorferi* s.l., утврђивање серопреваленције антиборелијалних антитела код паса представља користан метод у циљу утврђивања географске дистрибуције ЛБ, идентификације нових жаришта која представљају потенцијалну опасност за хуману популацију, као и за добијање података о променама у познатим и новим ендемским подручјима.

ОСНОВНИ ЕПИЗООТИОЛОШКИ ПРИНЦИПИ АКТИВНОГ НАДЗОРА, КОНТРОЛЕ, СУЗБИЈАЊА И ЕРАДИКАЦИЈЕ ЗАРАЗНИХ БОЛЕСТИ ЖИВОТИЊА

Мирослав Валчић, Соња Радојичић, Соња Обреновић, Наташа Стевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

За разлику од пасивног, активни надзор у епизоотиолошком смислу се односи на све мере које спроводи ветеринарска служба у циљу изналажења обољења у популацији пријемчиве врсте животиња. Ради се о програмима који треба да су добро испланирани, како са становишта биологије, тако и економије, при чему циљ може да буде контрола, сузбијање и/или искорењивање неког обољења на територији једне државе. Полазне основе ових програма могу да буду информације које би се односиле на производне карактеристике (тељења, дневна производња млека, рутинско праћење тежине трупова на кланици итд.) или на податке који се добијају из дијагностичких ветеринарских лабораторија.

Приликом дефинисања програма контроле треба предвидети четири фазе. Прва се односи на обуку људи, лоцирање и дефинисање популације пријемчиве врсте, обезбеђивање опреме и материјала, као и успостављање административних услова за обављање мера. Друга фаза је најинтензивнија и односи се на спровођење мера које могу да зависе од природе и епизоотиолошких карактеристика самог обољења. Наиме, у неким случајевима ће се мере односити на принципе „*stamping out*“ система, а некада ће се тежиште мера пребацити на контролу вектора или промену технологије узгоја. У оквиру ове фазе, потребно је размотрити и социјалне, политичке, географске и економске аспекте и последице спровођења предвиђених мера. Активни надзор у овој фази подразумева спровођење прописаних мера све док се преваленција датог обољења не сведе на ниво када је преношење обољења у популацији мало вероватно. Трећа фаза се односи на интензивно трагање за преосталим случајевима, као и анализа сваког појединачног жаришта са аспекта трасирања путева преношења и извора заразе. Током друге и треће фазе неопходно је обавити анализу успеха спроведених мера. Наиме, често се дешава да се мењају епизоотиолошке карактеристике заразне болести која се сузбија и искорењује. Нарочито се то односи на изворе инфекције, преваленцију и инциденцију, пријемчивост, израженост клиничких симптома, као и на путеве преношења. Од посебног је значаја и развој адекватних дијагностичких метода које ће бити поуздане (специфичне и осетљиве) и у условима различитих нивоа преваленције. Последња фаза ерадикације неког обољења се односи на мере које се прописују у циљу спречавања поновног уноса заразне болести у регион (државу), као и на развој система пријављивања појаве жаришта.

Улога ветеринара и ветеринарске службе у спровођењу програма је по дефиницији јасна. Међутим, практично сви програми контроле, сузбијања и искорењивања неке заразне болести заснивају се на интересу власника животиња (фармера). То значи да је координација ветеринарске службе и асоцијација произвођача у сточарству неопходан услов за успех програма контроле, сузбијања и ерадикације неке заразне болести.

***Захвалница**: Рад је финансиран средствима пројеката ТР 37015 и ТР 31088, Министарства науке и технолошког развоја Р. Србије*

BASIC PRINCIPLES OF ACTIVE EPIZOOTIOLOGICAL MONITORING, CONTROL AND ERADICATION OF INFECTIOUS DISEASES OF ANIMALS

Miroslav Valčić, Sonja Radojičić, Sonja Obrenović, Nataša Stević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Active monitoring from the epizootiological point of view comprises all activities performed by the veterinary service in order to detect infectious diseases in susceptible animal species. Such programs should be planned in advance from the biological and economical point or view. The target can be the control, reduction of prevalence and incidence and/or disease eradication. Usually, the starting point for such programs are all the information concerning animal industry production (number of piglets per saw, daily milk production, carcass weight in the slaughter house, number of eggs etc) or data obtained from veterinary diagnostic laboratories. In order to define an active monitoring program, one should be aware of four phases. First of all, there is the need to educate personnel involved in monitoring, to target the susceptible animal population, to supply critical equipment and materials, as well as to get administrative prerequisites for the program. The second phase is the most demanding and intense. It comprises all the measures and activities that depend on the epizootiological characteristics of the particular disease. In some cases, measures will be based on stamping out principles, whereas in other cases it will be control of vectors, or changing of the animal production technology. During the second phase, it is important to address sociological, political, geographic, economic and other aspects of the applied measures. In this phase, active monitoring means conducting measures and procedures in order to minimize the disease prevalence to such a level when disease transmission is not likely to occur. The third phase means to search for disease remnants and analysis of each case in order to trace paths and possible sources of the disease. During the second and third phase, it is important to analyze the success of the applied measures. Often, epizootiological characteristics of the disease change during the epizootia along with the applied measures. That means that during the implementation of measures the sources, prevalence, incidence, susceptibility, clinical manifestations as well as ways of transmission will be modified and changed. At the same time, it is important to develop adequate diagnostic methods that accommodate different levels of disease prevalence as far as susceptibility and sensitivity is concerned. The last phase in the process of disease control and eradication is centered on the measures whose aim is to prevent future introduction of the disease in the region, as well as to develop early disease warning systems.

The role of the veterinary service is clear by definition. However, practically each control and eradication program is based on the farmer's interest. That means that multivalent coordination of the veterinary system and farmers associations is *conditio sine quan non* in order to control and eradicate infectious diseases of animals.

АКТУЕЛНА ПРОБЛЕМАТИКА КАРАНТИНИРАЊА КАО ДЕЛА НЕСПЕЦИФИЧНЕ ПРОФИЛАКСЕ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА ЖИВОТИЊА

Тибор Молнар[1], Ференц Кишкарољ[1], Братислав Кисин[2], Синиша Милић[2]

[1]Ветеринарски специјалистички институт "Суботица"; [2]Ветеринарски специјалистички институт "Сомбор"

Кратак садржај

Савремени приступ карантину има за циљ да се предузимањем низа поступака код животиња у карантину изједначи њихов здравствени статус са животињама у популацији у који се желе увести. Прописи који регулишу карантинирање у Србији су Закон о ветеринарству и Правилник о условима и трајању карантина за увезене животиње, који је у поступку хармонизације са прописима ЕУ. Смернице ОИЕ-а дате у *Terrestial Animal Health Code*-у из 2014. године су основни међународни пропис за промет животиња. Увођењем у ЕУ слободног промета животиња без контроле на границама земаља чланица, здравствени статус животиња се заснива на гаранцијама датим у здравственим сертификатима.

Седишта Ветеринарског специјалистичког институт „Суботица" и Ветеринарског специјалистичког института „Сомбор" се налазе у непосредној близини два најфреквентнија гранична прелаза се суседним земљама Мађарском и Хрватском, чланицама ЕУ. У периоду од 2010. до 2013. године на подручју надлежности оба института укупно су карантиниране 242 пошиљке животиња из увоза, од тога у надлежности ВСИ „Суботица" 156 пошиљка. Практична искуства и проблематика карантинирања увезених приплодних животиња приказана су кроз примере: приплодних свиња - утврђена сероконверзија на бруцелозу, приплодних коза 2013. године - утврђена сероконверзија на CAEV, као и клиничка манифестација Q грознице потврђена лабораторијском дијагностиком, као и више случајева утврђивања *Salmonella spp.* инфекције код јата подмлатка живине за производњу конзумних и приплодних јаја.

Практична искуства изнета су на примерима регионалног карантина у општини Суботица и то на примерима пријема свиња и јунади из других епизоотиолошких подручја државе на овдашње фарме, где се стављају у завршни у тов.

Хармонизацијом ветеринарских сертификата са ЕУ, увођењем информационог система, побољшање услова рада граничних ветеринарских инспектора изградњом новог граничног прелаза по стандардима ЕУ, умногоме је олакшан и убрзан њихов рад. Ипак, искуство из протеклих година налаже да је примена карантина и даље неопходна мера у спречавању ширења инфективних болести транспортом животиња, како у међународном, тако и у унутрашњем промету.

Кључне речи: карантин, животиње, граница, ЕУ

CURRENT CHALLENGES REGARDING QUARANTINE AS PART OF NON-SPECIFIC PROFILAXIS OF INFECTIVE ANIMAL DISEASES

Tibor Molnar[1], Ferenc Kiškarolj[1], Bratislav Kisin[2], Siniša Milić[2]

[1]Veterinary specialist institute «Subotica»; [2]Veterinary specialist institute «Sombor»

Abstract

The goal of the modern-day approach to quarantine is to assure the same standard of animal health of quarantined animals and those found in the population which is being imported, through a series of steps. This should be approached from the standpoint of keeping the newly formed heard minimally exposed to possible pathogenic diseases. The standards that define quarantine in Serbia are the cited under the Veterinary Act, as well as the Regulations of Quarantine Conditions and Duration for Imported Animals which are currently in the process of synchronization with EU regulations. OIE recommendations given in the Terrestrial Animal Health Code form 2014 form the basis of international animal trafficking regulations, and are implemented by OIE member countries.

The Veterinary Specialist Institute "Subotica" and the Veterinary Specialist Institute "Sombor" are located in close proximity to two major border crossings with The Republic of Hungary and The Republic of Croatia, which are EU members. From years 2010 to 2013, 242 shipments were quarantined by the two afore mentioned institutes, 156 of which fell under the jurisdiction of VSI "Subotica".

The practical experiences and problems encountered during quarantine of imported animals are given through the following examples: determined seroconversion to brucellosis in quarantined breeding pigs and goats; in 2013, determined seroconversion in CAEV in quarantine and clinical manifestation of Q fever confirmed by laboratory diagnostics, as well as a confirmed Salmonella spp. Infection in a flock of poultry offspring meant for consumable and hatching eggs.

The given experiences encountered in practice were gained from examples of regional quarantine in the municipality of Subotica, in cases of receiving shipments of pigs and cattle from other epizootiological regions for integration into populations on local farms, ready for final fattening.

Synchronizing veterinary certificates with the EU, implementing information systems, enhancing the work conditions of border animal health inspection services by building a new border crossing that qualifies with EU standards, has gradually improved the efficiency of animal health inspections. Still, experience gathered from previous years indicates that the administration of quarantine is a necessary method for preventing transmission of infective diseases in domestic trafficking, as well as international animal trafficking.

Key words: quarantine, animals, border, EU

УВОД

Један од најстаријих метода контроле болести је карантин, који по дефиницији представља изоловани објекат за чување и држање животиња за које се сматра да су оболеле или су сумњиве на обољење или су пак биле под ризиком да оболе. У свакодневној пракси често је коришћен као метод неспецифичне профилаксе при увозу животиња и/или промету животиња из различитих епизоотиолошких региона унутар државе, у ком случају ова мера по закону није обавезна.

Првобитни циљ држања животиња у карантину је увек њихова изолација до утврђивања њиховог коначног здравственог статуса на поједине инфективне болести којима се сумња да могу бити инфициране. При томе се користе различите дијагностичке методе, чије резултате испитивања треба увек процењивати у контесту специфичности и осетљивости коришћене методе, али и клиничке слике и патоанатомског налаза као дијагностичких метода појединих животиња и стада у карантину као целине.

Појам карантина често се грешком изједначава са термином изолација животиња, који означава само издвајање болесних од здравих животиња. Савремени приступ карантину има за крајњи циљ да се предузимањем низа поступака над животињама током карантина, њихов здравствени статус изједначи са здравственим статусом животиња у популацији у коју се желе увести. При томе увек треба тежити да изједначавање статуса иде у правцу мањег оптерећења новоформираног стада узрочницима инфективних болести.

С обзиром на изузетан значај спречавања ширења болести на националном и међународном плану, поступак карантина регулисан је како националним, тако и међународним прописима.

Материјал и метод рада

Извор података о броју пошиљки живих животиња увезених преко граничног прелаза Хоргош су подаци прикупљени од граничне ветеринарске инспекције граничног прелаза Хоргош.

У раду су изнети подаци о броју и врсти карантинираних животиња у регионалном карантинском објекту у насељу Биково, а подаци су прикупљени из годишњег извештаја надлежне ветеринарске станице „Ветеринар“. Годишњи извештај, ветеринарска станица доставља према оснивачу карантина, локалној самоуправи општине Суботица.

Извор података за број и врсту карантина на епизоотиолошком подручју Северног и Западнобачког округа су званични подаци ВСИ „Суботица“ и ВСИ „Сомбор“ о броју реализованих карантина на епизоотиолошким подручјима оба института.

Дати практични примери и искуства карантинирања, као и изнета проблематика су из искуства у раду епизоотиолошке службе оба наведена института, односно званични извештаји достављени Управи за ветерину о реализацији и решавању проблема током карантинирања животиња наведених у раду.

Прописи о карантинирању

Основни међународни пропис прихваћен од земаља чланица OIE, чија правила важе за SPS споразум STO (WTO), а чији је циљ максимална хармонизација санитарног аспекта међународног промета, јесу смернице OIE дате у *Terrestial Animal Health Code* из 2014. године. На њима земље чланице заснивају своје захтеве према увознику, поступке у међународном промету, процедуре и одговорности земаља при извозу и увозу живих животиња. Одељак 5, а посебно Поглавља 5.6 и 5.7 дају смернице капацитета граничних прелаза и карантинских станица у смислу кадрова, објеката, опреме, као и здравствене мере које се предузимају по пристизању животиња и поступке са инфективним материјалима. Докуметација која прати пошиљке њен препоручени

садржај, изглед и поступак издавања и контроле здравствених сертификата дат је у поглавља 5.10 наведеног *Codexa*.

ЕУ увођењем слободног промета животиња без контроле на границама земаља чланица, здравствени статус животиња заснива на гаранцијама датим у здравственим сертификатима, што одговорност за здравствени стаус пошиљке преноси на овлашћене ветеринаре издаваоце сертификата из земље порекла животиња, али тиме не искључује могућност карантинирања и поступке у карантину по приспећу животиња на одредиште.

Начин обављања ветеринарско-санитарног прегледа свих пошиљки из увоза на граничном прелазу при уласку у Србију и њихову даљу следљивост у унутрашњем промету регулишу:

- Правилник о врстама пошиљки које подлежу ветеринарско санитарној контроли и начину обављања ветринарско-санитарног прегледа пошиљки на граничним прелазима и

- Правилник о садржини и изгледу обрасца, као и о начину издавања заједничког ветеринарског улазног документа (Сл. гл. РС, 70/10).

Овим Правилницима регулисана је обавеза ветеринарско-санитарног прегледа пошиљке на граници, а следљивост увезене пошиљке од граничног прелаза до крајњег одредишта, обезбеђује заједнички ветеринарски улазни документ (ЗВУД-Ж), који издаје надлежни гранични ветеринарски инспектор и који прати пошиљку до крајњег одредишта. По истовару животиња у карантин и спроведеним мерама ЗВУД-Ж оверава месно надлежни инспектор који надзире мере у карантину и примерак враћа граничном инспектору и тиме га обавештава да је пошиљка стигла на крајње одредиште.

Прописи који регулишу карантинирање у Србији су:

- Закон о ветеринарству, посебно члан 130 (Сл. гл. РС, 91/2005, 30/2010 и 93/2012),

- Правилник о условима и трајању карантина за увезене животиње (Сл. лист СФРЈ, 6/88), који је у поступку хармонизације са прописима ЕУ.

Закон прописује обавезу карантинирања увезених животиња код трајног увоза, док она није обавезна код привременог увоза животиња до 30 дана (ради учешће на изложби, такмичењу и сл.), а животиње које се увозе ради клања морају се заклати у року од 3 дана од увоза у за то регистрованим кланицама.

Правилником о условима и трајању карантина регулисани су услови које, пре свега у смислу биосигурносних мера, треба да испуњава карантински објекат: локацију, место и круг карантинског објекта, изолованост од других објеката, обезбеђење хране и воде за животиње у карантину, као и друге услове спречавања разношења биолошких агенаса (регулисано ђубриште, подземне и атмосферске воде, пункт за дезинфекцију, ограда и сл.) укључујући и обавезу контроле кретања људи, животиња, возила.

Поступак у карантину

Седишта ВСИ „Суботица“ и ВСИ „Сомбор“ се налазе у непосредној близини двеју најфреквентнијих граничних прелаза се суседним земљама Мађарском и Хрватском, чланицама ЕУ. На најфрквентнијем граничном прелазу са ЕУ - Хоргош, који је удаљен 14 км од седишта ВСИ „Суботица“, годишње у просеку подлеже ветринарско-санитарном прегледу око 11.000 пошиљки (у току првих 6 месеци 2014. године 7.400 пошиљки), од чега 580-600 пошиљки живих животиња обавезних карантинирању, пореклом углавном из земаља чланица ЕУ. Најчешће земље порекла пошиљки живих животиња су: Мађарска, Аустрија, Чешка, Холандија, Немачка, Данска, Француска, затим Белгија, Швајцарска и др. Преглед броја пошиљки регистрованих на граничном прелазу Хоргош, увезених у току 2013. године, врста животиња и њихова крајња намена дата је у табели 1.

Табела 1. Преглед броја и врста увезених пошиљки живих животиња и производа обавезних карантинирању преко граничног прелаза Хоргош у 2013. години

Р.бр.	Врста животиња / намена	Број пошиљки (из увоза)	Број увезених животиња (∑ број)	Земља порекла
1	Говеда за приплод	32	956	Данска, Аустрија, Мађарска, Чешка, Немачка
2	Свиње за приплод	8	146	Данска, Мађарска, Француска, Белгија, Швајцарска
3	Козе приплодне	1	750	Француска
4	Товна говеда	1	66	Чешка
5	Свиње за клање	306	55.131	Мађарска
6	Пилићи-једнодневни	104	2.388.127	Мађарска, Немачка, Чешка, Италија
7	Ћурићи-једнодневни	20	148.254	Мађарска, Аустрија, Велика Британија
8	Кокошја приплодна јаја	7	900.000	Мађарска, Аустрија, Чешка, Италија
9	Ћуреће приплодна јаја	19	10.000	Мађарска, Аустрија
10	Рибе речне	1	1.100.000	Мађарска
11	Сперме бикова	9	97.715 доза	Данска, Аустрија

Све пошиљке прати одговарајућа документација - здравствени сертификати и по приспећу поступа се са њима по прописаној стандардној процедури гарничне ветеринарске инспекције.

Карантин увезених животиња

На основу наведених важећих националних прописа, у случају увоза живих животиња, увозник подноси захтев за увоз надлежној служби Управе за ветерину, Министарства пољопривреде и заштите животне средине. Ценећи епизоотиолошку ситуацију у земљи порекла и кроз земље провоза, након утврђивања погодних услова у објекту предвиђеном за карантинирање, Управа издаје дозволу за увоз и решењем одређује објекат за карантинирање, мере у карантину и оријентационо трајање карантина за увезене животиње.

Даљи поступак је, са ветеринарског аспекта, по приспећу, преглед живих животиња на граничном прелазу, када гранични ветеринарски инспектор утврђује исправност документације - здравственог сертификата, врши преглед пошиљке, евидентира улаз пошиљке и прослеђује је на локацију карантинирања, која је најчешће у месту крајњег корисника. У случају утврђивања нерешивих недостатака било које врсте, пошиљка се већ са границе враћа у земљу порекла. Власник животиња је дужан да о времену и месту доспећа животиња у карантин обавести месно надлежног ветеринарског инспектора, под чијим се надзором врши истовар у карантинске просторије. Оне морају бити 14 дана пре приспећа припремљене за прихват (дезинфиковане, припремљена довољна количина хране и воде, запослени опремљени заштитном одећом, постављене дезбаријере и средства личне дезинфекције итд). Надлежни ветеринарски институт и надлежна ветеринарска станица или служба спроводе по претходно сачињеном програму, мере надзора здравственог стања, потребна

дијагностичка испитивања и имунопрофилактичке мере против болести предвиђених карантинским решењем. Контролу спроведених мера врши надлежни ветеринарски инспектор и по истеку карантина и спровођењу мера он укида карантин. Трајање карантина по правилу у просеку се ограничава на 21 до 30 дана, али се може продужити.

У периоду 2010-2013. године на подручју надлежности оба института карантинирано је 242 пошиљке животиња из увоза, од тога у надлежности ВСИ „Суботица“ 141 случај. Карантиниране су пошиљке: приплодних јунади, бикова, свиња, овнова, јарчева и коза, коња, приплодних јаја и подмлатка живине свих категорија, као и егзотичних птица, углавном из афричких земаља, као и увезене дивље животиње зоолошког врта на Палићу. Приказ броја релизованих карантина на епизоотиолошком подручју ова два института, врста животиња, крајња намена и земља порекла дата је у табели 2.

Табела 2. Преглед броја карантина увезених животиња на епизотиолошком подручју ВСИ “Суботица” и ВСИ “Сомбор” у периоду 2010-2013. године

Р.бр	Врста животиња	**ВСИ “Суботица”**			**ВСИ “Сомбор”**		
		Број карантина	Број карант. животиња	Земља порекла	Број карантина	Број карант животиња	Земља порекла
1	Говеда за приплод	1	35	Аустрија	13	663	Чешка, Немачка, Босна, Холандија
2	Свиње за приплод (♀и ♂)	3	364	Словенија, Белгија, Мађарска	11	483	Немачка, Данска, Аустрија, Мађарска, Француска
3	Козе приплодне	1	750	Француска	1	250	Француска
4	Овнови	0	0	0	1	5	Мађарска
5	Товна говеда	0	0	0	4	500	Румунија
6	Пилићи-једнодневни	15	2.981.00	Мађарска, Италија	14	476.000	Мађарска, Италија, Немачка
7	Подмладак носиља	0	0	0	4	450.000	Босна
8	Ћурићи-једнодневни	1	6.500	Мађарска	8	120.000	Мађарска, Велика Британија
9	Кокошја приплодна јаја	0	0	0	12	1.300.000	Словенија, Босна
10	Ћурећа приплодна јаја	0	0	0	8	1.200.000	Мађарска
11	Рибе речне	1	1.100.000	Мађарска	0	0	0
12	Егзоте (кавезне птице)	43	78.400	Гвинеја, Мали, Конго, Танзанија	21	17.205	Гвинеја, Мали, Конго, УАЕ, Танзанија
13	Дивље животиње	16	24	Мађарска, Чешка, Немачка, Хрватска	0	0	0
14	Коњи	60	232	Мађарска,Хрватска, Француска	4	9	Мађарска, Хрватска
Укупно		**141**			**101**		

Практична искуства и проблематику приказујемо на примерима обавезних карантинирања увезених приплодних животиња:

- увоз приплодних свиња 2010. године код којих је током карантинирања утврђена сероконверзија на бруцелозу, и
- увоз приплодног стада коза 2013. године у карантину утврђена сероконверзија на CAEv, и клиничка манифестација Q грознице потврђена лабораторијском дијагностиком.

Карантин приплодних назимица и нерастова 2010. година - епизоотиолошко подручје ВСИ „Сомбор“

У 2010. години из Немачке је увезено 250 приплодних назимица и нерастова, који су карантинирани на територији Западнобачког округа. На основу карантинског решења крвни серуми који су узети од ових животиња тестирани су (поред лептоспирозе, PRRS и MAD), у акредитованој лабораторији ВСИ „Сомбор“, и на присуство специфичних антитела против *Brucella* врсте методом брзе серумске аглутинације у складу са процедуром изнетом у OIE приручнику.

Од 250 испитаних узорака, 13 је реаговало позитивно (RBT) и ови серуми су подвргнути тестирању са cELISA тестом у ВСИ „Сомбор“, који је потврдио присуство специфичних антитела код 4 узорка.

У кратком року је обавештена ветеринарска инспекција, извршен је епизоотиолошки увиђај и утврђено је да свих 13 позитивних реагената на присуство антитела против *Brucella* врсте методом брзе серумске аглутинације потичу из једног газдинства. Из тог газдинства је испоручено само тих 13 животиња. Ове животиње су одмах издвојене од осталих и код њих је спроведено поновно узорковање крви.

Поновљено испитивање у ВСИ „Сомбор“ било је идентично претходном (RBT, cELISA) и узорци су послати на потврдна испитивања методама флуоресцентне поларизације и RVK у ВСИ „Краљево“ и НИВ Србије. Ова испитивања су потврдила присуство антитела код 4 узорка, који су претходно реаговали позитивно и на cELISA тесту. Затим су ова 4 узорка послата у референтну лабораторију у Вејбрицу, која је такође потврдила присуство антитела против *Brucella* врсте.

По добијању резултата извршена је еутаназија код свих 13 животиња које су потицале из истог дворишта и код којих су потврђени позитивни реагенти. Све преостале животиње на фарми су поново тестиране, а затим су тестиране у шестомесечним интервалима и до данас нису утврђени нови позитивни случајеви.

Карантин приплодних коза 2013. године - епизоотиолошко подручје ВСИ „Суботица“

У 2013. години из Француске је увезено 746 коза старости 5-6 месеци који су смештени у карантински објекат у Севернобачком округу.

На основу карантинског решења Управе за ветерину крвни серуми узети од свих животиња тестирани су у акредитованој лабораторији ВСИ „Суботица“, поред на бруцелозу и болест плавог језика и методом индиректна ELISA теста (*Idexx CAEV/MVV total Ab test*) на CAEV. Тестирањем серума утврђено је 45 серопозитивних на CAEv и 1 сумњива коза. Позитивни серуми прослеђени су НИВ Србије који је потврдном cELISA установио 40 позитивних од 46 послатих серума.

Одмах по добијању резултата обавештена је ветеринарска инспекција, извршен је епизоотиолошки увиђај, а серопозитивне животиње издвојене од осталих. Са власником и представницима селекцијске куће - извозника из Француске, организован је састанак на коме је од стране француског партнера предочено да су испоручене животиње пореклом са већег броја мањих приплодних француских фарми коза, које се потом из сабирног центар након извршеног једнократног серолошког теста на

CAE, негативне, са уредно попуњеним здравственим сертификатом шаљу у извоз. На основу њега не може се гарантовати да су оне прикупљене са фарми коза слободних од CAE, како је то предвиђено у *Terrestial Animal Health Code*. С обзиром да не постоји Правилник - законска основа за сузбијање Артририс енцефалитиса коза (CAE), сачињен је програм сузбијања од стране ВСИ "Суботица", чији је основ „тестирај и уклони позитивна". Решењем ветеринарске инспекције забрањен је промет, сем два пута серонегативних коза за даљи приплод са наведене фарме. У току карантина и након истека карантина, с обзиром и на карактеристику обољења, до сада није било појаве клиничких симптома CAE.

Код истог стада коза, у задњој трећини првог гравидитета или пред јарење дошло је нагло до појаве великог броја побачаја. Из побаченог материјала, у ВСИ „Краљево", од свих коза са побачајем утврђена је методом PCR *Coxiella burnetii*, док су остали узрочници инфективног побачаја искључени (Chlamidia, Neosporae, Toxoplasmosa и Schmallenberg virus). На фарми где је организован карантин годинама су држане овце. Претпостављамо да је с обзиром на изузетну отпорност узрочника Q грознице, исти остао присутан на фарми, иако је она испражњена непосредно пре пријема коза. С обзиром да козе нису биле вакцинисане против Q грознице, уследила је драстична клиничка слика масовних побачаја, које је престало већ након првог третмана тетрациклинима. Козе су након тога двократно вакцинисане против Q грознице по прескрипцији произвођача, а контролисани титар указује на висок степен заштите.

Улога карантина у унутрашњем промету

Карантин у унутрашњем промету доказао се као неопходна подршка раду инспекције код спровођења мера спречавања нелегалног промета животиња, када се грла из промета, непознатог порекла и здравственог статуса, стављају у за то посебно изграђене регионалне карантинске објекте и ту држе до спровођења наложених мера ради утврђивања њиховог коначног здравственог статуса. Њихова улога је посебно значајна са аспекта угрожавања здравља животиња болестима чије је спречавање ширења и искорењивање прописно Програмом мера здравствене заштите животиња. У табели 3. приказан је број и основ карантинирања животиња по решењу надлежног ветеринарског инспектора, у регионалном карантинском објекту крај насеља Биково, општина Суботица.

Табела 3. Преглед карантинираних случајева животиња из унутрашњег промета у карантинском објекту Суботица, период 2011-2013. године

Врста животиње	Број случајева	Број карант. животиња	Основ решења за карантин
Овце	1	300	затечене на испаши без вет.документације
Телад	1	29	затечени у промету без вет. документације
Свиње	3	146	затечени у промету без вет. документације
Припл. крмаче	2	8	затечени у промету без вет. документације
Коњи	1	1	затечени у промету без вет. документације

Најдрастичнији пример из наше праксе, непоштовања принципа карантинирања и прописа који регулишу промет животиња, је унос узрочника класичне куге свиња нелегалним прометом прасади у газдинство на подручју општине Сента 2006. године. Епизоотиолошким увиђајима утврђено је да је избијање заразе била последица уноса свиња непознатог здравственог статуса у популације невакцинисаних свиња, односно

свиња код којих је од претходне вакцинације протекло више од 6 месеци до 1 године. У епизоотији у општини Сента и у секундарним жариштима у суседним општинама, уништено је, како је приказано у табели 4, око 1000 (998) животиња.

Табела 4. Биланс Класичне куге свиња 2006. године - епиподручје ВСИ „Суботица“

Заражено			**Биланс болести**		
Општина	**Нас.**	**Двор.**	**Оболело**	**Угинуло**	**Уклоњено**
Мали Иђош	1	1	36	3	33
Кањижа	2	4	139	7	146
Сента	1	26	399	84	757
Ада	1	1	69	7	62

Увођењем јединственог система обележавања и евиденције животиња, успостављањем регионалног карантинског објекта за изолацију животиња затечених у нелегалном промету (уз мере имунопрофилаксе), створени су услови за спречавање промета животиња непознатог здравственог статуса и одржавање повољне епизоотиолошке ситуације.

Законом необавезна мера, карантинирање новонабављених животиња намењених узгоју на фармама, је веома честа у пракси. Њоме се постиже изолација приспелих од већ присутних животиња. У току карантина, спровођењем дијагностичких мера, као и мера опште и специфичне профилаксе, постиже се здравствени статус безбедан за њихово увођење у постојеће стадо. На подручју рада оба ВСИ примењује се као незаобилазна мера при пријему новонабављених животиња на фарме за тов говеда и узгој подмлатка живине свих категорија. На фармама епизоотиолошког подручја ВСИ „Суботица“ на овај начин карантинирано је у периоду 2011-2013. године у 96 карантина 4.800 телади набављених из других епизоотиолошких подручја намењених тову, као и у 52 карантина карантинирано је 528.000 подмлатка живине за производњу конзумних јаја.

Под претпоставком да је документацијом која прати животиње утврђено, а дијагностичким испитивањима код животиња у карантину искључено присуство инфективних болести које се сузбијају по закону, даљи очекивани исход карантинирања - спречавање уноса патогена новим животињама у постојеће стадо, без обзира да ли се ради о унутрашњем промету или увозу, могуће је постићи поштовањем следећих поступака:

- утврђивање, познавање здравственог статуса стада у који се желе увести нове животиње;
- утврђивање присутних патогена код животиња у карантину, клинички прегледи и лабораторијска дијагностика (микробиолошке и паразитолошке претраге);
- спровођење третмана животиња у карантину ради елиминисања узрочника болести који су утврђени или се сумња да их преносе, а нису присутне у стаду у које се желе увести. Подразумева: третман против екто- и ендопаразита, као и антибиотски третман најчешће на специфичне узрочнике респираторних и гастроинтестиналних инфекција.
- стварање имунитета код животиња у карантину против болести присутних у стаду у које ће се увести. Подразумева мере вакцинације (али и могућег контакта са појединачним животињама из стада у које се уводе, ради имунизације против узрочника за које не постоје вакцине). Пре укидања карантина битно је испоштовати време потребно за стварање имунитета.

Током спровођења карантина код телади набављених из других епизоотиолошких подручја која се уводе у тов на фармама епизоотиолошког подручја оба ВСИ, спроводе се обавезно превентивне мере у складу са наведним поступцима:

- дехелминтизаија приспелих животиња;
- антибиотски третман против узрочника респираторних обољења;
- вакцинација против вирусних и бактеријских узрочника компекса респираторних болести говеда (BRDC);
- вакцинација животиња против узрочника клостридијалних инфекција;
- третман антидиароиком кроз храну у току привикавања животиња на нову исхрану;
- ревакцинације против наведених болести.

Након истека времена потребног за ставарање имунитета, животиње се уносе поред већ постојећих на фарми. У задње време учестала је пракса пријема само животиња које су претходно вакцинисане и стекле имунитет пре транспорта, односно пристизања на фарму. Ова мера знатно је смањила губитке од респираторних инфекција у даљем тову.

Закључци

Карантин у унутрашњем промету неопходна је подршка раду ветеринарске инспекције у циљу спречавања нелегалног промета животиња. Животиње се стављају у регионалне карантинске објекте ради утврђивања њиховог здравственог статуса.

Иако законом необавезна мера, на захтев власника карантинирају се и новонабављене животиње из других епизоотиолошких подручја пре увођења у постојећу популацију на фармама.

Међудржавним уговорима закљученим са суседним земљама Мађарском, Хрватском, као и осталим чланицама ЕУ, није дозвољен поврат живих животиња у земљу порекла, ни у случајевима утврђивања инфективних болести чије је сузбијање обавезно по закону. Спречавање ширења и ерадикација болести утврђене у карантину спроводи се по националним прописима. Ради спречавања настајања непотребних штета који из овог произилазе неопходна је стална едукација и контакт увозника са надлежном ветеринарском службом пре реализације увоза, а све у циљу превенирања могућих штета као последице утврђивања болести код увезених животиња.

Хармонизацијом ветеринарских сертификата са ЕУ, увођењем информационог система, побољшање услова рада граничних ветеринарских инспектора изградњом новог граничног прелаза по стандардима ЕУ, умногоме је олакшан и убрзан њихов рад. Ипак, искуство из протеклих година налаже да је примена карантина и даље неопходна мера у спречавању ширења инфективних болести транспортом животиња, како у међународном, тако и у унутрашњем промету.

КРОЈЦФЕЛД-ЈАКОБОВА БОЛЕСТ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈЕВА

Снежана Радивојевић, Божидар Љубић, Ивана Беговић-Лазаревић, Мирјана Миленковић

Градски завод за јавно здравље, Београд

Кратак садржај

Прионске болести су фаталне зоонозе са смртним исходом, које карактерише дуга инкубација и прогресивни ток са фаталним исходом, и које представљају озбиљан здравствени проблем. Кројцфелд-Јакобова болест (CJD) је типичан представник прионских болести, а која се доводи у везу са бовином спонгиформном енцефалопатијом - BSE (тзв. болест «лудих крава»). У раду је дат приказ забележених случајева Кројцфелд-Јакобове болести (CJD) у нашој земљи од 1996. до 2013. године, и указано је на озбиљност проблема, као и значај превентивних мера. Према добијеним резултатима, до 2013. године спорадични облици CJD су регистровани код 14 умрлих пацијената. Епидемиолошко испитивање у циљу утврђивања преношења и распрострањености прионских болести и њиховог утицаја на јавно здравље је отежано због компликованог поступка дијагностике обољења (патохистолошки преглед мозга и кичмене мождине преминулих), сложене и често нетипичне клиничке слике, која диференцијално дијагностички подсећа на друга дегенеративна неуролошка обољења са дугим периодом инкубације. У спречавању и сузбијању прионских болести значајно је спровођење превентивних мера.

Кључне речи: прионске болести, прион, CJD, BSE

CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE - CASE STUDY

Snežana Radivojević, Božidar Ljubić, Ivana Begović-Lazarević, Mirjana Milenković

City institute for public health, Belgrade

Abstract

Prion diseases are dangerous zoonotic diseases with fatal outcome and represent serious health problem. The causes are prions (proteinaceous infectious particles - PrP), which consist of proteins from which they got their name. Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), a typical representative of prion diseases, early nineties becomes current and is associated with bovine spongiform encephalopathy - BSE (the disease, «mad cow»). This paper gives an overview of recorded cases CJD in Serbia from 1996 to 2013, and indicates the seriousness of the problem and the importance of preventive measures. In the area of Serbia by 2013. were reported 14 cases of CJD (sporadic cases). Epidemiological investigation in order to determine the transmission and spread of prion diseases and their impact on public health is difficult because of the complicated diagnostic procedures (histopathological examination of the brain and spinal cord of deceased), complex and often atypical clinical symptoms, differential diagnosis resembles of other degenerative neurological diseases and long incubation period. In the prevention and suppression of prion disease is important to the implement of preventive measures.

Key words: prion diseases, prion, CJD, BSE, Belgrade

УВОД

Кројцфелд-Јакобова болест (CJD) и остале прионске болести су крајем прошлог века постале актуелан проблем широм света због њиховог недавног јављања у епидемијској форми и прогредирајућег тока на који данашња медицина нема никакав утицај. Кројцфелд-Јакобова болест је најчешћа спонгиоформна енцефалопатија у људи коју карактеришу патолошке манифестације које захватају искључиво ЦНС, дуга инкубација и прогресивни ток са леталним исходом. Болест је узрокована инфективним протеинским честицама званим прионима (PrP) (1,2,3).

Почетком деведесетих година CJD постаје актуелна, с обзиром на запажање које ову болест доводи у везу са бовином спонгиоформном енцефалопатијом (BSE). Појава спонгиоформне енцефалопатије говеда, често означене као „болест лудих крава" први пут је забележена 1986. године у Великој Британији. Узрок обољења је сточна храна (месно-коштано брашно) која је потицала од оваца инфицираних скрепијем. Ова болест се повезује са појавом обољења код људи и то новом варијантом Кројцфелд-Јакобове болести (vCJD) (2,4).

CJD се може јавити спорадично или ређе, фамилијарно, а инциденција износи око један случај на милион становника. Обично се јавља између 55-75 године живота, а уочена је у преко 50 земаља света. Не постоје разлике везане за пол, а инкубација може трајати до 20 година. Болест траје 4-12 месеци након испољавања клиничких симптома, а код 5-10% случајева траје преко две године. Од 1990. до 2000. године дошло је до пораста инциденције CJD у односу на раније године. Појава vCJD описана је у Великој Британији, а касније и у другим земљама Европе (5).

Клинички, нова варијанта се разликује од класичне CJD по томе што од ње оболевају млађе особе (од 16-50 година живота) са атипичном клиничком сликом и дужим током болести (2,6,7). Код оболелих долази до конверзије нормалних прионских протеина (PrP) у патолошке форме PrP. Патогени прионски протеин код vCJD се разликује од оног код CJD по проценту нискомолекуларних гликооблика (8,9).

До сада су доказана два начина инфекције код људи: пероралним уношењем заражених људских остатака (куру) и јатрогеним путем (интрамускуларним инјекцијама хормона и имплантацијом заражених трансплантата, односно употребом заражених медицинских инструмената) (10). Осетљивост према узрочнику је општа, али се појава у породици углавном везује наслеђеним генетским разликама везаним за осетљивост према узрочнику.

За спречавање и сузбијање прионских болести значајно је благовремено предузимање свих потребних мера.

Ситуација у свету

Први случајеви BSE болести откривени су 1986. године у Великој Британији, а до 2001. године забележено је преко 180.000 случајева ове болести. BSE случајеви су регистровани и у Ирској, Португалији, Швајцарској, Француској, Немачкој, Белгији, Холандији, Шпанији, Данској, Италији, Словачкој, Чешкој, Словенији, Финској и Аустрији.

До сада је у свету од vCJD умрло преко 100 људи, од чега преко 80 у Великој Британији, а остали у Републици Ирској, Француској, Румунији и Италији (11).

Од 1988. године у Великој Британији је забрањена прерада и употреба животињских отпадака од угинуле стоке у исхрани домаћих животиња, а од 1991. године постоји обавеза пријављивања појаве BSE случајева.

Процењује се да ће у будућности у свету од нове варијанте Кројцфелд-Јакобове болести оболети између 100 хиљада и милион људи. До 2020. године од „крављег лудила" могло би умрети од 60 до 140 хиљада инфицираних Енглеза (Натуре, 2000).

Тренутно није могуће утврдити колико је људи заражено, као ни стоке. Широм

света се раде интензивна истраживања приона и прионских болести, чему је допринео нагли развој савремених дијагностичких метода. Проблем је у дужини трајања истраживања, јер је потребно дуго време за добијање резултата.

ЦИЉ РАДА

У раду је дат приказ забележених случајева CJD у нашој земљи од 1996. до 2013. године, анализирана је епидемиолошка ситуација прионских болести у свету и код нас и указано је на озбиљност проблема и значај превентивних мера.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Као извор података коришћене су пријаве обољења, медицинска документација оболелих, резултати активних епидемиолошких испитивања и подаци из литературе. У раду је примењен дескриптивни епидемиолошки метод.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У нашој земљи до сада нису вршена систематска регистровања прионских обољења.

Први случајеви породичног облика CJD регистровани су 1997. године код три умрла члана породице у Новом Саду. До 2013. године спорадични облици CJD регистровани су код још 11 умрлих пацијената: два у Панчеву 1996. и 1997. године, један у Новом Саду 1998. године, по један у Нишу и Новом Пазару 2002. године и шест у Београду (2003. - 2 случаја, 2004. - 1, 2012. - 2 и 2013. - 1) (графикон 1).

Графикон 1. Географска дистрибуција случајева CJD

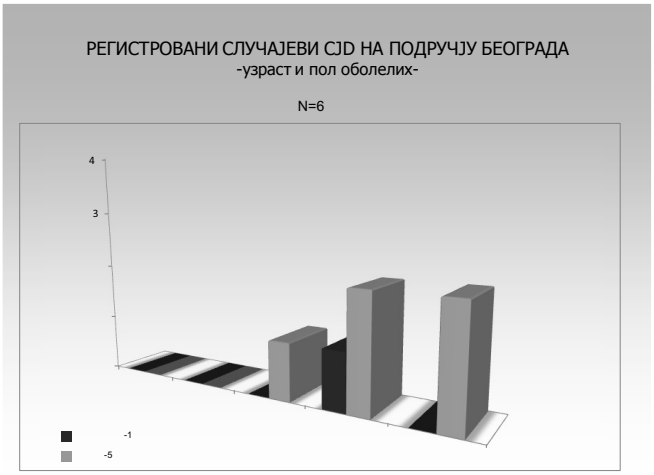
Код 8 од 14 умрлих пацијената дијагноза је утврђена обдукцијом, а код једног и имунохистохемијским бојењем са моноклоналним антиприонским антителом (3 F_4) које је обављено на Одељењу за неуропатологију Универзитета у Лондону.

На подручју Београда од 2003. до 2013. године пријављено је 6 случајева CJD (спорадични случајеви), један случај обољења и 5 случајева сумње (табела 1)

Табела 1. Пријављени случајеви CJD на подручју Београда, 2003-2013.

Година	Број оболелих	%
2003	2	33,3
2004	1	16,7
2005	-	-
2006	-	-
2007	-	-
2008	-	-
2009	-	-
2010	-	-
2011	-	-
2012	2	33,3
2013	1	16,7
Укупно	6	100,0

Према узрасту све оболеле особе су старости преко 50 година. Учешће оболелих особа женског пола износи 83,3%, а мушкараца 16,7% (графикон 2).



Графикон 2. Регистровани случајеви ЦЈД у Београду у односу на узраст и пол

Од 6 пријављених случајева (хоспитализовани болесници), 5 је из Београда, а један са територије Србије (графикон 3).

Графикон 3. Регистровани случајеви ЦЈД у Београду по општинама

Код свих оболелих забележен је смртин исход. Дијагноза пријављених случајева CJD обдукционо је потврђена само код једне преминуле особе.

Могући ризик заражавања код једне особе је конзумирање мозга мајмуна пре више од 15 година (током боравка у Кини). Један оболели је дуги низ година радио у Немачкој, а остали оболели су 10-15 година пре обољевања краће или дуже време боравили у иностранству (Лондон, Индија).

Након појаве првих случајева vCJD у нашој земљи је 2002. године донета наредба о предузимању мера за спречавање уношења заразне болести животиња спонгиформне енцефалопатије говеда (BSE) из земаља ЕУ у којима су регистровани случајеви BSE. Према званичним подацима у нашој земљи до сада није регистрован ниједан случај BSE.

ЗАКЉУЧАК

Прионске болести су фаталне зоонозе са смртним исходом које представљају озбиљан здравствени проблем у свету и код нас. Епидемиолошко испитивање у циљу утврђивања преношења и распрострањености прионских болести и њиховог утицаја на јавно здравље је отежано због компликованог поступка дијагностике обољења (патохистолошки преглед мозга и кичмене мождине преминулих), сложене и често нетипичне клиничке слике, која диференцијално дијагностички подсећа на друга дегенеративна неуролошка обољења са дугим периодом инкубације. У спречавању и сузбијању прионских болести значајно је спровођење превентивних мера, у складу са законском регулативом.

Најважније мере у спречавању настанка и уноса заразе у земљу су: забрана употребе протеина преживара у припреми животињске хране, анализа ткива говеда намењена јавној потрошњи, одбацивање високоризичних ткива говеда у кланицама, обавезно пријављивање свих случајева бовине спонгиформне енцефалопатије и надзор над увозом говеда и говеђег меса искључиво из земаља у којима нема регистроване болести „лудих крава“.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Диклић В., 1998, Прионска обољења централног нервног система, Медицински факултет, Нови Сад. 2. Марковић М., 2004, Прионе и прионске болести. Матурални рад. Пула. 3. Prusiner SB, 1987, Prions and neurodegenerative diseases. N Engl J Med.; 317.1571-81. 4. Tateishi J, Kitamoto T, Hoque MZ et al., 1996, Experimental transmission of Creutzfeldt - Jakob disease and related diseases to rodents. Neurology. 5. Савезни завод за заштиту и унапређење здравља, 2001, Извештај поводом актуелне епидемиолошке ситуације Кројцфелд-Јакобове болести. 6. Bielen I, Dugonjić A, Vukadin S, Hlavka V., 1997, Differences betwen sporadic CJD and a newly recognized variant of disease, Neurol Croat, 46:49-57. 7. Telarović S., Vejnović B., Marković D., Pažanin L., Maračić L., 1999, Sporadic Creutzfeld-Jacob disease and diagnostic accuracy of electroencephalography. Neurol Croat.;48:99-104. 8. Mastriani JA, Curtis MT, Oberholtzer JC et al., 1995, Prion disease presenting with ataxia instead of dementia. Neurology. 9. Hsiao K. Prusiner SB., 1990, Inherited human prion diseases. Neurology. 10. Gajdusek DC., 1977, Unconventional viruses and disappearance of Kuru, Sience. 11. Will RG, Ironside JW, Zeidler M et al., 1996, A new variant of Creutzfeldt-Jakob diseases in the UK. Lancet.

Пленарни радови

---

4. ЗАСЕДАЊЕ

1. ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ ИНФЕКЦИЈЕ PCV-2 У ИНТЕНЗИВНОМ УЗГОЈУ СВИЊА

2. MYCOPASMA HYOPNEUMONIAE И PRRSV – УТИЦАЈ НА ЗДРАВЉЕ РЕСПИРАТОРНИХ ОРГАНА СВИЊА

3. УЛОГА ПРОТЕОМСКИХ АНАЛИЗА У РАЗЈАШЊЕЊУ ЕТИО-ПАТОГЕНЕЗЕ МАСНЕ ЈЕТРЕ КРАВА

4. ДИСТРИБУЦИЈА ЗВЕЗДАСТИХ ЋЕЛИЈА ЈЕТРЕ И ЊИХОВА УЛОГА У НАСТАНКУ ПАРАЗИТСКЕ ФИБРОЗЕ И ЦИРОЗЕ ЈЕТРЕ КОД ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА

5. ИСПИТИВАЊЕ ИНСУЛИНСКЕ РЕЗИСТЕНЦИЈЕ КОД КРАВА У ТОПЛОТНОМ И МЕТАБОЛИЧКОМ СТРЕСУ

6. УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ АНТИКОАГУЛАНСА НА ВРЕДНОСТ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА У КРВИ КОД КРАВА

7. КОНЦЕНТРАЦИЈА СЕЛЕНА У МЛЕЧНОМ СЕРУМУ КРАВА У РАНОЈ И СРЕДЊОЈ ЛАКТАЦИЈИ

8. TORSIO UTERI КОД КРАВЕ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

9. МОФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТКИВА ЈЕТРЕ КОД КРАВА У РАНОЈ ЛАКТАЦИЈИ

ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ ИНФЕКЦИЈЕ PCV2 У ИНТЕНЗИВНОМ УЗГОЈУ СВИЊА

Mathias Ritzmann

Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

Кратак садржај

Porcine circovirus тип 2 (PCV-2) је главни узрочник групе обољења које се називају *porcine circovirus diseases* (PCVD), а од којих највећи економски значај у интензивном узгоју има *post weaning multisystemic wasting syndrome* (PMWS).

Актуелна стратегија превенције већег броја обољења против PCVD, као што су PMWS или PRDC (*porcine respiratory disease complex*), подразумева вакцинацију против PCV-2. Основно питање успешне вакцинације је одредити најповољнији тренутак за апликацију вакцине. Вакцинација се мора спроводити заједно са осталим мерама за унапређење фармског менаџмента, па стратегију вакцинације за сваку фарму треба посебно одредити. Резултати серолошких анализа су често непрецизни и стога тешки за интерпретацију, па се qPCR сматра једином поузданом методом.

Сматра се да је вакцинација најефикаснија када се спроводи код прасади узраста од три до четири недеље, мада постоје фарме које спроводе вакцинацију и са 10 недеља старости, односно пред улазак у тов, или у првој недељи живота, као рану вакцинацију. Време вакцинације најбоље се одређује на основу висине титра IgG и IgM у крвном серуму прасади. Резултати qPCR показују да се ток виремије код прасади битно разликује од фарме до фарме. Та чињеница је јако битна за одређивање најповољнијег тренутка за вакцинацију.

Могућност спровођења истовремене вакцинације против PCV-2 и PRRSV (*Porcine reproductive and respiratory syndrome*) је веома важна јер се виремије могу појавити у исто време. Велики број животиња пролази кроз касну инфекцију у току това, али често су прасад већ у току дојног периода позитивна на *Mycoplasma hyopneymoniae*. Резултати ефиксаности вакцине показују да вакцинисана у односу на невакцинисану прасад показује већи дневни прираст. Подаци о употреби терапије антибиотицима код вакцинисане и невакцинисане прасади су оскудни али многе студије указују да је код вакцинисаних јединки смањена примена антибиотика.

Поређењем ефеката вакцинације између прасади вакцинисаних треће недеље живота и прасади која су имунизована само вакцинацијом гравидних крмача, утврдило се да се пик виремије код прасадих имунизованих вакцинацијом крмача дешава у 19. недељи живота, односно 3 недеље касније од пика виремије код прасади вакцинисаних у 3. недељи. Прираст се није разликовао до 13. недеље а касније је био нешто већи код прасади вакцинисане у 3. недељи.

С обзиром да је искорењивање PCV-2 неостваривo у скорије време, вакцинација против ове болести је реална будућност.

Кључне речи: свиње, *porcine circovirus* тип 2, контрола

MYCOPASMA HYOPNEUMONIAE И *PRRSV* - УТИЦАЈ НА ЗДРАВЉЕ РЕСПИРАТОРНИХ ОРГАНА КОД СВИЊА

Isabel Hennig-Pauka

Клиника за свињарство, Ветеринарски универзитет Беч, Аустрија

Кратак садржај

Болести органа за дисање у запатима свиња, и поред постојања комерцијалних вакцина против већине релевантних патогена, су учестале. Ове болести су готово увек мултифакторијалног карактера, па није увек јасно који од детектованих патогена има највећи значај у етиопатогенези болести. Неспецифични предиспонирајући чиниоци имају битну улогу у развоју болести. Економски губици при појави ових обољења су велики.

Најважнији узрочници респираторних обољења код свиња су *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus* (PRRSV), *Mycoplasma hyopneumponiae (M. hyo)*, вирус инфлуенце, *Actinobacillus pleuropneumoniae* и инфестације нематодама. Прва два наведена узрочника су најчешћи примарни узрочници.

M. hyo. у почетној фази инфекције оштећује трепљасти епител горњих дисајних органа, док PRRSV оштећује алвеоларне макрофаге. Код заједничких инфекција са PRRSV и *M. hyo*. клинички симптоми су тежи и дуготрајнији него код моноинфекција. Инфекције са *M. hyo*. изазивају постепени развој болести са високим степеном морбидитета и ниским морталитетом. Патоген се не може елиминисати имунолошким системом и преноси се у виду капљичне инфекције. Клинички симтоми су појачани када је инфекција са *M. hyo*. удружена са инфекцијом са *Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida,* PCV2, *Aujeszky* вирусом и инфлуенцом.

При инфекцији са PRRS клинички симптоми болести су изражени, поготово ако је инфекција удружена са *Haemophilus parasuis, Streptococcus suis,* PCV-2, вирусом инфлуенце и *Aujeszky* вирусом. Респираторни облик инфекције са PRRSV погађа пре свега прасад након залучења. Пошто је патоген у већини запата ендемски присутан, циљ је да се здравствени статус животиња стабилизује стварањем што уједначенијег имунолошког статуса прасади и прекидом инфективног ланца. У том смислу је на фармама неопходно физичко одвајање различитих категорија.

У циљу класификовања фарми у зависности од њиховог PRRS статуса, неопходно је извршити серолошку анализу (ELISA) пре свега код крмача различитих паритета, као и анализу на присутво вируса код прасади уз помоћ реакције ланчане полимеразе (PCR). Додатно се унапређење имунолошког статуса јединки у запату може постићи правовременом вакцинацијом крмача и прасади. Употреба различитих вакцина против оба патогена показала се као веома делотворна. Са постојећим вакцинама против *M. hyo*. и PRRSV могу се ублажити клинички симптоми болести али се инфекција не може спречити. У зависности од самог запата и претпостављеног тренутка инфекције, могу се препоручити различите шеме вакцинације. Анализе носног секрета, тонзиларног и плућног лавата су значајне за одређивање оптималног тренутка вакцинације. Вакцинација прасади у току дојног периода показује позитиван ефекат. Рана вакцинација у првој недељи живота има предност, јер већина прасади може започети са развојем специфичног активног имунолошког одговора пре првог контакта са патогеном. То је предност, јер је могуће да се у узрасту од 5. до 10. недеље живота,

патоген у великој мери умножи и прошири у популацији прасади, која је тада у фази одгоја. Ако је прасад у прасилишту инфицирана са мањим количинама патогена, она могу оболети касније, када ниво матерналних антитела опадне. Различитим стратегијама вакцинације (двократна вакцинација у првој и трећој недељи живота или једнократна вакцинација у трећој недељи) се приступа због разлика између појединих запата у односу на тренутак инфекције, као и разлика у интензитету имунолошког одговора мајки и периода интензивног ширења патогена у популацији. Вакцинација прасади непосредно пред залучење, касна вакцинација, има за последицу постизање високе концентрације специфичних антитела управо у фази одгоја. За одређивање преваленце патогена унутар запата и за проверу ефикасности спроведених мера препоручљив је преглед плућа на линији клања. Да би се против PRRSV остварила адекватна заштита, неопходно је поред крмача вакцинисати и прасад најмање 3 недеље пре очекиваног контакта са вирусом. Вакцинација прасади има посебно стабилизирајући ефекат на имунолошки статус ако је у тренутку вакцинације до 20% прасади инфицирано PRRS вирусом.

У закључку, на успешност вакцинације и ток инфекције PRRSV у запату значајан утицај имају услови држања, рад фармера, менаџмент на фарми, амбијентални услови, као и коректно спровођење имунопрофилаксе. Спровођењем „плана од 20 тачака по Мадеку" који је направљен са циљем боље контроле PCV-2, може се постићи дугорочан позитиван утицај на здравље респираторних органа свиња у запату.

Кључне речи: свиње, болести респираторних органа, *M. hyo*, PRRSV

УЛОГА ПРОТЕОМСКИХ АНАЛИЗА У РАЗЈАШЊЕЊУ ЕТИОПАТОГЕНЕЗЕ МАСНЕ ЈЕТРЕ КРАВА

Данијела Кировски, Милица Ковачевић-Филиповић, Иван Вујанац, Радиша Продановић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Масна јетра је једно од најчешћих обољења крава у раној лактацији. Познавање механизама који доводе до престројавања енергетског метаболизма у ткиву јетре, у условима негативног биланса енергије, може у великој мери да разјасни етиопатогенезу масне јетре, а тиме да и донесе решења о превентиви, односно терапији овог обољења. Анализа ткива јетре уз помоћ протеомике омогућава идентификовање свих протеина присутних у ткиву, а не само појединих, као што је био случај употребом конзервативних метода. Анализом ткива јетре здравих и крава оболелих од масне јетре утврђена је разлика у експресији великог броја ензима укључених у метаболизам масти, угљених хидрата, протеина али и калцијума. Тумачењем ових разлика стиче се нови увид у етиопатогенезу замашћења јетре крава, која укључује не само поремећај у енергетском, већ и у минералном метаболизму јединке.

Кључне речи: крава, масна јетра, протеомика

THE ROLE OF PROTEOMIC ANALYSIS IN A NOVEL APPROACH TO UNDERSTAND THE FATTY LIVER ETIOPATHOGENESIS IN COWS

Danijela Kirovski, Milica Kovačević-Filipović, Ivan Vujanac, Radiša Prodanović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Fatty liver is one of the most common diseases in early lactating cows. Understanding the mechanism which realign the energy metabolism in hepatic tissue during the negative energy balance may clarify etiopathogenesis of fatty liver and leads to finding a solution for prevention and therapy. Proteomic analyses of hepatic tissue allow identification of all not only a few proteins present in tissue which was a case when conservative techniques were used. By analyzing of hepatic tissue of healthy and diseased animals the difference in expression of enzymes involved in fat, carbohydrate, protein as well as calcium metabolism was observed. Understanding of these differences leads to novel explanation of etiopathogenesis of fatty liver which includes disturbances not only in energy but mineral metabolism, too.

Key words: cows, fatty liver, proteomics

Увод

Масна јетра је једно од најчешћих обољења крава у раној лактацији. Јавља се као последица изразитог негативног биланса енергије (НЕБ) који се често јавља код високомлечних крава одмах после телења. НЕБ се развија зато што је, због растуће производње млека, вишеструко повећана потреба јединке за енергијом, коју она не може да надокнади уносом хране, јер је апетит крава у том периоду значајно смањен. Као последица тог дисбаланса долази до поремећаја у енергетском метаболизму, које има за последицу развој различитих метаболичких обољења, а пре свега масне јетре. Наиме, у условима изразитог НЕБ, повећава се мобилизација масти из телесних депоа, а тиме и концентрација неестерификованих масних киселина (НЕФА) у крви, односно хепатоцитима (1). Као што је познато, приспеле НЕФА у хепатоцитима имају тројак пут: потпуна оксидација до угљен диоксида и воде, делимична оскидација уз стварање кетонских тела (кетогенеза) и синтеза триглицерида (липогенеза). Познавање механизама који усмеравају НЕФА ка једном од ова три метаболичка пута може у великој да мери разјасни етиопатогенезу масне јетре, а тиме и да донесе решења о превентиви односно терапији овог обољења.

Биохемијска основа поремећаја енергетског метаболизма крава оболелих од замашћења јетре

Познато је да је пораст концентрације НЕФА у крви, а који је последица неконтролисане липомобилизације у условима НЕБ-а, основни фактор који доводи до замашћења јетре. Наиме, пораст концентрације НЕФА у хепатоцитима, који је директно пропорционалан порасту њихове концентрације у крви, доводи до пораста степена кетогенезе и липогенезе у хепатоцитима (2). Још је Кребс (3) поставио хипотезу да се у условима гладовања, односно енергетског дефицита, а због смањене доступности оксалацетата у митохондријама, ацетил КоА усмерава ка метаболичком путу делимичне оксидације и ставарању кетонских тела. Створена кетонска тела у вишку, а превасходно висока концентрација бета хидроксибутерне киселине (БХБА), делују инхибиторно на даљу бета оксидацију масних киселина (2,4).

Међутим, иако је опште прихваћена Кребсова теорија да је узрок кетозе ниска концентрација оксалацетата, разлог који је наведен као узрок те ниске концентрације није прихваћен од стране одређеног броја истраживача (5). Наиме, Кребс претпоставља да је у условима потхрањености, интензитет глуконеогенезе повећан, због чега долази до преусмеравања прекурсора. Неки аутори су, међутим, показали да је степен глуконеогенезе непромењен у случајевима пораста концентрације кетонских тела (6). Такође је доказано да је активност фосфоенолпируват карбоксилазе (PEPCK - енгл. *phosphoenolpyruvate carboxykinase*) у митохондријама и цитоплазми непромењена код кетозе крава, као и да је интензитет глуконеогенезе значајно смањен код животиња које гладују (6). Сматра се да се ниска концентрација оксалацетата успоставља због значајно повишеног односа NADH и NAD^+ у митохондријама у односу на цитоплазму, што условљава минимално формирање PEPCK у митохондријама у случају кетогенезе, а тиме и смањење интензитета глуконеогенезе (5).

Протеомика - нове методе у испитивањима биохемијских процеса у организму

Протеомика обухвата различите методе које имају за циљ проучавање свих протеина који чине ћелију, ткива или читав организам у различитим физиолошким, односно патолошким стањима. Узорци који се анализирају могу бити различите телесне течности и ткива. Овим методама могуће је идентификовање свих протеина који се налазе у испитиваним узорцима, као и утврђивање разлика између узорка здравих и болесних животиња. Посебан значај протеомике је у томе што је могуће анализирати одговор свих протеина једне ћелијске популације, а не само једног, два или неколико протеина.

Протеомика се развила уз помоћ технологија које омогућавају раздвајање великог броја протеина (дводимензионална електрофореза, хроматографија), уз помоћ развоја масене спектрометрије (MS - енгл. *mass spectrometry*) и постојања база података везаних за секвенце појединачних протеина. Брзина и број резултата који се добијају употребом масене спектрометрије је изузетно велики, јер се за кратко време може добити информација о више стотина или хиљада протеина који се налазе у изабраном узорку (7).

Протеомске анализе ткива јетре крава оболелих од замашћења јетре

D'Ambrosio и сарадници (8) су употребом 2D електрофорезе начинили мапу протеома јетре говеда. Протеом јетре говеда узорковане биопсијом ткива јетре краве Холштајн Фризијске расе, а који је добијен коришћењем комбинације две технике (MALDI-MS - енгл. *Matrix assisted laser desorption/ionization,* MS - енгл. *mass spectrometry* и LC - енгл. *Liquid chromatography-mass spectrometry*), састојао се од 112 видљиих тачака на мапи протеома које су одговарале укупном броју од 58 различитих протеина. На тај начин је постављена полазна основа за испитивање ефеката различитих патолошких стања на свеукупан метаболизам у јетри говеда.

Тако је показано да се код различитих метаболичких обољења говеда која се превасходно односе на поремећај енергетског метаболизма, драстично мења протеом јетре, узимајући у обзир да је јетра главно место синтезе метаболита одговорних за одржавање енергетског биланса јединки.

Xu и сарадници (9) су анализирајући ткиво јетре уз помоћ протеомике, утврдили да је у јетри крава оболелих од кетозе промењена експресија пет ензима/протеина. Присуство 3-хидроксиацил КоА дехидрогеназе типа 2 (HCDH - енгл. *3-hydroksyacil-CoA dehydrogenase type-2*), која је одговорна за бета оксидацију масних киселина, је смањена код кетозних крава. Висока концентрација ацетил КоА код клиничке форме кетозе инхибира бета оксидацију масних киселина инхибицијом активности HCDH у јетри крава. Због смањења бета оксидације масних киселина, даље се смањује активност HCDH, што даље отежава бета оксидацију масних киселина у јетри (10). Иако је на почетку повећане липомобилизације и пораста концентрације ацетил КоА активност ацетил КоА ацетилтрансферазе тип 2 (ACAT - енгл. *acetyl-CoA acetyltransferasa 2*) повећана (11), касније, са развојем клиничке форме кетозе, њена активност опада. Тиме се смањује превођење ацетил КоА у кетонска тела и он се акумулира у хепатоцитима. Због смањене оксидације масних киселина у ткиву јетре крава са кетозом, а касније и због смањеног стварања кетонских тела, долази до нагомилавања масних киселина у хепатоцитима (12), што има за последицу липидозу јетре. Grum и сар (4) и Cadórniga-Valiño и сар (2) су закључили да висока концентрација кетонских тела смањује степен бета оскидације масних киселина, а да висока концентарција НЕФА повећава липогенезу у јетриним ћелијама (2,4).

Фактор елонгације *Tu* је значајан у процесу биосинтезе протеина. Xu и сарадници (9) су утврдили смањену експресију фактора елонгације *Tu*, указујући на смањену синтезу протеина и преусмеравање аминокиселина ка другим метаболичким путевима. Познато је да су током ране лактације квантитативно најзначајнији субстрати глуконеогенезе глукогене аминокиселине (13,14). Највероватнији узрок смањења синтезе протеина код масне јетре је преусмеравање аминокиселина ка путу глуконеогенезе или ка Кребсовом циклусу (15). Због преусмеравања аминокиселина у Кребсов циклус долази до стварања значајних количина АТП-а (15,16). Митохондрије су главна места синтезе фосфокреатина у ткивима. Систем креатин киназа (17) катализује реакцију стварања фосфокреатина из молекула АТП-а. У студији Xu и сарадника (9) експресија креатин киназе је била повишена у јетри кетозних крава, што указује да се вишак АТП-а, произведеног у Кребсовом циклусу, депонује у форми фосфокреатина, највероватније због смањене потребе ћелија у којима је инхибирана синтеза протеина,

за АТП-ом. Нагомилавање 5-АМР-активисане протеин киназе (АМРК - енгл. *5-AMP-aktivated protein kinase*) у ћелијама зависи од енергетског статуса хепатоцита (18), а њена активност утиче на степен оскидације масних киселина, метаболизам глукозе и хомеостазу калцијума (19) и тако утиче и на унос хране. Такође, утврђено је да је при активацији АМРК промењена: а) активност рецептора које активирају умножавачи пероксизома (PPAR - енгл. peroxisome proliferator-activated receptor) и б) активност карнитин палмитоил трансферазе (CPT-1 - енгл. *carnitine palmitoyltransferase-1*), тј молекула који су укључени у оксидацију масних киселина (20). Њихова активност промењена је и код замашћења јетре (21). Xu и сарадници (9) су утврдили пораст активности алфа енолазе, ензима укљученог у процес глуконеогенезе. У периоду ране лактације, главни супстрат за глуконеогенезу су глукогене аминокиселине (13).

Xu и Wang (22) су испитивали промене у експресији протеина јетре током вештачки индуковане кетозе, једног од најзначајнијих метаболичких обољења високомлечних крава. Користећи 2D и MALDI-TOF-TOF технику утврдили су да је код кетозних крава дошло до промене у експресији 38 протеина јетре који су углавном одговорни за одвијање енергетског метаболизма јединке. Тако је утврђено да је код кетозних крава промењена експресија ензима који учествују у метаболизму угљених хидрата, масних киселина, аминокиселина, протеина, масти и нуклеотида.

Kuhla и сарадници (23) су, коришћењем 2D и MALDI-TOF-MS технике, испитивали измене у протеому јетре код крава оболелих од масне јетре и утврдили да је 34 протеина јетре измењено при појави овог метаболичког обољења. То су превасходно ензими укључени у метаболизам масти, угљених хидрата и протеина. Тако су, када је у питању метаболизам угљених хидрата, они утврдили смањену активност ензима значајних за процес глуконеогенезе (фосфопируват карбоксилазе и пируват киназе). Установили су смањену активност ензима β-оксидације масних киселина (ацил КоА дехидрогеназе и Ацил-КоА ацилтрансферазе 2) као и смањену експресију везујућих протеина за масне киселине, што је све довело до смањене разградње масних киселина које су биле преусмерене у процес реестерификације, односно синтезе триглицерида јетре. Када је у питању метаболизам протеина у јетри крава оболелих од масне јетре утврђен је пораст активности аргиназе 1 и аргиносукцинат синтетазе, што је указало на појачану разградњу аминокиселина, као и појачану синтезу урее у хепатоцитима. Додатно у јетри ових крава је установљено смањење активности пероксиредоксина 6 који штити хепатоците од оксидативног стреса, као и модификација цитоскелета одговорног за транспортовање липида из јетре. Потпуну новину када је у питању разматрање патогенезе замашћења јетре код крава представља запажање ових аутора о променама ензима који учествују у активирању сигналног пута калцијума. Наиме, они су утврдили пораст активности регукалцина за 1,3 до 1,5 пута, пораст активности анексина, као и везујућег протеина за калцијум, који је по активности сличан калмодулину, што је све довело до пораста концентрације интрацелуларног калцијума у хепатоцитима. Познато је да је калицјум неопходан за одвијање кључних метаболичких процеса у ћелији, као глуконеогенезе, па ово откриће отвара могућност новог начина сагледавања патогенезе замашћења јетре и кетозе код крава. Узимајући у обзир чињеницу да се већина метаболичких путева одговорних за енергетски метаболизам одвија у митохондријама, новија истраживања везана за разјашњење патогенезе метаболичких болести усмерена су углавном на испитивање протеома митохондрија (24).

Закључак

Последњих година је доста изучавана етиопатогенеза кетозе и долазило се до контрадикторних мишљења. Истраживања везана за протеомску анализу ткива јетре код крава оболелих од метаболичких болести су врло оскудна, а понекад и контрадикторна. Ова истраживања могу да дају јако пуно информација о метаболичком профиле јетре код крава оболелих од замашћења јетре. Мора се напоменути да је већина промена у експресији ензима јетре код крава оболелих од масне јетре утврђена употребом протеомских анализа била позната и применом «конзервативних» метода али је тада за њихово откривање било потребно дуготрајно насумично испитивање малог броја оних протеина за које се унапред претпоставило да би могли бити промењени код замашћења јетре. Применом протеомике, омогућено је сагледавање промена у једном ткиву са различитих аспеката, који највероватније не би били анализирани током примене «конзерватних» метода испитивања. На тај начин се убрзава свеобухватно сагледавање промена у ткивима током неког патолошког процеса. Са аспекта физиологије и патофизиологије, тај приступ је потпуно оправдан, с обзиром да организам увек функционише као целина, а не као низ изолованих процеса.

Захвалница: *Овај рад је урађен у оквиру Пројекта III 46002 финансираног од стране Министратва просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bobe G, Young JW, Beitz DC, 2004, Invited Review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows, J. Dairy Sci. 87, 3105-24. 2. Cadórniga-Valiño C, Grummer RR, Armentano LE, Donkin SS, Bertics SJ, 1997, Effects of fatty acids and hormones on fatty acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. J. Dairy Sci. 80, 646-56. 3. Krebs HA, 1966, Bovine ketosis, Vet. Rec. 78, 187-92. 4. Grum DE, Drackley JK, Younker RS, LaCount DW, Veenhuizen JJ, 1996, Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows, J. Dairy Sci. 79, 1850-64. 5. Zammit VA, 1990, Ketogenesis in the liver of ruminants-adaptations to a challenge, J. Agric. Sci. 115, 155-62. 6. Kronfeld, DS, 1969, Excess gluconeogenesis and oxaloacetate depletion in bovine ketosis, Nutr. Review 27, 131-3. 7. Kovačević-Filipović Milica, Kirovski Danijela, 2014, Proteomika u veterinarskoj medicini, Zbornik predavanja sa XXXIII seminara za inovacije znanja veterinara, Beograd, 3-20. 8. D'Embrosio C, Arena S, Talamo F, Ledda L, Renzone G, Ferrara L, Scaloni A, 2005, Comparative proteomic analysis of mammalian animal tissue and body fluids: bovine proteome database, J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 815, 157-68. 9. Xu C, Wang Z, Liu G, Li X, Xie G, Xia C, Zhang H, 2008, Metabolic Characteristic of the liver of dairy cows during ketosis based on comparative proteomics, Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21, 7, 1003-10. 10. Murondoti A, Jorritsma R, Beynen AC, Wensing T, Geelen MJ, 2004, Unrestricted feed intake during the dry period impairs the postpartum oxidation and synthesis of fatty acids in the liver of dairy cows, J. Dairy Sci. 87, 672-9. 11. Treberg JR, Crockett EL, Driedzic WR, 2006, Activation of liver carnitine palmitoyltransferase-1 and mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase is associated with elevated ketone body levels in the elasmobranch Squalus acanthias, Physiol. Biochem. Zool. 79, 899-908. 12. Jonas R, Huth W, 1978, Acetyl-CoA acetyltransferase from bovine liver mitochondria. Molecular properties of multiple forms. Biochem. Bioph. Acta 527, 379-90. 13. Danfaer A, Tetens V, Agergaard N, 1995, Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants, Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol. 111B, 201-10. 14. Adachi N, Kusuhara T, Nonaka I, Terada F, 2006, Effect of close-up dry period protein level on preparturiental nitrogen balance and lactating performance of primigravid and multiparous holstein cows, Asian-

Aust. J. Anim. Sci. 19, 831-6. 15. Ingvartsen KL, 2006, Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases, Anim. Feed Sci. Technol. 126, 175-213. 16. Lee HJ, Khan MA, Lee WS, Kim HS, Ki KS, Kang SJ, Hur TY, Khan MS, Choi YJ, 2008, Growth, blood metabolites, and health of holstein calves fed milk replacer containing different amounts of energy and protein, Asian- Aust. J. Anim. Sci. 21, 2, 198-203. 17. Saks VA, Chernousova GB, Gukovsky DE, Smirnov VN, Chazov EI, 1975, Studies of energy transport in heart cells. Mitochondrial isoenzyme of creatine phosphokinase: kinetic properties and regulatory action of Mg2+ ions, Eur. J. Biochem. 57, 273-90. 18. Oba M, Allen MS, 2003, Effects of intraruminal infusion of sodium, potassium,and ammonium on hypophagia from propionate in lactating dairy cows, J. Dairy Sci. 86, 1398-1404. 19. Gonzalez AA, Kumar R, Mulligan JD, Davis AJ, Weindruch R, Saupe KW, 2004, Metabolic adaptations to fasting and chronic caloric restriction in heart, muscle, and liver do not include changes in AMPK activity, Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 287, E1032–E1037. 20. Velasco G, Go´mez del Pulgar T, Carling D, Guzma´n M, 1998, Evidence that the AMP-activated protein kinase stimulates rat liver carnitine palmitoyltransferase I by phosphorylating cytoskeletal components, FEBS Lett. 439, 317-20. 21. Dann HM, Drackley JK, 2005, Carnitine palmitoyltransferase I in liver of periparturient dairy cows: effects of prepartum intake, postpartum induction of ketosis, and periparturient disorders, J. Dairy Sci. 88, 3851-9. 22. Xu C, Wang Z, 2008, Comparative proteomic analysis of liver from ketotic cows, Vet. Research. Commun. 32, 263-73. 23. Kuhla B, Albercht D, Kuhla S, Metges CC, 2009, Proteome analysis of fetty liver in feed-deprived dairy cows reveals interaction of fuel sensing, calcium, fatty acid, and glycogen metabolism, Physiol. Genom. 37, 88-98. 24. Chen X, Wei S, Yang F, 2012, Mitochondria in the pathogenesis of diabetes: a proteomic view, Protein. Cell 3, 648-60.

ДИСТРИБУЦИЈА ЗВЕЗДАСТИХ ЋЕЛИЈА ЈЕТРЕ И ЊИХОВА УЛОГА У НАСТАНКУ ПАРАЗИТСКЕ ФИБРОЗЕ И ЦИРОЗЕ ЈЕТРЕ КОД ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА[1]

Владимир Кукољ, Слађан Нешић, Ивана Вучићевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Повећање екстрацелуларног матрикса код пацова, као и код људи, настаје као последица активације звездастих ћелија јетре (HSCs). Циљ овог рада је изучавање улоге ових ћелија у развоју фиброзе и цирозе јетре која настаје као последица инфекције оваца и говеда великим (*Fasciola hepatica*) и малим (*Dicrocoelium dendriticum*) метиљем. Узорци јетре пореклом од 12 говеда и 10 оваца које су у природиним условима инфициране великим и малим метиљем су фиксирани у формалину и уклопљени у парафин. Парафински исечци су бојени хематоксилин-еозином и масон-трихромном методом, као и имунохистохемијском методом за α-глатко-мишићни актин (α-SMA). Сви испитани узорци су према хистолошким критеријумима подељену у три групе: јетре инфицираних животиња са првим степеном фиброзе, јетре инфицираних животиња са другим степеном фиброзе и јетре инфицираних животиња са цирозом. Дистрибуција HSCs је зависила од степена фиброзе јетре. Имунохистохемијски реактивне HSCs су биле предоминантно смештене у перисинусоидним просторима. У узорцима јетре са цирозом HSCs су биле смештене на периферији псеудолобулуса. Ћелије различитог облика и величине су биле позитивне на α-SMA. HSCs играју важну улогу у синтези компоненти екстрацелуларног матрикса током развоја паразитске фиброзе и цирозе јетре код домаћих животиња.

Кључне речи: цироза, фиброза, јетра, звездасте ћелије

[1]Рад ће у целости бити објављен у часопису „Ветеринарски гласник“

DISTRIBUTION OF HEPATIC STELLATE CELLS AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF HEPATIC PARASITIC FIBROSIS AND CIRRHOSIS IN DOMESTIC ANIMALS

Vladimir Kukolj, Slađan Nešić, Ivana Vučićević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

The increase in extracellular matrix in rats and in humans is the result of hepatic stellate cell (HSCs) activation. The aim of this study is to examine the role of the HSCs in the development of liver fibrosis and cirrhosis which occur as a result of common liver fluke *(Fasciola hepatica)* and lancet fluke (*Dicrocoelium dendriticum)* infection in sheep and cattle. Liver samples from 12 cattle and 10 sheep naturally infected with *Fasciola hepatica* and *Dicrocoelium dendriticum,* were fixed in formalin, and embedded in paraffin blocks. Paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin and Masson trichrome as well as with immunohistochemical technique for α-smooth-muscle actin (α-SMA). All examined samples were divided based on histological criteria into three groups: the liver of infected animals with first degree of fibrosis, liver of infected animals with second degree of fibrosis and liver of infected animals with cirrhosis. Hepatic stellate cells distribution was dependent on the degree of liver fibrosis. Immunoreactive HSCs were predominantly located in perisinusoidal areas. Samples of the liver with cirrhosis had HSCs in periphery of the pseudolobulus. Cells of different shapes and sizes were positive for α-SMA. HSCs have an important role in the synthesis of extracellular matrix components during the development of the parasitic liver fibrosis and cirrhosis in domestic animals.

Key words: cirrhosis, fibrosis, liver, hepatic stellate cells

ИСПИТИВАЊЕ ИНСУЛИНСКЕ РЕЗИСТЕНЦИЈЕ КОД КРАВА У ТОПЛОТНОМ И МЕТАБОЛИЧКОМ СТРЕСУ

Марко Р. Цинцовић, Бранислава Белић, Миленко Стеванчевић, Бојан Тохољ, Александар Поткоњак, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Топлотни и метаболички стрес код крава имају неколико заједничких карактеристика: смањен унос хране, снижена концентрација глукозе и смањена производња млека. Међутим, иако се ради о процесима са одређеним бројем заједничких именитеља, адаптација на ове процесе се значајно разликује. Основна разлика се односи на виши ниво концентрације инсулина у крви код крава у топлотном стресу, у односу на краве у метаболичком стресу, односно опадање концентрације инсулина у метаболичком стресу. Претпоставили смо да се разлике у адаптацији могу сагледати кроз ниво инсулинске резистенције. Циљ овог рада је да се испита вредност RQUICKI индекса инсулинске резистенције код крава у метаболичком и топлотном стресу. У оглед је укључено 30 крава Холштајн-фризијске расе: 10 крава у топлотном стресу (THI>70) (5-7 дана после телења), 10 крава у метаболичком стресу (5-7 дана после телења), а 10 крава је чинило контролну групу (краве у термонеутралној зони и у средини лактације). Све краве су гајене у истим условима исхране и неге. RQUICKI индекс инсулинске резистенције је најнижи код крава у метаболичком стресу (најрезистентније на инсулин), затим долазе краве контролне групе, а највиши код крава у топлотном стресу (RQUICKI=0,45:0,52:0,60). RQUICKI индекс је највише детерминисан вредностима инсулин:глукоза и инсулин:NEFA, а између њих постоји позитивна корелација. Пораст концентрације инсулина током топлотног стреса и постојање веће концентрације инсулина по јединице глукозе и NEFA смањује инсулинску резистенцију. Различит степен резистенције на инсулин је основна разлика у адаптацији крава на метаболички и топлотни стрес. Повећана осетљивост на инсулин у топлотном стресу може се тумачити и смањеном концентрацијом NEFA код ових крава.

Кључне речи: краве, топлотни стрес, метаболички стрес, инсулинска резистенција

RESEARCH OF INSULIN RESISTANCE IN COWS DURING HEAT STRESS AND METABOLIC STRESS

Marko R. Cincović, Branislava Belić, Milenko Stevančević, Bojan Toholj, Aleksandar Potkonjak, Dragica Stojanović, Zorana Kovačević

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Heat stress and metabolic stress in cows have several similar characteristics: decreased food intake, reduced glucose concentrations and reduced milk production. However, although it is a process with a number of common denominators, adaptation to these processes are significantly different. The main difference is related to the increase in the concentration of insulin in the thermal stress in comparison with cows in metabolic stress, that is, decrease of the concentration of insulin in the metabolic stress. We made the assumption that differences in adaptation can be seen by the level of insulin resistance. The aim of this study was to investigate the value RQUICKI index of insulin resistance in cows in the metabolic and heat stress. The experiment involved 30 cows of Holstein-Friesian cows: 10 cows in heat stress (THI > 70) (5-7 days after calving), 10 cows in metabolic stress (5-7 days after calving), and 10 cows in the control group (cows in thermal neutral zone and the middle of lactation). All cows were kept under the same conditions of nutrition and care. RQUICKI index of insulin resistance was lowest in cows in metabolic stress (most resistant to insulin), then come the cows of the control group and the highest in heat stressed cows (RQUICKI = 0,45:0,52:0,60). RQUICKI index is determined by the highest values of insulin, glucose and insulin, NEFA, and between them there is a positive correlation. The increase in insulin during heat stress and the existence of a higher concentration of insulin per unit of glucose and NEFA reduces insulin resistance. Varying degrees of insulin resistance is a fundamental difference in the adaptation of cows to metabolic and heat stress. Increased insulin sensitivity in heat stress can be interpreted as a reduced concentration of NEFA in these cows.

Key words: cows, heat stress, metabolic stress, insulin resistance.

УВОД

Метаболички стрес крава постоји када се краве нађу у негативном енергетском билансу. Да би се задовољиле енергетске потребе код крава тада доминирају катаболичке реакције. Типичан пример метаболичког стреса постоји у раној лактацији, када краве не уносе довољне количине хране у односу на енергетске потребе које намеће лактација која је започела. Главне метаболичке адаптације у овом периоду су: смањена концентрација инсулина и глукозе и повећана липидна мобилизација и кетогенеза (1,2,3,4).

У топлотном стресу код крава такође постоји смањен унос хране, међутим, не започињу класичне метаболичке реакције које су типичне за метаболички стрес. Током топлотног стреса расте концентрација инсулина, док концентрација глукозе опада, а смањује се и обим липидне мобилизације (5,6,7).

Наведене промене указују да постоје разлике у адаптацији метаболизма код крава у метаболичком и топлотном стресу, а да она настаје пре свега на нивоу

инсулинске резистенције. Инсулинска резистенција се испитује различитим тестовима. Интравенски глукоза толеранс тест је показао да постоје разлике у секрецији инсулина и одговора инсулина на глукозу код крава у топлотном и метаболичком стресу (8,9,10). Поред наведеног, постоје и изведени индекси инсулинске резистенције. Код млечних крава концентрација инсулина, глукозе и NEFA представљају елементе који служе за процену инсулинске резистенције путем RQUICKI индекса (11). Циљ овог рада је да се испита вредност индекса инсулинске резистенције код крава у метаболичком и топлотном стресу.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Животиње: У оглед је укључено 30 крава Холштајн-фризијске расе и то 10 крава у топлотном стресу (THI>70), 10 крава у метаболичком стресу (5-7 дана после тељења), а 10 крава је чинило контролну групу (краве у термонеутралној зони и у средини лактације). Све краве су гајене у истим условима исхране и неге. Краве су храњене потпуно умешаним оброком. Краве су биле уједначене телесне кондиције.

Узорковање и лабораторијска анализа: Крв је узета од свих крава венепункцијом *v. coccigea*. Концентрација инсулина одређена је стандардним ELISA китом (Mercodia и Cusabio) на читачу типа (Rayto). Концентрација NEFA и глукозе одређена је спектрофотометријским метаодама, помоћу стандардних китова (Randox) и спектрофотометра типа Rayto. Вредност RQUICKI индекса одређена је према формули *RQUICKI = 1/ [log (глукоза mg/dL) + log (инсулин μU/mL) + log (NEFA mmol/l)]*. Одређен је однос инсулин:NEFA и инсулин:глукоза.

Статистика: Испитана је статистичка разлика у вредности концентрације инсулина, глукозе и NEFA између крава у метаболичком и топлотном стресу и значајност разлика вредности ових параметара у односу на контролни узорак. Иста поређења вршена су и за вредност RQUICKI, инсулин:глукоза и инсулин:NEFA. Испитан је утицај инсулина, глукозе, NEFA и односа инсулин:глукоза и инсулин:NEFA на вредност RQUICKI индекса методом мултипле регресионе анализе.

РЕЗУЛТАТИ

Резултати показују да код крава у топлотном стресу долази до пораста концентрације инсулина и опадања концентрације глукозе и NEFA, док код крава у раној лактацији опада концентрација инсулина и глукозе, а расте концентрација NEFA у односу на контролну групу. Међусобним поређењем крава у топлотном и метаболичком стресу закључујемо да код крава у метаболичком стресу постоји значајно нижа концентрација инсулина и виша концентрација NEFA, а изостала је значајност разлике у концентрацији глукозе. Резултати су приказани у табели I. Релативне промене метаболита у топлотном и метаболичком стресу у односу на контролну групу приказани су на графикону 1.

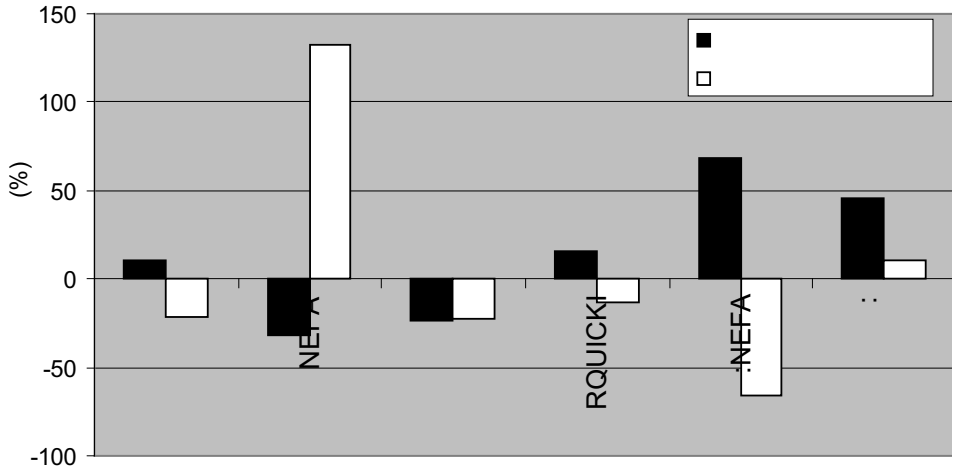
RQUICKI индекс инсулинске резистенције знатно је нижи код крава у метаболичком стресу у односу на топлотни стрес. Када поређамо краве према вредности RQUICKI индекса видимо да је најнижи код крава у метаболичком стресу (најрезистентније на инсулин), затим код крава контролне групе и најмању резистенцију на инсулин показују краве у топлотном стресу. RQUICKI индекс је највише детерминисан вредностима инсулин:глукоза и инсулин:NEFA, тако да што је већи распон између инсулина и глукозе односно NEFA то је већа вредност RQUICKI, односно већа је сензитивност на инсулин (Табела II). Повећана осетљивост на инсулин у топлотном стресу може се тумачити и смањеном концентрацијом NEFA код ових крава.

Табела I: Вредности испитаних параметара код крава у контролној групи, топлотном и метаболичком стресу

Параметар	Контрола	Топлотни стрес	Метаболички стрес рана лактација
Инсулин (μU/mL)	6,4±1,2	7,1±1,05	5,06±0,8 [a] *
NEFA (mmol/l)	0,28±0,11	0,19±0,08 [b]	0,65±0,21 [b] **
Глукоза (mg/dL)	47±3,2	36±2,7 [b]	37±2,8 [b]
RQUICKI	0,52±0,09	0,6±0,11	0,45±0,12**
Инсулин:NEFA	22,85±	37,37± [b]	7,78± [b] **
Инсулин: глукоза	2,4±	3,55± [a]	2,66± [a] *

Разлика у вредностима параметара у метаболичком и топлотном стресу у односу на контролу ([a]p<0,05; [b]p<0,01)

Разлика у вредностима параметара између метаболичког и топлотног стреса (*p<0,05; **p<0,01)



Графикон 1: Релативне промене испитаних параметара у топлотном и метаболичком стресу у односу на контреолни период

Табела II: Коефицијенти детерминације и корелације RQUICKI индекса (зависна променљива) са осталим параметрима

Параметар	Коефицијент детерминације (коефицијент корелације) RQUICKI	p
Инсулин	10% (0,32)	NS
NEFA	45% (-0,67)	<0,05
Глукоза	15% (0,39)	NS
Инсулин:NEFA	65% (0,81)	<0,01
Инсулин: глукоза	60% (0,77)	<0,01

ДИСКУСИЈА

Топлотни и метаболички стрес код крава имају неколико заједничких карактеристика: смањен унос хране, снижена концентрација глукозе и смањена производња млека (12, 13). Међутим, иако се ради о процесима са одређеним бројем заједничких именитеља, адаптација на ове процесе се значајно разликује. Током ране лактације када постоји типичан метаболички стрес са негативним енергетским билансом и доминацијом катаболичких процеса, све промене се дешавају у циљу опскрбљивања вимена довољном количином глукозе. Глукоза тако одлази до вимена, а за енергетске потребе организма користе се масти односно NEFA и кетонска тела. Снижена концентрација инсулина, повећана концентрација катехоламина, кортизола и хормона раста омогућују адекватну липолизу у раној лактацији (13). Повећано присуство NEFA умањује употребу глукозе у оксидационим процесима мускулатуре (14). Овакви процеси се називају хомеоретским процесима који настају у циљу одржавања млечности, а краве се метаболички флексибилне јер могу за енергетске сврхе да користе масне киселине и кетоне. Међутим, током топлотног стреса значајно опада концентрација NEFA. Резултати истраживања показују да организам у топлотном стресу има стратегије којима чува масти, вероватно препознајући неповољне услове средине. Тако током топлотног стреса расте активност липорпотеинске липазе, што значи да расте капацитет масног ткива да прихвати триглицериде из кровотка (15). Ово је додатно потпомогнуто повећаном концентрацијом инсулина у топлотном стресу који је јак анаболички и липогени хормон. Као последица свега наведеног, глукоза остаје главни енергент за ткива крава у топлотном стресу. Зато глукоза уместо до млечне жлезде одлази у периферна ткива, што потврђује чињеница да млеко крава у топлотном стресу има значајно мању концентрацију лактозе која потиче од глукозе (5,6).

Заједничка основа топлотног и метаболичког стреса уз наведене разлике у метаболичкој адаптацији навела нас је да испитамо да ли се разликује вредност RQUICKI индекса инсулинске резистенције код крава у топлотном и метаболичком стресу. Резултати показују да су краве у метаболичком стресу знатно резистентније на инсулин у односу на краве у топлотном стресу. Код крава током топлотног стреса расте вредност RQUICKI индекса у односу на контролну групу крава. Вредност RQUICKI индекса је у позитивној корелацији са индексом инсулин:глукоза и инсулин:NEFA, а у негативној корелацији са концентрацијом NEFA. Наведени резултати показују да је инсулин и његов однос према NEFA и глукози веома значајан фактор у процесу адаптације на топлотни стрес. Ово се слаже са чињеницом да дијабетичари много теже подносе високе темепературе, а апликација инсулина повећава време преживљавања код пацова изложених високим температурама (16). Млечне краве су високоселекционисане на производњу млека, а последица селекције је устројство хомеоретских процеса који су подешени тако да се одржава лактација. Главна карактеристика хомеоретских процеса је ниска концентрација инсулина и метаболичка флексибилност ка употреби NEFA у метаболичке сврхе. Краве које током топлотног стреса имају очуван ниво липомобилизације слабије толеришу глукозу у односу на краве са умањеном липомобилизацијом у истом периоду (10). Са друге стране NEFA ирга значајну улогу у настанку инсулинске резистенције код крава у раној лактацији, када доминирају хомеоретски процеси (17).

ЗАКЉУЧАК

RQUICKI индекс инсулинске резистенције је значајно нижи код крава у метаболичком стресу у односу на краве у топлотном стресу, што значи да су краве у метаболичком стресу значајно резистентније на инсулин. Ovaj индекс је највише детерминисан вредностима инсулин:глукоза и инсулин:NEFA, а између њих постоји позитивна корелација. Пораст концентрације инсулина током топлотног стреса и постојање веће концентрације инсулина по јединице глукозе и NEFA смањује инсулинску резистенцију. Различит степен резистенције на инсулин је основна разлика у адаптацији крава на метаболички и топлотни стрес. Повећана осетљивост на инсулин у топлотном стресу може се тумачити и смањеном концентрацијом NEFA код ових крава.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Drackley JL, 1999, Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? J.Dairy Sci., 82, 2259-73. 2. Wathes DC, Cheng Z, Bourne N, Taylor VJ, Coffey MP, Brotherstone S, 2007, Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. Domestic Animal Endocrinology, 33,2,203-25. 3. Cincović MR, Belić B, Radojičić B, Hristov S, Đoković R, 2012, Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. Acta veterinaria, 62, 4, 429-44. 4. Djoković R, Cincović M, Kurcubic V, Petrović M, Lalović M, Jašović B, Stanimirović Z, 2014, Endocrine and Metabolic Status of Dairy Cows during Transition Period. Thai J Vet Med. 44, 1, 59-66. 5. Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH, 2009, Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. J. Dairy Sci. 92, 1986-97. 6. Wheelock JB, Rhoads RP, VanBaale MJ, Sanders SR, Baumgard LH, 2010, Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. J Dairy Sci 93, 644-55. 7. Cincović MR, Belić B, Toholj B, Potkonjak A, Stevančević M, Lako B, Radović I, 2011, Metabolic acclimation to heat stress in farm housed Holstein cows with different body condition scores. African Journal of Biotechnology, 10, 50, 10293-303. 8. Itoh F, Obara Y, Rose MT, Fuse H, Hashimoto H, 1998, Insulin and glucagons secretion in lactating cows during heat exposure. J Anim Sci, 76, 2182-9. 9. Hayirli A, 2006, The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. Vet. Res. Commun. 30, 749-74. 10. Cincović MR, Belić B, Stevančević M, Toholj B, Lako B, Potkonjak A, 2012, Uticaj stepena lipomobilizacije na rezultate testa opterećenja glukozom kod mlečnih krava u toplotnom stresu. Veterinarski glasnik, 66, 1-2, 3-11. 11. Holtenius P, Holtenius K, 2007, A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. Acta Veterinaria Scandinavica 49, 29-31. 12. Цинцовић МР, 2010, Топлотни стрес крава – физиологија и патофизиологија. Монографија. Задужбина Андрејевић, Београд. 13. Ђоковић РД, Цинцовић МР, Белић БМ, 2014, Физиологија и патофизиологија метаболизма крава у перипарталном периоду. Уџбеник. Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду. 14. Randle PJ, 1998, Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. Diabetes Metab. Rev. 14, 263-83. 15. Sanders SR, Cole LC, Flann KL, Baumgard LH, Rhoads RP, 2009, Effects of acute heat stress on skeletal muscle gene expression associated with energy metabolism in rats. FASEB J. 23:598.7 (Abstr.). 16. Niu CS, Lin MT, Liu IM, Cheng JT, 2003, Role of striatal glutamate in heatstroke-induced damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Neurosci. Lett. 348,77-80. 17. Cincović MR, Belić B, Đoković R, Toholj B, Hristovski T, Delić B, Došenović M, 2014, Insulin resistance in cows during dry period and early lactation. Contemporary agriculture, 63, 1-2, UDC 577.175.72 :612-64.

УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ АНТИКОАГУЛАНСА НА ВРЕДНОСТ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА У КРВИ КОД КРАВА[1]

Бранислава Белић, Марко Р. Цинцовић, Маја Дошеновић, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Рутинска анализа биохемијских параметара крви захтева високу прецизност. Због тога је развијен велики број метода и препорука како би се омогућило добијање прецизног резултата. Циљ овог рада је да се испита да ли врста антикоагуланса утиче на вредности биохемијских параметара у крви млечних крава у односу на вредности добијене из серума. У испитивање је укључено 20 здравих крава Холштајн-фризијске расе, које су се налазиле у другом месецу лактације. Крв је узимана венепункцијом из *v. coccigea*. Коришћено је неколико врста вакутајнера и то: за одвајање серума, са хепарином, са EDTA, цитратом и флуоридом. Од сваке краве узорци су узети у свих пет врста вакутајнера. Вршено је статистичко поређење између средње вредности метаболита које је добијено мерењем у серуму и мерењем у узорцима са коагулансима. Израчуната је и процентуална варијација вредности метаболита добијених из узорака са различитим антикоагулансима у односу на вредност из серума. Резултати испитивања показују да антикоагуланси могу имати утицаја на вредности биохемијских параметара у крви крава. Употреба хепарина даје најмања одступања у односу на серум и то за албумин, укупне протеине и AP. Употреба EDTA доводи до одступања у односу на серум за следеће биохемијске параметре: укупни протеини, Ca, P, AST и AP. Употерба цитрата и флуорида даје значајно одступање вредности већине биохемијских параметара у односу на вредности у серуму. Интересантно је рећи да код употребе цитрата и флуорида није нађено значајно одступање у вредности ALT и AST. За рутинску биохемијску анализу крви крава поред серума најпоузданије је користити хепарин као антикоагуланс.

Кључне речи: антикоагуланси, биохемијски параметри крви, краве

[1]Рад ће у целости бити објављен у часопису „Ветеринарски гласник“

THE EFFECTS OF DIFFERENT ANTICOAGULANTS ON BLOOD BIOCHEMISTRY PARAMETERS IN DAIRY COWS

Branislava Belić, Marko R. Cincović, Maja Došenović, Dragica Stojanović, Zorana Kovačević

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Routine analysis of blood parameters requires high precision. It is therefore developed a number of methods and recommendations in order to enable obtaining precise results. The aim of this study was to investigate whether the type of anticoagulant affects the values of biochemical parameters in the blood of dairy cows in relation to the values obtained from the serum. The study included 20 healthy cows of Holstein-Friesian cows, which were located in the second month of lactation. Blood was taken by venipuncture from *v. coccigea*. It has been used several types vacutainers as follows: for the serum separation, with heparin, EDTA, citrate, and fluoride. Since each cow samples were taken in all five types of vacutainers. Statistical comparison was carried out between mean values of metabolites that is obtained by measuring in a serum sample and the measurement of the coagulant. Is calculated the variation of the percentage values of the metabolites derived from samples with different anticoagulants as compared to the value of serume. Test results showed that anticoagulants may affect the values of biochemical parameters in the blood of cows. The use of heparin gives the smallest deviation compared to the serum for albumin, total protein, and AP. The use of EDTA lead to deviations from the serum of the following biochemical parameters: total protein, Ca, P, AST, AP. The use of citrate and fluoride provides a significant deviation of the values of most of the biochemical parameters in relation to the values in the serum. It is interesting to say that with the use of citrate and fluoride is not found significant variation in the values of ALT and AST. For routine biochemical analysis of blood serum of cows in addition to the reliable use of heparin as an anticoagulant.

Key words: anticoagulants, blood biochemistry parameters, cows

КОНЦЕНТРАЦИЈА СЕЛЕНА У МЛЕЧНОМ СЕРУМУ КРАВА У РАНОЈ И СРЕДЊОЈ ЛАКТАЦИЈИ

Зорана Ковачевић, Драгица Стојановић, Бранислава Белић, Ивана Давидов, Марко Цинцовић, Миодраг Радиновић, Михајло Ердељан

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет Нови Сад

Кратак садржај

Краве у раној лактацији узимају мање хране него што им је потребно за производњу млека, што се огледа у настанку промена у метаболичком статусу крава и може значајно утицати на њихово здравље. Селен је есенцијални елемент за очување здравља, побољшање репродуктивних и производних карактеристика код млечних крава. Има изражену антиоксидативну улогу и саставни је део ензима глутатион-перокисидазе. Селен има значајну улогу у правилном функционисању имунолошког одговора. У исхрани људи најбољи извор селена су намирнице животињског порекла. Концентранција селена у млечном серуму крава у раној лактацији је износила 0,64±0,26 μmol/l, док је у средњој лактацији износила 0,7±0,24 μmol/l. Резултати нашег истраживања указују да концентрација селена у млечном серуму крава у различитим периодима лактације има приближне вредности, и током периода лактације је стабилна. Добијене вредности концентрације селена у млечном серуму крава у првом и шестом месецу лактације указују на чињеницу да концентарција селена у млечном серуму има приближне вредности и да је стабилна током лактације.

Кључне речи: селен, млечни серум, крава.

SELENIUM CONCENTRATION IN THE MILK SERUM OF COWS IN THE EARLY AND MID LACTATION

Zorana Kovačević, Dragica Stojanović, Branislava Belić, Ivana Davidov, Marko Cincović, Miodrag Radinović, Mihajlo Erdeljan

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

The cows in early lactation take less food than they need to produce milk, which is reflected in the change in the metabolic status of cows and can affect to the health of the cows significantly. Selenium is an essential element for health, improving reproductive and productive traits in dairy cows. It has a strong antioxidant role and is an integral part of the enzyme glutathione peroxidase. Selenium has a significant role in the proper functioning of the immune response. In the human diet best source of selenium are foods of animal origin. The value of selenium concentration in the milk serum of cows in early lactation was 0,64±0,26 μmol/l, while in mid lactation it was 0,7±0,24 μmol/l. The results of our study shows that selenium concentration in the milk serum of cows at different periods of lactation, in first and in sixth month of lactation is approximate and stable during lactation.

Key words: selenium, milk serum, cow

УВОД

Краве у раној лактацији узимају мање хране него што им је потребно за производњу млека, што се огледа у настанку промена у метаболичком статусу крава и може значајно утицати на здравље крава (1,2).

Селен је есенцијални елемент за очување здравља, побољшање репродуктивних и производних карактеристика код млечних крава. Има изражену антиоксидативну улогу у ћелијама, чиме спречава ткивна оштећења посредована слободним радикалима насталим у току физиолошких процеса (3).

Селен је саставни део ензима глутатион пероксидазе (4) који је одговоран за процесе катализације и у уклањању хидроген пероксида и редукованих облика других пероксида из ткива, што представља есенцијални процес имунолошког система (5).

Селен је неопходан као помоћ леукоцитима да редукују пероксиде који су створени и да их преведу у безбедне материје и да утичу на уништење присутних патогених микроорганизама. Према истраживањима (6,7,8,9), селен има значајну улогу у правилном функционисању имунолошког одговора.

Многи аутори истичу да селен има важну улогу у редукцији броја соматских ћелија у млеку и у смањењу појаве маститиса (10,11). Према истраживањима (7,8,9), селен има значајну улогу у правилном функционисању имунолошког одговора. Неутрофилни гранулоцити код животиња са дефицитом селена имају мању способност интрацелуларне фагоцитозе (8).

У исхрани људи најбољи извор селена су намирнице животињског порекла. Производи од меса, рибе, живине и јаја имају највиши ниво селена (12). Количина селена у крављем млеку зависи од дневног уноса овог микроелемента. Постоји линеарна корелација између исхране и концентрације селена у крављем млеку (13). Садржај селена у млеку крава из различитих земаља варира између 2 и 60 μg/l, због разлика у садржају селена у храни (14).

У још једној студији (15) су утврђене вредности концентрације селена у млечном серуму високо-млечних крава, које су износиле 2-60 μg/l.

Циљ овог истраживања је био да се одреди концентрација селена у млечном серуму крава у раној и средњој лактацији.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживање је изведено на петнаест крава Холштајн-фризијске расе приближно исте телесне тежине, узраста од 3 до 5 година у првој и трећој лактацији, које су давале приближно исте количине млека. За време експеримента краве су боравиле у једнаким условима. Узорци млека су узимани у два производна периода, у периоду после порођаја (у првом месецу лактације) и средини лактације (у шестом месецу лактације). Исти поступак узорковања је коришћен сваки пут.

Млеко је узимано из сваке четврти вимена пре јутарње муже. Када су узети узорци млека, да би се издвојио млечни серум, млеко је остављено на собној температури током 48 сати. Издвојени млечни серум крава у првом и шестом месецу лактације су центрифугирани на 1200 rpm током 15 минута да се серум потпуно издвоји, а затим замрзнути на -20 ºC за даљу анализу. Када су прикупљени сви узорци млека, млечни серум је даље анализиран атомском апсорпционом спектрометријом (AAS) на Perkin Elmer Elan 6100 ICPMS, Massachusetts, USA.

За статистичку анализу коришћен је тест корелације по Statgraphic Centurion (USA). Први корак је био да се утврде дескриптивни статистички параметри. Разлика у концентрацији селена у млечном серуму у првом и шестом месецу лактације испитан је Vilcoxon тестом, а корелација између концентрације селена у првом и шестом месецу је одређена Spearman тестом корелације са post-hock анализом варијансе.

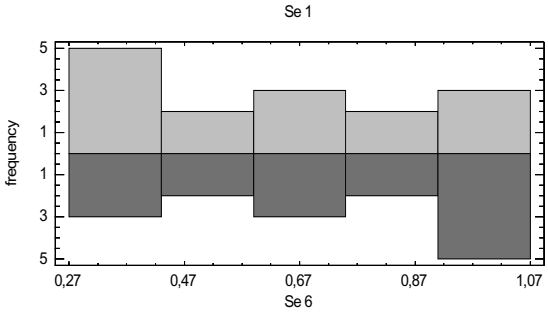
РЕЗУЛТАТИ

Вредност концентрације селена у млечном серуму крава у раној лактацији је била 0,64 µmol/l, док је у средини лактације била 0,7 µmol/l (Табела I).

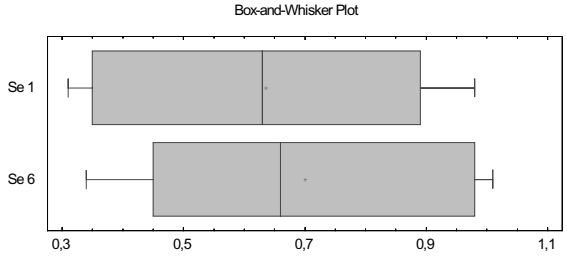
Табела I Дескриптивна статистика за вредности селена у млечном серуму крава

	Se у 1. месецу лактације	*Se у 6. месецу лактације*
Број	15	15
Просек	0,636	0,700667
Стандардна девијација	0,258921	0,244379
Коеф. варијације	40,7108%	34,878%
Минимум	0,31	0,34
Максимум	0,98	1,01
Опсег	0,67	0,67
Станд. нагиб	0,110596	-0,103051
Станд. спљоштеност	-1,3166	-1,15568

Вредности селена у млечном серуму крава са истим суперскриптом у табели I нису значајно различити (p> 0.05). Разлика у концентрацији селена у млечном серуму у првом и у шестом месецу лактације се није показала статистички значајна (p>0,05). Ови резултати су приказани на сликама 1 и 2.



Слика 1. Фреквенција дистрибуција концентрације селена у млечном серуму на почетку и средини лактације

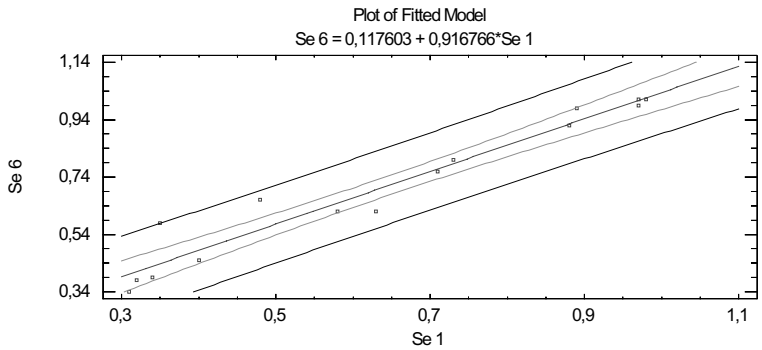


Слика 2. Просечна концентрација (линија) медијана (тачка) и стандардна девијација концентрације селена у раној и средњој лактацији

Постоји значајна позитивна корелација између вредности селена у првом и у шестом месецу лактације (r = 0.99; r^2 = 98,54%; процењена стандардна грешка = 1.62). Користећи регресиону анализу постоји формула која описује однос између концентрације селена у млечном серуму у првом и у шестог месеца лактације и то је:

Селен у средини лактације = 3.32086 + 0.989595 x *селен у раној лактацији*

Анализа варијансе указује на високу статистичку значајност за овај регресиони модел (p<0,01) и може се видети на слици 3. и у табели II.



Слика 3. Линеарна регресија и корелација вредности селена у млечном серуму између две групе

Табела II Анализа варијансе линеарног модела истражује однос између концентрације селена у раној и средњој лактацији

Source	*Sum of squares*	*Df*	*Mean Square*	*F-Ratio*	*P-Value*
Model	0,788822	1	0,788822	216,93	0,0000
Residual	0,0472711	13	0,00363624		
Total (Corr.)	0,836093	14			

ДИСКУСИЈА

Резултати истраживања показују да је концентрација селена у млечном серуму крава у раној лактацији је износила 0,64±0,26 μmol/l, док је у средњој лактацији износила 0,7±0,24 μmol/l. Вредности концентрације селена у млечном серуму високомлечних крава наведених аутора (14, 15) одговарају нашим резултатима.

Нема статистички значајне разлике у концентрацији селена у крви у првом и шестом месецу лактације. Корелација између вредности селена у првом и шестом месецу је у статистички значајној, позитивној корелацији.

С обзиром да постоји значајна позитивна корелација између вредности селена у два периода лактације и да разлика у концентрацији селена у млечном серуму није статистички значајна може се закључити да је вредност селена у млечном серуму стабилна током времена. Пошто постоји недостатак доступних резултата у литератури о концентрацији селена током лактације на основу добијених резултата може се закључити да је концентрација селена стабилна током лактације.

ЗАКЉУЧАК

Добијене вредности концентрације селена у млечном серуму крава у раној и средњој лактацији указују на чињеницу да је концентарција селена у млечном серуму има приближне вредности и стабилна је током лактације.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Cincović, MR., Belić, B., Vidović, B., Krčmar, Lj., 2011, Reference values and frequency distribution of metabolic parameters in cows during lactation and in pregnancy. Contemporary agriculture, 60, 1-2, 175-82. 2. Cincović, M.R., Belić, B., Radojičić, B., Toholj, B., Stančić, I., Stevančević, M., 2012, Periparturient metabolic profile, blood picture and body condition score in healthy cows and cows with associated periparturient disease, Contemporary agriculture, 61, 3-4, 205-20. 3. Јоксимовић-Тодоровић Мирјана, Давидовић Весна, 2007, Селен и витамин Е–репродуктивни поремећаји код млечних крава, Вет. гласник, 61, 1-2, 3-10. 4. Spears J.W. and Weiss W.P., 2008, Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows, Vet. J. 176, 70-6. 5. Joksimović-Todorović M., Hristov S., Božić A., Relić R., Davidović V i Stanković B., 2007, Uticaj selena i vitamina E na zdravlje mlečne zlezde krava. Savremena poljoprivreda, 56, 1, 122-7. 6. Larsen H.J.S., 1993, Relation between selenium and immunity, Nor. J. Agric. Sci. 11, 105-19. 7. Finch J.M. and Turner R.J., 1996, Effects of selenium and vitamin E on the immune respnse of domastic animals, Res. Vet. Sci. 60, 97-106. 8. Smith K.L., Hogan J.S. and Weiss W.P., 1997, Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality, J. Anim. Sci. 75, 1659-65. 9. McKenzie R.C., Rafferty T.S. and Beckett G.J., 1998, Selenium: an essential element for immune function. Immunol. Today 19, 342-5. 10. Weiss W.P., Hogan J.S., Smith K.L. and Hoblet K.H., 1990, Relationship among selenium, vitamin E and mammary gland health in commercial dairy herds, J. Dairy Sci. 73, 381-390. 11. Weiss W.P. and Wyatt D.J., 2002, Effects of feeding diets based on silage from corn hybrids that differed in concentration and in vitro digestibility of natural detergent fiber to dairy cows. J. Dairy Sci. 85, 3462-9. 12. Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR), 1996, Toxicological Profile for Selenium (Update). US Department of Health and Human Services. 13. Peter Van Dael, Geertrui Vlaemynck, Roland Van Renterghem, Hendrik Deelstra, 1991, Selenium content of cow's milk and its distribution in protein fractions, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 192, 5, 422-6. 14. Norrman E., 1984, The selenium content of milk, Nord Vet Med., 36, 9-10, 296-304. 15. Knowles S.O., Grace N.D., Knight T.W., McNabb W.C., Lee J., 2006, Reasons and means for malnipulating the micronutrient composition of milk from grazing dairy cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 131, 2434-9.

TORSIO UTERI КОД КРАВЕ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

Александар Јовановић, Владимир Обрадовић
Ментор: Милан Малетић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Увод

Под торзијом гравидне материце подразумевамо стање код којег се материца окреће око своје осе на лево или на десно, па је порођајни канал јако сужен или потпуно затворен. Учесталост овог стања може да буде и до 19% свих тешких порођаја. Дијагноза *torsio uteri* поставља се најчешће вагиналним и ректалним прегледом.

Циљ рада

Циљ рада је приказати различите приступе решавању проблема торзије материце у зависности од етиологије.

Материјал и методе

Око 22h примећен је порођај, а око 6h вагиналним прегледом утврђена је постцервикална торзија у десно. Услед немогућности мануелне реторзије приступили смо извођењу царског реза. Због комплексности самог узрока дистокије и општег стања породиље извршили смо интравенску апликацију раствора електролита, глукозе и антибиотика. Породиља је седирана и дата јој је локална и инфилтративна анестезија. Пацијент је био у лежећем положају па је рез рађен у *fossa paralumbales.* Након отварања трбушне дупље установили смо да је гравидни рог окренут за једну трећину од пуног круга. Материца је враћена у положај *ad partum*. Инцизија је пратила дуге цевасте кости и када је рог отворен видели смо да је плод угинуо. Материца је ушивена у две етаже и враћена у свој физиолошки положај, а онда је приступљено шивењу мишића, поткожја и коже.

Дискусија

Етиологија настанка торзије материце ни до данас није у потпуности објашњена. До торзије долази у последњем триместру гравидитета. У нашем случају радило се о постцервикалној торзији која је настала у фази отварања порођаја. Теле је било у предњем положају али у бочној позицији. Након отварања трбушне дупље примећена је јасно изражена исхемија гравидног рога утеруса што се могло закључити на основу боје материчног зида. Због тога смо након извршене реторзије сачекали да се успостави нормална циркулација у гравидном рогу, како не би дошло до *ishemia ex vacuo.*

Закључак

Када гравидни рог није на време реторзиран неизбежан је хируршки приступ проблему. Поред стручности и искуства приликом вагиналног прегледа није било могуће извршити мануелну реторзију. Дуготрајне торзије завршавају летално, како за плод, тако и за породиљу. Ми смо у нашем случају адекватном терапијом успели да породиљу стабилизујемо и царски рез успешно приведемо крају.

Кључне речи: крава, *torsio uteri*, царски рез

TORSIO UTERI IN COW-CASE REPORT

Aleksandar Jovanović, Vladimir Obradović
Supervisor: Milan Maletić

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Introduction

Torsion of the gravid uterus is condition in which the uterus rotates around its axis to the left or to the right, and the birth canal is very narrow or completely closed. The incidence of this condition can be up to 19% of all *dystocia*. Vaginal and rectal examination are main diagnostic procedures conducted in order to determine *torsio uteri gravidi*.

Objective

The aim of this paper is to present different approaches in solving the problem of torsion of the uterus, depending on the etiology.

Materials and methods

At 10 pm parturition was observed, and around 6 am a vaginal examination was performed during which postcervical torsion of uterus to the right was found. Due to the inability of manual retorsion of gravid uterus we started performing cesarean section. Because of the complexity of the dystocia and its causes, and general condition of cow, we performed intravenous administration of electrolytes solution, glucose and antibiotics. Cow was sedated and local and infiltrative anesthesia were given to her. The patient was in a recumbent position and the incision was made in the left fossa paralumbales. After opening the abdominal cavity, we found that the pregnant horn is rotated one-third of the full circle. The uterus was returned to the *ad partum* position. The incision on the uterus was following long tubular bones of calf, and when the horn was opened we saw that the calf died. The uterus was sutured in two levels and restored to its physiological position and then muscles, subcutis and skin were sutured.

Discussion

The etiology of occurrence of torsion of the uterus has not been fully explained. It usually happenes in the last trimester of pregnancy. In our case it was a postcervical torsion that occurred in the opening phase of parturition. Calf was in the anterior presentation, and lateral position. After opening of the abdominal cavity ischemia of gravid uterine horn was clearly observed by the color of uterine wall. That is why we waited after the retorsion until the restoration of normal circulation of the pregnant horn, in order to avoid *ischemia ex vacuo*.

Conclusion

When the retorsion of pregnant horn is not performed in time surgical approach is inevitable. Manual retortion was not possible to perform *per vaginam* during vaginal examination regardless of expertise and experience. Long-lasting torsion of gravid uterus often ends fatally to the fetus as well as for the cow. In our case, adequate therapy gave results and we managed to stabilize cow and successfuly bring cesarean section to the end.

Key words: cow, *torsio uteri*, cesarean section

МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТКИВА ЈЕТРЕ КОД КРАВА У РАНОЈ ЛАКТАЦИЈИ

Ивана Лакић
Ментор: Марко Р. Цинцовић

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Краве у раној лактацији су подложне настанку негативног енергетског биланса, хипогликемији и појачаној липолизи у масном ткиву, што доводи до вишег степена липогенезе и акумулације триглицерида у масним вакуолама хепатоцита. Циљ овог рада је одређивање димензија и оптичке густине масних вакуола и једра крава у раној лактацији. У експеримент је укључено 10 крава Холштајн-фризијске расе, чији су узорци јетриног ткива узети биопсијом 3-15 дана након телења. Узорци су пажљиво обрађени, обојени хематоксилин-еозин техником и микроскопски прегледани. Микроскопским прегледом смо добили две групе крава: прва група поседовала је налаз масне јетре, док је друга група имала физиолошки налаз. Упоређивањем величина и оптичких густина масних вакуола ове две групе закључили смо да група крава са масном јетром има значајно веће димензије масних вакуола, мање димензије једра, знатно мању волуметријску густину једра и већу волуметријску густину масних вакуола. Корелација између промера масних вакуола и једра је била негативна. Ово можемо повезати са масном дегенерацијом и процесима некрозе и апоптозе који отпочињу у хепатоцитима крава са масном јетром.

Кључне речи: морфометрија, јетра, краве, рана лактација

MORPHOMETRIC CARACTERISTICS OF THE LIVER TISSUE IN COWS DURING EARLY LACTATION

Ivana Lakić
Supervisor: Marko R. Cincović

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Early lactation cows usually express negative energy balance (NEB), hypoglycemia and greater lipolysis in in adipose tissue. This factors are causing higher degree of lipogenesis and accumulation of triacylglycerol in fatty vacuoles in hepatocytes. The aim of this work is determination of dimensions and optical density of fatty vacuoles and nuclei of cows in early lactation. Experiment was performed on 10 Holstein-Friesian cows. Hepatic tissue samples were collected by biopsy, 3-15 days after calving. Sampels were carefully processed, staind with HE and examined microscopically. According to this, two group of cows were determinated. First group showed medical report which indicate fatty liver existence. Second one showed physiological report. Comparing dimensions and optical density of fatty vacuoles of both group, we have noted that first group have significanly greater dimensions of fatty vacuoles, reduced dimensions of nuclei, reduced level of optical density of nuclei and higher level of optical density of fatty vacuoles. Relationship between fatty vacuole and nuclei diameters was negative. This can be related with fatty degeneration, necrosis or apoptosis in fatty infiltrated hepatocytes.

Key words: morphometry, liver, cows, early lactation

Пленарни радови

---

5. ЗАСЕДАЊЕ

1. ЧИЊЕНИЦЕ КОЈЕ ЈЕ НЕОПХОДНО ПОЗНАВАТИ РАДИ ОБЕЗБЕЂЕЊА И УНАПРЕЂЕЊА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА

2. ОБРАЗОВАЊЕ КАДРОВА О ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА У СРБИЈИ

3. СТАЊЕ ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА НА ФАРМАМА У СРБИЈИ – ПРЕГЛЕД НАЈВАЖНИЈИХ РЕЗУЛТАТА НАЦИОНАЛНОГ ИСТРАЖИВАЊА КОРИШЋЕЊЕМ ИНДИКАТОРА БАЗИРАНИХ НА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА

4. БИХЕЈВИОРИСТИКА - УЛОГА И ЗНАЧАЈ ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ И ДОБРОБИТ ЖИВОТИЊА

5. ОСВРТ НА ЗАКОНСКУ РЕГУЛАТИВУ О ЗАШТИТИ ЖИВОТИЊА У СРБИЈИ

ЧИЊЕНИЦЕ КОЈЕ ЈЕ НЕОПХОДНО ПОЗНАВАТИ РАДИ ОБЕЗБЕЂЕЊА И УНАПРЕЂЕЊА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА

Маријана Вучинић[1], Катарина Радисављевић[1], Будимир Плавшић[2], Маја Андријашевић[2], Ивана Лазић[2]

[1]Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду; [2]Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине РС

Кратак садржај

У раду су изнете основне научне и стручне чињенице које је неопходно познавати ради обезбеђења добробити животиња. Како се Србија налази у поступку политичких интеграција, један од задатака пољопривреде, сточарства и ветеринарске медицине, је не само усаглашавање националне легислативе о добробити животиња са европском легислативом, већ и обезбеђење и унапређење добробити свих употребних категорија животиња. Зато су у овом раду изнете основне чињенице које је неопходно познавати за остваривање ових циљева. У раду су изнете дефиниције добробити, употребне категорије животиња на које се добробит односи, разлози зарад којих је неопходна добробит животиња, чиниоци од којих зависи добробит животиња у једном друштву, механизми обезбеђења добробити животиња и начин оцене добробити животиња. Разумевањем изнетих чињеница и њиховом променом у пракси могуће је обезбедити добробит свих употребних категорија животиња и стећи све привилегије и користи које добробит животиња може да обезбеди човеку.

Кључне речи: добробит, животиње, обезбеђење, унапређење

FACTS THAT WE NEED TO KNOW IN ORDER TO ENSURE AND IMPROVE ANIMAL WELFARE

Marijana Vučinić[1], Katarina Radisavljević[1], Budimir Plavšić[2], Maja Andrijašević[2], Ivana Lazić[2]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Veterinary directorate, Minister of agriculture and environmental protection RS

Abstract

The paper deals with basic scientific and technical facts that we need to know in order to ensure animal welfare. As Serbia is in the process of political integration, it is one of the main tasks of agriculture, animal husbandry and veterinary medicine, not only the harmonization of national legislation on animal welfare with the European legislation, but also the insurance and the improvement of the welfare of all usable categories of animals. Therefore, in this paper we set out the basic facts that need to know to achieve these goals. The paper gives the definition of animal welfare, categories of animals to which the welfare relates, reasons why we need animal welfare, facts that influence the welfare of animals in different societies, mechanisms for ensuring the welfare of animals and method for the

assessment of animal welfare. By understanding the above facts, and their implementation in practice, it is possible to ensure the welfare of all usable categories of animals and gain all the privileges and benefits that animal welfare can provide o human beings.

Key words: animal welfare, insurance, improvement

Увод

Србија пролази тежак пут на чијем се крају налази могућност политичке и економске интеграције у Европску унију. Између осталих обавеза, један од задатака пољопривре, сточарске производње и ветеринарске медицине је и усаглашавање националних законских прописа који се односе на добробит животиња са легислативом Европске уније, као и примена истих прописа у пракси ради обезбеђења и унапређења добробити животиња. Ова обавеза захтева да се добро познају добробит животиња као институционална, професионална и социјална активност, као и чиниоци неопходни за обезбеђење и унапређење добробити животиња. Циљ овог рада је управо упознавање са основним чиниоцима неопходним за обезбеђење и унапређење добробити животиња, с обзиром да већи део јавности у Србији добробит поистовећује са емпатијом према животињама кроз активности организација за заштиту животиња.

Дефиниција добробити животиња

Добробит животиња може различито да се дефинише (1,2).

Прва и најшира дефиниција би била изједначена са свим активностима које се односе на очување физичке, психичке/менталне/емоционалне и генетичке целовитости животиња.

Добробит може да се дефинише и као покрет за заштиту животиња, који одобрава све видове употребе и искоришћавања животиња, ако су такви видови хумани, односно ако се животињама не проузрокују непотребна непријатна телесна и емоционална искуства или су таква искуства сведена на најмању могућу меру. Овај покрет за заштиту животиња зове се велфаризам (3). Најнапреднији покрет је нови велфаризам, који одобрава искоришћавање животиња под горе наведеним условима, али не у неесенцијалне сврхе човека, као што су искоришћавање животиња зарад производње крзна, тестирања козметичких препарата, учествовања у циркуским представама, колекцијама дивљих животиња, међусобним борбама, односно зарад неких видова забаве људи, у којима се животињама проузрокује непотребна патња. Покрет за добробит животиња (велфаризам) и нови велфаризам су данас једини признати покрети засновани на научним сазнањима.

Поред ова два покрета, постоје још два екстремна покрета за заштиту животиња, а то су покрет за права животиња и покрет за либерализацију животиња. Припадници покрета за права животиња сматрају да животиње имају иста права као и човек, при чему је основно право на живот, тако да човек нема право да искоришћава животиње на начин којим животињама ово право ускраћује (4). Припадници покрета за либерализацију се залажу за ослобађање животиња од свих видова искоришћавања и ослобађања на природна станишта. Припадници покрета за права и либерализацију животиња су вегетаријанци, вегани или фрутаријанци. Припадници покрета за добробит животиња такође могу бити вегетаријанци, оволактовегетаријанци, ово-вегетаријанци, лактовегетаријанци, писковегетаријанци, половегетаријанци, вегани или фрутаријанци. Семивегетаријанци су особе које од закланих животиња конзумирају само живинско месо (половегетаријанци) или рибу (писковегетаријанци).

На крају, научна дефиниција, која је уједно и законска дефиниција, добробит дефинише као стање организма, које показује како се животиња прилагођава условима живота, које је за њу обезбедио човек, који је искоришћава, а у складу са потребама

њене врсте. Ова дефиниција у себи јасно интегрише три основна чиниоца неопходна за добробит животиња, а то су сама животиња (генетички потенцијал и искуство животиње), услови живота и човек, који је у овом случају власник, одгајивач, односно лице које о животињи брине, односно лице које је користи зарад сопствене добробити. Зато добробит представља видљиве резултате биолошке интеракције организма животиње са условима живота, односно животним окружењем и човеком, а њен резултат је квалитет живота животиње (5). Добробит је уочљива последица квалитета живота и могуће ју је оценити кроз показатеље физичке, физиолошке и менталне/емоционалне добробити животиња.

Употребне категорије животиња

Постоји већи број употребних категорија животиња, а то су: 1) животиње за производњу хране и природних материјала и влакана за човека (фармске животиње); 2) животиње у транспорту; 3) животиње на изложбама, сајмовима и пијацама; 3) животиње за клање; 4) социјалне животиње (животиње за друштво) или кућни љубимци, укључујући и незбринуте животиње за друштво; 5) животиње за рад; 6) животиње за спорт; 7) животиње за забаву; 8) животиње у пансионима, прихватилиштима и радњама за улепшавање и одржавање хигијене животиња (углавном из категорије кућних љубимаца); 9) дивље животиње у заточеништву; 10) дивље животиње на природним становиштима; 10) огледне животиње које се користе у едукацији, за проналажење и тестирање ефикасности лекова и других материјала и направа за здравље и добробит човека, других животиња и биљака; 11) животиње које се користе у лечењу људи (терапеутске активности или интервенције помоћу животиња) и 12) животиње чији органи, делови органа, ткива, секрети и екскрети или други производи организма служе за лечење људи или за производњу терапеутских средстава за људе. Последња два вида искоришћавања животиња називају се зоотерапија у најширем смислу речи, а терапеутске или помоћне активности третмана различитих обољења човека помоћу живих животиња називају се још и анимотерапија.

Зашто нам треба добробит животиња?

Постоји више разлога зарад којих је потребно обезбедити добробит животиња (6, 7). Сви ови разлози су последица интеракције животиња са човеком, што значи да је добробит животиња двосмерног карактера и да се њоме обезбеђује и добробит човека, али и да је одговорност човека за добробит животиња најзначајнији чинилац. Најбитнији разлози зарад којих је потребно обезбедити добробит наведеним употребним категоријама животиња су: 1) етички/морални разлози, јер су животиње осећајна и свесна бића способна да на пријатна и непријатна телесна и емоционална искуства реагују баш као и човек; 2) квалитет и безбедност намирница; 3) квалитет и безбедност других производа од животиња, укључујући и резултате истраживања или тестирања квалитета и ефикасности на животињама; 4) јавно здравље; 5) економски разлози; 6) политички разлози; 7) конкурентност; 8) углед струке; 9) еколошки разлози; 10) одрживост итд.

Чиниоци од којих зависи добробит животиња у друштву

Многобројни су чиниоци од којих зависи добробит животиња у једном друштву, а то су: традиција, култура, религија, веровања, заблуде, етичке норме, образовање, информисаност, социјалне, економске, политичке прилике, активност покрета за заштиту животиња, притисак јавног мњења, захтеви потрошача и корисника производа животињског порекла, легислатива, медијска активност итд (8).

Однос према животињама се разликује од једног до другог друштва у зависности од социо-зоолошке и моралне вредности која се различитим животињама

придаје у различитим друштвима. Такође, у зависности од набројаних чинилаца, у различитим друштвима се разликују и приоритети обезбеђења добробити животиња. Тако, једно друштво више пажње посвећује здравственој заштити и исхрани животиња, док истовремено занемарује непријатна емоционална и телесна исксуства, која могу бити последица неодговарајућег поступања са животињама или нестручних зоотехничких и ветеринарских захвата. Истовремено, у другим друштвима више пажње може да се посвећује унапређењу етичког односа човека према животињама.

Механизми обезбеђења добробити животиња

Основни механизми обезбеђења добробити животиња су: информисање и едукација свих лица, која на било који начин долазе у интеракцију са животињама или су корисници производа животињског порекла, механизми стицања нових вештина и искустава, имплементација и поштовање међународне и националне легислативе о добробити животиња, примена основних принципа обезбеђења добробити за животиње као што су „правило 5 слобода“ (9) и „3Р“ правило (10), израда и примена упутстава и водича за обезбеђење добробити животиња, стандардних оперативних процедура итд. Правило „5 слобода“ односи се на све животиње о којима брине човек и обухвата: 1) слободу од глади и жеђи; 2) слободу на физичку и термичку удобност; 3) слободу на психичку удобност и сигурност, односно слободу од непријатних емоционалних искустава као што су страх, анксиозност, паника, стрес, бол, досада, социјална изолација, депривација (оскудевање у основним животним потребама – нпр. глад и жеђ), конфликти, фрустрације, патња итд; 4) слободу од повреда, бола и болести и 5) слободу на испољавање природних облика понашања укључујући и социјалне облике понашања. Такозвано „3Р“ правило се примењује као механизам обезбеђења добробити огледних животиња и подразумева примену принципа замене („*replacement*“) виших кичмењака у огледу неанималним организмима и моделима или животињама на нижем ступњу еволутивног развоја; смањење („*reduction*“) броја животиња, које се користе у огледима и усавршавање („*refinement*“) огледне процедуре до постизање правила „5 слобода“. У новије време, „3Р“ правилу су придодати и други принципи и правила као што су одговорност истраживача („*responsibility*“), поново коришћење („*reuse*“) животиња у неинвазивним огледима или огледима благе и средње инвазивности и други.

Организована и системска примена механизама обезбеђења и унапређења добробити различитих употребних категорија животиња данас се примењује кроз широк мултидисциплинарни концепт „изградње и јачања капацитета добробити“ (11,12). Мада је први механизам „изградње капацитета“ едукација о добробити животиња, искуство показује да само знање, било да је теоријско или стручно (вештине и искуство), није довољна гаранција за добробит животиња. Управо зато је неопходно пронаћи и применити све механизме унапређења колективне и индивидуалне свести о прихватању чињенице да су животиње свесна и осећајна бића, као и човек, и да су и обавеза и одговорност човека да животиње користи на хуман начин, штедећи их свих непотребних и непријатних телесних и емоционалних искустава. Мада су научници имали доста дилема о томе како да увере неког, ко не верује у чињеницу да кичмењаци поседују свест идентичну човеку, решење је, на крају, дошло 2012. године, у виду једног сажетог документа, који се зове „Кембрицска декларација о свести“ (13). У њој су сумирана, документована и компаративно анализирана сва знања о свести и свесности човека и животиња. Овај документ су потписали и прокламовали водећи светски неуронаучници. На крају, добробит животиња може да постоји само у друштвима у којима постоји свест о добробити (14). Уколико је одређено друштво круто и нефлексибилно у погледу прихватања нових знања и нових моралних норми, у таквом друштву добробит животиња не може да постоји.

Оцена добробити животиња

Да би се стекао увид у добробит одређене употребне категорије животиња, неопходно је оценити добробит. Од 2009. године, постоји развијена, научно и међународно призната методологија оцене добробити фармских животиња (15), а од 2014. године и научно верификована и међународно призната методологија оцене паса у прихватилиштима (16). Добробит животиња се оцењује на основу директних и индиректних показатеља. Индиректни показатељи добробити односе се на квалитет смештајног простора и опреме (индикатори ресурса) и на квалитет пословања (индикатори менаџмента). Директни показатељи добробити односе се на саму животињу, њену телесну кондицију, здравствено стање, укључујући одсуство повреда, болести, бола, страха, њено понашање и њена осећања (емоционални статус). Директни показатељи добробити откривају да ли се животиња правилно храни и пои, да ли су јој обезбеђени одговарајући услови смештаја, да ли је здрава, како се понаша у односу на опрему и прибор, друге животиње, људе, али и како се човек, било да је њен власник или радник на фарми, радник у прихватилишту за напуштене животиње или радник у научној институцији, односи према животињама.

Ветеринарска професија и добробит животиња

Ветеринарима је често тешко да разумеју концепт обезбеђења добробити животиња јер је на већини факултета ветеринарске медицине на територији Западног Балкана изостало образовање из ове научне и стручне дисциплине. Не ретко, ветеринари поистовећују концепт обезбеђења добробити животиња са концептом здравствене заштите животиња и емпатијом према животињама, сматрајући да је осећајност према животињама довољна за етичност ветеринарске професије. Док је професионална обавеза власника и одгајивача да обезбеди све услове за добробит животиња, дотле је професионална обавеза ветеринара да знају да препознају и уклоне опасности и ризике за угрожавање добробити животиња, као и да знају да препознају саму угрожену добробит животиња. Ово могу постићи ако познају показатеље, услове обезбеђења и унапређења добробит животиња, као и методологију оцене добробити.

Концепт добробити посматра и процењује физичку (структурна и функционална целовитост) и менталну целовитост организма животиње кроз испољеност природних облика понашања, који не штете другим животињама и човеку. Здравствени поремећаји и болести се у концепту добробити животиња посматрају као стања која проузрокују осећања неудобности, непријатности, несигурности, незадовољства, фрустрација и патње. Здравствени поремећаји и болести се доводе у везу са актуелним, привременим или трајним структурним и функционалним одступањима од физиолошких норми организма животиња. Болести мењају бихејвиорални профил животиње на два начина. Прво, болести или спречавају или онемогућавају животињу да испољи девет природних облика понашања (реактивност, одмор и сан, кретање, хранидбено, хигијенско, територијално, истраживачко, социјално и репродуктивно понашање) и да задовољи своје потребе. Друго, повреде и болести могу да буду узрок поремећаја и патолошких облика понашања животиња, који штете самој животињи или другим животињама и човеку. Зато су развијени директни показатељи који служе у сврху оцене добробити животиња. Професионална је обавеза ветеринара да познаје начине оцене добробити животиња, као полазне основе за њено обезбеђење и унапређење, али и за обезбеђење јавне безбедности и сигурности, јавног здравља, квалитета и безбедности намирница животињског порекла, квалитета научних резултата добијених истраживањима на животињама, квалитета и ефикасности других производа добијених коришћењем животиња (нпр. лекови за човека), и на крају, за обезбеђење етичности, угледа и одрживости ветеринарске професије.

Процес прикључивања економски и технолошко развијеним земљама Европе захтева од ветеринара у Србији да прате напредак струке, да схвате и савладају нова знања и вештине неопходне за обезбеђење и унапређење добробити животиња, да препознају ризике њеног угрожавања и да се активно укључе у изградњу капацитета за добробит животиња. Поред свих обавеза које имају, на ветеринарима је да преузму обавезу и одговорност подизања опште друштвене и индивидуалне свести о добробити животиња.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hewson CJ, 2003, What is animal welfare? Common definitions and their practical consequences, Can. Vet. J. 44, 496-99. 2. Carenzi C, Verga M, 2009, Animal welfare: review of the scientific concept and definition, Ital. J. Anim. Sci. 8 (Suppl. 1), 21-30. 3. Keller S, 2009, Welfarism, Philos. Compass 4, 82-95. 4. Herzog HA, Golden LL, 2009, Moral emotions and social activism. The case of animal rights, J. Soc. Issues. 65, 485-98. 5. Veisser I, Aubert A, Boissy A, 2012, Animal welfare: a result of animal background and perception of its environment, Animal Frontiers 2, 7-15. 6. Вучинић М, Раденковић-Дамњановић Б, Радисављевић К, 2011, Шта је и зашто нам је потребна добробит животиња, Вет. журнал Републике Српске 11, 59-68. 7. Вучинић М, Радисављевић К, 2012, Јавно здравље и добробит животиња, Вет. журнал Републике Српске 12, 25-33. 8. Vanhonacker F, Verbeke W, 2014, Public and consumer policies for higher welfare food products: challenges and opportunities, J. Agric. Environ. Ethics 27, 153-71. 9. McCulloch SP, 2014, A critique to FAWC's Five Freedoms as a framework for the analysis of animal welfare, J. Agric. Environ. Ethics 26, 959-75. 10. Rusche B, 2003, The 3Rs and animal welfare – conflict or the way forward? ALTEX 20 (Suppl. 1), 63-76. 11. FAO, 2008, Capacity building to implement good animal welfare practices, Report of the FAO Expert Meeting. Rome, Italy, 30 September – 3 October 2008. 12. Melfi V, Hosey G, 2011, Capacity building for better animal welfare, Int. Zoo Yearb. 45, 274-81. 13. Low P, 2012, The Cambridge Declaration on Consciousness. Edited by Jaak Panksepp, Diana Reiss, David Edelman, Bruno Van Swinderen, Philip Low and Christof Koch. Memorial Conference on Consciousness in Human and non-Human Animals, Churchill College, University of Cambridge, UK, 7 July 2012. 14. Miele M, Veissier I, Evans A, Botreau R, 2011, Animal welfare: establishing a dialogue between science and society, Animal Welfare 20, 103-17. 15. Welfare Quality, 2009, Welfare Quality assessment protocol for cattle (fattening cattle, dairy cows, veal calves), Welfare Quality Consortium, Lelystad, The Netherlands. 16. Barnard S, Pedernera C, Velarde A, Dalla Villa P, 2014, Shelter Quality, Welfare assessment protocol for shelter dogs, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy.

ОБРАЗОВАЊЕ КАДРОВА О ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА У СРБИЈИ

Ивана Лазић

Управа за ветерину, Министарство пољопривреде и заштите животне средине РС

Кратак садржај

У раду је извршена анализа потреба за образовањем и обуком кадрова о добробити животиња у Републици Србији, као и анализа тренутне оспособљености кадрова за процену добробити различитих категорија животиња у различитим условима држања. Закон о добробити животиња (''Службени гласник РС'', 41/09), који је ступио на снагу 2009. године, уводи нове стандарде у начину држања, узгоја и промета различитих категорија животиња. Новине уведене овим законом изискују потребу за новим знањима и вештинама, без којих није могућа адекватна примена закона и пратећих прописа, а који представљају једну од обавеза наше земље у процесу интеграција у Европску унију. У складу са тим, закон прописује обавезну обуку за сва лица, која директно или индиректно учествују у примени овог прописа. Обука је посебно обавезна за превознике животиња (возаче и пратиоце животиња), кланичаре, односно лица, која обављају обуздавање, омамљивање и клање животиња, лица која обављају огледе на животињама, као и она лица која се баве држањем, репродукцијом и прометом огледних животиња, затим лица која раде у прихватилиштима и пансионима за животње, одгајивачницама и продавницама животиња. Посебна обука је такође прописана и за лица која раде са животињама у зоолошким вртовима. Програм сваке од ових обука је прописан посебним прописом. Све наведено, као и чињеница да образовање има друштвену и социјализациону функцију, изискује потребу за увођењем нових садржаја у образовање, унутар образовних институција, школа и факултета. Друштвена функција образовања огледа се у потреби општег прихватања вредности и норми система, преко стандардизованог концепта и садржаја образовања. Зато државе и преузимају бригу о финансирању образовања. Социјализациона функција образовања такође подразумева школу, факултет, као мост између појединца и друштва. Будући да су модерна друштва са развијеном поделом рада и мноштвом улога сваког појединца по природи хетерогена, циљ је те различитости хомогенизовати колико је то могуће, а у циљу интеграција друштва. Поред образовања, јасно уоквиреног у систему основног и високог школства, јавља се потреба за још једним видом усавршавања и то у виду обука, у циљу стицања знања, вештина и ставова, односно теоријских и практичних вештина. Обука је саставни део унапређења стандарда професионалног развоја и има за циљ побољшање способности, продуктивности и перформанси, а ради практичне примене нових достигнућа. У раду су детаљно представљене циљне групе, које морају проћи обуку, као и програми обуке (садржај и трајање) о добробити различитих категорија животиња у различитим условима држања.

Кључне речи: Закон о добробити животиња, образовање, обука, програм обуке

EDUCATION OF PERSONENEL ON ANIMAL WELFARE IN REPUBLIC OF SERBIA

Ivana Lazić

Veterinary directorate, Minister of agriculture and environmental protection RS

Abstract

In this study an analysis of needs for education and training of personnel on animal welfare in Republic of Serbia, as well as the analyses of current personnel capacity for assessment of welfare of different categories of animals under different housing conditions were performed. The Animal Welfare Act Animal Welfare Law (''Official Gazette of RS'', 41/09), adopted in 2009 introduce a new standards in keeping, breeding and trade of different categories of animals. Those novelties, prescribed in the law, require new knowledge and skills, without home, the adequate implementation of the law and following rulebooks, the one of the major obligation of our country in accession process, According to that, law prescribes the compulsory training for all persons, directly or indirectly involved in implementation of this legislation. The training is especially compulsory for the transporters (drivers and attendants), slaughterman, i.e. persons conducting restraining, stunning and slaughtering, persons conducting the experiments, as well as the persons involved in breeding, reproduction and trade of experimental animals, persons working in the shelters, boarding premises, pet shops and breeding establishments. Special training is also prescribed for the persons working with animals in the zoo. Every separate training program is prescribed in the separate rulebooks. All mentioned above, as well as the fact that education has a social and sociological-technological function requires the need to introduce a new content in education, within educational institutions, schools and faculties. Social function of education is need for general acceptance of system values and standards, over the standardize educational concept. That is the reason the governments take over their funding. Sociological-technological function also means schools and faculties as a bridge between individuals and society. Since the modern societies, with variety of jobs and roles of every individual are heterogeneous, the aim is to homogenize those varieties as much as possible in order to achieve the integration of the society. Besides the formal education, clearly framed in basic and high educational system, there is a need for one more form of education, such as training to acquirement of knowledge, skills, and competencies i.e. theoretical and practical skills. The training is the integral part of improvement of professional standards and has specific goals of improving one's capability, capacity, productivity and performance. In this study, the target groups that have to be trained are represented in details, as well as the training programs (content and duration) on welfare of different categories of animal in different keeping conditions.

Key words: Animal Welfare Law, education, training, training program

СТАЊЕ ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА НА ФАРМАМА У СРБИЈИ - ПРЕГЛЕД НАЈВАЖНИЈИХ РЕЗУЛТАТА НАЦИОНАЛНОГ ИСТРАЖИВАЊА КОРИШЋЕЊЕМ ИНДИКАТОРА БАЗИРАНИХ НА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА

Елвир Буразеровић

Организација за поштовање и бригу о животињама - ORCA, Београд

Кратак садржај

Национално истраживање стања добробити фармских животиња на фармама у Србији спровела је Организација за поштовање и бригу о животињама - ORCA у оквиру пројекта „*Стандарди добробити фармских животиња у Србији*“, финансираног од стране Европске уније током 2011 и 2012. године. Користећи протоколе посебно развијене за потребе истраживања у сарадњи са стручњацима за добробит животиња са Универзитета у Бристолу из Велике Британије, обучени истраживачи су посетили 105 фарми крава музара, товних свиња и крмача, оваца и бројлера и прикупили податке користећи индикаторе базиране на добробити животиња, мере које се тичу постојећих фармских ресурса, односно начина управљања фармом. Код крава музара хромост и кондиционо стање су регистровани као индикатори добробити код којих постоји највећа потреба за унапређењем услова у којима ове животиње живе. Најчешће констатовано обољење свиња је бурзитис, а регистрован је и висок проценат хромости, нарочито у случају фарми крмача, док је велики број и товних свиња и крмача у лошем кондиционом стању. Подаци добијени истраживањем чистоће перја, контактног дерматитиса зглобова и стопала, проценом хода и типа простирке, као и тестом понашања приликом процене добробити бројлера, говоре да постоји сразмерно низак ниво патолошких стања на фармама које гаје ову врсту животиња. Најчешћа патолошка стања која су се могла уочити током истраживања на фармама оваца су хромост, маститис, губитак вуне, пруритус (свраб), нечиста вуна, као и лезије на кожи. Резултати истраживања представљају добру основу за предузимање низа мера које су усмерене у правцу унапређења стања добробити фармских животиња, као одговора на прихватање европских стандарда, односно захтеве потрошача.

Кључне речи: добробит, фармске животиње, индикатори добробити

THE STATE OF ANIMAL WELFARE ON FARMS IN SERBIA – REVIEW OF THE MOST RELEVANT RESULTS OF THE NATIONAL RESEARCH USING WELFARE OUTCOME MEASURES

Elvir Burazerović

Organization for Respect and Care for Animals - ORCA, Belgrade

Abstract

National survey of farm animals' welfare in Serbia was conducted by the Organization for Respect and Care for Animals - ORCA within the project under the title "Welfare standards for farm animals in Serbia". The project was financed by the European Union in 2011 and 2012. The study was conducted on a total of 105 dairy farm, fattening pigs and sows, sheep and broiler chickens farms using protocols and the methodology developed specifically for the needs of the research in the collaboration with experts in animal welfare at the University of Bristol in the UK and trained researchers from Serbia. Methodology of farm animal welfare assessment included animal based, resource based and management based indicators. Detected welfare risks were inappropriate body condition scores and lameness in dairy cows, bursitis and lameness in pigs, low body condition scores in sows and fattening pigs. Animal based indicators detected low rates of welfare risks in broilers (feather cleanliness, contact and foot pad dermatitis, behavioural disorders, and bedding quality). The most common pathological conditions which could be observed during the research on sheep farms are lameness, mastitis, loss of wool, itching, dirty wool, and skin lesions. Results of the study provide a good basis for taking a series of measures which are directed at improving welfare of farm animals in order to reach European standards of farm animal welfare and demands of consumers in Serbia.

Key words: farm animal, animal based indicators, welfare

УВОД

Добробит фармских животиња представља питање од великог значаја за становнике Европе када је у питању безбедност и квалитет хране животињског порекла (1, 2, 3). Перцепција квалитета хране данас није само дефинисана њеном безбедношћу, већ и статусом добробити животиње од које је та храна произведена. Другим речима, добробит животиња данас представља важан фактор општег концепта квалитета хране (4). У протеклим деценијама у Европској унији, као и широм света, препознати су различити начини за обезбеђивање транспарентне комуникације о квалитету производа у оквирима потрошачког ланца, када је добробит животиња у питању (5).

Добробит животиња је научна категорија, и као таква може бити измерена и процењена користећи различите објективне параметре (4). Европска унија је уложила значајне напоре у развој система мерења добробити животиња од којих се производи храна. Један од најзначајнијих пројеката био је *Welfare Quality* пројекат (6) који је утврдио широко прихваћену научну чињеницу значаја добробити животиња за квалитет хране. Овај пројекат је осмишљен и спроведен са циљем да развије интегралну и стандардизовану методологију за процену добробити говеда, свиња и живине – од фарме до кланице, као и да одреди начине на које мере за унапређивање

добробити треба да буду примењиване. Мерење добробити животиња базира се на индикаторима стварног стања добробити животиње кроз процену њеног понашања, здравља или физичког стања. *Welfare Quality* пројекат значајно је допринео развијању европских стандарда за процену добробити животиња на фармама, као и за продукцију информативних система и практичних стратегија за унапређење добробити животиња.

Ослањајући се на *Welfare Quality* пројекат и мере за процену добробити животиња које су њиме развијене, ORCA је спровела пројекат *„Стандарди добробити фармских животиња у Србији“* финансиран од стране Европске уније (7). Процена стања добробити животиња на фармама у Србији представљала је једну од најзначајнијих пројектних активности.

Циљ овог истраживања био је да се у Србији спроведе свеобухватно истраживање стања добробити четири врсте фармских животиња (крава музара, свиња, бројлера и оваца), користећи индикаторе базиране на добробити животиња. Резултати овог истраживања доприносе дефинисању постојећих проблема добробити животиња на фармама данас у Србији, односно развоју адекватних стратешких докумената и пројеката који теже да унапреде стање добробити животиња на фармама, осмисле програме индивидуалног рада са фармерима на побољшању конкретних услова на фармама у којима животиње живе, односно развију и имплементирају високе стандарде добробити фармских животиња у Србији који директно доприносе квалитету и сигурности производа животињског порекла.

Овај рад представља најзначајније резултате националног истраживања стања добробити фармских животиња у Србији са аспекта индикатора базираних на добробити животиња, односно појединих мера које се односе на ресурсе на фарми, односно начин управљања фармом од стране фармера.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Процена добробити фармских животиња спроведена је на 105 фарми током децембра 2011. године. Истраживање је обухватило 24 фарме бројлера, 20 фарми товних свиња, 18 фарми крмача, 27 фарми оваца и 28 фарми музних крава. Фарме су биле распоређене у целој Србији – од севера (Војводина), преко централне (околина Београда), источне (околина Пожаревца и Димитровграда), западне (околина Ужица и Пожеге) и јужне Србије (околина Куршумлије и Крушевца). Фарме су бирane на основу два критеријума:

- Производи животињског порекла који се производе на фарми су намењени ширем тржишту, а не само сопственим потребама фармера/власника фарме;
- Бројност животиња присутних на фарми у време посете је изнад одређене вредности, која је специфична за сваке врсту животиње и која је дефинисана посебним протоколом процене добробити животиња развијеним у оквиру конкретног пројекта.

Протоколи примењени у овом истраживању заснивају се управо на *Welfare Quality* систему, и посебно су развијени за потребе пројекта од стране стручњака за добробит животиња са Универзитета у Бристолу из Велике Британије, ангажованих у оквиру пројекта *Стандарди добробити фармских животиња у Србији*, са богатим искуством у развијању и имплементацији протокола за процену добробити фармских животиња. Индикатори базирани на добробити животиња и пратећи протоколи примењивани у истраживању прилагођени су у складу са сазнањима о специфичним условима гајења све четири врсте животиња у Србији и у односу на временска ограничења посете индивидуалној фарми, односно спровођења процене добробити животиња.

За сваку од четири врсте животиња, протокол се састојао од четири главна дела:

1. Упитник о управљању фармом – обухвата општа питања која се тичу броја животиња на фарми, ветеринарских услуга, начина исхране и неге коју власник пружа својим животињама, итд.;

2. Мере које се тичу добробити животиња – обухвата мере које се фокусирају на саме животиње, а не на њихово окружење, када је у питању процена њихове добробити. У односу на класичну оцену ресурса које животиња има на располагању на фарми, овакав начин процене добробити представља бољи алат оцењивања свеукупног односа према животињама на фарми. У оквиру овог дела протокола, оцењивали су се физичко и психичко стање животиње (физичка кондиција, чистоћа тела, постојање повреда, хромости животиње, понашање животиње, итд.);

3. Процена ресурса на фарми – овај део протокола употпуњује представу о условима у којима животиња проводи свој живот на фарми и односи се на оцењивање стања смештаја животиње, количине и типа хране и воде који се пружају животињама, присуство објеката за обогаћење средине, итд.;

4. Упитник за фармере – овај део протокола идентичан је за све посећене фарме и састојао се од питања чији је циљ процена степена упознатости фармера у Србији са концептом добробити животиња, као и информисање о њиховим будућим плановима за унапређење добробити животиња и производњу на фарми.

Процену добробити животиња на терену спровело је десет ветеринара, инжењера сточарства и студената ветерине, обучених за потребе овог пројекта од стране стручњака за добробит животиња са Универзитета у Бристолу из Велике Британије током осмодневног тренинга. Тренинг је обухватао по два дана обуке о процени добробити на фарми за сваку врсту животиње, где је један дан обухватао теоретски аспект процене, а други дан практични део рада на фармама. Након завршене обуке, одржана је и једнодневна радионица за потребе калибрације (усклађивања) оцењивања одређених мера на терену у којој је учествовало свих десет процењивача. У просеку, сваки пар процењивача посетио је две фарме, односно укупно у просеку око 20 фарми свих врста животиња током трајања истраживања.

РЕЗУЛТАТИ

Музне краве

Истраживањем је обухваћено 28 фарми млечних крава. Све фарме су припадале интензивном систему гајења, са изузетком једне органске фарме млечних крава. Од укупног броја фарми, 6 фарми је имало могућност излаза на пашњак, а 16 фарми је имало излаз на ограђени испуст. Истраживање је показало да су хромост и кондиционо стање индикатори добробити крава где постоји највећа потреба за унапређењем услова у којима ове животиње живе. Треба имати у виду да се хромост тешко мери јер је потребно проценити ход животиња које се најчешће држе везано, што значи да процењен ниво хромости може бити знатно већи од регистрованог. Када је у питању кондиционо стање, резултати указују на чешћу појаву потхрањених у односу на гојазне краве. Поред тога, примећени су проблеми са нечистоћом бокова (макс. 76%), задњих ногу (макс. 28%), вимена (макс. 88%), затим проблеми са кожом (губитак длаке) и отоци карпалне и тарзалне регије ногу. Проблем нечистоће задњих ногу уједно је индикатор нечистоће простирке, док запрљаност папака услед таквог стања може довести до појаве хромости. Губитак длаке и отоци ногу могу бити индикатори неповољних услова држања, а посебан проблем представља запрљаност вимена, јер повећава ризик од појаве маститиса.

Свиње

Истраживањем је обухваћено укупно 38 фарми свиња, односно 20 фарми товних свиња и 18 фарми крмача.

Товне свиње

Просечан број животиња на фарми је 1608, просечна величина обора је 15,7 m2, а густина насељености је 17,7 свиња по обору. Разматрајући коришћење објеката за обогаћење средине (ланци, пластичне флаше), чије присуство у животном окружењу је за свиње веома важно, јер ови објекти стимулишу природне облике понашања свиња, утврђено је да свега три фарме користе објекте за обогаћење средине, док на осталим не постоји никакво обогаћење средине. Најчешће констатовано обољење је бурзитис које је регистровано код 63% посматраних животиња, од којих 32% има веома озбиљан облик. У просеку, 99,5% свиња по фарми је кастрирано, а 94,5% свиња по фарми има скраћен реп. Само 10% фарми користи анестезију током кастрације, док 11% фарми користи анестезију током процедуре скраћивања репова. Стално пристуног ветеринара нема 67% фарми, већ га зову по потреби, док 33% има редовне (месечне) посете ветеринара.

Крмаче

Број животиња по посећеној фарми у просеку износи 310 крмача и 2.148 прасића. Када је у питању коришћење објеката за обогаћење средине, проценат је у случају гајења крмача нешто бољи у односу на товне свиње – 5 фарми користи објекте за обогаћење средине, и то сламу, дрво, играчке, музику. Од 7 фарми на којима не постоји било какво обогаћење средине, њих 6 не разматра увођење ових објеката ни у будућности. И код крмача, најчешће обољење је бурзитис, где је код 56% посматраних животиња утврђено ово стање, а од овог броја код 35% постоји тешки облик. На неким фармама је примећен релативно висок ниво рана на телу што одражава недостатак социјалне стабилности, опасног окружења или комбинације ова два фактора. Запрљаност свиња изметом је уочена на многим фармама, како товних свиња, тако и крмача, што указује на неадекватно управљање отпадом са фарме. Оваква ситуација повећава ризик од преношења заразних болести. На многим фармама свиња је примећен висок проценат хромости, нарочито у случају фарми крмача, док је велики број и товних свиња и крмача у лошем кондиционом стању.

Бројлери

Укупно 24 фарме бројлера су посећене у оквиру националног истраживања добробити фармских животиња. Просечан број птица на фармама је износио 24.182. Све фарме су припадале интензивном систему гајења у затвореним објектима. Ниједна фарма није имала испуст, нити могућност пуштања птица у отворен простор.

Тридесетосам процената (38%) процењених објеката је садржало неку форму обогаћења средине (слама, греде за стајање). Резултати истраживања указују на изненађујуће низак ниво присуства мера које би указале на лоше стање добробити бројлера на истраживаним фармама, имајући у виду постојеће интензивне системе гајења. Подаци добијени истраживањем чистоће перја, контактног дерматитиса зглобова и стопала, проценом хода и типа простирке, као и тестом понашања, говоре да постоји сразмерно низак ниво патолошких стања на фармама.

Овце

У оквиру посећених 27 фарми оваца које су биле обухваћене истраживањем добробити фармских животиња, примећен је сразмерно низак ниво патолошких стања. Узрок оваквог резултата може бити чињеница да су посећене фарме добровољно прихватиле учешће у истраживању, сходно уверењу да поседују добре услове држања

оваца, али и чињеница да је постојао евентуални превид одређених индикатора услед отежаних услова рада, у углавном затвореном простору, уз слабо осветљење и високу густину насељености. Патолошка стања која су се најчешће могла уочити током истраживања на фармама су: хромост, маститис, губитак вуне, пруритус (свраб), нечиста вуна, као и релативно мали број животиња са лезијама на кожи. На свим фармама овцама је доступна чиста и свежа вода, али свега 2 од 27 фарми (7%) имало је чисту и суву простирку за лежање. Чак 90% фарми које су имале стада у време процене на отвореним површинама, имале су заклон од сунца и кише.

Дискусија и закључак

Резултати истраживања који су изнети у овом прегледу указују на значајан раскорак који постоји између стања добробити фармских животиња и законских захтева, као и стандарда добробити животиња који су део *acquis communautaire.* Поред обавезе државе у процесу европских интеграција да обезбеди примену европског законодавства у области добробити животиња, треба имати на уму да стандарде добробити животиња у Европској унији пре свега диктирају захтеви потрошача за квалитетном, здравом и безбедном храном.

Како би се постигли минимални (законски) стандарди, али и виши стандарди добробити фармских животиња који захтевају потрошачи, неопходно је да држава, у сарадњи са цивилним сектором, и уз подршку Европске уније, пружи подршку фармерима која се огледа у:

- утврђивању стратешког оквира за унапређивање стандарда фармсих животиња на фармама;
- спровођењу социо-економске анализе исплативости увођења стандарда добробити фармских животиња при гајењу;
- спровођењу истраживања ставова потрошача о разумевању значаја добробити животиња приликом избора прехрамбених производа животињског порекла;
- пружању континуиране саветодавне и стручне подршке фармерима;
- обезбеђивању финансијских подстицаја за достизање стандарда добробити фармских животиња при гајењу;
- јачању опште свести о значају добробити фармских животиња за производњу здраве и безбедне хране животињског порекла.

ЛИТЕРАТУРА:

1. European Commission, 2005, Attitudes of consumers towards the welfare of farmed animals. Eurobarometer 22, wave 63,2. 2. Bennett, R. and Blaney, R., 2002, Social consensus, moral intensity and willingness to pay to address a farm animal welfare issue. Journal of Economic Psychology, 23, 501-22. 3. Kjaernes, U., Bock, B., Roe, E. and Roex, J., 2009, Consumption, Distribution and Production of Farm Animal Welfare - Opinions and Practices within the Supply Chain. Welfare Quality Reports No. 7, School of City and Regional Planning, Cardiff University. 4. Keeling, L., 2009, An Overview of the Development of the Welfare Quality Project Assessment Systems. Welfare Quality Reports No.12. School of City and Regional Planning, Cardiff University. 5. Kehlbacher, A. Bennett, R. and Balcombe, K., 2012, Measuring the consumer benefits of improving farm animal welfare to inform welfare labeling. Food Policy, 37 (6), 627-33. 6. Welfare Quality www.welfarequality.net. 7. Организација за поштовање и бригу о животињама - ORCA www.orca.rs.

БИХЕЈВИОРИСТИКА - УЛОГА И ЗНАЧАЈ ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ И ДОБРОБИТ ЖИВОТИЊА

Дуња Ковач

ФРД - Фондација за развој домаћинства, Нови Сад

Кратак садржај

Потреба за разумевањем понашања животиња данас све више расте како човек тежи што већој хармонизацији односа са животињама. Бихејвиористика је научна дисциплина која има способност да сву теорију о понашању животиња преведе у праксу и тиме смањи конфликт између човека и животиње, као и да повећа шансе за што бољи заједнички живот. Савремена светска ветеринарска пракса је инкорпорирала бихејвиористику у бригу о здрављу кућних љубимаца, где доктори ветеринарске медицине, специјализовани за понашање паса и мачака, раде раме уз раме са колегама клиничарима, пружајући на тај начин негу целокупног психофизичког здравља животиња. Поред значаја у раду са кућним љубимцима, бихејвиористика је нашла своју примену и у раду са домаћим животињама, као и дивљим животињама у зоолошким вртовима и резерватима. Бихејвиористика има значајан утицај на добробит животиња у условима заточеништва, пружајући могућности за смањење стреса и досаде учењем животиње алтернативним видовима понашања уз помоћ техника бихејвиоралне модификације, које јој обезбеђују менталну стимулацију и психичко здравље.

Кључне речи: бихејвиористика, ветеринарска медицина, бихејвиорална модификација, добробит животиња

APPLIED ANIMAL BEHAVIOR SCIENCE - THE ROLE AND SIGNIFICANCE IN VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL WELFARE

Dunja Kovač

FDF - Farm development foundation, Novi Sad

Abstract

The need for understanding animal behavior today is growing, as a man weighs towards the harmonization of relationship between himself and the animal. Applied Animal Behavior Science has the ability to take the theory about animal behavior and to put it in practical use, in order to reduce conflict between man and the animal, as well as to increase chances of a better life together. Modern global veterinary practice has incorporated Applied Animal Behavior science into the health care of pets, where behaviorists or veterinarians who specialize in animal behavior are working side by side with fellow clinicians, thus providing overall physical and mental care of animals. Besides the important role in small animal practice, applied animal behavior science has found its significance in the work with domestic animals as well as wild animals in the zoos and nature reserves. Applied Animal Behavior science has a significant impact on the welfare of animals in captivity, providing the ability to reduce stress and boredom by ensuring necessary mental stimulation and teaching the animal an alternative, more adaptable forms of behavior with the use od behavior modification protocols.

Key words: applied animal behavior science, veterinary medicine, behavioral modification, animal welfare

Бихејвиористика - Наука о понашању животиња

Научно поље бихејвиористике (*Applied Animal Behavior*) употребљава сазнања о понашању животиња добијена путем обсервација и експеримената за одређену сврху (1). То може бити у корист или људи или животиња. У већини случајева, наука о понашању животиња служи као медијатор конфликата или проблема који постоје између људи и животиња, и ни у једном сегменту не односи се на убијање или злостављање животиње.

Бихејвиористика је ултимативни тест теорија о томе шта мотивише и одржава одређене видове понашања животиња. Ако је теоријска основа јака и стабилна, и ако су променљиве које она дефинише релевантне за контролу и управљање одређених понашања, ми морамо бити у стању да управљамо тим променљивим у стварном окружењу како би осигурали жељени резултат. Бихејвиористи углавном раде изван строго контролисаних услова учионица, лабораторија и полигона, и њихово деловање мора бити у стању да надјача утицај спољашњих фактора и надражаја.

Бихејвиористи имају богато теоријско знање, али се од њих очекује да комбинују и примењују теорије у практичном раду са животињама, користећи се различитим техникама и методама. Стручњаци из области понашања животиња морају да познају принципе понашања, да познају методе истраживања понашања, да знају да примене те принципе и методе у пракси, као и да умеју да пренесу знање путем едукација.

Школе бихејвиористике

Бихејвиористика спаја две различите школе проучавања понашања - Европску и Америчку. Европски приступ се темељи на етологији, која наглашава начин на који су различите врсте животиња наследиле одређени образац понашања како би се прилагодиле условима спољашње средине, и на тај начин стекле вештине преживљавања у природној селекцији. Амерички приступ је компаративна психологија (зоопсихологија), од које је најзначајнији правац бихевиоризам, који примењује строго контролисане услове и презентације стимуланса како би развио стандардне моделе на који начин животиња прима, процесуира и реагује на надражаје. У оквиру овог контекста, теорија учења је изградила моделе на који начин претходна искуства животиње могу да измене свако њено наредно понашање.

Бихејвиоризам

Бихејвиоризам је посебна грана психологије која је остварила практичну доминацију у психолошкој теорији. Бихевиоризам се бави проучавањем понашања и процеса учења где сматра да је свако маладаптивно понашање научено, и као такво, оно се може и „одучити“. Главни представници ове гране су Вотсон, Павлов и Скинер, који су објашњавали развитак јединке као: одређеним условима усмерен процес стицања нових облика понашања (2). Интересовање бихејвиористички оријентисаних психолога усмерено је на утврђивање оних услова путем којих се мења, и чијим стварањем се може мењати понашање. Тако нпр., амерички психолог Скинер је показао како се награђивањем и ненаграђивањем одређених начина реаговања може стећи или напустити одређени вид понашања. Постоји више праваца бихејвиоралне психотерапије: - класично и инструментално условљавање, које спадају у једноставне процесе учења и треће - учење по моделу, које представља сложен процес учења. Како је неадекватно понашање стечено учењем, тако га се јединке са поремећајима морају и ослободити коришћењем учења и стећи здраво и прилагођено понашање.

Класична бихејвиористичка школа одбацује унутрашње емотивне и менталне процесе као релевантне за процесе учења и сматра да се треба проучавати само оно што се може јасно видети и бити мерљиво - понашање, а не оно што се не може видети - осећања и емоције. Међутим, најновија истраживања из сфере когнитивне науке - когнитивне психологије и когнитивне неурологије - која проучава менталне процесе живих бића, човека и животиња, спознају и интелигенцију, њихову пажњу, резоновање, решавање проблема, доношење одлука, процесуирање информација и др, су показала да животиње реагују онако како се осећају, и

да итекако осећају патњу, страх, узбуђење, немир, незадовољство, одушевљење и др. Ова сазнања су показала да животиње нису машине које се „механички“ понашају без унутрашњих доживљаја, и да се емоције и осећања никако не могу одвајати од понашања, јер су оне управо те које регулишу крајње спољашње реакције јединке на околне надражаје. Спој когнитивне и бихејвиоралне терапије је назива когнитивно - бихејвиорална терапија и она представља комплетан психотерапијски приступ, јер помаже повезивање теорија учења са развојним когнитивним теоријама.

Примена бихејвиористике у пракси

Бихејвиористика поред експеримената и теорија, ставља акценат и на пажљиву обсервацију и документовање понашања, идентификацију одређених променљивих, и евалуацију промена у понашању, а све у сврху методичне употребе и контроле идентификованих променљивих. Уместо да се мери успех са статистичким подацима, мери се конкретан резултат у виду успешног решења оригиналног проблема. Већина случајева почиње описом историје, тј. детаљном анамнезом - врста, пол и старост животиње; када се први пут проблем јавио, учесталост појављивања и у каквим условима, присуство пређашњег стимуланса, циљ понашања, и резултат (3).

Када се попуни историја случаја, може се приступити развоју теорије зашто и како се понашање развило, на који начин се оно одржава, и направити план рада - бихејвиоралне модификације - за редукцију или елиминацију проблема. План бихејвиоралне модификације може имати два приступа. У првом, ако је историја случаја показала да је понашање животиње природно, у оквиру себи својственог етнограма, али на погрешном месту и у погрешно време манифестовано, онда прилаз решавању проблема обухвата учење животиње новим, прихватљивијим видовима понашања за средину у којој се налази. Један пример оваквог понашања је мачe које вија и гризе ноге својих власника. Ово је манифестација нормалног предаторског понашања мачака, али у овом случају је неприхватљиво, и приступ би био да се мачету обезбеде играчке и активности са којима би се преусмерило и контролисало предаторско понашање. У другом, историја случаја може да покаже да је развијено понашање резултат пређашњег искуства тзв. маладаптивно понашање, нпр. ако пас показује страх од гласних звукова и изненадне буке, он може да развије дугогодишњи страх или фобију од грмљавине или петарди. Уобичајени приступ терапије је путем десензитизације и контрауслољавања - пас се постепено излаже непријатним звуцима путем аудио уређаја, водећи рачуна да се константно ради испод његовог прага толеранције, уз примену пожељног, позитивног надражаја у облику награда (посластица). После неколико оваквих понављања, јачина непријатног надражаја се постепено појачава, уз симултано презентовање позитивног надражаја. На овај начин, пас учи да асоцира гласне звуке са пријатним догађајима, а не са страхом.

Међутим, у већини случајева, неопходан је терапијски приступ комбинацијом ове две методе. Пси скачу на људе како би их поздравили, и ово није толико необично јер исто такво понашање исказују и пси између себе при упознавању. Овде се користи приступ учења пса алтернативним, прихватљивим видовима понашања, нпр. да седне при приласку особе. Други начин је да особе које прилазе псу предухитре скок бацањем посластице и на тај начун подстрекују мирно понашање пса, где пас научи да се добре ствари дешавају када су му све четири ноге на земљи, а не када скаче.

Управо неразумевање, од стране власника зашто настају проблеми у понашању, како се приступа проблему и које су методе терапије, довело је до тога да се у већини случајева као разлог за напуштање паса и мачака наводе психички поремећаји у виду испољавања абнормалног, маладаптивног понашања - агресивност, анксиозност, опсесивно - компулсивни поремећаји, и немогућност решавања и превазилажења проблема. Овакав негативан тренд је разлог слабе едукације власника од стране стручних људи - доктора ветеринарске медицине специјализованих за понашање животиња, или чак непостојање оваквих уско профилисаних стручњака у оквиру ветеринарске праксе.

Улога ветеринара мале праксе

Дијагностика било ког проблематичног понашања захтева процену целокупног здравственог стања, узимање анамнезе, детаљан здравствени и неуролошки преглед, као и спровођење свих неопходних дијагностичких тестова, како би се искључили здравствени проблеми као узрок промене понашања.

Доктори ветеринарске медицине у малој пракси треба да имају основно знање о понашању и развоју животињских врста, да познају принципе по којима животиње уче, као и да препознају страх и анксиозност, како би могли да диференцирају нормално понашање од абнормалног, и да упуте власника и његовог љубимца код специјалисте за понашање животиња ради даље дијагностике и терапије (4).

Ако се појави случај пса или мачке која испољава проблеме у понашању, иницијални приступ јесте да се искључе било какви проблеми здравствене природе који узрокују или доприносе проблематичном понашању. Међутим, и поред већ доказаног утицаја тока болести на промене у понашању, стрес је још један важан фактор који узрокује промене у психичким и физиолшким процесима, као и у имунолошком одговору организма. Ове промене утичу на здравље и понашање са тенденцијом преласка у хроничан ток. За стрес је доказано да делује на промене у хипоталамо - хипофизној осовини и самим тим на нивое неуротрнасмитера допамина и серотонина, као и на нивое три најважнија хормона као индикатора стреса - адреналина, норадреналина и кортизола. Код животиња стрес може да узрокује или да допринесе развоју гастроинтестиналних поремећаја (анорексија код мачака), запаљењу мокраћне бешике, дерматолошких проблема и проблема у понашању, као што су: компулсивни поремећаји, фобије, психогена полидипсија, полифагија и др.

Интерес власника

Како тренд држања кућних љубимаца све више расте, тако расте и потреба власника да имају што хармоничнији однос са својим љубимцем. За бихејвиористику се каже да је наука 21. века за разумевање понашања кућних љубимаца и односа власник - кућни љубимац. У последње време ветеринари у малој пракси се све више сусрећу са питањима власника у вези са васпитањем и понашањем свога пса или мачке. Питања се најчешће тичу правилног васпитања - како научити пса да не вуче поводац, како да не врши нужду у стану, да не гризе намештај и др., као и питања у вези са неким поремећајем у понашању - пас гризе свој реп или шапе, реагује агресивно на укућане, реагује агресивно на децу и на друге псе, режи када му се неко приближи храни итд. На сва ова питања ветеринар мора бити у стању да дâ одговор на исти начин као што даје одговоре на питања у вези са здравственим стањем животиње, јер здравље животиње подразумева и психичко и физичко, то је једна недељива целина. Међутим, ветеринари се суочавају са још једним изазовом при лечењу животиња у својим амбулантама - како савладати истраумирану животињу, која већ има претходна негативна искуства са посетама ветеринару?

Одговор на ово питање нам је дала светски позната ветеринарка - бихејвиористкиња Софија Јин, која је покренула нов тренд поступања са животињама при рутинским ветеринарским прегледима и администрацији терапије, под називом „ stress - free handling od dogs and cats“ - „опхођење без муке према псима и мачкама“. Овај концепт представља праву револуцију у раду са малим животињама и у први план ставља опхођење од стране ветеринара на начин на који неће проузроковати додатни стрес већ истраумираној животињи (5). Ветеринари могу уз помоћ научних метода „позитивне мотивације“ да промене првобитно емотивно стање животиње из негативног уз позитивно, и на тај начин јој изграде позитивну асоцијацију на околне стимулансе и ситуације. Ово је најбољи пример теорије учења и бихејвиоризма у пракси, где се уз помоћ класичног условљавања, конкретно методом десензитизације и контрауслoвљавања, псу мења понашање мењајући његово емотивно стање. Пси уче путем асоцијација, где они одређена дешавања око њих, људе или предмете, асоцирају са пријатним или непријатним догађајима, који им граде, опет, пријатна или непријатна искуства. Обавеза стручних лица је да животињама стално граде пријатна искуства, како им не би непотребно наносили страх, патњу, бол и стрес.

Један овакав пример је проблем сечења ноктију код пса који је раније већ имао проблема баш са повредама ноктију, и сваки следећи покушај да му се скрате нокти је право мучење за њега и власника, а наравно и за ветеринара који треба да свој посао обави одговорно и професионално. Решавање овог проблема на првом месту захтева стрпљење, јер процес десензитизације може да траје и до 15 минута, где се непријатни стимуланс - маказе за сечење ноктију- симултано упарују са пријатним стимулансом - храном. Ради се поступно, корак по корак, водећи рачуна да увек радимо испод прага толеранције пса, што значи да не изазивамо намерно непријатне реакције псу, јер у том случају техника десензитизације прелази у технику „преплављивања" која спада у аверзивне технике терапије понашања. Резултат оваквог поступања са псом у амбуланти је мирна животиња, која се не отима при рутинским процедурама, која нема страхове и фобије од посете ветеринару, и са којом је рад право уживање, јер се ништа не ради на силу и физичко савладавање.

Овакве технике су произашле из рада са дивљим животињама у зоолошким вртовима, где су чувари и ветеринари, како би могли да прегледају животиње, нпр. да им погледају зубе, истурпијају нокте, апликују инјекцију, научили животиње да се саме приближе огради, и добровољно презентују онај део тела који је неопходан у том тренутку за преглед. Циљ је изазивање што мање непотребног стреса животињи, који у хроничном облику делује психосоматски и имуносупресивно.

Технике мотивације понашања животиња

Технике које подстичу животиње да добровољно без принуде презентују жељена понашања називају се технике „позитивне мотивације" и оне се сконцентришу на оно шта желимо да животиња ради, а не шта не желимо да ради. Технике позитивне мотивације акценат стављају на учење животиње шта је то што је прикладно у датом моменту да манифестује, награђивајући свако жељено понашање, где се нежељено само од себе временом „угаси", јер оно не доноси награду. Технике кажњавања су се показале контрапродуктивне јер је установљено да на тај начин животиња не учи, већ је сконцетрисана само на „преживљавање", тј. како да побегне од непријатног стимуланса. Аверзивне технике кажњавања искључиво делују репресивно на понашање животиње, јер се тако животињи само ставља до знања шта не сме да ради, тј. да константно нешто ради погрешно, а не показује јој се шта сме да ради и које је то понашање које је добро и које треба да исказује. Резултат оваквог вида поступања са животињом је проблематично понашање, првенствено страх, анксиозност и агресија.

Управо непознавање психологије и понашања пса или мачке доводи до низа проблема са којима се власници суоче у заједничком животу са својим љубимцем. Теорије кажњавања, доминације, „алфа улога" и „вођа чопора" које су биле актуелне пре 30 година, више нису, јер их је бихејвиористика, уз помоћ нових научних сазнања, оповргнула и доказала као застареле и нетачне. Ми, доктори ветеринарске медицине морамо бити носиоци правих едукативних информација, заснованих на најновијим научним сазнањима, јер смо једини стручни људи који могу, и морају, да воде рачуна о целокупном здравственом стању животиње.

Проблеми понашања животиња

Најчешћи проблеми у понашању са којима се власници сусрећу су: агресија према људима, агресија према другим животињама, сепарациона анксиозност (проблем при одвајању од власника када пас остаје сам код куће), анксиозна и фобична понашања на одређене аудио и визуелне надражаје, непрекидно лајање, изопачен апетит, предаторска агресија (вијање аутомобила, мотора, бициклиста), неприкладно уринирање, опсесивна понашања (вијање репа, грижење шапа или репа), проблеми при дресури услед немогућности држања пажње (хиперактивност или стрес) (6).

Важно је знати да поремећаји у понашању нису ствар непослушности животиње, већ су последица нарушеног целокупног емотивног стања, физиолошке хомеостазе и неуроендокрине функције. Самим тим постоји јасна разлика између обуке (дресуре) и васпитања с једне стране, и терапије понашања (бихејвиоралне модификације) с друге стране, као и разлика у потребним

квалификацијама и нивоу знања између особа које воде курсеве послушности и особа које се баве дијагностиком и терапијом проблематичних видова понашања.

Значај бихејвиористике у прихватилиштима

Поред примене у ветеринарској пракси, бихејвиористика је нашла своју улогу и у прихватилиштима за напуштене животиње. Прихватилиште је вештачка средина за животиње, у којој оне не умеју да живе и да се понашају у складу са својим потребама, а опет и у складу са потребама околине у којој се налазе. Управо се у оваквој средини стварају многа маладаптивна понашања - лоше прилагођена, абнормална понашања и стереотипије - репетитивна, опсесивно - компулсивна понашања, која за резултат имају често трајно нарушено психичко здравље животиње (7). Ово је посебно озбиљан проблем ако говоримо о псима и мачкама, којима је једини циљ да буду удомљени као подобни кућни љубимци, а управо их овакви психички поремећаји, сврставају у неадекватне кандидате за удомљавање, те је еутаназија онда једина опција.

Улога и значај бихејвиористике у условима прихватилишта је управо да се осигура целокупна добробит животиње, како би се очувало психичко здравље и нормално понашање својствено врсти и прилагођено условима у којој се животиња налази.

Понашање представља један од четири основна критеријума за оцену добробити животиња, поред исхране, смештаја и здравственог статуса. Нарушавањем макар једног од укупно четири показатеља, нарушава се и добробит животиња што није у складу са Законом о добробити животиња, који је на снази у Републици Србији.

Досада и стрес су водећи узрочници проблематичног понашања животиња у заточеништву. Животиње могу да испољавају стрес у акутном или хроничном облику, али је хронични стрес тај који је одговоран за нарушавање целокупног психофизичког стања животиње. Стрес делује репресивно на имуни систем, излажући животињу већем ризику од појаве болести. Проблем представља посебно велики број животиња (групни смештај) на веома малом затвореном простору. Ризик у оваквим условима од избијања заразних болести је увек висок, али са додатком стресогених фактора, он се драстично повећава.

Очување псифичког здравља животиње у условима заточеништа постиже се употребом Програма бихејвиоралне модификације, који представља скуп свих компоненти, појединачних стандардизованих програма за очување и стимулисање природних облика понашања својствених врсти, и за модификовање маладаптивних облика понашања. Ако говоримо о условима прихватилишта за напуштене животиње (псе и мачке) тада Програм бихејвиоралне модификације садржи девет основних компоненти:

1. Тест евалуације психичког стања; 2. Историја понашања - упитник при предаји пса од стране власника (разлог за напуштање); 3. План рада - Протоколи прихватилишта за бихејвиоралну евалуацију; 4. Квалификовани стручњак за вођење Програма бихејвиоралне евалуације и модификације; 5. Основни „*enrichment*“ програм са основама васпитања; 6. Програм бихејвиоралне модификације; 7. Процена удомљивости и процена удомитеља; 8. Саветовање удомитеља пре и после усвајања; 9. Програм континуираног мониторинга - контроле власника после усвајања (8).

Превентива и континуирани мониторинг

У раду са животињама акценат се ипак ставља на превентиву, па тако и рад са напуштеним животињама у условима прихватилишта није изузетак. Превентива у овом случају представљају програми „*behavioral enrichment*“ - то је принцип смештаја животиње који има за циљ да побољша живот у заточеништву тако што идентификује и обезбеђује стимулусе спољашње средине који су неопходни за оптимално психичко и физичко здравље - добробит. Циљ оваквог програма је повећање спектра понашања својственог врсти које као резултат има смањену појаву и учесталост абнормалних видова понашања, као и повећање способности јединке да се прилагоди условима у заточеништву. Сваки стимуланс који има позитивну реакцију животиње може се сматрати да је „*enriching*“ - да обогаћује живот - било да је природни

или вештачки. Постоје 6 група стимуланса који обогаћују живот у заточеништву: 1. сензорни, 2. храна, 3. манипулативни, 4. друштвени, 5. дресура и 6. решавање проблема. Сваки од ових стимуланса презентује се појединачно или у комбинацији од два или више, а све у зависности од врсте животиње, као и од тога шта је животињи у том тренутку неопходно и шта је од понашања потребно стимулисати или модификовати. Квалитетан „*enrichment*" програм је управо настао из пажљиве обсервације природних облика понашања животиња, и он је основ за почетак решавања било каквог облика проблематичног понашања (9).

Дијагностика проблематичног понашања – дијагностика узрока, одређивање начина и протокола терапије, континуирано спровођење задате терапије, вођење дневника понашања, дневне визите, едукација будућих власника, финална процена о подобности усвајања пса, редовне контроле напретка пса у новом дому, помоћ новим власницима - све ове компоненте Програма бихејвиоралне модификације у прихватилиштима су управо направљене како би се смањио ризик од избијања заразних болести услед стреса, повећале шансе за успешно удомљење животиње, и смањиле потребе за успављивањем животиње - еутаназијом.

Доктори ветеринарске медицине који раде у прихватилиштима за напуштене животиње, поред бриге за психофизичко здравље животиња, имају обавезу и да развијају и спроводе неопходне едукације и обуке за запослене и волонтере удружења за заштиту животиња. Доктор ветеринарске медицине, специјализован за понашање животиња, одговоран је за ефикасно спровођење целокупног Програма бихејвиоралне модификације у прихватилишту, као и за надзор волонтера који треба да воде свакодневну бригу о животињама - исхрана, чишћење, шетња, основе васпитања, пружање „*enrichment*" стимулуса, спровођење прописане терапије понашања. Волонтери и запослени имају обавезу да сваку промену у понашању, као и потешкоће при спровођењу задате терапије, забележе и презентују одговорном стручном лицу, који по поновној евалуацији психичког стања животиње, преписује нов програм бихејвиоралне модификације и упутства за његово спровођење.

Закључак

Данас, у 21 веку, уз овакав мултидисциплинарни приступ вођења бриге о целокупном здрављу животиња, ветеринарска медицина има могућност да прошири границе свога деловања, да прошири научну област, и да постане носилац правих, стручних информација заснованих на најновијим научним сазнањима из области понашања животиња, као и да пружа све неопходне едукације нестручној јавности, власницима и грађанству, када је реч о адекватној бризи о кућним љубимцима и другим животињама са којима човечанство дели простор на планети Земљи.

Махатма Ганди је рекао: "Величина и морални напредак народа може се мерити по томе како поступају са животињама. Једини начин да живиш је да пустиш друге да живе."

ЛИТЕРАТУРА:

1. Blackshaw, J.K., 1986, Notes on some topics in Applied Animal Behaviour, (3rd ed), School of Veterinary Science University of Queensland, St. Lucia, Brisbane,Queensland, AUS. 2. Gang, J., 2011, Behaviorism and the beginnings of close reading, The Johns Hopkins University Press, Johns Hopkins University, Baltimore, USA. 3. Hart BL, Hart LA, Bain MJ, 2006, Canine and Feline Behavior Therapy, (2nded), Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. 4. The Merck Veterinary Manual: Diagnosis of Behavioral Problems: http://www.merckmanuals.com/vet/behavior/behavioral_medicine_introduction/diagnosis_of_behavioral_problems.html 5. Yin S, 2009, Low stress handling, restraint and behavior modification of dogs&cats, CattleDog Publishing,Davis, CA, USA. 6. Landsberg, G; Hunthausen, W; Ackerman, L., 2013, Behavior problems of the dog and cat, (3rd ed), Saunders Elsevier Ltd, Edinburgh, UK. 7. Miller L, Zawistowski S, 2004, Shelter Medicine for Veterinarians and Staff, Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA. 8. Koret Shelter Medicine Program: Instructions for daily monitoring of animal health and behavio: http://www.sheltermedicine.com/node/47. 9. ASPCA Professional: Behavior Enrichment Protocols: http://www.aspcapro.org/resource-library.

ОСВРТ НА ЗАШТИТУ ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА У ЗАКОНИМА СРБИЈЕ

Владимир Терзин[1], Јована Пенезић[2]

[1]ПВА "Терзин Пет&Вет", Београд; [2]Сектор за зоохигијену, Град Београд

Кратак садржај

Заштита животиња, њихова добробит и права су у свету прошли кроз дуг и тежак период и напокон израњају из антропоцентризма. У нашој земљи овај процес је на самом почетку. Ветеринари играју једну од главних улога у јачању основа и проширењу области заштите добробити животиња. Циљ овог рада је да прикаже кратку хронологију законске регулативе у нашој земљи, као и да пружи предлоге и аргументе за активније учешће стручне јавности у достизању европских и светских стандарда на пољу добробити животиња.

COMMENTARY ON THE PROTECTION OF ANIMAL WELFARE LAWS IN SERBIA

Vladimir Terzin, Jovana Penezić

[1]Veterinary ambulance "Terzin Pet&Vet", Belgrade; [2]Veterina Beograd

Abstract

The rights, protection and welfare of animals have carried on their long struggle throughout history, and are finally emerging from the overwhelming influence of anthropocentrism. In our country, however, this process is just beginning. It can be asserted that veterinarians play one of the main rolls in strengthening and broadening the area of animal welfare protection. The aim of this paper is to present the short history of animal welfare legislation both internationally and in Serbia and to offer suggestions and arguments for a more active participation of the veterinary community in order to reach European and other international standards in animal welfare.

Прве законске регулативе у којима се признаје неко право животињама, а у којима се налаже поштовање добробити животиња, или се забрањује окрутност према њима може се пронаћи у списима старе Индије, а углавном се односи на забрану ритуалног приношења жртава боговима (1). Такође, у исто време, дакле, шести век пре нове ере, владар Мауријанског царства, Ашока, основао је читав ланац болница и одмаралишта за животиње. Постојање ових болница у којима су се лечиле и дивље животиње, није био очување здравља људи. Њихов циљ се разликовао од данашње ветеринарске медицине, с обзиром да је акценат стављен на здравље ради самих животиња. У трећем веку пре нове ере, у закону Мануа препозната је добробит и могућност патње животиња као свесних и осећајних бића (2).

Западна цивилизација се, за разлику од Истока, развијала у антропоцентричном правцу у коме су се смењивали велики умови попут Аристотела, Аквинског и Декарта. Човек се уздизао, временом и до самог Бога, док су животиње постале аутомати без душе који су служе људима од хране до разноде.

Тек у 17. веку нове ере, тачније 1635. године званично је изгласан први акт којим се забрањује неки вид окрутности према коњима и овцама. Овај акт изгласао је парламент у Ирској (3). Године 1641. Масачусетс је изгласао закон који забрањује окрутност према великој стоци (4).

Након ових стидљивих почетака јављају се научници, мислиоци и политичари који се боре како за добробит, тако и за права животиња. Упоредо са Дарвином, Бентамом и удружењима за заштиту животиња, развијале су се и експерименталне методе чији су главни објекти животиње. Истраживања су доказала, оно што су стари Индијци знали вековима раније, да су животиње осећајна бића свесна себе у простору и времену.

Пре 36 година, у Паризу, UNESCO је направио велики корак једногласним изгласавањем Универзалне декларације о правима животиња признајући „да су животиње жива бића са осећањима, те их је тако потребно третирати и поштовати". Тиме је Светско друштво за заштиту животиња "Прогласило Универзалну декларацију о добробити животиња као заједнички стандард за све људе и нације, како би почеле рад у правцу заштите животиња, путем прогресивних мера, на унутрашњем и међународном плану." У даљем тексту истог документа наводи се и поштовање пет слобода, чији је аутор био Роџер Брамбел, још 1965. године (5).

Након доношења Универзалне декларације у светским оквирима дошло је до доношења многих закона, одлука и стратегија који су ову материју разрађивали и скоро свакодневно подизали на нови и виши ниво.

Посматрајући историју закона у нашој земљи, увиђа се јак антропоцентрични став примеренији периоду Декарта, него старој Индији или савременом западу. Наиме, тек 1977. године, у Кривичном закон Републике Србије појављује се прописана казна за убијање животиња. Овим законом, међутим, животињама није признато никакво право, а још мање добробит, већ су уврштени у кривично дело против животне средине. Конкретније дефинисана кривична дела која су од значаја за заштиту животиња први пут улазе у Кривични законик 2005. године (6). Исте године Република Србија доноси Закон о ветеринарству (7), у коме се по први пут се појављује термин „добробит животиња". Иако је закон јасан у погледу онога што је (не)дозвољено, сам појам није дефинисан, остављајући на тај начин могућност различитих тумачења стручној јавности и сваком читаоцу понаособ. Тек од 2009. године, пре свега пет година, почиње интензиван рад и усвајање читавог низа закона који покривају ову област, а долази и до измене постојећих закона. Овај тренд имао је свој утицај и на измену Кривичног закона, који, иако конкретизује кривична дела над животињама, саме животиње види као нечију имовину, односно као предмете над којима имамо власништво, пуку ствар, или покретну имовину. Овакво правно тумачење живота животиња у директном је сукобу са Законом о добробити животиња, који препознаје не само физички, већ и психички интегритет и инхерентну вредност сваке животиње (8).

Када је реч о Закону о добробити животиња, он је изгласан 2009. године (9). Иако би се могло рећи да каснимо за Европом и земљама Комонвелта, овај закон представља прекретницу самим тим што су у њему дата конкретна и недвосмислена објашњења основних појмова и термина добробити животиња. У првом реду, сам термин *добробит животиња* дефинисан је као „обезбеђивање услова у којима животиња може да остварује своје физиолошке и друге потребе својствене врсти као што су исхрана и напајање, простор за смештај, физичка, психичка и термичка удобност, сигурност, испољавање основних облика понашања, социјални контакт са животињама исте врсте, одсуство непријатних искустава као што су бол, патња, страх, стрес, болести и повреде" (9). Оваквом дефиницијом животињама се признаје одређени, виши статус, другачији од оног које су имале у прошлости.

Такође, дефинисан је и појам *добре ветеринарске праксе* као „принципи професионалног понашања и спровођења система управљања квалитетом рада

субјеката који обављају ветеринарску делатност, у складу са правилима ветеринарске етике“ (9), који не само да има законску снагу, већ претпоставља и изузетно јаку етичку клаузулу саме ветеринарске професије.

Даље, овим Законом је јасно објашњен појам *злостављања животиња* наводећи да „злостављање животиње јесте свако поступање или непоступање са животињама којим се намерно или из нехата изазива бол, патња, страх, стрес, повреда, нарушава генетска целовитост животиње и изазива смрт, и то:

- физичко злостављање животиње којим се нарушава физичка целовитост оштећењем ткива и органа, као што је: батинање, шутирање, бичевање, сексуално насиље, присиљавање на рад или обуку који превазилазе издржљивост животиње, неодговарајући начини хватања и обуздавања, спровођење интервенција на животињама супротно одредбама овог закона и свесно репродуковање јединки које пате од наследних болести, ако се оно не врши у огледне сврхе у складу са законом;

- психичко злостављање животиње којим се нарушава њена психичка целовитост и које може изазвати или изазива поремећаје у понашању, и то онемогућавање животињи да задовољи своје основне потребе у понашању, да искористи простор за одмор и заклон, разјаривање животиње применом физичке силе, другим животињама или надражајима који јој нису својствени наношење страха, патње и проузроковање осећаја досаде и несигурности, као и спречавање животиње да успостави социјалну везу са животињама исте врсте“ (9).

Управо на овом месту, Закон о добробити животиња достиже свој врхунац, јер је овим ставом препозната инхерентна вредност животиња. Но, без обзира на све законске норме и дефиниције, као и на покушаје да се санкционишу кривична дела или злостављања животиња, мора се констатовати и даље веома низак ниво образовања и самих спроводитеља закона, као и жалосно низак ниво препознавања јавности ове проблематике. Потпуно је јасно да је агресија животиња увек била изазвана нагоном за преживљавањем, као и да је увек била одбрамбено усмерена. Међутим, иако су ова сазнања постала опште позната у законима Републике Србије, још увек имамо на делу размишљања и разлоге који увек стављају агресију као примарно осећање животиња и као њихово примарно понашање, што оно у суштини није.

Република Србија се може похвалити као земља са изузетно разноврсним животињским, и наравно биљним светом, али са друге стране грађани се, нажалост, не могу похвалити одговарајућим нивоом свести о заштити те разноврсности. Европа броји шест биорегиона, а само у Србији се налази пет. Ипак, ово богатство нама самима остаје мање-више незапажено. Томе у прилог иде и чињеница да је Закон о заштити природе усвојен тек 2010. године. Овај закон има обавезујућу снагу како за државу, локалне самоуправе и бројне друге правне и физичке субјекте, од научних до невладиних организација, тако и за саме грађане. Слободно се може закључити да овим законом сви грађани Србије имају обавезу да штите и дивље животиње као део природе, иако већина ову обавезу нити препознаје нити прихвата (10).

Један од битних корака у заштити природне средине у свету свакако је Конвенција о међународном промету угрожених врста дивље флоре и фауне (CITES) (11). Ова конвенција, позната и као Вашингтонска конвенција ратификована је 2001. године и представља опсежан списак свих познатих врста подељених у категорије по степену угрожености. Посебним правилницима, који су директно повезани са овом конвенцијом, дефинисани су начини збрињавања и услови које морају да испуњавају прихватилишта за заштићене дивље животиње. Скуп прописа који се односе на *CITES*, у нашој земљи спроводи се кроз *CITES* канцеларију. Иако смо као земља оберучке прихватили светске стандарде по овом питању, свакодневни примери кршења истих тих регулатива говоре у прилог чињеници да је поимање заштите угрожених животиња на изузетно ниском нивоу. У Србији је под најстрожијим степеном заштите 429 врста

животиња, а ипак се котирамо као земља са великим бројем извоза и кријумчарења истих тих врста. Примера ради, иако је лов у Србији регулисан Законом о дивљачи и ловству који је усвојен 2010. године (12), као и већ поменутим Кривичним закоником, још увек наилазимо на организован ловокрад као својеврсну забаву странаца. Овом традицијом изнајмљивања ловишта и одстрелом, неких чак и аутохнотних врста, Србија је већ остала без дела свог природног богатства.

На овом месту, неопходно је поменути да постоји евидентан проблем и у ширем смислу. Наиме, свест о добробити животиња и заштити дивљих животиња неодвојива је од неразвијене свести о заштити читавог екосистема. Незаконита сеча шума, загађење водених токова и слаба контрола депоновања смећа имају велики утицај на очување управо оних животиња које чине нашу земљу јединственом.

Иако је неопходно да се пре свега утврди реално стање ствари и да се по многим питањима изврши инспекцијска контрола, може се рећи да је заштита добробити дивљих животиња у Србији комплексан проблем, те да постоји неизбежна потреба да се у решавање укључи како шира, тако и професионална јавност.

Коришћење животиња у индустрији забаве има историју скоро колико и сам појам забаве. Примери су бројни: арене и борбе, заточене животиње у зоо вртовима, циркуси. У данашње време само се проширио начин искоришћавања животиња, као што је, на пример, за потребе снимања филмова. Неретко се могу наћи кавезне животиње изложене као украс на прометним местим, као маскоте или лак начин да се дође до зараде. Када је реч о овим животињама мора се имати на уму да је њихова добробити озбиљно угрожена. Иако су у Србији те животиње заштићене Законом о добробити животиња и посебним прописима када су у питању зоолошки вртови (13), мора се инсистирати на строжој контроли и озбиљнијем приступу проблему. Већим залагањем за добробит животиња евидентно би се смањио и број угрожених јединки, чији живот за сада представља само биланс стања онога ко наплаћује ове видове забаве.

У данашње време технолошких новитета развијају се нови видови едукације грађана и нови видови забаве. Сматрамо да би требало искористити ове могућности тако да се обесхрабре стари начини коришћења животиња и инсистирати на строгој контроли заштите њихове добробити.

Када је реч о животињама које се држе и репродукују у производне сврхе, односно које се користе за производњу хране и за рад, заправо је реч о животињама чији опстанак зависи непосредно од човека. Закон о добробити животиња обавезује човека да им обезбеди заштиту, односно да обезбеди услове у којима животиња може да остварује своје физиолошке и друге потребе, својствене врсти. Иако смо као земља неразвијени по питању ове врсте заштите животиња, те да каскамо за неким системима, занимљиво је напоменути да је у Србији још у време кнеза Милоша Обреновића постојала одредба која је предвиђала казну за свакога ко туче стоку упрегнуту у кола. Ипак, тек је последњих година усвајањем прописа у области заштите добробити животиња и посебно стоке, као и безбедности хране, створен оквир у којем треба да се развијају стандарди добробити фармских животиња. Реално стање у Србији показује генерално лош однос према животињама које се користе за производњу хране и рад. Оно што је неопходно јесте да се законска регулатива поштује без изузетка, али и да се ради на едукацији и информисању крајњих потрошача, с обзиром на то да је добробит животиња у нераскидивој вези са безбедношћу хране.

Узгој животиња на фармама условљен је профитом, а у земљи у којој грађани деценијама мукотрпно живе, добробит животиња не досеже степен приоритета. Ипак, сматрамо да су управо добробит животиња и савесно лечење од битног значаја, па макар то гледали и са становишта екстремног антропоцентризма и профитабилности. У супротном, лако се могу поновити ситуације епидемија болести стоке које се завршавале и смртним исходом код људи.

Мишљења смо да би, на првом месту држава, али и сви који су у директној вези са узгојем фармских животиња, требало да подстичу такозвану *animal friendly* производњу животињских производа, с обзиром да једино на тај начин могу да се задовоље потребе животиња и заштити њихова добробит, као и да се задовоље потребе људи за производима животињског порекла.

У овом раду покушали смо да кроз различите примере укажемо на реално стање и потребу за усавршавањем система и едукацијом грађана. Стручна јавност има незаменљиву улогу у достизању и остваривању оних ставова, етичких принципа и легислативе коју западне земље одавно спроводе у пракси. Битно је напоменути да се развојем заштите добробити животиња и усвајањем позитивних ставова према животињама неизоставно развија и сама ветеринарска професија. Примера ради, прихватањем барем делимичне, инхерентне вредности животиње, признавањем да су животиње бића која имају право на живот без бола, страха, стреса и патње, неминовно се развија ветеринарска фармакологија, ортопедија, хирургија, стоматологија итд. Разноврсност животињског света пружа разноврсност ветеринарске медицине коју хумана медицина не може ни да појми. Залагањем за поштовање и заштиту добробити животиња стручна јавност јача, штити и проширује своје ингеренције. Управо на овом месту проналазимо јак разлог за наглашавање потребе да сваки ветеринар прихвати обавезу унапређења заштите добробити животиња.

Добробит животиња се може посматрати кроз развој једног друштва као и кроз развој емпатије и разумевања за потребе других. У Србији овај развој и разумевање проблема и добробити је тек започето и за сада се налази у почетној фази развоја у којој је овај проблем још увек далеко од свог првог решења. Законска решења и програми едукације на свим нивоима су предуслови који ће допринети да се ова област развије и добије свој прави значај. Развој законских и подзаконских аката, као и њихово доследно спровођење, допринеће промени друштвене климе у овој области. Самим тим, доћи ће и до стварања хуманијег друштва које ће поштовати права животиња, поштовати природу, животну средину и њене ресурсе. Кроз развој ових ставова и примену одговарајућих програма добићемо нове генерације којима ће добробит животиња и очување природних ресурса бити основа за стварање хуманијег и квалитетнијег друштва.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Buhler G, 1884, The Sacred Books of the East, vol 25, Oxford. 2. Phelps N, 2007, The longest struggle, New York. 3. Thomas Wentworth, 1635, Act against Plowing by the Tayle, and Pulling the Wooll off Living Sheep_Parliament of Ireland. 4. William H, 1890, A Bibliographical Sketch of the Laws of the Massachusetts Colony from 1630 to 1686, Boston. 5. Пауновић М, 2004, Права животиња - савремени међународни стандарди Београду, Београд. 6. Кривични законик, 1977, Сл. гласник. РС" 26/77-1341, 28/77-1566, 43/77-2213, 20/79-1059, 24/84-1233, 39/86-2739, 51/87-2421, 6/89-406, 42/89-1401, 21/90-888 и "Сл гласник РС", бр.16/90-468, 49/92-1664, 23/93-817, 67/93-3110, 47/94-1465 и 17/95-529, 44/98 од 08.12, 10/02 од 01.03. 7. Закон о ветеринарству, Сл. гласник РС, бр. 91/2005. 8. Кривични законик Републике Србије, Сл. гласник РС, бр. 85/2005, 107/2005, 72/2009, 111/2009 и 121/2012. 9. Закон о добробити животиња, Сл. гласник РС", бр. 41/2009. 10. Закон о заштити природе, "Сл. гласник РС", бр. 36/2009, 88/2010 и 91/2010. 11. Закон о потврђивању Конвенције о међународном промету угрожених врста дивље флоре и фауне, „Сл. Лист СРЈ - Међународни уговори, бр 11/2001. 12. Закон о дивљачи и ловству, „Сл. гласник РС",бр 18/10. 13. Правилник о условима држања, начину обележавања и евидентирања дивљих животиња у заточеништву, "Сл. гласник РС", бр. 86/2010.

Пленарни радови

---

6. ЗАСЕДАЊЕ

1. РЕГЕНЕРАЦИЈА ТКИВА И ОРГАНА КРОЗ ФИЛОГЕНЕЗУ И ОНТОГЕНЕЗУ

2. РЕГЕНЕРАТИВНА МЕДИЦИНА У САНАЦИЈИ КОШТАНИХ ДЕФЕКАТА

3. МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ СИНОВИЈАЛНЕ ТЕЧНОСТИ ПАСА

4. ЕФЕКАТ ПРИСУСТВА ЈОНА СТРОНЦИЈУМА И ВЕЛИЧИНЕ ЗРНА У СТРУКТУРИ КОШТАНИХ ИМПЛАНАТА НА БАЗИ КАЛЦИЈУМ-ХИДРОКСИАПАТИТА НА БИОКОМПАТИБИЛНОСТ И ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈУ МЕЗЕНХИМАЛНИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА

5. ЛЕЧЕЊЕ ОСТЕОАРТРИТИСА (ОА) ПАСА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА

6. ЛЕЧЕЊЕ ПОВРЕЂЕНИХ ТЕТИВА, ЛИГАМЕНАТА И ЗГЛОБОВА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА КОД СПОРТСКИХ КОЊА

7. ХЕМАТОПОЕТСКЕ И МЕЗЕНХИМАЛНЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ: ОСНОВНИ КОНЦЕПТ КЛИНИЧКЕ ПРИМЕНЕ

РЕГЕНЕРАЦИЈА ТКИВА И ОРГАНА КРОЗ ФИЛОГЕНЕЗУ И ОНТОГЕНЕЗУ

Анита Радовановић, Иван Милошевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Последњих деценија интензивно се испитују могућности примене матичних ћелија у регенерацији ткива зато што техничке и технолошке могућности то допуштају. Како се, као и у животу, и у науци многи процеси стално преиспитују и коначна истина није извесна, да би се разумели данашњи ставови научне и ненаучне јавности у односу на матичне ћелије и њихову улогу у физиолошким процесима, али и евентуалној терапији, потребно је разумети и њихову историјску улогу али и еволутивне специфичности. Почетак експерименталне биологије настао је још у 18. веку због фасцинације тадашњих истраживача регенеративним процесима код одраслих бескичмењака, али и неких риба и водоземаца. Већ тада је покушано да се опише и објасни како је могуће да се код ових животиња регенеришу читави делови тела, као и шта је потребно да би се такав процес активирао код сисара. Овај рад има за циљ да опише сличности и разлике у регенерацији ткива нижих и виших кичемењака и да дâ основе разумевању базичних чињеница везаних за савремени приступ ћелијској терапији и регеративној медицини.

Кључне речи: регенерација ткива, матичне ћелије, филогенеза, онтогенеза

REGENERATION OF TISSUES AND ORGANS: PHYLOGENY AND ONTOGENY ASCPECT

Anita Radovanović, Ivan Milošević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

In recent decades, intensive research and technical and technological improvements made possible application of mesenchymal stem cells in settings such as clinical trials in human and veterinary medicine. In the life and in the science, many processes are continuously reviewed and ultimate truth is not certain. In order to understand today's scientific and non-scientific attitudes of public domain in relation to stem cells and their role in physiological processes, as well as a possible treatment capacities, it is necessary to understand their historical role and evolutionary characteristics. The beginning of experimental biology originated in the 18th century due to the fascination of the researchers by regenerative processes in adult invertebrates and some fishes and amphibians. Even this early works attempted to describe and explain fascinating regenerative capacity of amphibians that regenerate whole limbs. Also, the main question is – what the mammalian tissues require to be able to reproduce this high regenerative capacity. The aim of this paper is to describe the similarities and differences in tissue regeneration of lower and higher vertebrates and to underline the basic facts related to the modern approach to cell therapy and regenerative medicine.

Key words: regeneration, stem cells, phylogeny, ontogeny

Типови матичних ћелија у односу на потенцијал за диференцијацију

Преживљавање свих организама зависи од матичних ћелија. Матичне ћелије су предуслов за еволуцију специфичних карактеристика организама који укључују регенерацију, мултицелуларност или удруживање јединки у колоније (1).

Једини начин стварања нових ћелија је деоба већ постојећих ћелија, тако да сви живи организми, од бактерија до сисара, настају смењивањем деобе и раста ћелија. За разлику од једноћелијских организама, где се сваком ћелијском деобом добија нови организам, код вишећелијских организама деоба је много комплекснији процес, јер треба створити функционални организам изузетно сложене грађе. Да би се развио организам са великим бројем различитих ћелија, код свих вишећелијских организама се, осим симетричне деобе ћелија, одвија и асиметрична деоба, која је посебно значајна током самообнове и диференцијације ћелија. Само оплођена јајна ћелија и ћелије које настају у току неколико првих деоба су **тотипотентне**, тј. од њих се може развити било која ћелија одраслог организма и било која ћелија екстраембриоланих омотача. Међутим, јајна ћелија се не може сматрати матичном, јер нема могућност самообнављања. У току ембриоланог периода почиње диференцијација ћелија. Ћелије ембриоланог чворића имају потенцијал да од њих настану све соматске, као и примитивне герминативне ћелије будућег организма (**плурипотентне ћелије**), док то није случај са ћелијама трофобласта.

У ћелији која се диференцира, у одређено време одређени гени се деактивирају, а активирају се нови, који су одговорни за синтезу специфичних протеина који дају карактеристике ћелији. Током диференцијације долази до детерминације (специјализације) ћелија, повећава се заступљеност хетерохроматина и процеса метилације ДНК. Ћелије губе плурипотентност, иако је наслеђен исти геном, па се диференцијација може сматрати епигенетским феноменом. Ћелије од којих се могу диферентовати само у ограничени број ћелијских типова сматрају се **мултипотентним** ћелијама. Оне се налазе и код одраслих животиња у већини органа.

У организму одрасле животиње у свакој секунди се дели по неколико стотина милиона ћелија које замењују остареле или оштећене ћелије које се континуирано уклањају из организма најчешће процесом апоптозе. На тај начин ткива се обнављају. Под појмом **обнављање** ткива подразумева се континуиран физиолошки процес који се одвија без повреде ткива, док **регенерација** подразумева процес обнове оштећених ћелија и ткива који доводи до настанка ћелија и ткива истоветних оним оштећеним (2).

Типови ткива у односу на регенеративне способности

Различите популације ћелија имају различити животни век: од неколико дана, више година или читав живот:

Лабилне ћелијске популације кратко живе, граде ткива која се брзо обнављају и лако регенеришу: епител дигестивног система (који укључује и епител изводних канала пљувачних жлезда, панкреаса и жучних путева), епидермис, епител уринарног система, женских полних органа (грлић материце и вагина) и хематопоетско ткиво (костна срж). Набројана ткива се обнављају и регенеришу из популације матичних ћелија. Ипак, ако дође до великих оштећења коже и слузнице, неће доћи до регенерације, већ до **репарације** ткива, развојем везивног ткива.

Стабилне ћелијске популације су карактеристичне за ткива која се веома споро обнављају али лако регенеришу. Паренхим јетре, глатко мишићно ткиво, коштано ткиво, фибробласти, ендотелне ћелије и перицити спадају у ткива и ћелије које се у физиолошким условима углавном у Go фази, споро се замењују новим ћелијама (више месеци или година), али уколико дође до оштећења ткива, могу се вратити у ћелијски циклус и брзо обновити оштећење. Посебно изражену способност пролиферације и диференцијације имају мезенхимске матичне ћелије (мултипотентне ћелије строме),

за које се сматра да и током пренаталног развоја и код одраслих организама чине ћелије од којих ће настати фибробласти, адипоцити, остеобласти, хондроцити, ћелије строме костне сржи и сви типови мишићних ћелија. Брзо стварање калуса (неколико недеља) после прелома кости је добар пример лаке регенерације ткива после његовог оштећења, иако је сама динамика ремоделирања кости, али и самог калуса, процес који се релативно споро одвија (неколико месеци па и година; код људи се ремоделирање комплетног скелета одигра 3 до 5 пута током живота). И у овом случају, после великих оштећења наведених органа и ткива, неће доћи до регенерације, већ до репарације ткива развојем ожиљног везивног ткива.

Статичне ћелијске популације чине високо диферентоване ћелије у ткивима која се не обнављају и не могу да се регенеришу. Већина ћелија ових ткива током постнаталног развоја не могу да се деле. У та ткива спадају срчано мишићно и нервно ткиво. За срчано мишићно ткиво се сматрало да код одраслих сисара нема регенеративни капацитет. Међутим, новија истраживања показују да се код сисара кардиомиоцити ипак обнављају, али врло ограничено, од 1-4% ћелија годишње. Основни извор кардиомиоцита су већ постојећи кардиомиоцити који се активирају у одржавању нормалне хомеостазе миокарда, као и после оштећења, када се активира процес регенерације који је убрзан до три пута у односу на физиолошко стање (3). Ови проценти ипак јасно показују да сви већи дефекти настали после оштећења миокарда не могу да се обнове, већ се попуњавају везивним ткивом.

Када се говори о нервном ткиву, код сисара, само у појединим деловима мозга у адултном периоду постоји континуирана активност матичних ћелија (*gyrus dentatus* хипоталамуса и нервно ткиво олфактивног булбуса). Сем у наведеним структурама нервног система где постоје ћелије које могу да се деле, код одраслих организама оштећено нервно ткиво се испуњава пролиферацијом глија ћелија.

Што је организам сложенији смањује се могућност за регенерацију оштећених или делова тела који недостају, тако да сисари имају веома ограничене могућности за регенерацију ткива. Код људи, једини орган који у случају оштећења може потпуно да регенерише је јетра, иако је дискутабилно да ли је то права регенерација ткива или компензаторни раст (2,4,5,6,7,8).

Еволутивне разлике у регенеративној способности ткива

У току еволуције, код бескичмењака у адултном периоду регенерација је уобичајена. При томе, код одраслих кичмењака водоземаца, даждевњака и тритона, јединствени је начин обнове оштећених екстремитета.

Истраживања у овој области која се не заустављају још од 18. века и данас су актуелна (1,6,2,8,9). Интересантно је да је Бранко Влатковић, један од првих професора Ветеринарског факултета у Београду и оснивач Катедре за хистологију и ембриологију, још 1934. године у својој докторској дисертацији описао порекло и хистогенезу регенерационог ткива код мрмољка и даждевњака (10). Запазио је да су за регенерацију ампутираних екстремитета код ових животиња одговорне ћелије сличне фиброцитима сисара. Показао је да ове недиференциране резервне ћелије које је назвао *хистиоцитобласти* смештене у крзну, перинеуриуму, перихондриуму, периосту и периваскуларно, могу да мигрирају, интензивно се деле, накупљају и образују бластем из кога ће се диференцирати крвни судови, мишићи, нерви, везиво и скелетни делови (10).

Новија истраживања показују да даждевњаци могу да регенеришу део тела који им недостаје, али се преостале ћелије у оквиру бластема не враћају у стадијум плурипотентних ћелија, већ задржавају свој идентитет, губе своје маркере за диференцијацију, поново се враћају у ћелијски циклус, почињу са деобама и затим у оквиру бластема рекапитулирају диференцијацију (11).

Група истраживача са Станфордског медицинског факултета је на примеру мишићног ткива показала који су молекуларни механизми укључени у спречавање регенерације ткива код сисара, за разлику од водоземаца. Познато је да у оквиру скелетног мишићног ткива постоје и матичне (сателитне) ћелије које омогућавају обнављање мишићних ћелија, али које није довољно да би се надокнадио читав мишић или његов већи део. Код сисара већина ћелија које су се диференцирале губе могућност за деобу, или „знају свој идентитет" и деобом настаје иста врста ћелија. У току ћелијског циклуса у G1 фази, протеин ретинобластома (Rb) везан за транскрипциони фактор E2F у хипофосфорилисаном стању спречава почетак транскрипције гена регулаторних протеина потребних за репликацију (12). Овај протеин, као и већина протеина који регулишу ћелијски циклус, сачувани су током еволуције. Зато су тражени регулатори који недостају код нижих кичмењака, а који би могли да инхибирају активност Rb протеина. Пајцини и сар. (2010) су блокирањем функције протеина ретинобластома (Rb) и p19 ARF (*alternative reading frame*) у култури „постмитотских" миоцита вратили ове ћелије у циклус и омогућили њихову деобу (12).

Код неких риба и водоземаца и капацитет за обнављање срчаног мишићног ткива је потпун. Оштећено ткиво се надокнађује и срце као орган постаје у истој мери функционално као пре оштећења. Читав процес се одвија слично као и регенерација ампутираних екстремитета, формирањем примитивног бластема на граници према повређеном ткиву. Истраживања спроведена претходних година показала су да и већ постојећи кардиомиоцити стварају нове реактивацијом ћелијског циклуса (13).

Могућност регенерације срчаног мишићног ткива је веома мала због ограничене пролиферације кардиомиоцита код одраслих сисара. До прошле године сматрало се да код одраслих сисара не постоје матичне ћелије у срчаном мишићном ткиву, када је код мишева идентификована популација матичних ћелија (Sca-1) која у физиолошким и патолошким условима може да врши обнављање и надокнаду оштећеног срчаног мишићног ткива (14). Овакав налаз је умногоме променио досадашњу „стару догму" о непостојању регенеративног потенцијала кардиомиоцита.

С обзиром да код сисара већина ћелија које су се диференцирале губе могућност за деобу, али „знају свој идентитет" и деобом настаје иста врста ћелија, краткотрајна индукција процеса дедиференцијације, уз матичне ћелије, би могла отворити нови пут у регенеративној медицини. Међутим, не треба заборавити да еволуција највероватније, није случајно смањила могућност деобе ћелија високоспецијализованих ткива сложениих организама, већ је направила компромис између могућности за потпуну регенерацију и повећане осетљивости за појаву канцера.

***Захвалница**: Овај рад је реализован захваљујући пројекту ОИ 175061 Министарстава просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Chakraborty C and Agoramoorthy G, 2012, Stem cells in the light of evolution, Indian J Med Res., 135(6), 813-9. 2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J, 2010, Tissue Renewal, Regeneration and Repair, In: Robbins&Cotran Pathologic Basis of Disease,VIII Edition, Philadelphia, IA: Saunders Elsevir, 79-100. 3. Mercola M, Ruiz-Lozano P, Schneider MD., 2011, Cardiac muscle regeneration: lessons from development,Genes Dev. 15,25, 299-309. 4. Bhutani N, Brady JJ, Damian M, Sacco A, Corbel SY, Blau HM, 2010, Reprogramming towards pluripotency requires AID-dependent DNA demethylation, Nature, 463 (7284), 1042-7. 5. Deckha M and Xie Y, 2008, The Stem Cell Debate: Why Should it Matter to Animal Advocates?, Stan. J. Aanimal L. & Pol'y, 1, 69-100. 6.Weissman IL, 2000, Stem Cells: Units of Development, Units of Regeneration, and Units in Evolution, Cell, 100, 1, 157-68. 7. Laird DJ, von Andrian UH, Wagers AJ, 2008, Stem Cell Trafficking in Tissue Development, Growth, and Disease, Cell, 132(4), 612-30. 8.Katsuyama T, Paroa R, 2011, Epigenetic reprogramming during tissue regeneration, Turin Special Issue: Biochemistry for Tomorrow's Medicine, 585, 11,6, 1617-24. 9. Kragl M, Knapp D, Nacu E, Khattak S, Maden M, Epperlein HH, Tanaka EM., 2009, Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration, Nature, 460 (7251):60-5. 10. Влатковић Б., 1934, Порекло и хистогенеза регенерационог ткива код мрмољка и даждевњака, Докторска теза, Издање друштва пријатеља природних наука, Београд. 11. Gilbert PM, Havenstrite KL, Magnusson KE, Sacco A, Leonardi NA, Kraft P, Nguyen NK, Thrun S, Lutolf MP, Blau HM, 2010, Substrate Elasticity Regulates Skeletal Muscle Stem Cell Self-Renewal in Culture, Science, 329, 1078-81. 12. Pajcini KV, Corbel SY, Sage J, Pomerantz JH, Blau HM, 2010, Transient inactivation of Rb and ARF yields regenerative cells from postmitotic mammalian muscle, Cell Stem Cell, 7 (2), 198-213. 13. Soonpaa MH, Rubart M, Field LJ, 2013, Challenges measuring cardiomyocyte renewal, Biochimica et Biophysica Acta,1833, 4, 799-803. 14. Nagai T, Matsuura K, Komuro I, 2013, Cardiac side population cells and Sca-1-positive cells, Methods Mol Biol. 2013, 1036, 63-74.

РЕГЕНЕРАТИВНА МЕДИЦИНА У САНАЦИЈИ КОШТАНИХ ДЕФЕКАТА

Даница Марковић[1], Весна Даниловић[2], Богомир Болка Прокић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Коштано ткиво се данас трансплантира десет пута чешће у односу на друга ткива. То се објашњава експанзијом метода којима регенеративна медицина данас располаже, а када је у питању санација коштаних дефеката. Циљ рада је да се симатичнеатично изложе методе којима наука у овом тренутку располаже кад је питању регенерација коштаног ткива, као и биолошки темељи метода регенеративне медицине. Данас постоје три основне стратегије коштане регенерације: стратегија базирана на примени коштаних трансплантата (графтова), која је утемељена на процесима остеоондукције, стратегија базирана на примени живих ћелија (*cell-based*), остеобласта или њихових прекурсора, укључујући чак и мезенхималне матичне ћелије, и стратегија базирана на принципима примене фактора раста (*growth factor-based*), која је утемељена на процесима остеоиндукције. У пракси, најбољи резултати постижу се комбиновањем две или три методе, нарочито када су у питању мали коштани дефекти. Велики дефекти и даље, поред свих расположивих метода, остају за сада нерешив проблем.

Кључне речи: коштани дефект, регенерација, регенеративне стратегије

REGENERATIVE MEDICINE IN THE REPAIR OF BONE DEFECTS

Danica Marković[1], Vesna Danilović[2], Bogomir Bolka Prokić[1]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Faculty of dental medicine, University of Belgrade

Abstract

Bone is nowadays transplanted ten times more, than any other organ, or tissue from human body. This can be explained by the enormous expansion of regenerative medicine methods, considering bone tissue defects. The aim of our study was to present current knowledge about bone tissue regeneration strategies and their biological principles. There are three main bone strategies: strategy based on matrix (grafts), which involves processes of osteoconduction, cell-based strategy, which involves transplantation of living cells including osteoblasts, their progenitors, even mesenchymal stem cells. Clinical results suggest that best results can be achieved by combination of two or even three methods, especially in small bone defect. Large bone defects still remain almost unsolvable problem.

Key words: bone defects, regeneration, regenerative strategies

УВОД

Кост представља јединствено потпорно везивно ткиво са минерализованим матриксом. Коштано ткиво је сачињено је од органског (остеоид) и неорганског дела. Тврдоћу му даје калцијум-фосфат исталожен у форми хидроксиапатита, а чврстину колагена влакна у која су ови кристали инкорпорирани. Коштано ткиво има низ значајних улога. Кости пружају потпору и заједно са мишићима омогућавају кретање. Уједно, кости штите виталне органе у грудној и лобањској дупљи, као и коштану срж у којој се одвија хематопоеза. Поред тога, коштано ткиво је динамички уравнотежен резервоар јона калцијума и фосфора, које се по потреби, могу депоновати или мобилисати из коштаног ткива у циљу одржавања константне концентрације у крви (1).

Коштано ткиво након повреде зараста *ad integrum*, формирањем нове кости. Супротно од коштаног, већина других ткива и органа у организму, као што су срчани мишић, попречно-пругасти мишићи, јетра и мозак, углавом зарастају формирањем везивног ткива. Друга значајна особина коштаног ткива је способност ремоделације, односно замене постојећег минерализованог матрикса новим. Сматра се да се у период од око седам година матрикс коштаног ткива у потпуности замени. На тај начин обезбеђује се функционална стабилност коштаног матрикса и спречава "замор материјала" и патолошке фрактуре (2). Данас се коштано ткиво 10 пута чешће трансплантира него било који други орган, што се доводи у везу са огромном експанзијом метода коштане регенерације (3).

Историја коштане трансплантације

Употреба страних материја за обнову ткива у организму је давно позната и забележена и у записима старих цивилизација. Познато је у историји да су се користиле стаклене очи, комадићи дрвета и камена у санацији повреда на телу и глави људи и животиња. Злато се у зубарству употребљавало пре 2.000 година.

Подаци о трансплантацији животињског ткива на човека постоје још из древног Египта из времена Хипократа. Укључујући прве релевантне документе, Job Van Meekren из Холандије био је први доктор који је трансплантовао кост са животиње на човека 1668. године. Он је испуњавао кранијалне дефекте човека са комадићима псеће лобање. Овакав ксенографт је потом био забрањен од стране цркве, да би се тек крајем XVII века поново направили услови за овакве покушаје. Основни проблеми који су настајали са употребом ксенографта били су гнојење, одбацивање или сепса.

Првобитно, реч "графт" дефинисала се као: "било шта што је инсертовано у нешто, а што ће касније постати интегрални део нечега" (Стедманов Медицински речник, 1957).

Senn је испунио коштани дефект крајем XIX века са хемијски декалцификованом кости. Коришћење сунђерасте кости за графтинг постаје популарно после успеха Phemistera (1914), Gallie (1931) и Matti (1932). Узимајући од самог пацијента аутогено сунђерасто коштано ткиво они су са успехом испуњавали коштане лезије. Оваква техника била је у великој употреби током II светског рата.

Процес формирања кости

Постоје два типа формирања кости: ендохондрална и интрамембранозна осификација. Ендохондрална осификација описује формирање дугих и кратких костију током ембрионог развоја, као и формирање кости у пределу фрактура или имплантираног коштаног графта. Мезенхималне матичне ћелије пореклом из периоста, диференцирају се у хондроците који производе хрскавични матрикс. Зрели хондроцити секретују протеине који иницирају калцификацију, док макрофаги врше ресорпцију минерализованог матрикса. Остеоцити и неправилно оријентисана колагена влакна формирају основу незреле кости, док је сам прелаз у зрелу кост, спор

процес. Интрамембранозна осификација је карактеристична за пљоснате кости (кости лобање), где мезенхимално ткиво директно прелази у коштано без хрскавичавог ткива, као међуфазе (4).

Зарастање прелома

Услед прелома долази до дисконтинуитета кости, губитка функције и оштећења крвних судова. Повреда изазива понављање ембриоланих процеса формирања кости, описаних у три фазе: инфламација, репарација и ремоделација (5). Почетни инфламаторни одговор подразумева стварање хематома на месту оштећених крвних судова. На то место пристижу неутрофили и макрофаги, истовремено уништавајући целуларне остатке некрозе и ослобађајући факторе раста и цитокине. Ови сигнали изазивају миграцију и диференцијацију мезенхимских матичне ћелија из околних костију, коштане сржи и периостеума. Ангиогенезом и фибробластном активношћу настаје фиброваскуларно гранулационо ткиво на месту повреде. Долази до акумулације и диференцијације прогениторних ћелија у остеобласте. Релативно кратку инфламаторну фазу замењује фаза репарације, која започиње када остеобласти формирају танак остеоидни слој на месту повреде, који се назива калус. Коначно у трећој фази залечења, долази до ремоделације, преобликовања и реорганизације колагених влакана и настанка чврсте ламеларне кости. Иако последња фаза може потрајати и до годину дана када су у питању тешки преломи, чврстоћа кости је иста као и пре прелома. Међутим, уколико одговор тела није адекватан тј. уколико на месту повреде не настане довољно активних ћелија, или је повреда превелика за природно залечење, до санирања прелома неће доћи (5).

Стратегије коштане регенерације

Стратегије коштане регенерације деле се у три опште категорије: стратегије засноване на екстрацелуларном матриксу (графту), стратегије засноване на ћелијама (*cell-based*) и стратегије засноване на факторима раста (growth factor-based) (6). Методе ткивног инжењеринга ослањају се на ове три стратегије, са циљем репарације и регенерације изгубљеног или оштећеног ткива. У пракси, најчешће, успех се постиже комбиновањем две или више метода. Ове стратегије захтевају интеракцију између остеогених, остеоиндуктивних и остеокондуктивних елемената. Остеогене компоненте обухватају ћелије способне да производе кост, као што су остеопрогениторне ћелије или диферентовани остеобласти. Остеоиндуктивни фактори укључују сигналну трансдукцију која подстиче миграцију, диференцијацију, пролиферацију, матурацију и секрецију одговарајућих типова ћелија (7).

Регенерација кости може бити отежана или комплетно онемогућена у више од 20% фрактура (8). То се односи на велике коштане дефекте и масивне губитке коштаног ткива услед траума, тумора или остеопорозе. У таквим случајевима графтови не могу да подстакну регенеративне процесе. Златни стандард у терапији коштаних дефеката је аутологни коштани трансплантат. Његова примена везана је за бројна ограничења, као што су ограничена количина, губитак функције, али и обољења донорних места, крварење, инфекција и хронични бол (8). Ови недостаци су условили развој алтернативних стратегија репарације великих коштаних дефеката. Терапија стварања кости на бази протеина (укључујући коштани морфогенетски протеин BMP-2 или BMP-7, такође познат и као остеогенетски протеин OP-1), представља релативно нову методу лечења коштаних прелома. BMP-2 метод је ефикаснији од имплантације аутографтова, док му је ефикасност једнака са BMP-7 методом. У покушају да се разуме утицај различитих молекула, као што је коштани морфогенетски протеин, на стварање новог коштаног ткива, вршени су *in vitro* експерименти чији резултати су показали да

он идукује или стимулише диференцијацију прогениторних ћелија у остеобласте (9). У неколико студија, у којима су BMP упоређени са терапијом матичне ћелија, утврђена је већа ефикасност ћелијски посредоване терапије (9). Поједине методе „покушале су" да имитирају нормалан биолошки процес репарације кости код фрактура, као што је појава инфламације, хемотаксе мезенхималних матичних ћелија на повређено место и њихове пролиферације и коначне диференцијације у ћелије кости.

Стратегија базирана на примени екстарцелуларног матрикса (графта)

Биолошки темељи коштане регенерације укључују три процеса (10):

- Остеогенезу - процес којим графт стимулативно делује на формирање нове кости. Спонгиозни коштани трансплантат због своје велике површине има већи потенцијал за формирању нове кости у односу на кортикални коштани трансплантат.
- Остеокондукцију - процес у коме графт подстиче миграторне способности остеобласта доводећи их из околног периоста у подручје графта. Већина графтова испољава само кондуктивни ефекат.
- Остеоиндукцију - процес којим трансплантат подстиче прогениторне ћелије на диференцијацију у остеобласте. У овом процесу се прво активирају мезенхималне ћелије које стварају хрскавицу, а затим се ове ћелије диференцирају у ћелије које формирају коштано ткиво. Читав овај процес се постиже помоћу фактора раста (GF), који укључују PDGF, васкуларни ендотелни фактор раста (VEGF), TGFs (алфа и бета), *acidic and basic fibroblast growth factors* (а и bFGF), *epidermalgrowth factor* (EGF), *insulin-like growth factors* (IGF-I и II), *cementum-derived growth factor* (CGF), *parathyroidhormone-related protein* (PTHrP), и коштани морфогени протеини (енгл. *bone morphogenetic proteins*, BMP).

Идеалан трансплантат требало би да поседује сва три својства, али данас ни један трансплантат нема све ове особине заједно. Зато се трансплантати често користе или посебно или у комбинацији с факторима раста током хируршке процедуре.

Биологија коштаних транспланата

Уградња коштаног трансплантата је процес који подразумева низ сложених корака који укључују и међусобни однос домаћина и самог трансплантата. Процедура избора за реконструкцију коштаног дефекта зависи од (11):

1. Васкуларизованости места трансплантације Goldberg и Akhavan (10) су васкуларизованост места трансплантације класификовали у три категорије:

• Веома остеогенична - траума која је довела до фрактуре кости, није довела до значајнијег поремећаја у васкуларизације места трансплантације. Деструкције не захватају већа подручја меких ткива и нема хиповаскуларизације.

• Делимично остеогенична - у овим случајевима васкуларизација је оштећена. Ендостални, периостални и медуларни крвни судови су нефункционални, или је њихова функција минимална. Смањена је циркулација у меким ткивима.

• Неостеогенична - у овим случајевима снабдевање крвљу кости и меких ткива је комплетно прекинуто. Овакве повреде су карактеристичне за ратне ране.

2. Стабилности места трансплантације

Механичка стабилност графта треба да омогући да он треба да издржи силе компресије, притиска, силе савијања и смицања, и да буду идентична или веома слична механичким својствима коштаног ткива.

3. Узрока коштаног дефекта и

4. Величине дефекта.

Добар графт мора да испуни многобројне захтеве: да обезбеди привремену механичку чврстоћу на оштећеном месту, да делује као подлога за остеоидну депозицију и раст, да садржи порозну архитектуру, да би омогућио васкулризацију кости и урастање

крвних судова, да подстиче миграцију коштаних ћелија на место оштећења и повећава њихову активност у регенерацији и репарацији, да контролисаном деградацијом омогућава пренос оптерећења на кост и омогућава урастање кости у дефект, да дергадира у нетоксичне производе који се могу безбедно уклонити из тела, да не изазива значајне запаљенске реакције, као и да се може стерилисати, без губитка биоактивности (11).

Класификација и дефиниција коштаних трансплантата

У односу на порекло, трансплантати се могу класификовати у четири категорије (13):

1. Аутотрансплантати потичу од исте особе. Предност им је генетички стабилност и ткивна подударност. Изографт је графт који се трансплантира између хомозиготних близанаца.

2. Хетеротрансплантати су коштани трансплантати (калемови) где се прималац и давалац генетски разликују, али припадају истој врсти. То је ткиво узето од исте биолошке врсте, које се с једне јединке узима и уграђује у другу. Предност овог трансплантата је у неограниченој количини, и постоји могућност чувања у коштаној банци. Недостатак је генетска инкопатибилност, имуни систем домаћина може препознати стране целуларне антигене трансплантата и покренути имуни одговор.

3. Ксенотрансплантати су коштани трансплантати где давалац и прималац припадају различитим билошким врстама. То је ткиво узето од једне биолошке врсте и пренето на другу биолошку врсту. Предност је у неограниченој количини коштаног калема, али је неупоредиво већа генетска инкомпатибилност у односу на хомотрансплантате.

4. Имплантати и коштани супституенти, тј. алопластични трансплантати. Коштани алоимплантати постоје на тржишту, замене су за кост, и могу се користити да се повећа материјал за спонгиопластику (OSS-*transplantat, Miter, columbus*, OH). Ови трансплантати су обично модификовани или конзервисани да би се смањио имуни одговор ткива на одбацивање калема. Модификација се постиже сушењем, замрзавањем, зрачењем или хемомодификацијом.

Инкорпорација коштаног трансплантата пролази кроз исте фазе као и фазе зарастања кости. Овај процес подразумева (14): индукцију, упалну реакцију, стварање меког и тврдог калуса и ремоделацију.

Рана или упална фаза

Прва фаза почиње инфилтрацијом крви у трансплантат, тј. у просторе између делова трансплантата. Затим долази до активације остеобласта домаћина и диференцијације мезенхимских ћелија у хондробласте и остеобласте. Стимулишући фактори могу бити електронегативност, релативна хипоксија, ацидоза, или ослобађање лизозома или кинина. Ово условљава повећан број полиморфонуклеарних ћелија, остеокласта на површини ћелије кости домаћина и коштаног трансплантата (14). Механички фактори су важни у инкорпорацији коштаног трансплантата. Матичне ћелије развијају се у остеобласте под утицајем компресивних сила, фибробласти се развијају под утицајем тензионих сила, а хондробласти под утицајем сила скраћивања на додирним површинама кости и трансплантата.

Прва остеогена фаза

Први знаци остеобластичне активности могу да се јаве након 3-4 дана на ендосталној и периосталној површини кортекса домаћина, а нешто касније на површини трансплантисаних спонгиозних графтова. Сматра се да је овај процес стимулисан коштаним морфогеним протеином (BMP). Ћелије ендотела крвних судова играју активну улогу јер омогућавају исхрану и обезбеђују трансплантату

приступ циркулишућих прекрусора поменутих типова ћелија. Мали, аваскуларни аутотрансплантати могу се васкуларизовати за 4-5 дана. Према Cypher и Grossman (14) периостални фиброзни слој сам се одваја када се први остеобласти развијају у камбијском слоју периоста.

Друга (индуктивна) остеогенична фаза

Две до три недеље након повреде почиње најважнија фаза за даљи репаративни процес. Пролиферисано мезенхимално васкуларизовано ткиво инвадира трансплантат на месту трансплантације. Крвни судови појављују се у медуларном каналу и расту радијално. Плурипотентне мезенхималне ћелије диференцирају се у остеобласте на површини трансплантисаних графтова спонгиозне кости. Примарну остеогеничну фазу замениће индукована регенерација кости.

Стварање фиброзне/незреле кости

У овој фази остеобласти формирају матрикс богат колагеним влакнима, организованим неправилно, у облику тродимензионалне мреже. Фиброзна кост поседује мањи проценат неорганске компоненте у односу на зрелу кост (14).

Стварање ламеларне/зреле кости

Стварање ламеларне кости представља поодмаклу фазу зарастања. Карактерише је формирање Хаверсових канала и постепенео ресорбовање графта. Идеално би било да су брзина формирања нове кости и ресорпције постојећег графта уравнотежене, што се у пракси не дешава. Најчешће, брзина ресорпције значајно касни. Сматра се да се материјали на бази хидроксиапатита ресорбују 1-2% годишње, док је за ресорпцију бетатрикалцијумфосфата (beta TCP) потребно отприлике две године да се у потпуности ресорбује. Део графта трајно остаје у коштаном графту (15).

Ремоделовање Хаверсових структура почиње тек кад се кост механички оптерети, а механизам који усмерава процес ремоделације Хаверсових структура су вектори компресивних сила.

Ћелијски заснована коштана регенерација

Ћелијски заснована коштана регенерација подразумева трансплантацију остеогених ћелија у коштани дефект. Овакав вид третмана може помоћи у зарастању кости, а такође је од великог значаја у терапији старијих пацијената, пацијената са дијабетесом или метаболичким поремећајима костију, код којих је ћелијски одговор ослабљен. Нарочито је значајна код пацијената са смањеним бројем ћелија, што је чест случај код пацијената са васкуларним болестима или након зрачне терапије (16). Користи се за терапију коштаних дефеката насталих као последица тумора, болести, инфекција, траума, биохемијских поремећаја или неправилног скелетног развоја (16). Примена овог метода у стоматологији је значајна за терапију коштаних дефеката насталих као последица периодонтитиса, алвеоларних цисти, или као помоћ у остеоинтеграцији кости око имплантата. Испитивања су обухватала различите ћелијске типове: стромалне ћелије коштане сржи, периосталне ћелије, скелетне мишићне ћелије и ћелије које су *in vitro* изведене од коштаних ћелија (*cells derived directly from bone*) или преобликоване помоћу гена за коштани морфогенетски протеин (17). Најчешћи извор ћелија које се трансплантују је свежа коштана срж, култура мезенхималних матичних ћелија или ћелијска култура остеобласта (1). Трансплантат коштане сржи се најчешће узима из илијачне кости. Кључни фактор од којег зависи успех оваквог вида терапије су мултипотентне матичне ћелије које карактерише висок потенцијал пролиферације, очување биоактивности након замрзавања и способност стварања новог ткива у коштаном дефекту. Међутим, њихов број у коштаној сржи није велики. Чине свега

0,001% ћелијске популације, а током старења организма њихов број се додатно смањује (17). Због тога је неопходно изоловати прогениторне ћелије из коштане сржи, а затим их мултипликовати у *in vitro* условима. Истраживања Egusa и сарадника показала су да и након 30 генерација ове ћелије не губе остеогени потенцијал (17). Након узгајања ћелијских култура, мултипотентне матичне ћелије се путем скафолда преносе на место коштаног дефекта, где диференцирају у остеобласте. У присуству одређених једињења, као што су дексаметазон, аскорбинска киселина и ß-глицерофосфат, у *in vitro* условима ове ћелије се могу диференцирати у остеобласте и пре него што се трансплантују у оштећено коштано ткиво (18). На тај начин је омогућено убрзано стварање остеоида на месту дефекта.

Мезенхималне матичне ћелије

Мезенхималне матичне ћелије су извор остеогених ћелија током нормалног коштаног раста, ремоделовања и репарације. Генска терапија на бази ћелија има шансу да у будућности заузме примарно место у стварању коштаног ткива. Адултне матичне ћелије могу се изоловати из коштане сржи, масног ткива, мишићног ткива, крви пупчане врпце или из периферне крви (18).

Комбинација генске терапије са употребом адултних матичних ћелија нуди алтернативни метод претварајући ћелије у "мале фабрике", које могу да производе значајне количине остеогених протеина. Матичне ћелије су јединствене ћелије које су различите у различитим типовима мезенхималних ткива. Ове ћелије могу бити култивисане *in vitro*, показујући две главне особине: самообнова и способност да створе различите типове зрелих ћелија (диференцијација) (19). Да би се диференцирале у остеогени род ћелија *in vitro*, неопходно је обогатити околни медијум, у којем се ћелије налазе, са β-глицерофосфатом, аскорбинском киселином и дексаметазоном. Да би дошло до формирања кости *in vivo*, аутологне матичне ћелије, ношене на керамичким носачима, имплантиране су у пределе коштаних дефеката. Овај метод се показао успешним у стварању кости код пацова, паса, оваца и мајмуна (19). Остеокондуктивни капацитет керамичког носача је кључан за успех ових експеримената. Када су матичне ћелије имплантиране без керамичких носача, дошло је до стварања само везивног ткива. У неколико студија зарастања коштаних дефеката, коришћене су матичне ћелије пореклом из масног ткива (19). Матичне ћелије пореклом из масног ткива показале су да имају остеогени утицај, као последицу дејства BMP сигнала. Предности овог метода су изоловање ових ћелија током процедуре рутинске липосукције и минимално оштећење донор места. Још једна предност ових ћелија је то да је број добијених ћелија велики. Матичне ћелије добијене из масног ткива заузимају централно место у будућим истраживањима везаним за коштану регенерацију. Алтернативни извор за зреле матичне ћелије може бити и мишићно ткиво. Ове ћелије такође имају способност диференцијације у остеогене родове, и сходно томе, побољшавају коштано зарастање (19).

Истраживања показују да мезенхималне матичне ћелије секретују нискомолекуларни остеоиндуктивни фактор у околну средину, који може да стимулише остеогенезу (20).

Мезенхималне матичне ћелије, имају потенцијал за стварање кости, хрскавице, адипоцита, теноцита и миобласта као одговор на сигнале из окружења или унутрашње факторе (20). Способност да се диференцирају у различите врсте везивног ткива чини их идеалним кандидатом за клиничку регенерацију ткива, укључујући аугментацију, локалну регенерацију кости, хрскавице и тетива. Pittenger и сарадници (22) објавили су да је само 1/3 MSC коштане сржи плурипотентна (остео, хондро, адипо). Сличне резултате је добио и Muraglia са сарадницима (23). Додавање специфичних фактора раста културама MSC доводи до обогаћивања култура различитим подтиповима ћелија. Тако FGF-2 у присуству 10% FBS продужава животни век MSC коштане сржи

(23). Већина MSC *in vitro,* као и оне у коштаној сржи мирују у G0/G1 фази. Тек након стимулације (факторима раста) оне се деле на две ћерке ћелије, од којих је једна мултипотентна, а друга постаје прекусорска ћелија са ограниченим програмом развоја. Диференцирање матичних ћелија је контролисан процес у којем учествују цитокини, фактори раста и молекули екстрацелуларног матрикса (23). Матичне ћелије из коштане сржи се састоје из дефинисаних остеопрогенитора усмерених ка остеогенези. Ове дефинисане остеопрогениторне ћелије имају склоност да формирају коштане ћелије, без икаквих спољашњих знакова или сигнала. Са друге стране, остеогенски прекурсори захтевају сигнал, као што је BMP или деминерализован коштани матрикс (23). Сматра се да матичне ћелије коштане сржи могу бити одлични преносници за ћелијску и генску терапију. Са практичне тачке гледишта, матичне ћелије се могу добити биопсијом коштане сржи и брзо размножити за употребу, након претретмана са БМП. Потенцијална корист и од ћелијске и од генске терапије су веома обећавајући (23). Мезенхималне матичне ћелије не експримирају типичне хематопоезне антигене CD45, CD34 и CD14 (23).

Стратегија коштане регенерације заснована на факторима раста

Фактори раста су сигнални молекули који могу да утичу на одређене ћелијске функције, преко везивања за специфичне рецепторе на ћелијској мембрани.

Фактори раста, као и остали сигнални молекули, учествују у свим фазама остеогенезе. Од раних почетака развоја скелета, до његове ремоделације и матурације, играју централну регулаторну улогу. Ремећење ових деликатних процеса у било којој фази условљава настанак скелетних аномалија, до скоро непознате етиологије. Фактори раста су веома значајни за репарацију коштаног ткива, тако да би њихова примена унапредила лечење скелетних аномалија и повреда.

Доступност и цена фактора раста представљају препреку за њихову системску примену у клиничкој пракси. Иако постоје молекуларне технике за производњу фактора раста, као алтернативе за њихову изолацију из кости (BMP-2 и TGF-β1) или тромбоцита (TGF-β1), цена је и даље веома висока, а изгледа и да су ови рекомбинантни фактори раста мање потентни од фактора раста добијених из коштаног матрикса (24).

Коштани морфогенетски протеини (*Bone morphogenetic proteines* - BMP)

BMP представљају субфамилију TGF-ß суперфамилије полипептида. Као и TGF-ß и BMP испољавају активност преко серин-треонин киназних рецептора типа IA, IB, II и активин рецептора I, II, IIB и SMAD сигналних молекула. BMP има важну улогу у ћелијском расту, диференцијацији и апоптози, укључујући хондроците и остеобласте (25). У поређењу са TGF имају селективнији интензивнији ефекат на коштано зарастање на анималним моделима. Током нормалног фрактурног зарастања BMP-2, BMP-3 (остеогенин), BMP-4 и BMP-7 (остеогени протеин OP-1) су најчешће експримирани ендогено.

Структурно BMP изгледају као димерни протеини који имају вишеструке сигналне епитопе (25). Неколико мембранских серин-треонин киназних рецептора је идентификовано за ове лиганде. Ефекат BMP зависи од многих фактора, као што су тип и комбинација фактора, концентрација, време изложености, способност одговора ћелија и тип носача. Иако је до сада откривено преко двадесет различитих BMP-а, у ткивном инжењерингу се углавном користе BMP-2 и BMP-7 (OP-1). Концентрација је кључни фактор и она је специфична за сваку врсту. Код људи су потребне много веће концентрације, него код осталих врста. Ћелије које су вероватно најосетљивије на индукцију су блиске остеогеној линији, као што су мезенхимске прогениторске ћелије, иако је установљена и остеоиндукција лимфоцита. Материјал носача је круцијалан за оптимални профил отпуштања, али су важне и друге карактеристике. Титанијумски

носачи опточени CaP-ом су показали боље резултате са BMP-ом од голих носача.

Шездесетих година прошлог века Marshal R. Urist (26) је истраживао декалцификовану кост која је уграђивана на различитим локацијама код неколико типова животиња и код људи. Ове ћелијске декалцификоване кости су произвеле нову кост у количини пропорционалној величини имплантата са позитивним резултатима експеримента у преко 90% случајева. Процена је показала да су ови имплантати у почетку (3 недеље након уградње) били инкапсулирани у добро васкуларизованом, инфламаторном и влакнастом везивном ткиву.

Даље, макрофаги домаћина започињу процес ресорпције колагеног матрикса, да би након 4-6 недеља депозити кости постали видљиви. Ови рани депозити налазе се на површини партикула носача. Такође, примећена је хрскавица на периферним деловима старих васкуларних канала, која се постепено (између 8. и 16. недеље) замењује коштаним ткивом, кроз процес енхондралне осификације. Urist је овај процес назвао „остеогенезна аутоиндукција“ (26).

Остеоиндукција представља тачан след биолошких реакција које доводе до диференцирања мезенхималних ћелија у хондробласте и остеобласте, под утицајем дифузибилног BPM-а. Након уградње декалцификованог коштаног матрикса поткожно или интрамускуларно индукцијом у примаоцу, настаје хрскавица и кост. Ћелије које реагују на надражај морфогенетског протеина су недиференциране ћелије мишића и мишићних овојница. Без BMP-а оне немају остеоиндуктивну способност.

На ћелијском нивоу, остеоиндукција се одвија у три фазе: хемотакса, митогенеза и диференцијација. Оптимална остеоиндукција зависи од заједничког деловања BMP-а и комплементарног носача, што има највећи значај за будућу терапију. BMP-у је потребан носач, јер је BMP растворљив у екстрацелуларној течности, те би без носача BMP био фагоцитован у року од десет дана (26).

ЗАКЉУЧАК

Регенерација коштаног ткива представља велики научни и клинички изазов. Методе регенеративне медицине које су доступне на данашњем нивоу науке, оријентисане су на три основне стратегије: стратегије базиране на примени екстрацелуларног матрикса (графта), која се највећом мером остварује остеокондуктивним механизмима, стратегија базирана на примени живих ћелија, остеобласта или њихових прекурсора и стратегија базирана на примени фактора раста, који су засновани на процесима остеоиндукције. Најбољи резултати се остварују комбинацијом поменутих стратегија, нарочито када су у питању мали коштани дефекти. Збрињавање великих дефеката, и поред свих метода којима наука располаже, и даље остаје готово нерешив проблем.

Захвалница: *Овај рад је реализован захваљујући пројекту ОИ 175061 Министарстава просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bruder SP, Fink DJ, and Caplan AI, 1999, Mesenchymal stem cells in bone formation, bone repair, and skeletal regeneration therapy. J. Cell Biochem, 56(3), 283-94. 2. Caplan AI and Pechak D, 1987, The cellular and molecular biology of bone formation, Bone and Mineral Research 5, Peck W A, editor, Elsevier, New York, 117-83. 3. Caplan AI and Bruder SP, 1997, Cell and molecular engineering of bone regeneration, Textbook of Tissue Engineering, Lanza R, Langer R, and Chick W, editors, RG Landes, Georgetown, 603-18. 4. Bruder SP and Caplan A, 1989, Cellular and molecular events during embryonic bone development, Conn. Tiss. Res. 20, 65-71. 5. Hollinger J, Buck DC, and Bruder SP, 1998, Biology of bone healing: its impact on clinical therapy, Applications of Tissue Engineering in Dentistry, Lynch S, editor, Quintessence, Chicago, 17-53. 6. Mistry A, Mikos A, 2005, Tissue engineering strategies for bone regeneration, Adv. Biochem. Engin./ Biotechnol. 94, 1-22. 7. Sittinger M, Hutmacher DW, Risbud MV, 2004, Current strategies for cell delivery in cartilage and boneregeneration, Curr. Opin. Biotechnol. 15(5), 411-18. 8. Kimelman N, Pelled G, Helm GA, Huard J, Schwarz EM, Gazit D, 2007, Gene and stem cell based therapeutics for bone regeneration and repair, Tissue engieneering 13(6). 9. Tamura S et al., 2001, The effects of transplantation of osteoblastic cells with bone morfogenetic protein (BMP) carrier complex on bone repair, Bone 29, 169. 10. Goldberg VM, Akhavan S, 2003, The biology of bone grafts, Orthopedics, Sep 26(9), 923-4. 11. Dimitrijević B i saradnici, 2011, Klinička parodonologija: Klasifikacija koštanih transplantata, Zavod za udžbenike, Beograd. 12. Reddi AH, 2000, Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells and biomimetic biomaterials, Tissue engieneering 6(4), 351-9. 13. Trombelli L, Heitz-Mayfield L, Needleman I, Moles D, Scabbia A, 2002, A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects, J.Clin.Periodontol 29(s3), 117-35. 14. Cypher TJ, Grossman JP, 1996, Biological principles of bone graft healing, J. Foot Ankle Surg. 35, 413-7. 15. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, 2013, Current concerns regarding healing of bone defects, Hard Tissue 2, 1-12. 16. Rosales-Rocabado JM, Masaru K, Megumi K, Yosuke A and Katsumi U, 2014, Osteoblastic differentiation and mineralization ability of periosteum - derived cells compared with bone marrow and calvaria-derived cells. J. Oral Maxillofac. Surg 72, 694. 17. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I and Akiyama K, 2012, Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources, J. Prosthodont.Res 56, 151-65. 18. Marolt D, Knezevic M, Vunjak-Novakovic G, 2011, Bone tissue engineering with human stem cells, Stem Cell Res. Ther. 1(10). 19. Kimelman N, Pelled G, Helm GA, Huard J, Schwarz EM, Gazit D, 2007, Gene-and stem cell based therapeutics for bone regeneration and repair, Tissue engieneering 13(6). 1135-50. 20. Bruder SP, Scaduto T, 2005, Cell-based strategies for bone regeneration, Bone Regeneration and Repair, Humana Press, 67-92. 21. Baksh D, Song L, Tuan RS, 2004, Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy, J. Cell. Mol. Med. 8(3), 301-31. 22. Pittinger MF, Macay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, 1999,Multlinage potential of adult human mesenchymal cells, Scienece 284, 143-7. 23. Muraglia A. Cancedda R, Quarto R, 2000, Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro accordind to chiearchical model, J. Cell Sci. 11, 1161-6. 24. Lieberman J, Friedlaender G, 2005, Bone regeneration and repair: biology and clinical applications, New Jersey, Humana Press Inc., Chapter 7, Trippel S. Growth factor regulation of osteogenesis, 113-32. 25. Singhatanadgit W, Salih V, Olsen I, 2006, Bone morphogenetic protein receptors and bone morphogenetic protein signaling are controlled by tumor necrosis factor- in human bone cell, The international journal of biochemistry and cell biology 38, 1794-807. 26. Urist MR, 1965, Bone: formation by autoinduction, Science, 150: 893-9. 27. Chen Z, Wu C, Klein T, Crawford R, Xiao Y, 2014, Osteogenic differentiation of bone marrow MSCs by β-tricalcium phosphate stimulating macrophages via BMP2 signalling pathway**,** Biomaterials, 1507-18.

МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ СИНОВИЈАЛНЕ ТЕЧНОСТИ ПАСА

Јелена Француски, Милица Ковачевић Филиповић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Да би се утврдило да ли синовијална течност (СТ) паса садржи ћелије које имају карактеристике мезенхималних матичних ћелија (ММЋ), које се могу користити као извор ћелија са хондрогеним потенцијалом у терапијске сврхе, узоркована је СТ од 5 младих (старости 3.8 ± 0.9 година) и 5 старих паса (старости 10.5 ± 0.7 година). Све адхерентне ћелије узгајане су 3 недеље на 37^0C у влажној атмосфери са 5% CO_2, након чега је испитан њихов потенцијал ка адипо-, остео- и хондрогенези. Оил Ред О бојењем показано је присуство масних капи у ћелијама узгајаним у адипогеном медијуму, док су депозити соли калцијума бојењем ализарин црвеним показани у ћелијама гајеним у остеогеном медијуму. cSFSc узгајане у тродимензионалним условима, у хондрогеном медијуму, формирале су пелете које су хистолошки анализиране. Бојењем алцијан плавим показано је присуство велике количине гликозаминогликана (ГАГ) у екстрацелуларном матриксу (ECM) а имунохистохемијским бојењем присуство колагена типа II. *In situ* хибридизацијом показана је експресија мРНК колагена типа I на површини пелета. Ћелије узгајане у дводимензионалним условима имплантиране су са целулозним хидрогелом (Si-HPMC) 2 месеца старим *nude* мишевима, са циљем да се испита да ли cSFSc могу формирати хрскавично ткиво *in vivo*. Након 6 недеља у формираном ткиву ћелије су синтетисале компоненте ECM карактеристичне за хрскавицу, ГАГ и колаген типа II.

cSFSc имају адипогени, остеогени и хондрогени потенцијал, што указује на њихову мултипотентност. *In vivo* експеримент на *nude* мишевима доказује њихов хондрогени потенцијал и способност да формирају хрскавично ткиво. Хондрогени потенцијал ових ћелија пре њихове клиничке примене треба даље испитати у претклиничким студијама.

Кључне речи: пас, хондрогенеза, синовијална течност, *in situ* хибридизација, *nude* мишеви

CANINE SYNOVIAL FLUID STEM CELLS

Jelena Francuski, Milica Kovačević Filipović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

The aim of this study was to determine whether synovial fluid (SF) of dogs contains cells that have characteristics of MSCs, to describe their differentiation potential and to investigate their *in vivo* chondrogenic potential. SF adherent cells (cSFSc) from 5 young (average 3.8 ± 0.9) and 5aged (average 10.5 ± 0.7) dogs were expanded (37ºC, 5% CO_2, humidified atmosphere) for three weeks before being replated in adipogenic, osteogenic and

chondrogenic differentiation media. Oil Red O staining shown accumulation of fat droplets in cells grown in adipogenic medium, while deposits of calcium in osteogenic medium were demonstrated with Alizarin red staining. cSFSc cultured in hondrogenic medium in three-dimensional conditions formed cartilage-like tissue which was embedded in paraffin. Alcian blue staining shown significant amount of glycosaminoglycans GAG in the ECM and immunohistochemistry collagen type II expression. In situ hybridization (ISH) shown mRNA collagen type I expression at the surface of pellets. Cells cultured in hondrogenic medium in two-dimensional condition were implanted with cellulose-based hydrogel (Si-HPMC) in 2-month-old nude mice to investigate whether cSFSc enable the formation of a cartilaginous tissue *in vivo*. After a 6 weeks implantation period cartilage neoformation shown positive alcian blue staining and type II collagen immunostaining.

cSFSc *in vitro* exhibited osteogenic, adipogenic and chondrogenic differentiation potentials, suggesting their multipotentiality. *In vivo* experiments in nude mice showed capability of cSFSc to give rise to cartilage. These results demonstrate that cSFSc have good chondrogenic potential that should be further preclinicaly explored for future possible tissue engineering application.

Key words: dog, chondrogenesis, nude mice, synovial fluid, *in situ* hybridization

УВОД

Данас, обољења зглобне хрскавице представљају важан проблем у хуманој и ветеринарској медицини. У том контексту научна заједница тражи начине и средства како да се побољша њена регенерација. Многе хируршке технике попут абразивне хондропластике развијане су са тим циљем. Паралелно су вршена проучавања трансплантације ткива са хондрогенетским својствима, као што су трансплантација покоснице, перихондријума и остеохондрални графтови. Ограничавајући фактори удружени са овим техникам (нестабилност калема, окоштавање и смањена функција графта) довела су до развоја нове терапеутске стратегије - ткивног инжењерства. Оно пружа алтернативу досадашњим класичним хируршким техникама, а састоји се у комбинацији примене ћелија са биоматеријалима и активним биолошким материјама. Ова област се налази на раскршћу терапије ћелијама и науке о материјалима која трага за новим изворима биоматерија који би остварили могућности регенерације хрскавице. У том светлу извршено је испитивање синовијалне течности паса као потенцијалног извора мезенхималних матичних ћелија (ММЋ) које се могу користити у ткивном инжињерству.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Синовијална течност (СТ) је узоркована под асептичним условима од 5 младих немачких овчара узраста 3-5 година (3.8 ± 0.9 година), и 5 старих немачких овчара старости 10-12 година (10.5 ± 0.7 година). Све живе ћелије засејане су у Т-25 фласкове (*BD Falcon primaria plastic®, Biosciences*) у ДМЕМ (*Dulbecco Modified Eagles Medium* - Invitrogen) медијуму са 10% феталног говеђег серума, 1% Л-глутамина и раствора антибиотика и антимикотика. Адхерентне ћелије узгајане су 3 недеље на 37^{0}C у влажној атмосфери са 5% CO_2 и 95% ваздуха (*Binder CB53, Germany*), након чега је испитан њихов потенцијал ка адипо-, остео- и хондрогенези. Паралелно, је са узгајањем ћелија у медијумима за диференцијацију вршено узгајање и у контролном медијуму.

Присуство прогениторских ћелија које је мера за потенцијал једног ткива за пролиферативни потенцијал процењен је CFU-F тестом коришћењем ћелија из прве (P1) до треће (P3) пасаже, а израчунато је и време удвајања ћелија у култури - PTD (*Population Doubling Time*) на ћелијама из P3.

Узгајањем cSFSc у адипогеном медијуму 2 недеље, Оил Ред О бојењем показан је њихов адипогени потенцијал. Активност алкалне фосфатазе (АФ), ензима неопходног за почетак процеса минерализације, одређена је колориметријски 5. и 10. дана остеогене диференцијације, док је присуство депозита соли калцијума формираних током тронедељне остеогенезе показано ализарин црвеним бојењем. Имуноцитохемијски је одређена експресија маркера остеокалцина.

Хондрогени потенцијал испитан је узгајањем ћелија у хондрогеном медијуму 21 дан у дводимензионалним (2D) и тродимензионалним (3D) условима. Код узгајања у 3D условима, међусобном адхезијом ћелија, формиране су тзв. пелете, које су хистолошки анализиране. *In vitro* хондрогени потенцијал испитан је на основу способности ћелија да стварају сулфатисане гликозаминогликане (сГАГ) бојењем са алцијан плавим и имунохистохемијским бојењем (ІНН) на присуство колагена типа ІІ. *In situ* хибридизацијом (ISH) је испитана експресија колагена типа І. Присуство β-галактозидазе (SA-β-Gal) која се налази у ћелијама које испољавају знаке старења (престанак деоба, губитак могућности за диференцијацију) одређено је цитохемијским бојењем.

Да би се испитало да ли cSFSCs комбиноване са целулозним хидрогелом (Si-НПМС) могу формирати хрскавично ткиво *in vivo*, субкутана имплантација је изведена код 20 женки мишева (Swiss nude mice, Charles River, L'Arbresle, France) старости 6 недеља.

РЕЗУЛТАТИ

Време удвајања ћелија одређено PTD тестом износило је у просеку 5.5 ± 1.64 дана и није се значајно разликовало између младих (5 ± 1.73) и старих паса (6 ± 1.73). CFUF тест показао је способност 0.49 ± 0.17% ћелија да формира колоније. Са старењем није уочена разлика између младих (0.55 ± 0.05%) и старих паса (0.43 ± 0.23%).

Оил ред О бојењем показано је присуство масних капи у ћелијама узгајаним у адипогеном медијуму. Потенцијал ка адипогенези није опадо кроз пасаже нити је постојала разлика између младих и старих паса. Култивацијом у остеогеном медијуму, показано је да се cSFSc диференцирају у правцу остеобласта. Петог дана остеогене диференцијације, дошло је до пораста активности АФ и код старих и код младих паса која је код младих опадала десетог дана остеогене диференцијације. Код старих паса активност АФ остала је повишена и 10. дана култивације. Након две недеље култивације у остеогеном медијуму, осим повећане активности АФ, постојала је и појачана синтеза остеокалцина, а након три недеље формирали су се агрегати калцијум-фосфата, који су се бојили црвеним. Уочено је да остеогени потенцијал cSFSc расте са старењем. Потенцијал за хондрогенезу одређен је мерењем количине сГАГ изражен на количину ДНК. Са старењем није уочено смањивање хондрогеног потенцијала. На ћелијама узгајаним у хондрогеном медијуму, у тродимензионалним условима, хистолошки је показано хомогено присуство сГАГ у ECM бојењем пелета алцијан плавим. ІНН на хистолошким исечцима хондрогених пелета показана је експресија колагена типа ІІ у ECM, а ISH експресија мРНК колагена типа І у повшинском слоју хондрогених пелета. *In vivo* потенцијал cSFSc ка хондрогенези показан је на имунодефицијентним мишевима. Наком 6 недеља узгајања ћелије су формирале ткивне структуре налик хрскавици. Бојењем са алцијан плавим и ІНН бојењем на присуство колагена типа ІІ показано је присуство компоненти ECM каректеристичних за хрскавични матрикс (сГАГ и колагена типа ІІ).

ДИСКУСИЈА

Када дође до оштећења хијалине хрскавице, она не успева да се самообнови под физиолошким околностима. Због тога, повреде доводе до иреверзибилних оштећења која воде ка дегенерацији и губитку функције зглоба. Из тих разлога, стратегија комбиновања аутологних ММЋ и биоматеријала показују охрабрујуће знаке у репарацији зглобне хрскавице.

До сада је неколико студија потврдило постојање ММЋ код паса и извршило њихову карактеризацију из масног ткива, костне сржи (1-4) и синовијалне течности (5).

Само присуство ћелија налик фибробластима у СТ (6) наводи на размишљање шта су оне заправо, да ли су заиста синовиоцити или не? Да ли имају карактеристике ММЋ и да ли представљају остареле ћелије које ће се убрзо разградити? У овом испитивању покушали смо да одгонетнемо на та питања.

cSFSc су показале све функционалне карактеристике МЋ постанатних ткива. Имају способност да пролиферишу у култури, а и да се диференцирају у више ћелијских линија. cSFSc имају адипогени, остеогени и хондрогени потенцијал што указује на њихову мултипотентност. Ћелије узгајане у адипогеном медијуму биле су способне да испоље фенотип карактеристичан за ћелије масног ткива, а то је способност депоновања масних капи у цитоплазми. У остеогеном медијуму, развиле су остеобластни фенотип акумулирањем депозита калцијума, повећавањем активности АП и експресијом остеогених маркера (остеокалцин позитивне). Када су cSFSc узгајане у хондрогеном медијуму, успеле су да се диференцирају у правцу хондроцита стварајући матрикс богат сулфатисаним гликозаминогликанима и колагеном типа II. Резултати овог испитивања су у корелацији са претходно објављеним студијама да се у СТ налазе ћелије које имају карактеристике ММЋ.

Након што је показано да ћелије изоловане из СТ имају функционалне карактеристике ММЋ, праћене су њихове карактеристике током старења. Показано је да са старењем постоји тренд опадања броја CFU-F, као и да се време удвајања ћелија продужава. Ћелије старијих паса спорије пролиферишу у култури али је и даље очувана њихова мултипотентност. Ћелије старијих паса у остеогеном медијуму испољавају високу активност АФ која не опада ни након 10 дана култивације, за разлику од младих паса, и акумулирају веће депозите соли калцијума. Овакви резултати указују да се са старењем појачава потенцијал cSFSc ка остеогенези. Такође, највећи број cSFSc старих паса испољава статистички значајно више маркера старења (β-галактозидаза позитивне) у односу на младе псе. Ова карактеристика доводи у питање коришћење ММЋ старијих јединки у регенеративној медицини уопште. Нажалост, у литератри не постоје доступни подаци везано за старење ММЋ СТ паса које се могу поредити са резултатима овог испитивања.

Најзначајнији део овог испитивања јесте утврђивање хондрогеног потенцијала cSFSc *in vivo*. Показано је да ћелије изоловане из СТ имају јак хондрогени потенцијал, не само *in vitro,* већ и *in vivo*. Способне су да створе компоненте ECM карактеристичне за хрскавицу, што их чини атрактивним средством извора хондрогеног потенцијала за клиничку примену.

ЗАКЉУЧАК

Синовијална течност садржи ћелије које имају карактеристике ММЋ са јаким хондрогеним потенцијалом, који пре њихове клиничке примене, треба даље детаљно испититати у претклиничким студијама.

Захвалница*: Овај рад је реализован захваљујући пројекту ОИ 175061 Министарстава просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kadiyala S, Young RG, Thiede MA, Bruder SП, 1997, Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro, Cell Transplant. 2, 125-34. 2. Neupane M, Chang C, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V, 2008, Isolation and characterization of canine adipose-derived mesenchymal stem cells, Tissue Eng Пart A. 6, 1007-15. 3. Csaki C, Matis U, Mobasheri A, Ye H, Shakibaei M, 2007, Chondrogenesis, osteogenesis and adipogenesis of canine mesenchymal stem cells: a biochemical, morphological and ultrastructural study, Histochem Cell Biol. 6, 507-20. 4. Vieira NM, Brandalise V, Zucconi E, Secco M, Strauss BE, Zatz M, 2010, Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. Cell Transplant 3:279-89. 5. Krawetz RJ, Wu YE, Martin L, Rattner JB, Matyas JR, Hart DA, 2012, Synovial fluid progenitors expressing CD90+ from normal but not osteoarthritic joints undergo chondrogenic differentiation without micro-mass culture, PLoS One, 7, 43616. 6. Neidhart CA, Seemayer KM, Hummel BA, Gay M, Gay S, 2003, Functional Characterization of Adherent Synovial Fluid Cells in Rheumatoid Arthritis Michel Arthritis & Rheumatism. 48, 1873-80.

ЕФЕКАТ ПРИСУСТВА ЈОНА СТРОНЦИЈУМА И ВЕЛИЧИНЕ ЗРНА У СТРУКТУРИ КОШТАНИХ ИМПЛАНАТА НА БАЗИ КАЛЦИЈУМ-ХИДРОКСИАПАТИТА НА БИОКОМПАТИБИЛНОСТ И ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈУ МЕЗЕНХИМАЛНИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА

Ђорђе Вељовић[1], Даница Марковић[2], Драган Ђурђевић[3], Весна Даниловић[4], Милица Ковачевић Филиповић[2], Ђорђе Јанаћковић[1]

[1]Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду; [2]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [3]Институт за медицинска истраживања, Војномедицинска академија, Београд; [4]Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Биокерамички материјали на бази хидроксиапатита (ХАП) се најчешће користе у максилофацијалној и ортопедској пракси за замену и реконструкцију оштећених делова скелета. Циљ ове студије био је испитивање утицаја инкорпорираних јона Sr и величине зрна густих биокерамичких материјала за имплантацију на бази ХАП и β-трикалцијум-фосфата (β-ТЦП) на механичка својства, биокомпатибилност и структуру/квалитет споја ткиво-материјал након *in vivo* тестова. Такође је испитан ефекат јона стронцијума инкорпорираних у ХАП на пролиферацију и остеогену диференцијацију мезенхимских матичних ћелија (ММЋ) изолованих из синовијалне течности паса. Наночестични прах хидроксиапатита са и без присутних јона Sr, добијен модификованом преципитационом синтезом, изостатски је испресован и синтерован једностепеном и двостепеном методом на различитим температурама. Тако добијени материјали су уграђени у дефект калварије кунићима и анализирани након четири недеље. Такође је служио као подлога за пролиферацију и диференцијацију ММЋ у стандардним условима културе. Показано је да допирани јони стронцијума и услови процесирања у великој мери утичу на микроструктуру, величину зрна и жилавост процесираних материјала. Смањење величине зрна и инкорпорирање јона Sr иницира повећање жилавости добијених материјала на бази ХАП. *In vivo* испитивањем је доказано одсуство цитотоксичног ефекта за све уграђене материјале, док је веза тврдог и меког ткива са испитиваним материјалима била побољшана у случају додатка јона стронцијума и смањења величине зрна на нано ниво. Такође је показано да допирани јони стронцијума и величина зрна имају утицај на процес диференцијације ММЋ.

Кључне речи: биокерамика, хидроксиапатит, механичка својства, *in vivo*, контакт ткиво-материјал, мезенхимске матичне ћелије.

THE EFFECT OF STRONTIUM IONS AND GRAIN SIZE IN THE STRUCTURE OF BONE IMPLANTS BASED ON CALCIUM HYDROXYAPATITE ON THE BIOCOMPATIBILITY AND DIFFERENTIATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Đorđe Veljović[1], Danica Marković[2], Dragan Đurđević[3], Vesna Danilović[4], Milica Kovačević Filipović[2], Đorđe Janaćković[1]

[1]Faculty of technology and metallurgy, University of Belgrade; [2]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [3]Military Medical Academy, Belgrade; [4]Faculty of dental medicine, University of Belgrade

Abstract

Bioceramic materials based on hydroxyapatite (HAP) are commonly applied to repair and reconstruct damaged parts of the human skeleton in maxillofacial and orthopedic practice. The aims of this study were to investigate the effects of Sr doped ions and grain size of dense bioceramic implant materials based on HAP and β-tricalcium phosphate (β-TCP) on the mechanical properties, biocompatibility and structure/quality of tissue-material interfaces after *in vivo* tests. The effect of Sr ions on the proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from synovial fluid of dogs during intimate contact with investigated HAP based materials was also investigated. Nanosized calcium hydroxyapatite powders doped with Sr ions and undoped, obtained by modified precipitation synthesis, were isostatically pressed and processed by single- and two step sintering at different temperatures. These samples with and without Sr ions, composed of grains of different size were imbedded in rabbit calvaria, and analysis after 4 weeks. The same samples were used as substrate for proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in standard culture conditions. It was shown that the doped strontium ions and processing conditions significantly affected microstructure, grain size and fracture toughness of the processed bioceramics. The decrease in the grain size and doping of HAP with Sr ions led to increase in the fracture toughness of processed bioceramic materialsAn *in vivo* investigation of biocompatibility showed non-cytotoxic effects for all types of bioceramics, while the attachment between soft and hard tissue and investigated materials were improved with addition of Sr ions and with decreasing of grain size to the nano dimensions. It was also shown that doped Sr ions and grain size affected differentiation of mesenchymal stem cells.

Keywords: bioceramic, hydroxyapatite, mechanical properties, in vivo, tissue-material interfaces, mesenchymal stem cells.

УВОД

Биокерамички материјали на бази калцијум-хидроксиапатита (ХАП) и трикалцијум-фосфата (ТЦП), због хемијске и структурне сличности са минералима костију и зуба, као и због свог остеогеног потенцијала и изузетне биокомпатибилности, имају данас веома важну улогу у медицинској пракси, где се као материјали за имплантирање користе за репарацију или замену оштећених делова скелетног система. Захваљујући великом потенцијалу у овом домену, материјали на бази ХАП и ТЦП у виду густих и контролисано порозних форми, нашли су велику примену у максилофацијалној и реконструктивној хирургији, стоматологији и ортопедији.

Комерцијално доступни биокерамички материјали у густој синтерованој форми, добијени поступком синтеровања, примењују се самостално (нпр. приликом замене корена зуба, при повећавању алвеоларних гребена, као материјал за испуну зубне пулпе, као материјал за максилофацијалне реконструкције итд.) или као делови комплекснијих система (1-4).

Наноструктурни хидроксиапатит, као основни градивни елемент неорганске фазе коштаног ткива, у својој структури често садржи велики број различитих јона који имају важну улогу у одређеним метаболичким процесима (5-7). Синтетски биокерамички материјали су из тог разлога често обогаћени различитим јонима, који могу да побољшају поједина својства материјала, биокомпатибилност, атхезију остеобласта, контакт ткиво-материјал, пролиферацију ћелија које су у контакту са имплантом, итд. Јони стронцијум (Sr) инкорпорирани у структуру ХАП, поред тога што могу утицати на промене многих физичких и хемијских својстава биокерамичких материјала, могу у знатној мери побољшати диференцијацију остеобластних ћелија, њихову пролиферацију и активност. Са друге стране, доказана улога јона Sr у метаболизму костију је успоравање пролиферације остеокластних ћелија (8-10).

У последње време испитивана је улога катјона стронцијума на експресију гена везаних за остеобласте, и показано је да јони стронцијума у појединим концентрацијама позитивно утичу на активност алкалне фосфатазе ММЋ. Такође је доказано да јони Sr могу утицати на остеогену диференцијацију ММЋ изолованих из коштане сржи (9,10). Стронцијум негативно утиче на процес сазревања остеокласта, те заправо спречава разградњу коштаног ткива.

У одређеном броју случајева, успешна апликација биокерамичких материјала на бази ХАП и ТЦП је лимитирана због њихове крте природе и мале жилавости. Смањење величине зрна керамичких импланата ка нано нивоу може изазвати побољшање механичких и понекад истовремено и биолошких својстава материјала, а самим тим и омогућити да материјал врши одређену функцију након уградње у организам. Двостепено синтеровање је техника процесуирања биокерамичких материјала која може да успори раста зрна и тиме омогући добијање биокерамике која се састоји од зрна нано димензија, на знатно нижим температурама у поређењу са конвенционалним техникама (11-14).

Циљ ове студије био је испитивање утицаја допираних јона Sr и величине зрна густих биокерамичких материјала за имплантацију на бази ХАП и β-трикалцијум-фосфата (β-ТЦП) на механичка својства, биокомпатибилност и структуру/квалитет? споја ткиво-материјал након *in vivo* тестова. Такође је испитан ефекат јона стронцијума уграђених у ХАП на пролиферацију и остеогену диференцијацију мезенхимских матичних ћелија (ММЋ) изолованих из синовијалне течности паса.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Наночестични прах калцијум-хидроксиапатита допиран стронцијумом (3,0 мол % у односу на калцијум) синтетисан је модификованом преципитационом методом, претходно описаном (5, 11), базираној на хемијској реакцији између $Ca(OH)_2$ и H_3PO_4. Јони стронцијума су додати у реакциону смешу у облику SrO, добијеног калцинацијом $SrCO_3$, док је калцијум унет у облику CaO. У суспензију сачињену од ова два оксида и дестиловане воде, током мешања додавана је фосфорна киселина кап по кап, у стехиометријском односу за ХАП. Тако добијена суспензија је загревана на 94°C током пола сата и мешана наредних пола сата. Добијена суспензија је сушена спреј техником у циљу добијања гранулисаног праха.

Добијени прах, чија је хемијска формула $Ca_{9.7}Sr_{0.3}(PO_4)_6(OH)_2$ (потврђена класичном хемијском анализом) и стехиометријски прах хидроксиапатита добијен раније (11), који је коришћен као контрола, испресовани су изостатски на 400 MPa

да би се добили полазни компакти у облику дискова 2 mm дебљине и пречника 6 mm. Полазни компакти су затим синтеровани једностепено на 1200°C током 2h. Процесирање материјала двостепеним синтеровањем извршено је тако што је полазни компакт најпре загреван на температурама између 1050-1100°C током 10-15 min, затим нагло охлађен на температуре између 900-1000°C и синтерован на температури другог степена наредних 24-30h, са циљем да се добије биокерамика оптималних својстава са што је могуће мањом величином зрна. Сви добијени материјали су карактерисани скенирајућом електронском микроскопијом (SEM) и рендгенском дифракционом анализом (XRD), као и одређивањем коефицијента жилавости.

In vivo испитивању биокомпатибилности и испитивању утицаја јона Sr и величине зрна на диференцијацију матичних ћелија, подвргнуте су три врсте материјала: ХАП и ХАП допиран стронцијумом једностепено синтерован на 1200°C и двостепено синтеровани на 980°C.

ММЋ изоловане из синовијалне течности (пасажа 3) немачких овчара узраста 3 године засејане су у Т-25 фласкове (*BD Falcon primaria plastic®, Biosciences*) у ДМЕМ (*Dulbecco Modified Eagles Medium - Invitrogen*) медијуму са 10% феталног говеђег серума. Њихов диференциони потенцијал је показан у претходним студијама (15). Диференцијација ММЋ у правцу остеобласта је стимулисане гајењем ћелија у комерцијалном остеогеном медијуму (*Gibco*). У циљу процене утицаја особина биокерамичких материјала, и утицаја јона Sr и величине зрна синтероване биокерамике, на адхезивне карактеристике недиференцираних ММЋ и ММЋ диференцираних у правцу остеобласта, ћелије су засејане на три претходно наведене врсте биокерамичких материјала у облику дискова пречника 5 mm. Биокерамички дискови са ћелијама су постављени у центар поља пластичних плоча са 96 поља (*Falcon*), и култивисани су током три недеље на 37°C у влажној атмосфери са 5% CO_2 і 95% ваздуха, након чега су фиксирани процедуром која ће касније бити описана и анализирани SEM методом.

Новозеландски бели кунићи, старости 2-4 месеца и просечне тежине 3 kg коришћени су за имплантацију три различита биоматерија у потиљачну кост, калварију. Хируршка процедура обављена је у складу са међународним стандардима за употребу графтова у претклиничким истраживањима и уз дозволу етичког комитета. За анестезију животиња употребљена је комбинација золетила и ксилазина у одговарајућој дози. Након успављивања и припреме коже бријањем и дезинфекцијом, направљене су хируршке инцизије на глави животиња уз очување свих структура меких ткива и препарацијом периоста. На калварији су стоматолошким борером начињени дефекти на 4 места. Приликом прављења коштаног дефекта водило се рачуна да се разместе симетрично у односу на медиану кости, и спољашњу ивицу орбита, као и да се између њих оствари размак од најмање 1 cm, рачунајући ивице дефеката. Три различита биоматеријала су смештена у дефекте, док је четврти направљен као позитивна контрола процеса зарастања. Имплантати су прекривени периостом и ране су саниране и ушивене. Животиње су смештене у засебне кавезе и подвргнуте седмодневној медикацији антибиотицима (пеницилин), након чега су се успешно опоравиле. Први узорци материјала и околног ткива су прикупљани након процедуре еутанзије, 4 недеље након уградње.

Материјал за хистолошку анализу фиксиран је у 4% пуферисаном формалдехиду. Ткиво је затим декалцификовано у ЕДТА, дехидратисано у серији алкохола растуће концентрације, а затим укалупљено у парапласту. Након тога, исечци дебљине пет микрона, исечени на микротому *Leica* RM2245, постављени су на предметно стакло и обојени хематоксилином и еозином, као и *Goldner trihrom* методом. Исечци су затим анализирани на оптичком микроскопу *Leica* DM55 B.

Узорци са околним ткивом и спрегнутим ћелијама су за SEM анализу фиксирани током 48h у 2,5% глутаралдехиду, затим испирани са: 3% сирћетном киселином, 3%

сирћетном киселином и 25% алкохолом у односу 1:1, 3% сирћетном киселином и 50% алкохолом у односу 1:1 и 70% алкохолом. Узорци су у сваком раствору испирани током 15 min, након чега су чувани у 70% алкохолу, напарени легуром Au/Pd и при 20 keV анализирани помоћу TESCAN MIRA 3 XMU FE-SEM.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

SEM анализом је установљено да су синтетисани недопирани прахови и допирани са 3 mol % стронцијума у односу на калцијум сачињени од игличастих честица величине 50-150 nm, а XRD анализом је показано да је калцијум-хидроксиапатит једина кристална фаза у оба случаја. Синтеровањем на 1200°C током 2h добијени су изузетно густи биокерамички материјали, а величина зрна у случају недопираног и у случају допираног хидроксиапатита била је неколико микрона. Применом поступка двостепеног синтеровања, добијен је материјал са величином зрна у интервалу од 70-200 nm, са одређеним уделом зрна величине испод 100 nm. Након једностепеног и двостепеног процесирања код материјала допираних јоном стронцијума, дошло је до делимичне фазне трансформације ХАП у β-ТЦП, док се код стехиометријског ХАП није одвила фазна трансформација.

Измерена вредност коефицијента жилавости материјала допираног Sr и синтерованог на 1200°C била је 0.89 MPa $m^{1/2}$, што је вишеструко већа вредност у поређењу са вредношћу 0.28 MPa $m^{1/2}$ измерене у случају недопираног праха добијеног при идентичним условима процесирања. Прелиминарни резултати указују да са смањењем просечне величине зрна у случају двостепено синтерованих Sr допираних материјала, вредност коефицијента жилавости расте и изнад литературних вредности за ХАП.

Четири недеље након уградње три врсте материјала: ХАП и ХАП допиран стронцијумом једностепено синтеровани на 1200°C са микронским димензијама зрна и двостепено синтерован допиран материјал на 980°C током 24h са присутним нано-димензионим зрнима у структури у калваријy кунића, испитиван је утицаја јона Sr и величине зрна на биокомпатибилност, спој ткиво-материјал и хистологију околног ткива. Након истека четири недеље од момента уградње, сви испитивани кунићи су се опоравили и нису показивали знаке болести. Хистолошком анализом, извршеном на свим испитиваним узорцима, утврђено је да је зарастање протекло уредно, без знакова инфекције, некрозе ткива или хеморагије. У свим испитиваним узорцима експериментаних група уочили смо одсуство ћелија запаљенског инфилтрата, што говори у прилог биокомпатибилности и нетоксичности примењених материјала. Контролни дефект без узорка је био делимично испуњен младим везивним ткивом. Уочавали су се осификациони центри и почетак формирања новог коштаног ткива. Ћелије запаљенског инфилтрата такође нису биле присутне. На основу анализе околног ткива у случају све три групе узорака може се претпоставити да је дошло до благе дислокације графта, која је била довољна да омогући пролиферацију и урастање везивног ткива, као и миграцију остеопрогениторних ћелија из преосталог периоста. Миграција остеопрогениторних ћелија иницирала је стварање неколико осификационих центара унутар везивом испуњених дефеката. Може се претпоставити да би се под оваквим условима, у дужем временском периоду остварила комплетна коштана регенерација.

SEM анализом узорака материјала и околног ткива након четири недеље проведене у организму, показано је да су све три врсте материјала добро фиксиране и спрегнуте са околним ткивом, али и да је у случају контролног монофазног хидроксиапатита, сачињеног од зрна микронских димензија, нешто лошија приоњивост околног ткива. Разлог може да буде изражена храпавост површине наведеног контролног материјала, након четири недеље проведене у дефекту на

калварији, изазвана разлагањем појединих зрна са површине материјала. С обзиром да су у случају овог материјала зрна димензија и до 5 микрона, појава сенке на контакту материјал-ткиво, која указује на нешто лошију атхезију, није неочекивана појава. Доста боља атхезија је уочена на контакту ткива са материјалом допираним стронцијумом синтерованим на 1200°C, а у овом случају се уочава и присуство континуалног филма преко материјала сачињеног од зрна микронских димензија. Најчвршћи и прилично континуалан спој ткива и материјала детектован је у случају двостепено синтерованог материјала, где се уочава јака веза између зрна димензија од 70 до 200 nm и околног ткива. Велики допринос механици споја између ткива и наноструктурног материјала дају и присутне сферне поре пречника неколико стотина нанометара, хомогено расподељене по површини, које потенцијално могу бити места ојачане приоњивости цитоплазматичних наставака, што поспешује атхезију ћелије за биоматеријал.

Анализом површине биокермичких материјала SEM методом, након три недеље *in vitro* култивације у контакту са матичним ћелијама на телесној температури, констатована је добра спрегнутост новоформиране групе ћелија са материјалима, у случају контроле од монофазног ХАП и оба материјала на бази ХАП допирана стронцијумом. Прелиминарне анализе указују да ћелије у сва три случаја целом површином остварују интиман контакт са биметријалом, указујући да материјали нису имали инхибирајући ефекат на експресију адхезивних молекула важних за *in vivo* преживљавање ћелија и формирање одговарајућих микросредина неопходних за депозицију екстрацелуларног матрикса и даљу депозицију ХАП и стварање коштаног ткива.

ЗАКЉУЧЦИ

Закључено је да допирани јони Sr и услови процесирања у великој мери утичу на микроструктуру, величину зрна и жилавост процесираних биокерамичких материјала, као и да смањење величине зрна и допирање јонима Sr истовремено утичу на повећање жилавости добијених допираних материјала на бази ХАП и ТЦП. *In vivo* испитивањем је доказано одсуство цитотоксичног ефекта за све уграђене материјале, док је веза тврдог и меког ткива са испитиваним материјалима била побољшана у случају биокерамичких материјала са инкорпорираним јонима стронцијума и присуством зрна испод 100 nm. Закључено је и да допирани јони стронцијума и величина зрна имају утицај на адхезивне карактеристике ММЋ, као и да не ремете експресију адхезивних молекула током процеса остеогене диференцијације ММЋ.

Захвалница: *Аутори се захваљују Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, за финансирање истраживања у оквиру пројекта ИИИ45019 и ОИ 175061.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hench LL, 1991, Bioceramics: from concept to clinic. J Am Ceram Soc 74, 1487-510. 2. Chevalier J, Gremillard L, 2009, Ceramics for medical applications: a picture for the next 20 years. J Eur Ceram Soc 29, 1245-55. 3. Veljovic Dj**,** Palcevskis E, Dindune A, Putic S, Balac I, Petrovic R, Janackovic Dj, 2010, Microwave sintering improves the mechanical properties of biphasic calcium phosphates from hydroxyapatite microspheres produced from hydrothermal processing. J Mater Sci 45(12), 3175-83. 4. Veljovic Dj, Colic M, Kojic V, Bogdanovic G, Kojic Z, Banjac A, Palcevskis E, Petrovic R, Janackovic Dj, 2012, The effect of grain size on the biocompatibility, cell-materials interface and mechanical properties of microwave sintered bioceramics. J Biomed Mater Res A 100A(11), 3059-70. 5. Dekhtyar Y, Bystrov V, Bystrova A, Dindune A, Katashev A, Khlusov I, Palcevskis E, Paramonova E, Polyaka NN, Romanova M, Sammons R, Veljovic Dj, 2013, Engineering of the hydroxyapatite cell adhesion capacity. International Symposium on Biomedical Engineering and Medical Physics, IFMBE Proceedings 38, 182-5. 6. Webster TJ, Massa-Schlueter EA, Smith JL, Slamovich EB, 2004, Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations. Biomater 25, 2111-21. 7. Ni GX, Shu B, Huang G, Lu WW, Pan HB, 2012, The effect of strontium incorporation into hydroxyapatites on their physical and biological properties. J Biomed Mater Res B 100B(2), 562-8. 8. Capuccini C, Torricelli P, Sima F, Boanini E, Ristoscu C, Bracci B, Socol G, Fini M, Mihailescu IN, Bigi A, 2008, Strontium-substituted hydroxyapatite coatings synthesized by pulsed-laser deposition: In vitro osteoblast and osteoclast response. Acta Biomater 4, 1885-93. 9. Li Y, Li Q, Zhu S, Luo E, Li J, Feng G, Liao Y, Hu J, 2010, The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats. Biomater 31, 9006-14. 10. Lin K, Xia L, Li H, Jiang X, Pan H, Xu Y, Lu WW, Zhang Z, Chang J, 2013, Enhanced osteoporotic bone regeneration by strontium-substituted calcium silicate bioactive ceramics. Biomater 34, 10028-42. 11. Veljovic Dj, Jokic B, Petrovic R, Palcevskis E, Dindune A, Mihailescu IN, Janackovic Dj, 2009, Processing of dense nanostructured HAP ceramics by sintering and hot pressing. Ceram Int 35, 1407-13. 12. Bose S, Dasgupta S, Tarafder S, Bandyopadhyay A, 2010, Microwave-processed nanocrystalline hydroxyapatite: Simultaneous enhancement of mechanical and biological properties. Acta Biomater 6, 3782-90. 13. Wang J, Shaw LL, 2009, Nanocrystalline hydroxyapatite with simultaneous enhancements in hardness and toughness. Biomater 30, 6565-72. 14. Veljovic Dj, Palcevskis E, Zalite I, Petrovic R, Janackovic Dj, 2013, Two-step microwave sintering - a promising technique for the processing of nanostructured bioceramics. Mater Lett 93, 251-3. 15. Francuski J, Debeljak Martačić J, Radovanović A, Todorović V, Sourice-Petit S, Beck S, Guicheux J, Kovačević Filipović M. Preliminary report: Canine Synovial Fluid as a source of cells with osteogenic and chondrogenic potential, 75-76. Europian Cooperation in the field of Scientific and Technical Research, COST Action MP1005, 2nd Joint Meeting, Septembar 4-5, 2012., Beč, Austria.

ЛЕЧЕЊЕ ОСТЕОАРТРИТИСА (ОА) ПАСА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА

Јанко Мрковачки

Стем Арт д.о.о., Београд

Кратак садржај

Остеоартритис (ОА) је једно од најчешћих дегенеративних, хроничних, и болних стања код паса. Статистички гледано, један од пет паса има остеоартритис. Лечење ОА и његов менаџмент се углавном своди на конзервативну терапију, која укључује трофичке суплементе (хондроитин сулфат, глукозамин), регулисање телесне тежине и физичког ангажмана, као и ординирање нестероидних антиинфламаторних лекова, који су потенцијално штетни за гастро-интестинални тракт, јетру и бубреге. Проблем њиховог давања посебно долази до изражаја ако не доноси довољно бенефита оболелој животињи. Хируршки третмани не дају увек жељене резултате. Лечење ОА паса мезенхималним матичним ћелијама показао се као минимално инвазиван, сигуран (без нежељених ефеката) и ефикасан третман, који може драматично да унапреди квалтитет живота животиње, при чему се избегавају потенцијално опасне последице примене других третмана. Мезенхималне матичне ћелије могу инхибирати настанак ожиљка, смањити апоптозу и стимулисати ангиогенезу погођених ткива. Такође, доказана је њихова антиинфламаторна, имуномодулирајућа и антимикробна активност. Њихове способности миграције, пролиферације и диференцијације су од кључног значаја за регенерацију оболелих зглобова. У одраслом организму, два највећа извора матичних ћелија су коштана срж и масно ткиво. До сада се показало да је масно ткиво богатији и доступнији извор матичних ћелија. Најчешће су лечени ОА колена, кукова, лакта, као и реуматоидни артритис. Побољшање стања лечених животиња се мери методом евалуације, коју обављају ветеринар и власник независно један од другог. Најважнија је процена покретљивости зглобова захваћених ОА. Процена побољшања покретљивости се креће од 50 до 100%, у просеку око 80%.

Кључне речи: остеоартритис, матичне ћелије, масно ткиво, регенерација

TREATMENT OF OSTEOARTHRITIC (OA) DOGS WITH STEM CELLS

Janko Mrkovački

Stem Art d.o.o., Belgrade

Abstract

Osteoarthritis (OA) is one of the most common degenerative, chronic and painful conditions in dogs. Statistically, one in five dogs has OA. Treatment of OA and its management are mostly relate to conservative therapy, which includes trophic supplements (chondroitin sulfate, glucosamine), weight management and controlled exercise, as well as the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID's) which are potentially harmful to the gastro-intestinal system, liver and kidneys. Problem of using them is particularly evident, if they do not make enough benefits to diseased animal. Surgical treatments do not always provide the desired results. Treatment of OA dogs with mesenchymal stem cells proved to be a minimally invasive, safety (without side effects), effective treatment, which can dramatically improve the quality of animal life, while avoiding the potentially dangerous consequences of the other treatments. Mesenchymal stem cells are capable of inhibiting the scar formation, decrease apoptosis, and to stimulate angiogenesis of the affected tissues. It is also demonstrated their anti-inflammatory, immunomodulating and antimicrobial activity. Their ability for migration, proliferation and differentiation, are crucial for the regeneration of diseased joints. In adult animals two largest sources of stem cells are bone marrow and fat tissue. It has been shown that adipose tissue is richer and more accessible source of stem cells than bone marrow. There are usually treated dogs with OA of knees, hips, and elbows, as well as dogs with rheumatoid arthritis. Improving the condition of treated dogs was measured using the evaluation performed by a veterinarian and owner independently. The most important is to assess movement of the joints affected by OA. Improvement of mobility is 50-100% , an average of about 80%.

Key words: osteoarthritis, stem cells, adipose tissue, regeneration

ЛЕЧЕЊЕ ПОВРЕЂЕНИХ ТЕТИВА, ЛИГАМЕНАТА И ЗГЛОБОВА МАТИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА КОД СПОРТСКИХ КОЊА

Јанко Мрковачки

Стем Арт д.о.о., Београд

Кратак садржај

Постоји више типова матичних ћелија: тотипотентна ћелија је оплођена јајна ћелија; ембриоланле ћелије су плурипотентне и могу се диференцирати у било које ћелије било ког ткива организма; феталне и адултне матичне ћелије су мултипотентне, што значи да је њихов потенцијал диференцијације нешто мањи од плурипотентних и тотипотентних ћелија. Трансплантација матичних ћелија у односу на донора и реципијента може бити аутологна (исти донор и реципијент), алогена (различити донор и реципијент у оквиру исте врсте), и ксеногена где су донор и реципијент различите врсте. Најважнији извори матичних ћелија у одраслом организму су коштана срж, периост, везивно ткиво мишића, пупчана врпца и крв из пупчанка, коштане трабекуле, фетална ткива, амнионска течност и плацента, као и масно ткиво. У масном ткиву се налази цео спектар ћелија: мезенхималне матичне ћелије, ендотелијалне прогенитор ћелије, перицити, имунолошке ћелије, фибробласти, као и друге биоактивне ћелије које луче разне факторе раста. Код коња матичне ћелије добијене из масног ткива се употребљавају за лечење повређених тетива, лигамената и зглобова. Повреде се најчешће дешавају на предњим ногама, јер коњи носе 60% своје тежине на њима. До повреда тетива и лигамената најчешће долази због: замора мишића, прегревања тетива приликом изненадних и јаких мишићних контракција, неправилног обрезивања копита и поткивања, дебљине животиње односно прекомерне тежине, неадекватне стазе за тренинг, као и неадекватаног тренинга. Повреде зглоба настају после поновљених епизода стреса и трауме на зглоб. Лечење тетива, лигамената и зглобова конвенционалним методама не даје задовољавајуће резултате, и они су далеко лошији од резултата лечења мезенхималним матичним ћелијама адипозног порекла. У нашој земљи овај метод је доступан од 2009. године.

Кључне речи: матичне ћелије, масно ткиво, спортске повреде, регенеративна медицина

TREATMENT OF INJURED TENDONS, LIGAMENTS AND JOINTS IN SPORT HORSES

Janko Mrkovački

Stem Art d.o.o., Belgrade

Abstract

There are several types of stem cells: totipotent cell is fertilized ovum; embryonic cells are pluripotent and can differentiate into any cells of any tissue; fetal and adult stem cells are multipotent, which means that their differentiation potential is less than totipotent and pluripotent cells. Stem cell transplantation compared to the donor and recipient may be autologous (the same donor and recipient), allogenic (donor and recipient are different within the same species), and xenogenic (donor and recipient are different species). The most important source of stem cells in the adult organism are bone marrow, periosteal, connective tissue of muscles, umbilical cord and cord blood, bone trabeculae, fetal tissues, amniotic fluid and placenta, and adipose tissue. In adipose tissue is a whole range of cells: mesenchymal stem cells, endothelial progenitor cells, pricytes, imunological cells, fibroblasts, and other bioactive cells that secrete a variety of growth factors. Adipose derived stem cells in horses are used for the treatment of injured ligaments, tendons and joints. Injuries occur most frequently on the front legs because horses carry 60% of their weight on them. Tendon and ligament injuries usually occur because of muscles fatigue, overheating of the tendons after heavy and sudden muscle contractions, improper hoof trimming and shoeing, horse overweight, inadequate training track, and inadequate training. Joints injury occurring after repeated episodes of stress and trauma on them. Treatment of tendons, ligaments and joints by conventional methods do not give satisfactory results, and they are far below the results of treatment by adipose derived mesenchymal stem cells. In our country, this method has been available since 2009.

Key words: stem cells, adipose tissue, sport injuries, regenerative medicine

ХЕМАТОПОЕТСКЕ И МЕЗЕНХИМАЛНЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ: ОСНОВНИ КОНЦЕПТ КЛИНИЧКЕ ПРИМЕНЕ

Милица Ковачевић Филиповић, Јелена Француски

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Матичне ћелије хематопоезе (МЋХ) се у хуманој медицине користе у терапији различитих имунодефицијенција, као и неоплазија хематопоетске лозе, већ око 50 година. Разлог њихове аутологе или алогене примене лежи у обнови хематопоезе примаоца и у ефекту који трансплантоване ћелије могу да имају у односу на неопластичне ћелије. Тај ефекат се назива ефекат калема против леукемијских ћелија и доприноси уништавању неопластичних ћелија. Иако су многобројне ране претклиничке студије обављене на псима, данас се у литератури може забележити само спорадична примена ових ћелија у ветеринарској медицини. На супрот МЋХ, примена мезенхимских матичних ћелија (ММЋ) у ветеринарској медицини је доживела експанзију у последњих неколико година, иако још увек нису објављене јасне претклиничке или клиничке студије које би потврдиле наводни терапијски потенцијал ових ћелија. Ипак, у литератури се најчешће могу наћи радови у којима се ММЋ користе за терапију коштано зглобих оштећења код паса и коња и терапију траума кичмене мождине код паса, иако се теоретски могу терапирати дефекти различитих ткива. Разлог примене ММЋ за терапију коштано-зглобних дефеката лежи у њиховој способности диференцијације у остеобласте и хондроците, али и у посредном ефекту који ове ћелије имају лучећи многобројне факторе раста који стимулишу сопствене регенеративне капацитете оштећеног ткива или смањујући евентуалну инфламаторну реакцију. Добро организована и документована примена ММЋ у ветеринарској медицини би могла да буде важна, како за евалуацију овог вида терапије за саме кућне љубимце и коње, али и као основа за транслацију резултата у хуману медицину.

Кључне речи: ветеринарска медицина, матичне ћелије хематопоезе, мезенхимске матичне ћелије

HEMATOPOIESTIC AND MESENCHYMAL STEM CELLS: THE BASIC CONCEPT FOR CLINICAL APPLICATION

Milica Kovačević Filipović, Jelena Francuski

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Hematopoietic stem cell transplantation in human medicine is used in various immunodeficiency and neoplasia treatment for about 50 years. The reason for their autologous or allogeneic application relies on repopulation of hematopoiesis in a recipient and the negative effect that transplanted cells may have on neoplastic cells. This phenomenon is called graft-

versus- leukemia effect and contributes to the destruction of neoplastic cells. Although many early preclinical studies have been performed on dogs, today only sporadic use of these cells in veterinary medicine is recorded. In contrast to HSCs, the use of mesenchymal stem cells (MSC) in veterinary medicine has undergone expansion in recent years, although there is no published preclinical and clinical studies to confirm the putative therapeutic potential of these cells. Primary, MSCs are most commonly reported to be used for the therapy of joint and bone defects in dogs and horses. The second most often performed trial is the trauma of spinal cord injury in dogs. However, it is theoretically possible to treat various tissue defects. The reason for the application of MSCs for the treatment of bone and joint defects lies in their ability to differentiate into osteoblasts and chondrocytes. The indirect effects is governed by secretion of numerous growth factors that stimulate regenerative capacity of damaged tissue and reduce the possible inflammatory reaction. Well-organized and documented use of MSCs in veterinary medicine could be important for further evaluation of this type of treatment for the pets and horses, but also as a basis for the translation of results in human medicine.

Keywords: veterinary medicine, hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells

Појам и подела матичних ћелија

Матичне ћелије су недиферентоване ћелије, које под одређеним физиолошким или експерименталним условима, кроз низ деоба и уз процес диферентовања у прогениторе, а затим у прекурсорске ћелије, могу да стварају ћелије различитих ткива и органа. Ове ћелије су важне за ембриогенезу и образовање ткива и органа током пренаталног развоја, а током живота играју важну улогу у регенерацији и репарацији ткива. Према месту одакле се могу изловати деле се у три велике групе 1) ембрионалне, 2) феталне и 3) адултне матичне ћелије. Ера техничког и технолошког напретка је довела до *in vitro* произведене и четврте групе, а то су матичне ћелије, које се добијају биотехнолошким поступцима и које се називају индуковане плурипотентне матичне ћелије. Три основне карактеристике које обележавају матичне ћелије су: 1) способност самообнављања, 2) велики пролиферативни потенцијал и 3) могућност диферентовања у више различитих типова ћелија.

Самообнова представља могућност одржавања сопствене популације током читавог живота јединке захваљујући асиметричним деобама ћелије мајке. Једна ћелија ћерка је истоветна или врло слична ћелији мајци, а друга ћелија ћерка се диференцира у мање примитивне ћелије. На овом принципу се темељи аутолога терапија матичним ћелијама хематопоезе (МЋХ) које се превасходно користе да доведу до дуготрајне обнове хематопоезе код пацијената којима је коштана срж уништена високим дозама зрачења или цитостатицима. Алогена трансплантација матичних ћелија хематопоезе се на првом месту изводи да би се изазвала рекација калема против туморских ћелија (најчешће леукемијских), али и да би се обновила хематопоеза примаоца.

Диференцијација представља процес током кога недиференциране ћелије, најчешће за време вишеструких деоба, губе могућност диференцијације у различите ћелијске лозе, уз активацију оног дела генома који јој омогућава стицање само оних морфолошких и функционалних особина које су специфичне за поједине ћелијске лозе. Тако се МЋХ диференцирају у мијелоидне и лифоидне прогениторе, а они даље у поједине специфичне ћелијске лозе. Трансплантација мултипотентних МЋХ обезбеђује обнову и мијелоидне и лимофидне лозе. У односу на потентност, матичне ћелије могу да буду тотипотентне, плурипотентне, мултипотентне и на крају унипотентне. Данас се верује да су зигот (оплођена јајна ћелија) и бластомере јединe тотипотентне ћелије у организму човека, јер могу да се диференцирају практично у све ћелије организма и екстраембрионална ткива, а да су хумане/животињске ембрионалне матичне ћелије

плурипотентне, јер се могу диференцирати у ћелије сва три клицина листа, односно у било које специфичне ћелије организма, којих има више од 200, али не и у сва екстраембрионална ткива која су неопходна за развиће сисара. Ембрионалне матичне ћелије теоријски могу да се деле неограничнем број пута. Пример мултипотентних ћелија су хематопоетске матичне ћелије, адултне мезенхимске матичне ћелије и већина феталних матичних ћелија. Мултипотентне ћелије могу да се диференцирају у зреле ћелије клициног листа од кога потичу. Међутим, догма о могућности диференцијације адултних матичних ћелија само у ћелије једног клициног листа се последњих година мења и све је више података о пластичности различитих ћелија у које спадају и матичне ћелије. Пластичност је особина која означава могућност диференцијације матичних ћелија пореклом од једног клициног листа у ћелије других клициних листова. Тако, нпр. хематопоетске ћелије имају способност да се диференцирају у све ћелије крви, али и у скелетне мишићне ћелије, мишићне ћелије срца, хепатоците, неуроне и низ других ћелија.

Матичне ћелије хематопоезе (МЋХ)

Први експериментални докази постојања матичних ћелија хематопоезе (МЋХ) су добијени почетком шездесетих година 20. века, и од тада се ове ћелије проучавају несмањеним интензитетом, што је довело и до њихове широке клиничке употребе познате као трансплантација коштане сржи, односно трансплантација МЋХ. Хематопоеза се код одраслих јединки сисара одвија у коштаној сржи пљоснатих костију и епифизама дугих костију. Изузетак чине глодари, код којих је слезина током читавог живота активни орган хематопоезе. Ови органи обезбеђују комплексну микросредину у којој се под дејством различитих фактора, од малог броја мултипотентних МЋХ које су мезодермалног порекла, континуирано, током читавог живота стварају све зреле ћелије крви. Могућност налажења МЋХ у коштаној сржи је 1 на 10.000, односно оне чине око 0,01% ћелија коштане сржи. Од МЋХ путем деоба и диференцијације настаје нешто већа популација прогениторских ћелија, која чини око 5% ћелија коштане сржи. Осталих 95% ћелија у коштаној сржи чине ћелије које се називају прекурсори (претходници) зрелих ћелија крви. У њих спадају мијелобласти и мијелоцити, еритробласти различитих фаза развоја и мегакариобласти, односно ћелије које су диференциране у поједине крвне лозе, али нису комплетно зреле и не могу да врше функцију зрелих ћелија крви. Ћелије прекурсори могу да се поделе два до три пута пре него што постану зреле ћелије крви и изаћу у циркулацију. Значи, могло би се рећи да ћелије хематопоетског система чине један јединсвени развојни континуум.

После II светског рата, велика средства су уложена у истраживања која су имала за циљ проналажење терапије која би се применила код озрачених пацијената. Велики број експеримената је изведен на псима и малим лабораторијским животињама (1). Резултат тих истраживања је прва алогена трансплантација 1958. године која је изведена у Француској на четири југословенска физичара која су била озрачена после акцидента у Винчи (2). Потом је уследио и јасан експериментални доказ да се матичне ћелије налазе у коштаној сржи и да захваљујући сопственом потенцијалу могу да обнове хематопоезу примаоца диференцијацијом у све крвне лозе (3). На основу изложеног јасно је да разлог аутологе или алогене примене лежи у обнови хематопоезе примаоца. Други разлог, који је тек у каснијим истраживањима схваћен и забележен је ефект који трансплантоване ћелије могу да имају у односу на неопластичне ћелије. Тај ефекат се назива ефекат калема против леукемијских ћелија и доприноси уништавању неопластичних ћелија.

МЋХ се осим у коштаној сржи, налазе и у циркулацији, иако у малом броју. Бројним истраживањима дошло се до терапијских процедура, као што је коришћење цитокина под називом „фактор стимулације раста колонија гранулоцита“ (G-CSF) који

могу да мобилишу, односно преведу велики број матичних и прогениторских ћелија у циркулацију и то у тој мери да тај број чак превазиђе онај који се може добити из калема саме коштане сржи (4). Уз развој процеса цитаферезе (успостављање привременог екстерног крвотока и сепарација ћелија које ће се користити за трансплантацију), дошло је до прве успешне аутологе трансплантације МЋХ изолованих из периферне крви. Наиме, пацијенту са Буркитовим лимфомом су прикупљене МЋХ из периферне крви и по извршеној радио- и хемиотерапији му је изведена и трансплантација сопствених матичних ћелија. Реконституција хематопоезе је била успешна и потпуна и пацијент је у време писања чланка, 25 година од терапије, био жив (4). Посебно занимљив извор матичних ћелија је плацентарна крв. Eliane Glukman је 1988. године прва применила МЋХ изоловане из пупчане врпце у болници „*Sent"* у Паризу, продужавајући живот петогодишњем дечаку који је боловао од Фанконијеве анемије, која представља облик апластичне анемије код које постоји проблем везан за МЋХ. Он је примио МЋХ које су се налазиле у плацентарној крви његове сестре близнакиње, а које су по рођењу замрзнуте до апликације 5 година касније. Према литературним изворима, трансплантација је изведена успешно и пацијент је и данас доброг здравственог стања (5). После тог успеха, прикупљање плацентарне крви је у једном броју земаља организовано од стране државних институција. Плацентарна крв се прикупља на једноставан начин, тако што се по пресецању пупчане врпце, кроз иглу широког промера путем гравитације крв прикупи у кесу за трансфузију. Просечна количина крви у пупчаној врпци је око 50-110 ml. Количина крви испод 70 ml није адекватна за даљу обраду и депоновање јер је показано да такви узорци имају малу количину МЋХ. У просеку, на 100 нуклеисаних ћелија има око 0,1-0,8 CD34+ МЋХ. Број матичних ћелија је у корелацији са запремином крви.

По подацима *Bone Marrow Donor Worldwide* (*http://www.bundw.org*., март 2010. година) у јавним националним банкама, данас је у банкама матичних ћелија у свету похрањено више од 419.000 узорака плацентарне крви, а процењује се да је у приватним породичним банкама похрањено још 1.000.000 узорака. Крв из плацентарне крви похрањује се још од 1991. године. Трансплантацијом МЋХ пореклом из крви пупчане врпце, као и трансплантацијом МЋХ које се мобилишу у периферну крв или које се налазе у коштаној сржи, могу да се, у комбинацији са другим терапијским модалитетима, третирају болести као што су акутна лимфоидна леукемија, акутна мијелоидна леукемија, мијелодиспластични синдром, неуробластом, адренолеукодистрофија, амегакариоцитна тромбоцитопенија, *Blackfan-Diamond* синдром, Фанкони анемија, Хантер-ов синдром, тешка апластична анемија, остеопетроза, таласемија и др. У Европи се годишње обави око 30.000 аутологих и алогених трансплантација МЋХ код људи (6) али не доводи свака терапија до потпуног излечења. Обрадом података о 147 трансплантација обављених са МЋХ из плацентарне крви које су биле пореклом од даваоца делимично подударних у антигенима ткивне хистокомпатибилности, а које су примењење код деце оболеле од акутних леукемија, установљено је да је после 5 година од трансплантације 44% деце било живо, док је 47% умрло због релапса и још 9% због обољења која нису у вези са релапсом основне болести (5).

Ове године се у стручној литератури појавио један од ретких радова који обрађује могућност аутологе трансплантације МЋХ у терапији Т лимфома код паса (7). Резултат студије је охрабрујући јер су два пса (од 15) преживела дуже од две године, 11 паса је преживело око 240 дана, док су два пса угинула убрзо по трансплантацији (7). С обзиром на експанзиван технолошки напредак у области медицине, могуће је да ће овај вид терапије бити шире и чешће примењиван у пракси, у којој економска моћ одређује границе могућности медицине.

Успешна и ефикасна трансплантација МЋХ је фасцинантан пример међусобног допуњавања науке и практичног рада, али никако није пример „чаробног" излечења свих болести човечанства (*panacea*). Иако је стручна јавност тога свесна, одређени митски приступ јавног мњења терапији матичним ћелијама довео је до тога да се сматра да је апликација било ког биолошког производа, коме се да назив „матичне ћелије", сам по себи чаробан и ултимативно лековит.

Мезенхималне матичне ћелије (ММЋ)

Ове ћелије се постнатално могу изоловати из различитих ткива која имају везивно ткивне компоненте. Оне воде порекло од мезодерма/ектомезенхима и за сада је јасно дефинисано да је њихова *in vivo* улога да омогуће споро, али континуирано, обнављење коштаног ткива, умножавање адипоцита, обезбеђење апозиционог раста хрскавице уколико је присутан одговарајући стимулус и обезбеђење адекватне микросредине за неометано одвијање хематопоезе (8). У условима физиолошке равнотеже, биолошки активни молекули омогућавају да се паралелно са ретким пролиферацијама одвија и диференцијација ММЋ у ћелије појединих ткива. Насупрот томе, интензиван стимулус за активацију ММЋ је свако оштећење ткива које покреће инфламаторну реакцију. Инфламаторна реакција с једне стране укључује активацију различитих врста леукоцита који уништавају и уклањају штетни агенс, а са друге стране обезбеђује активацију ММЋ које, пролиферишући и стварајући фибробласте, попуњавају дефект ткива и воде резолуцији инфламације (9). Иако су наведене улоге ММЋ јасне, њихова ткивна локализација и тачан фенотип на основу кога би се разликовале од зрелијих ћелија потомака још увек нису са сигурношћу показане (10). Заправо, већина аутора који се баве проблематиком ММЋ истиче да се о функционалним и фенотипским карактеристикама ових ћелија више зна на основу њихових *in vitro* карактеристика него на основу запажања *in vivo* (10).

Дуги низ година, основни извор ММЋ је била коштана срж. Пунктирање коштане сржи је релативно болна процедура и количина аспирата је ограничена. Истраживачи са Универзитета Калифорнија у Лос Анђелесу су 2001. године описали начин изолације и карактеристике популације мезенхималних матичних ћелија из масног ткива људи које је добијено липосукцијом (11). Ове матичне ћелије, сада познате као адипозне мезенхималне матичне ћелије (АММЋ), веома су лако доступне, а липоаспират садржи 10 до 100 пута више ћелија које имају карактеристике ММЋ у односу на коштану срж. Због тога су АММЋ све више заступљене у области истраживања матичних ћелија и регенеративне медицине. Данас хиљаде истраживача и клиничких чланака који су објављени користе АММЋ описујући њихову плурипотентност *in vitro*, њихову употребу у регенерацији ткива на животињским моделима и њихову примену у медицини. Први чланак објављен у часопису „Ткивни Инжињеринг" прати објава преко 3.000 чланака доступних у бази података *PubMed*.

Трофички и имуномодулаторни ефекти ММЋ

Arnold Caplan је први предложио ММЋ као трофички медијатор ткивног опоравка (12). Када је први пут употребљен у области испитивања ММЋ, термин трофички ефекат се односио на ефекте које стварају фактори које луче ММЋ и који стимулишу ослобађање функционалних биокативних фактора из околних ћелија (12). Ова дефиниција је затим проширена на факторе које стварају ММЋ који промовишу ћелијску вијабилност, пролиферацију, и продукцију матрикса у околну средину. Слика о улози коју ММЋ имају у ткивном опоравку је промењена од увођења трофичких ефеката у истраживање ММЋ. На основу пионирских студија, веровало се да ММЋ помажу ткивни опоравак (обнову) тако што се диференцирају у одређене ћелије које недостају. Међутим, сада се сматра да је трофичка улога ММЋ важнија особина ММЋ у ткивном

опоравку. Докази који потврђују трофичку улогу ММЋ су побољшање координатних функција мозга пацова после изазивања инфаркта, а без диференцијације ММЋ у било које нервне ћелије. ММЋ такође стимулишу пролиферацију кардиомиоцита и васкуларну регенерацију. Осим наведених трофичких ефеката, сматра се да ММЋ у условима инфламације имају анти-инфламаторно дејство и да на тај начин могу да смање бол и донекле помогну опоравку функције ткива и органа (13).

Клиничке студије

На основу претраге базе података на веб страници: *www.clinicaltrials.com* дошло се до података да су укупно у свету пријављене 4.743 клиничке студије са матичним ћелијама. Неке студије су завршене, друге су у току, а поједине тек регрутују пацијенте на којима ће се вршити испитивања. Од тога се у 390 студија испитује клиничка ефикасност и безбедност употребе ММЋ. У 182 студије се користе ММЋ изоловане из коштане сржи, док се у 42 студије за терапију користе ММЋ изоловане из масног ткива.

Како је један од праваца истраживања који се спроводе на Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду управо употреба ММЋ у терапији дефеката хрскавице код паса, један од занимљивих података који смо сматрали да треба да обрадимо је био одговор на питање: која су достигнућа, према званичним подацима, употребе ММЋ изолованих из масног ткива (АММЋ) у терапији остеоартритиса, у хуманој популацији? Претрагом наведене базе података пронађено је шест студија у којима се АММЋ користе за терапију различитих типова остеоартритиса. Анализом ових студија може се закључити да су пацијенти пунолетне особе, и да се стромално васкуларна фракција (СВФ) ћелија из масног ткива добија после наменске липосукције. За све интраартикуларне апликације се користе аутологе ћелије. Количина потребног масног ткива је до 500 mL. У 5 (од 6) студија су се користиле свеже изоловане ћелије у количини од једног до више десетина милиона. Максимални волумен интраартикуларне инјекције је био 5 mL. У само једној студији је предвиђено да се користе експандиране ћелије (манипулисане *in vitro*). Остеоартритис се код пацијената дијагностикује на основу различитих „*imaging*“ техника, покретљивости и болности зглоба. После једнократне (у једној студији двократне) апликације ММЋ, у више временских интервала (најчешће 3, 6, 12 и 24 месеца) пацијенти се контролишу. Локалне промене се прате, као и приликом дијагнозе болести, „*imaging*“ техникама, покретљивошћу зглоба и његовом болношћу. За опис промена се примењују различити системи бодовања. Једна студија предвиђа артроскопију и биопсију хрскавице и хистолошку евалуацију промена после терапије. Осим тога, та студија предвиђа и праћење општег здравственог стања пацијената. Једна студија је пријављена као завршена, али још увек не постоји ниједна студија која је саопштила резултате извршених анализа.

Друге клиничке студије у којима се користе АММЋ се односе на терапију различитих патолошких стања, од којих је најчешћа реконструктивна хирургија, у којој је важно да се регенеришу различита ткива, од масног, преко различитих везивних ткива, до епитела.

Захваљујући чињеници да употреба ММЋ може да буде орјентисана на терапију обољења која су локалног карактера - као што су дефекти коштано-зглобног система, да не постоји никаква законска регулатива у тој области, и да су матичне ћелије овенчане ореолом свемоћи, непроверени облици терапије, уз непознавање проблематике, се у ветеринарској медицини кућних љубимаца и тркачких коња веома брзо шире у пракси, на првом месту у САД (14). Стручна литература у ветеринарској медицини је на ту тему веома оскудна и не постоје објављене шире клиничке студије. Већина података се базира на обради појединачних случајева из праксе, као што је на

пример терапија оштећене тетиве суперфицијалног дигиталног флексора код три коња, која је дала позитивне резултате, односно бржи опоравак и враћање животиња у активан тренинг (15). Ове године је такође објављена студија на 4 пса са траумама кичмене мождине чији је опоравак (праћен кроз појављивање појединих рефлекса) код 3 од 4 пса био задовољавајући (16). Још једна од ретких контролисаних студија је испитивање аутологих АММЋ код 8 паса са дисплазијом кука (контролу је представљало 5 паса без терапије), који су у периоду од месец дана после терапије показали смањену болност и већи степен ослањања на екстремитет (17). Осим описаних студија, које се базирају на клиничким случајевима, у бази података *Pubmed* се може наћи већи број студија у којима су пси коришћени као модели за поједине патолошке ентитете. Велики проблем овог типа истраживања је што се студије у којима се не виде позитивни ефекти терапије најчешће не објављују, те је увид у успех терапије са ММЋ непотпун. Наша испитивања су до сада била усмерена на успостављање *in vitro* култивације и карактеризације ММЋ из различитих ткива, а код паса смо до сада испитали ћелије из масног ткива и синовијалне течности, при чему смо показали да код младих паса ћелије из синовијалне течности имају значајан пролиферативни потенцијал и да се са тог аспекта могу користити за дизајнирање терапија са експандираним ћелијама, док се код старијих паса тај потенцијал најчешће губи, те су ћелије из масног ткива потенцијално бољи извор за терапију ОА код старијих паса (18). Чињеница је да је у хуманој, па онда и у ветеринарској медицини, веома актуелно и горуће питање: да ли је приликом санације дефеката кости и хрскавице потребно применити биоматеријале у комбинацији са матичним ћелијама или само биоматеријале?

Закључак

Истраживање и примена МЋХ и ММЋ су области које се развијају како у хуманој тако и у ветеринарској медицини. Експерименти на животињама су важни у претклиничким испитивањима, али су важни и за животиње као пацијенте. Иако постоје спорадични покушаји примене МЋХ у терапији неоплазија хематопоетске лозе код паса овај облик терапије вероватно никада неће моћи да се рутински користи у малој пракси. Супротно, терапија коштано зглобних дефеката и терапија траума кичмене мождине се може пратити код пацијента у ветеринарској пракси, пре свега коња и кућних љубимаца, без обзира да ли се ради о терапији са или без употребе биоматеријала. Организоване и добро праћене студије у ветеринарској медицини могу бити од велике користи за напредак регенеративне медицине.

***Захвалница**: Овај рад је реализован захваљујући пројекту ОИ 175061 Министарстава просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Mathe G, Jammet H, Pendic B, Schwarzenberg L, Duplan JF, Maupin B, Latarjet R, Larrieu MJ, Kalic D, Djukic Z, 1959, Transfusions and grafts of homologous bone marrow in humans after accidental high dosage irradiation, Rev Fr Etud Clin Biol. 3, 226-38. 2. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW, 1957, Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy, N Engl J Med. 11, 491-6. 3.Becker AJ, McCulloch EA, Till JE, 1963, Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells, Nature. 197, 452-4. 4. Körbling M, Freireich EJ, 2011, Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation, Blood. 24, 6411-6. 5. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE, 2013, Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond, Blood. 122, 491-8. 6. Passweg JR, Baldomero H, Bregni M, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Falkenburg JH, Kröger N, Farge-Bancel D, Gaspar HB, Marsh J, Mohty M, Peters C, Sureda A, Velardi A, Ruiz de Elvira C, Madrigal A, 2013, European Group for Blood and Marrow Transplantation. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2011, Bone Marrow Transplant. 48, 1161-7. 7. Warry EE, Willcox JL, Suter SE, 2014, Autologous peripheral blood hematopoietic cell transplantation in dogs with T-cell lymphoma. J Vet Intern Med. 28, 529-37. 8. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR, 1999, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, Science. 284, 143-7. 9. Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. Cell Stem Cell. 2011 Jul 8;9(1):11-5. 10. Frenette PS, Pinho S, Lucas D, Scheiermann C, 2013, Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine, Annu Rev Immunol. 31, 285-316. 11. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH, 2001, Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies, Tissue Eng. 7, 211-28. 12. Caplan AI, Dennis JE, 2006, Mesenchymal stem cells as trophic mediators, J Cell Biochem. 1, 1076-84. 13. Bianco P, 2013, Reply to MSCs: science and trials, Nat Med. 19, 813-4. 14. Cyranoski D, 2013, Stem cells boom in vet clinics, Nature. 496, 148-9. 15. 15. Marfe G, Rotta G, De Martino L, Tafani M, Fiorito F, Di Stefano C, Polettini M, Ranalli M, Russo MA, Gambacurta A, 2012, A new clinical approach: use of blood-derived stem cells (BDSCs) for superficial digital flexor tendon injuries in horses, Life Sci. 6, 825-30.16. Penha EM, Meira CS, Guimarães ET, Mendonça MV, Gravely FA, Pinheiro CM, Pinheiro TM, Barrouin-Melo SM, Ribeiro-Dos-Santos R, Soares MB, 2014, Use of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow for the treatment of naturally injured spinal cord in dogs, Stem Cells Int., 2014:437521. 17. Vilar JM, Morales M, Santana A, Spinella G, Rubio M, Cuervo B, Cugat R, Carrillo JM, 2013, Controlled, blinded force platform analysis of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells associated to PRGF-Endoret in osteoarthritic dogs, BMC Vet Res. 9, 131. 18. Francuski J, Doktorska disertacija Ex vivo карактеристике мезенхималних матичних ћелија изолованих из синовијалне течности коленог зглоба паса различите старости (пријављена).

Пленарни радови

---

7. ЗАСЕДАЊЕ

1. ПРОИЗВОДЊА БИОГАСА ИЗ СТАЈЊАКА

2. МЕЛ-МЕД У ПРОШЛОСТИ, ОБРЕДИМА И НАРОДНОЈ МЕДИЦИНИ

3. ВИРУСИ ПЧЕЛА - ЗНАЧАЈАН ПАТОГЕН У СЛАБЉЕЊУ ПЧЕЛИЊЕ ЗАЈЕДНИЦЕ

4. ЕПИДЕМИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТРИХИНЕЛОЗЕ У АП ВОЈВОДИНИ У ПЕРИОДУ ОД 2004. ДО 2013. ГОДИНЕ

5. РАЗВОЈНИ ПУТ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У МАЧВАНСКОМ ОКРУГУ У 19. И 20. ВЕКУ

6. A. POPLITEA КОД СЛЕПОГ КУЧЕТА (SPALAX LEUCODON)

7. A. RENALIS КОД ТЕКУНИЦЕ (CITELLUS CITELLUS)

8. ОСНОВНИ МОРФОМЕТРИЈСКИ ПАРАМЕТРИ БУГАРСКОГ ОВЧАРСКОГ ПСА

ПРОИЗВОДЊА БИОГАСА ИЗ СТАЈЊАКА

Љиљана Јанковић, Брана Раденковић-Дамњановић, Радислава Теодоровић, Милутин Ђорђевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Висока концентрација гасова у атмосфери који проузрокују ефекат стаклене баште (GHG - *greenhouse gases*) је разлог за глобално отопљавање. Сматра се да, уколико не дође до глобалне акције са циљем лимитирања емисија гасова стаклене баште, глобална површинска температура може порасти од 1,1°C до 6,4°C до краја XXI века. Од укупне емисије гасова стаклене баште у 2005. години из пољопривредне производње се ослободило скоро 475 милиона тона CO_2-еквивалентних гасова стаклене баште. Домаће животиње су произвођачи чак 18% од укупних штетних емисија гасова стаклене баште, што представља већи удео и од сектора транспорта.

Међународне заједничке акције у циљу ублажавања климатских промена започеле су још почетком деведесетих година. Утицај пољопривреде на емисију гасова стаклене баште је у опадајућем тренду јер су уложени напори у циљу смањења емисије гасова и то смањењем броја стоке, побољшањем продуктивности животиња, променом у начину исхране, као и одговарајућим третманом стајњака. Инсталирање анаеробних система за прераду, са циљем производње биогаса из стајњака, је можда једна од обећавајућих мера за смањење емисија метана у атмосфери, и поред високе цене коштања. Овај метод је нарочито ефикасан у регионима са великом густином стоке, где се ствара велика количина стајњака и осоке. Биогас се може трансформисати у топлотну или електричну енергију.

Кључне речи: анаеробна дигестија, стајњак, биогас

PRODUCTION OF BIOGAS FROM MANURE

Ljiljana Janković, Brana Radenković-Damnjanović, Radislava Teodorović, Milutin Đorđević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

High concentration of gases in the atmosphere causes the greenhouse effect (GHG - greenhouse gases) is the reason for global warming. It is estimated that , unless there would be a global action aiming to limit the emissions of greenhouse gases, the global surface temperature might rise 1.1°C to 6.4°C by the end of the 21st century.Out of total emission of greenhouse gasses from agricultural production, almost 475 million tons of CO_2 - equivalent greenhouse gases were delivered in 2005. Domestic animals are producers of even 18% of total adverse greenhouse gases emission, which represents a larger portion that the transport sector. International joint actions with the view of mitigation of climate changes were initiated

in the early nineties. The agricultural impact to greenhouse emission is decreasing due to efforts made aiming to reduce gas emission, namely by reducing the number of livestock, improving the productivity of animals, changing the way of eating, as well as suitable treatment for manures. Installation of anaerobic systems for processing for the purpose of biogas production, is probably one of the most promising measures for methane reduction in the atmosphere, despite its high price. This method is particularly efficient in the region with high density livestock, where a big amount of manure and sedge is produced. Biogas can be transformed in heating and electrical energy.

Key words: anaerobic digestion, manure, biogas

УВОД

Климатске промене су глобални проблем, који захтева глобално решење. Научно је доказано да је висока концентрација гасова у атмосфери који проузрокују ефекат стаклене баште (GHG - *greenhouse gases*), разлог за глобално отопљавање. Европа је у последњем веку топлија скоро за 1°C, што је више и брже од глобалног просека. Климатски услови су постали променљивији. Кише и снежне падавине су се значајно увећале у Северној Европи, док су падавине значајно смањене, а суше су све чешће у Јужној Европи (1). Температуре постају све екстремније (рекордне температуре летњег топлотног таласа 2003. године), а истовремено поплаве постају све уобичајеније. И док индивидуалне временске појаве не можемо приписати једном јединим узроку, статистичке анализе показују да је ризик од настајања таквих појава значајно увећан као последица климатских промена. Економски губици причињени временским непогодама и катастрофама су значајно нарасли током последњих година. Данас, климатске промене представљају двоструки изазов: како смањити емисију гасова стаклене баште који су узрочници глобалног отопљавања и како се прилагодити текућим и будућим климатским променама са циљем смањивања негативног утицаја које ће имати на нас - прилагођавање.

Истраживачи су се сагласили да ће утицај климатских промена на цели свет у будућности бити прогресивно све оштрији, мада се овог тренутка не може са сигурношћу рећи којом брзином и у којој мери ће се десити та промена. IPCC (1) предвиђа да ће продужена емисија гасова стаклене баште у будућности изазвати убрзано отопљавање у XXI веку, почевши са променама у глобалном климатском систему, које ће свакако бити далеко значајније од промена које су се десиле током XX века. Процењује се да, уколико не дође до глобалне акције са циљем лимитирања емисија гасова стаклене баште, глобална површинска температура може порасти од 1.1°C до 6.4°C до краја XXI века, мада је вероватнији сценарио да ће раст температура бити у распону од 1.8°C до 4.0°C (око 0.2°C сваке деценије). У Европи је највећи пораст темепературе забележен у Јужној Европи и очекује се да ће и даље тако остати. Велики распон пројекција проузрокован је несигурношћу физичких климатских модела и непредвидљивошћу будућих емисија, које зависе од фактора попут технолошких промена и популацијског раста становништва земље.

Заједничке међународне акције у циљу ублажавања климатских промена започеле су још почетком деведесетих година прошлог века, а ЕУ је од самог почетка над њима преузела вођство. ЕУ је имала кључну улогу у развијању Оквирне конвенције за климатске промене Уједињених Нација (UNFCCC) и њеног Кјото протокола, који су донели и прве обавезујуће циљеве за индустријализоване нације, да смање емисију гасова стаклене баште за 5% до 2012. године (1). Почетком 2007. године земље потписнице Кјото протокола прихватиле су обавезу да смање емисије гасова стаклене баште за 20% до 2020. године (у поређењу са 1990. годином).

Напори у циљу смањења концентрације испуштања гасова стаклене баште у атмосферу можда нису довољни да се избегну последице промена климатских услова. И док је ублажавање потребно, како би се онемогућиле климатске промене које се могу избећи, прилагођавање (изградњом баријера против поплава, развојем биљака које су отпорније на сушу, селекцијом шумских врста и пракси, које су мање осетљивије на олује и пожаре) је потребно да би смо могли да изађемо на крај са последицама, које су незаобилазне због чињенице да су те промене резултат емисија из прошлости.

Пољопривредни сектор ослободио је скоро 475 милиона тона CO_2-еквивалентних гасова стаклене баште у 2005 години. Ово представља готово 9% од укупне емисије гасова стаклене баште у ЕУ чиме је пољопривреда била трећи највећи сектор који ослобађа штетне гасове у атмосферу. Око 5% од укупних емисија је N_2O који је резултат употребе органских и минералних азотних ђубрива на земљишту и скоро 4% је CH_4 настао као резултат дигестивних процеса код преживара и у мањој мери због складиштења стајског ђубрива. Утицај пољопривреде на емисије гасова стаклене баште је у опадајућем тренду, јер су уложени напори у циљу смањења емисије донели позитивне резултате. На нивоу ЕУ не постоје специфични циљеви за смањење емисије штетних гасова (метан и азот оксид) у пољопривреди. Међутим, неколико земаља чланица има специфичне планове за смањење пољопривредних емисија и користе широк спектар мера и инструмената да би умањиле ослобађање штетних гасова са фарми.

Укупне емисије из пољопривреде су се реално смањиле за 20% у периоду од 1990. до 2005. године, што је у великој мери заслуга промене метода рада у пољопривреди, као и смањењу броја грла стоке. Емисија метана у ваздух, из стајњака, је такође смањена за 9%. У истом периоду, емисије азот оксида из земљишта су смањене за 21%, највише као резултат смањења употребе органског и синтетичког азотног ђубрива. Смањење емисија гасова стаклене баште у пољопривреди је много веће од општег смањења код других емитера, које износи око 8%. Стога произилази закључак да пољопривреда даје значајан допринос испуњењу обавеза презетих Кјото протоколом. И поред охрабрујућих вести, пољопривреда је још увек одговорна за највећи део CH_4 и N_2O емисија. Садашња истраживања показују да је велики део климатских промена заслуга домаћих животиња. Закључак у једном од извештаја Организације за храну и пољопривреду при Уједињеним нацијама је да су домаће животиње произвођачи чак 18% од укупних штетних емисија гасова стаклене баште, што представља већи удео и од сектора транспорта (1).

Очекивано смањење броја стоке и побољшање продуктивности највероватније ће допринети смањењу емисија CH_4. Промене у начину исхране стоке, као нпр. употреба квалитетнијих хранива и специфичних дијететских додатака, су економски ефикасне опције за смањење емисија метана. IPCC Директива (2) за Интегрирану превенцију и контролу загађивања, односи се на сточарске фарме са више од 2.000 товних свиња (или 750 крава) и више од 40.000 комада живине. Мере које морају бити спроведене на тим фармама су најчешће усмерене ка редуковању испаравања амонијака (прекривен ускладиштен животињски стајњак, побољшани системи за чување стоке, пречишћавање ваздуха, управљање/третирање стајњака, апликација ђубрива које има мали коефицијент емисије). Амонијак није гас стаклене баште, међутим мере за третирање стајњака, исто тако утичу и на смањење емисија метана и азотног оксида.

Значајан потенцијални допринос спречавању климатских промена може да се оствари смањењем емисија *GHG* из пољопривреде, првенствено одговарајућим третманом течног и чврстог стајњака тј. производњом биогаса.

ПРОИЗВОДЊА БИОГАСА

Широм Европе тренутно се примењују различите шеме подршке генерисању електричне и топлотне енергије из обновљивих извора нарочито из биогасних постројења. Инсталирање анаеробних система за прераду са циљем производње биогаса из стајњака, је можда једна од обећавајућих мера за смањење емисија метана у атмосфери, и поред високе цене коштања. Овај метод је нарочито ефикасан у регионима са великом густине стоке, где се ствара велика количина стајњака и осоке. Према Директиви 2009/28/ЕС, у ЕУ до 2020. године удео обновљивих извора енергије у коришћењу примарне енергије треба да буде најмање 20%, а макар да се 20% електричне енергије генерише из обновљивих извора енергије, као и да се у области транспорта 10% енергије обезбеди коришћењем биогорива. Све земље чланице и оне које то желе да постану имају обавезу да допринесу остварењу ових циљева. Биогас који се може трансформисати у топлотну или електричну енергију представља смешу метана (50-70%) и угљендиоксида (20-40%), док је удео осталих гасови значајно мањи (водоник сулфид 0-1%, азот 0-2%, водоник 0-1%, водена пара 0-2%, амонијак 0-2% и кисеоник 0-0,5%). Биогас пречишћен до нивоа чистоће неопходне за гасовод могуће је користити у свакој примени у којој се иначе користи земни гас. Приликом експлоатације (сагоревања) биогаса не емитују се штетни гасови који се стварају при сагоревању класичних фосилних горива и тиме се доприноси већој заштити животне средине (3,4).

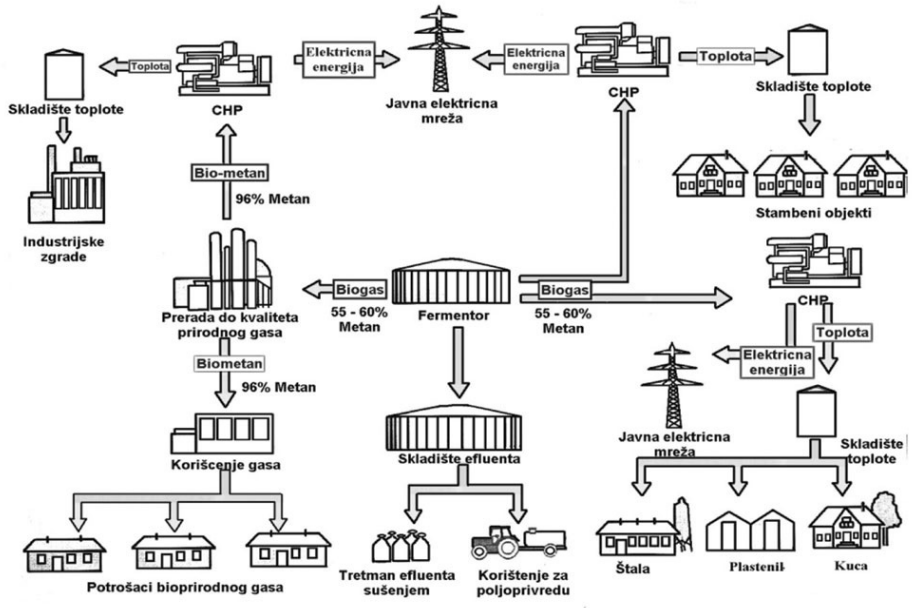
Биогас настаје процесом анаеробне дигестије који се заснива на биолошкој разградњи органског материјала под дејством анаеробне микробиолошке популације у средини без кисеоника. Анаеробном дигестијом може се третирати органски материјал који потиче из пољопривреде (стајњак, биомаса), индустрије или комуналних отпадних вода. Приликом разградње органске материје, бактерије у анаеробном окружењу производе мешавину метана и угљен диоксида. Ова мешавина гасова настала у анаеробним ферменторима и контролисаним условима назива се биогас. Током процеса анаеробне дигестије органска азотна једињења се претварају у амонијак, сумпорна једињења у водоник сулфид, фосфор у ортофосфате, а калцијум, магнезијум и натријум у разне врсте соли. Правилним радом и руковањем неорганski састојци се могу конвертовати у разне корисне производе (5-10). Као највреднији финални производ добија се електрична енергија, а постоји и могућност производње топлотне енергије, уколико се користе комбиновани уређаји. Енергија добијена од стајњака има вишеструку предност и она није само у елиминисању загађења животне средине, већ и у уштеди трошкова горива у производњачко/процесној индустрији. Стајњак представља потенцијално велики ресурс биомасе. Дехидриран животињски стајњак има исти енергетски садржај као дрво. Уколико се користи за загревање, ефикасност је само 10%. Око 150 милиона тона сувог стајњака се користи као гориво широм света. Ефикасност конверзије животињског отпада може бити повећана и до 60% уколико се при томе производи биогас кроз процес анаеробне дигестије (11). Такође, као крајњи производ могуће је добити и високо квалитетно органско ђубриво у течном и/или чврстом стању. Важно је напоменути да је органско ђубриво веома тражен производ због својих органолептичких особина, јер је богато хранљивим састојцима са могућношћу директне примене на обрадивим површинама (11,12).

У процесу производње биогаса користи се мезофилна и термофилна анаеробна дигестија. Код примене мезофилне дигестије дигестор се загрева на 30-35^{0}C и смеша остаје у дигестору обично 15-30 дана. Мезофилна дигестија је толерантнија у односу на термофилну, али продукција гаса мања, потребни су већи танкови и уколико је потребно вршити дезинфекцију она се мора обавити као посебна фаза у процесу. Код примене термофилне дигестије дигестор се загрева на 55^{0}C и процес обично траје 12-14 дана. У овом процесу је продукција метана већа, уништавање патогена и вируса

ефикасније (и до 99.99%), али захтева скупљу технологију, већу потрошњу енергије и већи степен мониторинга. Током овог процеса 30-60% дигестибилних чврстих материја се преводи у биогас. Већина биогас постројења ради у мезофилном режиму. Због анеробних услова и повишене температуре у ферментору се одвија и одумирање патогених микроорганизама. У току процеса анаеробне ферментације разграђује се и низ органских супстанци које изазивају непријатне мирисе, чиме се уклања негативан утицај на становништво и околину (9). Поступком анаеробне дигестије не претвара се целокупан садржај органског отпадног материјала у биогас. Анаеробне бактерије немају способност деградације лигнина и неких других угљоводоника. Органски отпад који нема способност лаког растварања у води, деградираће се веома полако. Стајњак настао на фарми крава музара деградира спорије у односу на стајњак произведен са фарми свиња. Већину испарљивих чврстих материја у стајњаку говеда чини целулоза и хемицелулоза. Обе компоненте се лако претварају у метан гас, од стране анаеробних бактерија. Међутим лигнин неће деградирати током анаеробне дигестије. Будући да је знатан део нерастворљиве материје у стајњаку крава лигнин, проценат испарљивих чврстих органских материја које се могу претворити у гас је знатно нижи у поређењу са другим типовима стајњака и органског отпада. Од карактеристика стајњака зависи и проценат продукције CO_2 и CH_4. Од стајњака млечних крава у већини случајева је могуће произвести биогас са садржајем CH_4 између 55-65% и 35-45% CO_2. Примера ради, око 10 до 12 литара течног стајњака са 4-10% суве материје је потребно за добијање 1m^3 биогаса. За производњу биогаса може се користити стајњак говеда, свиња и кока носиља (11,4,9). Садржај метана у биогасу добијеном из кокошијег ђубрива и отпадних вода са фарми и канализационих отпадних вода достиже 70% и више, док из сламе и другог биљног материјала износи око 55%. Комбиновањем различитих врста отпада, нпр. стајњака и органског индустријског отпада, може се повећати принос биогаса.

ПРОЦЕС ДОБИЈАЊА БИОГАСА

Процес добијања биогаса састоји се из неколико фаза и то: 1) сакупљања и складиштења стајњака 2) припреме супстрата 3) транспорта и убацивања супстрата у дигестор 4) производње, издвајања и прераде биогаса 5) коришћења биогаса и 6) складиштења преврелог супстрата и одвајања на течно и чврсто ђубриво. Током прве фазе, супстрат (течни или чврсти стајњак) за производњу биогаса се транспортује и складишти. У другој фази се врши предтретман супстрата (просејавање или таложење), у трећој фази се супстрат убацује у дигестор, у четвртој се производи биогас који се користи за генерисање електричне и топлотне енергије. Након завршетка анаеробног процеса, остатак ферментације се привремено складишти, те дистрибуира по пољопривредним и другим површинама, тј. користи за биљну производњу, чиме се ланац производње и коришћења биогаса заокружује (8,7).



Слика 1. Шема производње и дистрибуције енергије коришћењем биогаса

Сама анаеробна дигестија се одвија у три фазе и то: фаза хидролизе, киселинска фаза и метанска фаза. За време хидролизе, ензими разбијају велике молекуле на мање, док у киселинској фази, сложени молекули, као што су беланчевине, масти и угљоводоници, цепају се са бактеријама у киселом медију на органске киселине, CO_2, водоник и амонијак. Коначно, у последњој фази производи се метан, делимично из CO_2 и водоника, а највише ферментацијом киселина и алкохола под дејством фермената и метанских бактерија, па се врши даља разградња органских материја.

Да би се у току производње биогаса у што већој мери искористио потенцијал супстрата за производњу биогаса, потребно је обезбедити физичке, биохемијске и микробиолошке услове. Потребни физички услови су постојање анаеробних услова у ферментору, обезбеђење одговарајућег мешања и одржавање константне температуре садржаја ферментора (9,13). Када су у питању биохемијски услови, потребно је да pH вредност садржаја ферментора и концентрација органских киселина буду у опсегу који не ремети стабилност процеса. Метаногене бактерије су веома осетљиве на pH вредност средине и оптимални pH је између 6,5 и 7,2. Уколико pH падне испод 6,2, средина ће инхибирајуће деловати на метаногене бактерије. За раст анаеробних бактерија такође је неопходна довољна количина хемијских макро- и микроелемената, као и да су концентрације инхибирајућих супстанци за анаеробни процес испод дозвољених граница (9,14). Најтеже у овом процесу је остварити оптималне микробиолошке услове, тако да треба практиковати обезбеђивање што уједначенијих техничких и биохемијских услова који утичу на микрорганизме, са циљем да се оствари задовољавајућа производња биогаса. Мешање супстрата има за циљ да обезбеди пренос органских материјала до активне микробне биомасе и да омогући хомогенизацију ферментационе течности и униформност температуре, да ослободи мехурове гаса из медијума и спречи таложење материјала веће густине. Време трајања процеса анаеробне дигестије зависи у првом реду од врсте и састава сировина и температуре ферментације. Тако на пример, за ферментацију течног крављег стајњака потребно је 20-30 дана, за течни свињски

стајњак 15-20 дана, а за животињски стајњак у комбинацији са биљним материјалом 50-80 дана. Са повећањем температуре, брзина био-дигестије се повећава, а време трајања процеса скраћује.

За производњу биогаса пожељно је да се користе супстрати што ниже цене по енергетској јединици, односно да трошкови производње буду што нижи. Стајњак и енергетско биље треба да се допремају са што краћих растојања, да би се умањили трошкови и емисије GHG. Потребно је и да се обезбеди одговарајуће складиштење супстрата, да не би дошло до његове разградње и тиме смањења потенцијала за производњу биогаса, али и да се минимизира емисија GHG, првенствено CH_4 и N_2O (9).

ЗАКЉУЧАК

Инсталирање анаеробних система за прераду са циљем производње биогаса из стајњака је можда једна од обећавајућих мера за смањење емисија метана у атмосфери, и поред високе цене коштања. Овај метод је нарочито ефикасан у регионима са великом густине стоке где се ствара велика количина стајњака и осоке. Биогас који се може трансформисати у топлотну или електричну енергију. Према Директиви 2009/28/ ЕС, у ЕУ до 2020. године удео обновљивих извора енергије у коришћењу примарне енергије треба да буде најмање 20%, те да се бар 20% електричне енергије генерише из обновљивих извора енергије, као и да се у области транспорта 10% енергије обезбеди коришћењем биогорива.

ЛИТЕРАТУРА:

1. IPCC Climate change, 2013, The physical science basus, htpp://www.climatechange2013.org. 2. IPCC Climate Change, 1996, http://www.ipcc.ch. 3. Al Seadi T, Rutz D, Prassl H, Köttner M, Finsterwalder T, Volk S, Janssen R, 2008, What is biogas and why do we need it? 1-125. 4. Al Seadi T, Lukehurst C, 2012, Quality management of digestate from biogas plants used as fertiliser, IEA Bioenergy, Task 37: Energy from biogas, (http://www.iea-biogas.net.pdf) 5. Zahariev A, Penkov D, Aladjadjiyan A, 2014, Biogas from Animal Manure - Perspectives and barriers in Bulgaria, Review in Biology 4(5), 709-19. 6. Scholwin F, Liebetrau J, Edelmann W, 2009, Biogasgerzeugung und nutzung, In: Energie aus biomasse: Grundlagen, Techniken und Verfahren, ed. Kaltschmitt M, Hartmann H, Hofbauer H, ch. 16, 851-931. 7. Đatkov Đ, Effenberger M, Lehner A, Gronauer A., 2009b, Untersuchungen zur Effizienz der Bayerischen biogas-pilotanlagen mittels data envelopment analysis, In Proc. 18. Symposium: Bioenergie - Festbrennstoffe, Biokraftstoffe, Biogas, 184-8. 8. Đatkov Đ, Effenberger M, Lehner A, Gronauer A., 2009a, Assessing the overall efficiency of biogas plants by means of data envelopment analysis (DEA). PTEP 13(2), 139-42. 9. Đatkov Đ, Effenberger M, Lehner A, Martinov M, Tešić M, Gronauer A, 2012, New method for assessing the performance of agricultural biogas plants, Renewable Energy 40(1), 104-12. 10. Held J, Mathiasson A, Nylander A, Biogas from manure and waste products, Swedish case studies, SBGF, http://isar2.episerverhotell.net 11. Milosavljević B, Despotović M, Babić S, 2010, Proizvodnja biogasa sa farmi krava muzara u centralnoj Srbiji, Zbornik radova 37. nacionalna konferencija o kvalitetu života, 1-138. 12. Donald L. Dyne V, Weber J, 1994, Biogas Production from animal manures: What is the potential? Industrial Uses/IUS-4/, 20-6. 13. Cakić M, Veljković V, Stamenković O, 2014, Sustainable technologies renewable energy resources, http://www.tf.uns.ac.rs/tempus. 14. Đatkov Đ, Nedić D, Janić T, 2007, Energetski i ekološki pokazatelji planiranog biogas postrojenja na farmi svinja, Savremena poljoprivredna tehnika, 33, 135-289. 15. European Communities, 2008, Klimatske promene izazovi za poljoprivredu http://ec.europa.eu/agriculture/indexen.htm

МЕЛ-МЕД У ПРОШЛОСТИ, ОБРЕДИМА И НАРОДНОЈ МЕДИЦИНИ

Зоран Д. Јевтић

„Без пчеле ни родити се ни умрети“
Српски народ

Кратак садржај

Један од најстаријих начина узгајања животиња је пчеларство. Пчеле се гаје ради добијања меда, воска, полена, матичног млеча, пчелињег отрова, прополиса, нових матица, нових пчела радилица, опрашивања биљака, а и у циљу истраживања нервног система џиновских неурона и равнотеже у несталним условима.

Лековита својства меда долазе од органских киселина етеричних уља, пчелињег отрова, прополиса и фитоцида који се налазе у нектару, цветном праху и биљним соковима различитих биљака. Има велику примену у исхрани, превентиви, терапији, обредима, козметици и др.

Демокрит (470 - 360 п.н.е) препоручује мед код обољења црева, рана и фистула.

У средњевековној Србији пчеларству је поклањана велика пажња, јер су мед и восак били цењени производи, како за домаћу употребу, тако и за извоз, посебно у Дубровник.

Значај меда и воска се огледа у уредбама које се доносе, а које уређују прераду, промет и заштиту квалитета и одређују привилегије и повластице.

У народној медицини мед је нашао велику примену у повећању отпорности, уништавању узрочника инфекција, као природни лаксанс, код разних упала, болова, кашља, прехлада и др.

За крсну славу обичај код нас је да се у кољиво - жито додаје мед.

У Хомољу је постојало веровање да пчеле могу лако да се урекну и онда се не роје и одлетеће.

Кључне речи: пчеле, мед, восак, обичаји, лек

MEL-HONEY IN THE PAST, RITUALS AND TRADITIONAL MEDICINE

Zoran D. Jevtić

«Without bees either born or die»
Serbian people

Abstract

One of the oldest ways of breeding animals is beekeeping. The bees are bred to obtain honey, wax, pollen, royal jelly, bee venom, propolis, new queen bees, new worker bees, pollination of plants, and in order to study the nervous system of giant neurons and balance in unstable conditions.

The healing properties of honey come from organic acids of essential oils, bee venom, propolis and fitoicyds found in nectar, pollen and plant juices of various plants. Is widely used in nutrition, prevention, treatment, rituals, cosmetics and others.

Democritus (470 - 360 BC) recommended honey for Intestinal diseases, wounds and fistulas.

In medieval Serbia beekeeping was paid great attention, because the honey and wax products were valued both for domestic use and for export, especially in Dubrovnik.

The importance of honey and wax is reflected in the regulations are passed, regulating the processing, transport and protect the quality and define the privileges and benefits.

In traditional medicine, it has found great use in increasing the resistance, the destruction of pathogens, as a natural laxative, to treat inflammations, pain, cough, flu and others.

For the celebration of the patron saint the custom is in our country to add honey to the wheat-corn. In the area of Homolje there was a belief that the bees can easily jinx and then do not swarm and will fly away.

Key words: bees, honey, wax, customs, beliefs drug

ВИРУСИ ПЧЕЛА - ЗНАЧАЈАН ПАТОГЕН У СЛАБЉЕЊУ ПЧЕЛИЊЕ ЗАЈЕДНИЦЕ

Нада Плавша[1], Тамаш Петровић[2], Игор Стојанов[2], Вујадин Вуковић[3]

[1]Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду; [2]Научни институт за ветеринарство «Нови Сад», Нови Сад; [3]Научни институт за ветеринарство Србије, Београд

Кратак садржај

Медоносна пчела (*Apis mellifera L.*) је најзначајнији опрашивач биљних култура широм света, при чему се остварују приходи преко 14,5 милијарди долара према подацима у САД-у, док се економска корист од пчелињих производа огледа и кроз продају меда, воска, матичне млечи, прополиса и пчелињег отрова. Повољна епизоотиолошка ситуација пчелињака је важан чинилац у интензивном и успешном развоју пчеларства. Један од проблема који веома битно утичу на развој пчеларстав у целом свету су болести пчела међу којима значајно месту заузимају вирусне болести, бактеријске болести, гљивичне болести и болести паразитске етиологије. Са здравственог и економског становишта последњих година је уочена велика опасност од вирусних инфекција за које се сматра да су досегле разину панзотије. Вирусне болести пчела су велики изазов за пчелињу заједницу, али и за ветеринарски истраживачки сервис. Највећи ризици деструктивног деловања паразитске гриње су у преносу вируса пчела. Појавом новог синдрома нестајања пчела (*CCD - Colonu Colaps desorder*), од 2006. године обим и интензитет научних истраживања се значајно повећава у правцу утврђивања узрока насталог синдома. Када су у питању вируси пчела у свету је откривено најмање 18 вируса код пчела, али 6 вируса се сматра да су у стању да изазову озбиљна обољења пчела.

Циљ овог рада је да се опишу кључни вируси пчела и да се прикажу резутати присуства вируса у 36 узорака пчела у Војводини. Најраспрострањенији је вирус црног матичњака који је доказан у 100% узорака, док је вирус мешинастог легла, вирус деформисаних крила и вирус хроничне парализе, доказан у 64%, 66% и 55% узорака, а вирус акутне парализе у 47%, кашмирки вирус није потврђен. Упоредо са присуством вируса праћена је снага пчелиње заједнице, залихе хране и друге болести.

Кључне речи: пчелиња заједница, вирусна обољења, RT-PCR, Србија

HONEY BEE VIRUSES - SIGNIFICANT FACTOR IN HONEY BEE WEAKNESS

Nada Plavša[1], Tamaš Petrović[2], Igor Stojanov[2], Vujadin Vuković[3]

[1]Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad; [2]Scienfitic veterinary institute, Novi Sad; [3]Institute of veterinary medicine of Serbia, Belgrade

Abstract

Honey bee (*Apis mellifera L.*) is the most important pollinator of crops around the world, with revenue of over 14.5 bilion USD$ according to data in the United States, while the economic benefits of bee products is reflected through the sale of honey, wax, royal jelly, propolis and bee venom. Convenient disease situation in apiary is an important factor in an intensive and successful development of beekeeping. One of the problems is very important influence on the development of beekeeping worldwide are bee diseases, among which are prominent viral diseases, bacterial diseases, fungal diseases and parasitic etiology. From the economic and health point of view it has been reported in last few years a high risk of viral infections which are believed to have reached a very high level. Viral bee diseases are big challenge for honey bee communitys and for veterinary research service. The biggest risks of destructive activities comes from parasitic mites and they mostly ackt in transmission of the viruses between the bees. With the appearance of a new syndrome disappearing bees (*CCD-Colon Colaps desorder*), since 2006, the volume and intensity of scientific research increases significantly towards determining the cause of the syndrome generater. In the case of viruses of honey bees, worldwide has been discovered at least 18 viruses, but 6 of viruses are considered very dangerous to cause siries disease.

The aim of this study is to describe the key honey bee viruses and to inform with the results of the reasrch collected from 36 apiaries in Serbia. The most widely founded is the black queen cells virus (BQCV) which was detected in 100% of samples, while the sacbrood virus (SBV), deformed wing virus (DWD) and chronic bee paralysis virus (CBPV) are detected in 64%, 66% and 35% of the samples, and acute bee paralysis virus (ABPV) 47%. Kashmir bee virus (KBV) has not been confirmed. At the same time we observed power of honey bee communities, food supply and other diseases.

Keywords: honey bee colony, viral diseases, RT-PCR, Serbia

УВОД

Медоносна пчела (*Apis mellifera*) је најзначајнији опрашивач биљних култура широм света. Према званичној процени FAO-а, годишња вредност опрашивања пољопривредних култура које пчеле обављају прелази 153 милијарде евра, односно 9,5% вредности укупне пољопривредне производње. Ако имамо у виду званичну пројекцију Уједињених нација према којој ће 2050. године број становника планете Земље премашити девет милијарди, значај пчела за људски опстанак, као и за очување доброг дела биодиверзитета постаје све већи. Нажалост, угроженост пчеле, као најкориснијег инсекта, постаје све већа, што се показало и значајним губицима пчелињих заједница од 2006. године.

Узроци драстичних губитака пчелињих заједница, који су се кретали и преко 30%, још увек нису коначно потврђени, али су многобројна истраживања показала да се ради о деловању више фактора, међу којима значајно место заузима паразит *Varroa destructor* и вируси пчела.

Од 1963. године, када су први пут изоловани вируси акутне и хроничне парализе пчела (ACBP и CBPV), до данас је откривено укупно 18 вируса карактеристичних за медоносне пчеле (1). Чињеница је да вируси прате пчеле вековима, али пчеле никада до сада нису биле изложене стресу као данас. Најзначајнији стресогени модерног пчеларства су: паразит *Varroa destructor* и други патогени, бели шећер, замена за полен или значајан дефицит есенцијалних амино киселина, инсектициди - посебно из групе неоникотиноида и други.

Све до касних осамдесетих година прошлог века вирусне инфекције пчела сматране су занемарљивим. Међутим, ствари су се промениле када се ширењем ектопаразита *Varroa destructor* здравље пчелињих заједница почело све више да се нарушава. Епидемиолошка истраживања и лабораторијски експерименти показали су да је неколико вируса из фамилије *Dicistroviridae* (акутни вирус парализе, кашмирски вирус и израелски вирус акутне парализе) директно повезано са вароом која делује као њихов преносилац унутар пчелиње заједнице, али и између различитих кошница. Варооа је, такође, биолошки и механички преносилац вируса деформисаних крила којег многи научници означавају као једног од главних узрочника колапса пчелињих заједница. Већина ових вируса може да егзистира, па чак и коегзистира у пчелама, а да при том никакви спољашњи симптоми не указују на њихово присуство. Ипак, присуство вирусних честица у кошници очитује се у виду специфичних клиничких симптома, као што су: подрхтавање тела и крила пчела, појаву пузећих пчела испред кошнице са надувеним стомацима и дислоцираним крилима, као и присуство глатких, сјајних и црних пчела, којима стражарице не дозвољавају улаз у кошницу. Наведени штетни чиниоци (вируси и вароа) нису никаква новост за пчеларство, али о њиховој интеракцији до недавно се није много знало. Ово међудејство је посебно забрињавајуће, јер један штетни чинилац који не изазове тренутно угинуће пчела, може омогућити другом штетном чиниоцу, да доведе до угинућа.

Вирусне инфекције пчела су велики изазов, како за опстанак пчелињих заједница, тако и за ветеринарски сервис. Вирус продире у ћелију домаћина процесом ендоцитозе, након чега се вирус репродукује у цитоплазми. Вирусе пчела је немогуће разликовати на основу њихових морфолошких карактеристика. На основу досадашњих сазнања, вирусне болести унутар пчелиње заједнице преносе се на два основна начина: хоризонталном и вертикалном трансмисијом.

Хоризонтални пренос вируса може се одвијати на три начина: орални, контактни и аерогени. *Орални пренос* подразумева унос вируса контаминираним материјалом, првенствено матичном млечи и поленом у току храњења ларве и процесима профилаксе код одраслих пчела, појавом канибализма јаја и младих ларви, чишћењем легла и уклањањем болесних и фецесом онечишћених заједница (2). Вируси се најчешће накупљају у цревима, мозгу и пљувачно-хипофарингеалној жлезди, што указује на значај орално-фекалног ширења вируса. *Пренос контактом* настаје преко сломљених длачица или оштећењем егзоскелета пчеле. Ово се најчешће дешава када је пчелиња заједница пренасељена или код појаве грабежи (3). *Аерогени пренос* вирусних честица је најмање познат. Једини доказ је у случају трансмисије вируса замућених крила (4).

Вертикални пренос је пренос вируса са родитеља на потомке, а састоји се из три начина: венерална трансмисија - пренос са трута на матицу у току оплодног лета, трансоваријална - преко инфицираних оварија матице на оплођена и неоплођена јаја и пренос спермом из депоа сперме директно на оплођена јаја. Трансоваријална трансмисија је најзначајнија, јер се на овај начин ифицира цела заједница.

Деловање вируса пчела на самог домаћина, медоносну пчелу, може бити веома различито. Многи вируси пчела инфицирају мозак, изазивајући промене у понашању, као што су дезорјентација, отежано учење, убрзано старење, смањење сензорних способности, проблеми на пословима сакупљања хране и др. На клиничком нивоу ово се може препознати као симптом подрхтавања тела, немогућност летења и сакупљање пчела у групе. Ови процеси зависе од врсте вируса, количине вируса и ткива које је инфицирано. Стресори спољашње средине, као што су пренасељеност, хладноћа, влага, глад, тровања и други патогени пчела, у стању су да доведу пчелињу заједницу у летално стање.

Недавно је сасвим проучен геном за пет вируса: вирус акутне пчелиње парализа *(ABPV),* вирус црног матичњака (BQCV), вирус деформисаних крила (DWV), кашмирски пчелињи вирус (KBV) и вирус мешинастог легла (SBV), док је делимично секвенциониран вирус хроничне парализе (CBPV), што је развило могућност молекуларне детекције и карактеризације ових вируса.

Од 2006. године појавом повећаних зимских губитака пчелињих заједница, интересовање за проучавање вирусних патогена постаје све актуелније и значајније. Већ дужи низ година постоје клинички знаци болести и сумња на присуство вирусних инфекција у пчелињацима у Србији што је потврђено у истраживањима (5). Овим истраживањима утврђено је присуство вируса црног матичњака у 100% испитаних узорака, док су се проценти других вируса кретали и до 70%, а једино кашмирски вирус пчела није потврђен.

Циљ ових истраживања је био да се утврди преваленца шест кључних вируса: вирус акутне парализе пчела (ABPV), вирус црног матичњака (BQCV), вирус хроничне парализе пчела (CBPV), вирус деформисаних крила (DWV), кашмирски вирус пчела (KBV) и вирус мешинастог легла (SBV), присуство ноземозе и вароозе. Праћене су и залихе хране и тип пчелињака у 8 узорака пчела из пчелињака у којем су зимски губици износили 70%.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Истраживања су обухватила 36 узорака пчела. Сви узорци су узети из пчелињака са подручја Војводине. Анализирано је 6 вируса пчела: вирус акутне парализе пчела (ABPV), вирус црног матичњака (BQCV), вирус хроничне парализе пчела (CBPV), вирус деформисаних крила (DWV), кашмирски вирус пчела (KBV) и вирус мешинастог легла (SBV) у 36 узорака пчела. Употребом „*one-step reverse transcription-PCR*“ (RT-PCR) технике утврђено је присуство барем једног вируса у свим испитиваним узорцима пчела (100%). Бројање спора *Nosemae sp.* (*Nosema ceranae*) је вршено помоћу хемоцитометра на основу упутства *Testing for Nosema Spores using Hemacytometer, Instructional Poster #167* (6). Залихе хране су контролисане на пчелињаку прегледом рамова затвореног меда.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У Табели 1 дати су резултати прегледа 36 узорка пчела на присуство 6 вируса и 8 узорка пчела на присуство броја спора *Nosema sp.* по једној пчели. У узорцима пчела из Бачке Паланке чак у 5 узорака нађено је 5 вируса истовремено, 2 узорка су имала по 4 вируса и 1 узорак је имао 3 вируса. У истим узорцима број спора *Nosema sp*. по једној пчели износио је од најмање 1.678.000 до 97.735.910 спора. На основу анамнестичких података и клиничког прегледа пчелињака у Бачкој Паланци у току зиме угинуло је 88 од укупно 126 пчелињих друштава. У испитаним пчелињим друштвима залихе хране су биле довољне, а друштва су у јесењем периоду третирана амитразом против варооe. Инфестираност вароом нисмо могли испитати на мртвим пчелама у достављеним узорцима.

Табела 1.Вируси пчела (ABPV, CBPV, SBV, DWV, BQCV, KBV)

Број узорка	Локација/ општина	Вирус						Nosema sp./ пчели
		ABPV	CBPV	SBV	DWV	BQCV	KBV	
1	Б. Паланка	+	+	+	+	+	-	**97.735.910**
2		+	+	+	+	+	-	90.122.100
3		-	+	+	+	+	-	17.899.560
4		-	+	+	+	+	-	17.123.455
5		-	+	+	-	+	-	1.678.000
6		+	+	+	+	+	-	32.890.234
7		+	+	+	+	+	-	26.876.043
8		+	+	+	+	+	-	73.987.906
9	Бач	-	+	+	-	+	-	-
10		-	-	+	-	+	-	-
11	Србобран	+	+	-	-	+	-	-
12		+	+	-	-	+	-	-
13		+	+	-	-	+	-	-
14	Бечеј	-	+	+-	-	+	-	-
15		-	-	-	-	+	-	-
16		-	+	+	-	+	-	-
17	Н. Сад/Кисач	-	+	+	+	+	-	-
18		-	+	+	+	+	-	-
19	Нови Сад/	+	+	+	+	+	-	-
20	Ковиљ	+	-	+	+	+	-	-
21	Беочин/Сусек	+	+	+	+	+	-	-
22		+	-	+	+	+	-	-
23		-	-	+	+	+	-	-
24	Ириг	+	-	-	+	+	-	-
25		+	-	-	+	+	-	-
26	Ср. Митровица	-	-	+	-	+	-	-
27	Темерин/Јарак	+	-	-	+	+	-	-
28		+	-	-	+	+	-	-
29		+	-	-	+	+	-	-
30	Петроварадин	-	-	+	+	+	-	-
31		-	-	+	+	+	-	-
32		-	-	-	-	+	-	-
33		-	+	-	+	+	-	-
34		-	-	-	+	+	-	-
35		-	-	+	+	+	-	-
36		-	+	-	-	+	-	-
	Укупно	**17/ 47%**	**20/ 55%**	**23 64%**	**24/ 66%**	**36/ 100%**	**0%**	-

Наведене преваленце вируса пчела утврђене у Војводини сличне су или нешто више у поређењу са испитивањима у другим земљама у окружењу.

ЗАКЉУЧАК

На подручју Војводине, од укупно 36 испитаних узорака пчела, утврђено је присуство 5 од 6 испитиваних вируса. Вирус акутне парализе (ABPV) је потврђен у 17 (47%) узорака, вирус хроничне парализе (CBPV) потврђен је у 20 (55%) узорака, вирус мешинастог легла (SBV) у 23 (64%) узорака, вирус деформисаних крила (DWV) у 24 (66%), вирус црног матичњака (BQCV) је потврђен у свих 36 (100%) узорака, а кашмирски вирус (KBV) није потврђен у испитаним узорцима са подручја Војводине. Споре *Nosema sp*. по пчели су потврђене у врло високој дози, 97.735.910 спора по једној пчели. Свих 8 узорака је достављено из пчелињака у Бачкој Паланци где су укупна угинућа износила 88 (70%) од 126 пчелињих заједница. Наведени резултати упућују на даља испитивања и препоруку бољих мера у сузбијању ноземозе пчела (*Nosema sp.*), вароозе пчела (*Varooa destructor*), а све то у редукцији и спречавању ширења вирусних патогена, као значајних фактора у укупним губицима пчелињих заједница.

***Захвалница**: Ова истраживања су финансирана са пројекта TP31084 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије*

ЛИТЕРАТУРА:

1.Allen M., Ball BV., 1996, The incidence and world distribution of honey bee viruses. Bee world 77, 141-162. 2. de Miranda, JR., Fries, I., 2008, Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (Apis mellifera L.), J. Invertebr. Pathol., 98, 2, 184-9. 3. Bailay L. and Ball BV., 1991, Honey Bee Pathology, second ed. Academic Press, London. 4. Ribiere M., Ball BV., Aubert MFA., 2008, Natural history and geographic distribution of honey bee viruses. In Virology and the Honey bee. European Commision Publications, Brussels, 15-84. 5. Petrović T., D. Vidanović, I. Stojanov, D. Lupulović, G. Lazić, N. Plavša, S. Lazić, 2013, First Molecular Detection of six Honeybee Viruses in Serbian Apiaries, Proceedings of the 10th International Symposium Modern Trends in Livestock Production, October 2-4, 2013. 6. Reuter GS., Lee K., and Spivak M., 2010, Testing for Nosemas spores using Heamacytometar. University of Minnesota Instructional Poster ≠167 (www.extension.umv.edu/honeybee). 7. Chen Y., Zhao Y., Hammond J., Hsu H., Evans J., Feldlaufer M., 2004, Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. Journal of Invertebrate Pathology 87, 84-93. 8. Chen YP, Smith B., Collins AM., Pettis JS., Feldlaufer MF, 2004/a, Detection of deformed wing virus infection in honey bees, Apis mellifera L in United States. Am. Bee J 144, 557-9. 8.

ЕПИДЕМИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ТРИХИНЕЛОЗЕ У АП ВОЈВОДИНИ У ПЕРИОДУ ОД 2004. ДО 2013. ГОДИНЕ

Младен Петровић, Татјана Пустахија, Светлана Илић, Зорица Шегуљев

Институт за јавно здравље Војводине, Нови Сад

Кратак садржај

Трихинелоза је убиквитарна зооноза. Изазива је нематода из рода *Trichinella,* која инфестира људе и друге сисаре широм света. Човек се зарази конзумирањем сировог, недовољно термички обрађеног или недовољно усољеног меса, које садржи живе ларве паразита. Циљ рада је анализа епидемиолошких карактеристика трихинелозе у војвођанској популацији у периоду од 2004. до 2013. године. Коришћен је дескриптивни метод. Хронолошке, топографске и демографске карактеристике трихинелозе анализиране су на основу пријава болести, пријава и одјава епидемија и епидемиолошких анкета. У посматраном периоду у АП Војводини су пријављене 734 особе оболеле од трихинелозе, а од тога 96,6% облолелих регистровано је у епидемијама. Просечна годишња инциденција износи 3,6 на 100.000 становника. Обољење се региструје у свим окрузима Покрајине. Обољевају особе оба пола и свих узрасних група, али чешће мушкарци и особе средњих година. Доминирају породичне епидемије, али је све више оних пореклом из нерегистроване или регистроване месарске производње. Мада је епидемиолошка ситуација повољнија у односу на ранији период, трихинелоза и даље представља јавно-здравствени проблем, па је потребно, поред придржавања постојећих законских мера, континуирано спроводити здравствено васпитање становништва.

Кључне речи: трихинелоза, зоонозе, епидемије, епидемиологија

EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TRICHINELLOSIS IN AP VOJVODINA IN THE PERIOD 2004-2013

Mladen Petrović, Tatjana Pustahija, Svetlana Ilić, Zorica Šeguljev

Institute of public health of Vojvodina

Abstract

Trichinellosis is ubiquitous zoonosis, caused by a roundworm of the *Trichinella* genus, that infests humans and mammals around the world. Humans become infected by eating raw, undercooked or insufficiently salted meat, which contains larval cysts of parasite. The aim of this paper was to analyze epidemiological characteristics of trichinellosis in Autonomous Province of Vojvodina in the period from 2004 to 2013. Descriptive method is applied. The characteristics were analyzed based on individual case reports, outbreak reports and epidemiological surveys. During the observed period, 734 cases of trichinellosis were reported in AP of Vojvodina. Most of them were registered in outbreaks (96,6%). The average annual incidence rate was 3,6/100.000. The disease is reported in all Vojvodina counties.

It affects people of both sexes and all age groups, but more often men and middle-aged population. The family outbreaks are dominated, but there is increasing trend of outbreaks originating from private production of meat. Although, epidemiological situation is better than in previous period, trichinellosis is still considered as a public health problem. So, it is necessary to implement continuous health education of the population, in addition to application of the existing legal measures.

*Key word*s: Trichinellosis, zoonosis, outbreaks, epidemiology

УВОД

Трихинелоза је инфективно обољење из групе зооноза. Изазива је нематода из рода *Trichinella*, која инфестира људе и остале сисаре на свим континентима, изузев Антарктика (1). На основу биохемијских и молекуларних анализа ова нематода је подељена у 9 врста: *Trichinella spiralis*, *Trichinella nativa, Trichinella britovi, Trichinella pseudospiralis, Trichinella murrelli, Trichinella nelsoni, Trichinella papuae, Trichinella zimbabwensis* и *Trichinella patagoniensis*. У Европи су заступљене прве четири врсте (2).

Trichinella spiralis је најчешћи узрочник трихинелозе код људи. Поред човека паразитира у великом броју домаћих и дивљих животиња (3). *Trichinella nativa* је распрострањена у северним подручјима. Инфицира арктичке животиње, месоједе и морске сисаре и отпорна је на смрзавање (4). *Trichinella britovi* је распострањена међу дивљим животињама, мада може паразитирати и у коњима (5). Код нас је детектована у месу лисице и вука (6). *Trichinella pseudospiralis* поред сисара, инфицира и птице (3).

Паразит се одржава ланцем исхране, силватичним (преко дивљих животиња) и синантропним или домицилним циклусом (преко домаћих животиња), стварајући природна жаришта. Путеви циркулације трихинеле између ових жаришта су многоструки, а највећи значај у преношењу паразита имају глодари.

Човек се инфицира конзумирањем сировог, недовољно термички обрађеног или недовољно усољеног меса и месних продуката, који садрже живе ларве паразита.

Циљ рада је анализа епидемиолошких карактеристика трихинелозе на територији Аутономне Покрајине Војводине у периоду од 2004. до 2013. године.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Анализа је сачињена на основу података о кретању заразних болести Центра за контролу и превенцију болести Института за јавно здравље Војводине у Новом Саду (7). Извори података су законски обрасци за пријаву обољења, пријаву и одјаву епидемија и епидемиолошка анкета. За обраду података коришћен је дескриптивни метод. Испитивањем је обухваћен десетогодишњи период, од 2004. до 2013. године. Регистровани случајеви трихинелозе на територији Војводине су анализирани хронолошки, топографски и демографски, а епидемије трихинелозе на основу порекла инфестиране намирнице. Резултати су представљени одговарајућим графиконима и табелама.

РЕЗУЛТАТИ

У посматраном десетогодишњем периоду пријављене су 734 особе оболеле од трихинелозе, са 2 смртна исхода. Инциденција се креће од 0,5/100.000 до 13,6/100.000, а њена висина зависи од броја епидемија и величине појединих, које се региструју током године (Табела 1). Највиша вредност инциденције се региструје 2005. године, када је оболело 277 особа, а последица је јављања 3 епидемије пореклом из нелегалне производње и продаје, у којима је оболело 225 особа, што је 80% од укупног броја оболелих те године.

Табела 1. Регистровани случајеви трихинелозе у Војводини

Година	Број оболелих/број умрлих	Инциденција/100.000
2004.	46	2.3
2005.	277/2	13.6
2006.	98	4.8
2007.	57	2.8
2008.	55	2.7
2009.	44	2.2
2010.	10	0.5
2011.	69	3.4
2012.	9	0.5
2013.	69	3.6
Укупно	734/2	3.6

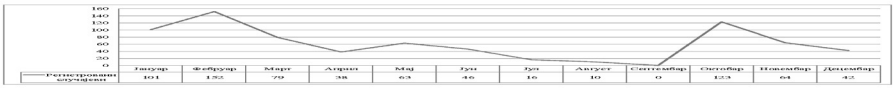
Топографска анализа оболевања од трихинелозе показује да се жаришта ове болести шире из раније ендемских подручја у друге крајеве Покрајине. У посматраном периоду случајеви болести су пријављени у 33 (73,3%) општине Војводине. У Јужнобачком округу се региструје 33,9% свих оболелих, а значајно учешће имају и Западнобачки (26,3%) и Сремски округ (12,5%), тако да се ова подручја могу сматрати хиперендемским (Табела 2). Убедљиво највишу инциденцију има Западнобачки округ (9,2/100.000), захваљујући епидемији пореклом из нерегистроване месарске радње 2005. године у Богојеву, у којој су оболеле 103 особе (Картограм 1). Чак и ако се ова епидемија изузме, просечна инциденција на 100.000 становника је и даље највиша у овом округу, али са далеко мањом разликом у односу на остале округе.

Табела 2. Топографска и хронолошка дистрибуција трихинелозе у АП Војводини

	Округ							
Год.	Ј.Бачки	З.Бачки	Сремски	Ј.Банатски	С.Бачки	С.Банатски	С.Банатски	Ук.
2004.	27	4	7	8	0	0	0	46
2005.	57	115	28	3	65	0	9	277
2006.	48	16	16	18	0	0	0	98
2007.	14	21	6	3	0	0	13	57
2008.	7	0	4	13	0	29	2	55
2009.	1	11	3	29	0	0	0	44
2010.	0	0	6	4	0	0	0	10
2011.	66	3	0	0	0	0	0	69
2012.	4	0	5	0	0	0	0	9
2013.	25	23	17	0	4	0	0	69
Ук.	249	193	92	78	69	29	24	734
%	33.9	26.3	12.5	10.6	9.4	3.9	3.3	100%

Картограм 1: Инциденција трихинелозе по окрузима Војводине у периоду 2004. до 2013. године

Трихинелоза је ранијих година имала изразито сезонски карактер и јављала се у зимским месецима, у време и после свињокоља, када се конзумирају кобасице и други сухомеснати производи, направљени за сопствене потребе. Последњих година, овај карактер је мање изражен због све чешће дистрибуције инфестираног меса изнерегистроване, али и регистроване приватне производње и промета (Графикон 1).

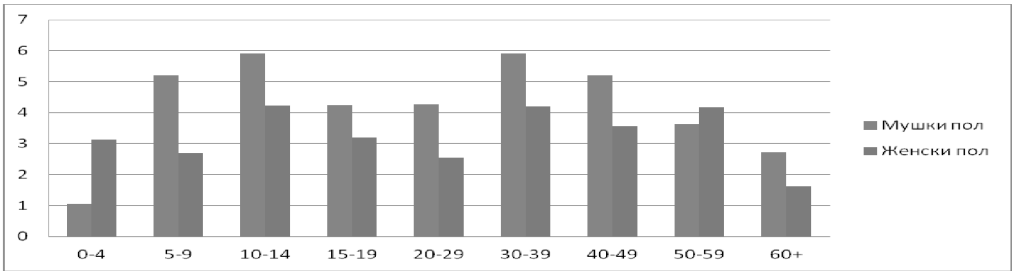


Графикон 1: Сезонска дистрибуција трихинелозе у Војводини у периоду од 2004. до 2013. године

У посматраном десетогодишњем периоду, највећи број оболелих бележи се у фебруару и октобру. Висок број оболелих у јануару и фебруару је типичан за трихинелозу, јер се тада конзумирају прве намирнице након свињокоља. Мајски скок вероватно објашњавају првомајски празници.

Од трихинелозе оболевају особе оба пола, али чешће мушкарци (56,5%), него жене (43,5%), што је последица њихове веће експонираности током свињокоља (припрема меса за кобасице), учествовања у лову и конзумирања меса дивљачи. Специфична инциденција за особе мушког пола је 4,2/100.000, док за особе женског пола она износи 3,1/100.000.

Оболевање од трухинелозе се региструје у свим узрасним групама. Специфична инциденција за мушкарце је најнижа у најмлађој (0-4 године) и најстаријој (60 и више година) узрасној групи. За остале добне групе код мушкараца специфична инциденција не показује значајније осцилације, а највиша и најнижа вредност су у односу 1:1,6. Код жена се најнижа специфична инциденција региструје у најстаријој узрасној групи (60 и више година) (Графикон 2). У поређењу са млађим узрастом (до 20 година старости),старији узраст (20 и више година) оболева скоро 3,5 пута чешће.



Графикон 2: Дистрибуција трихинелозе по полу и узрасту у Војводини у периоду од 2004. до 2013. године

Епидемиолошку ситуацију трихинелозе у Војводини карактерише јављање у епидемијском облику. И у посматраном периоду број инфестираних у епидемијама чини 96,9% укупног броја регистрованих.

У периоду од 2004. до 2013. године у Војводини је пријављено 46 епидемија трихинелозе, у којима је оболело 711 особа. Број епидемија у једној години креће се од 1 до 10 (Табела 3).

Табела 3. Хронолошка дистрибуција епидемија трихинелозе у Војводини

Година	Број епидемија	Број оболелих у епидемијама
2004.	4	42
2005.	8	277
2006.	5	98
2007.	10	55
2008.	5	51
2009.	3	43
2010.	2	8
2011.	1	67
2012.	1	4
2013.	7	66
Укупно	46	711

Доминирају епидемије породичног типа са учешћем од 67,4%, узроковане месом и месним прерађевинама свиња из сопственог узгоја. Ове епидемије су обично мањих размера, јер су ограничене на чланове уже и шире породице (Табела 4). Епидемије већих размера, са великим бројем оболелих су обично пореклом из легалне или нелегалне производње и продаје меса, које је дистрибуирано директно потрошачима или преко угоститељских објеката. У посматраном периоду пријављено је укупно 13 ових епидемија, 9 пореклом из нелегалног промета и 4 из регистрованих месарских радњи (Табела 4). Оболело је укупно 420 особа, односно 57,2% од укупног броја оболелих.

Табела 4. Епидемије трихинелозе у Војводини према извору снабдевања инфестираним месом (2004-2013. година)

Извор снабдевања	Број епидемија	%	Бр. оболелих	%
Производња за сопствене потребе	31	67.4	276	38.8
Нерегистрована производња и промет	9	19.6	333	46.8
Месарске радње	4	8.7	87	12.2
Непознато	2	4.3	15	2.1
Укупно	46	100	711	100

Епидемиолошки најзначајнији извор заразе је домаћа свиња, а само су 2 епидемије проузроковане месом дивље свиње. Обе епидемије су пријављене у Западнобачком округу, 2007. и 2013. године.

Епидемиолошком анкетом је утврђено да су најчешће инкриминисане намирнице димљено месо и месне прерађевине, које нису трихинелоскопски прегледане, а међу њима се најчешће наводи димљена кобасица, која се на нашем поднебљу конзумира термички необрађена и обично прва након свињокоља.

ДИСКУСИЈА

Трихинелоза је убиквитарно обољење. У Европи се у високоендемска подручја ове болести убрајају наша земља, Румунија, Бугарска, БиХ, Хрватска, Литванија и Латвија. Економски проблеми и рат на овим просторима, вероватно су имали утицај на актуелну епидемиолошку ситуацију и учесталост оболевања од трихинелозе (8).

Просечна годишња инциденција у Војводини за период од 2004. до 2013. године износила је 3,6 на 100.000 становника и преко 3 пута је нижа него за претходни десетогодишњи период. У истом периоду на територији целе Републике Србије региструје се тренд пада стопе инциденције, али и поред тога, епидемиолошка ситуација још увек није стабилна (9).

У Европској унији је до 2006. године инциденција показивала значајан тренд пада, али уласком Бугарске и Румуније у ЕУ, број пријављених расте и у периоду од 2006. до 2009. године износи у просеку 729 годишње. Ситуација је боља од 2010. године, али Румунија и Бугарска и даље пријављују велики број оболелих. Инциденција износи свега 0,06 на 100.000 становника за 2012. годину (10,11).

У Хрватској је последњих година ова болест под контролом, захваљујући великом напору ветеринарске и епидемиолошке службе (број оболелих у периоду 2010-2012. године се кретао од 7-10) (12).

У Босни и Херцеговини ситуација је и даље неповољна, а као разлози за то се наводе конзумирање непрегледаног или неадекватно прегледаног меса домаће и дивље свиње, медведа и јазавца, неповезаност ветеринарских служби и нерегулисане ветеринарско-санитарне мере на граници БиХ. У току 2007. године пријављена су чак 722 случаја оболелих од трихинелозе (13).

У развијеним европским земљама, као што су Данска, Финска, Норвешка, Швајцарска, Ирска и Велика Британија, скоро 50 година нису регистровани аутохтони случајеви болести (8).

У Сједињеним Америчким Државама број оболелих је у сталном паду од 1947. године, када је уведено обавезно пријављивање ове болести. Годишње је у просеку регистровано око 400 случајева, а тај број се драстично смањио на 66 у периоду од 2002. до 2007. године, чему су допринеле законске мере, промене у индустријској

пракси, рад на повећању националне свести о болести, али и употреба замрзивача. Већина случајева данас је повезана са конзумирањем меса дивљих животиња, посебно медведа, некомерцијалне свињетине (често из органске производње) и свињског меса донетог из других земаља (14).

Топографском анализом утврђено је да се жаришта трихинелозе шире, мада хиперендемска подручја и даље пријављују највећи број оболелих: Јужнобачки, Западнобачки и Сремски округ. Прва аутохтона породична епидемија трихинелозе на подручју Севернобачког округа регистрована је 2002. године, а на подручју Севернобанатског 2008. године, што упућује на чињеницу да су жаришта распрострањена по целој Војводини и да сваки пропуст у контроли и превенцији ове болести носи ризик од оболевања људи (15).

Трихинелоза последњих 10 година у Војводини губи сезонски карактер и региструје се током целе године, као последица све већег снабдевања становништва месом и прерађевинама из нерегистрованих месарских радњи.

Међутим, највећи број оболелих у Европској унији региструје се у зимским месецима, вероватно због узгоја свиња за сопствене потребе у руралним подручјима Румуније и Бугарске и традиционалног конзумирања свињског меса и месних продуката током празника (10).

Највећи број случајева у САД пријављује се током пролећне и јесење ловачке сезоне (март-април; септембар-октобар) (14).

Од трихинелозе чешће оболевају мушкарци, вероватно због веће експонираности током свињокоља и далеко чешћег бављења ловом. Мушки и женски пол су у односу 1:1,3 у Покрајини, 1:1,4 у Републици Србији и у просеку 1:1,5 у корист мушкараца у Европској унији. Болест се региструје у свим добним групама. Најнижа специфична инциденција за особе мушког пола региструје се у најмлађој узрасној групи (0-4 године), а код жена у најстаријој (+60 година). Старији узраст (20 и више година) оболева 3,5 пута чешће у односу на млађи, вероватно због учесталијег конзумирања епидемиолошки ризичних намирница.

Слична расподела обољења у односу на узраст регистрована је и у европским земљама. Према подацима Европског центра за превенцију и контролу болести (10,11), највиша специфична инциденција бележи се у добној групи од 25 до 44 године, тако да се може закључити да од трихинелозе код нас, али и у Европи најчешће оболевају особе средњих година.

Трихинелоза се у свету, као и код нас, углавном јавља у епидемијском облику. У последњих 10 година у Војводини је пријављено 46 епидемија. Најучесталије су епидемије породичног типа са мањим бројем оболелих (67,4%), али је све више оних пореклом из нерегистроване производње и продаје, које су у посматраном периоду обухватиле скоро половину свих оболелих.

Епидемије већих размера пореклом из месарских радњи евидентиране су у Пољској 2007. године са преко 200 оболелих (16) и у Литванији 2009. године са 107 случајева болести (17).

Нелегална производња и продаја обично је пропраћена пажњом медија, односно становништва. Временом попушта памћење инцидентног догађаја, тј. епидемије, и стварају се услови за поновни пораст оболевања, услед непрегледања меса из сопственог запата или непажње приликом куповине меса и прерађевина.

Епидемиолошки најзначајнији резервоар трихинелозе у Војводини је домаћа свиња. Слично је и са Хрватском, Босном и Херцеговином и другим државама региона. Међутим, у последње две декаде епидемије у европским земљама најчешће су проузроковане месом коња и дивљих животиња. Коњско месо је најчешћи извор заразе у Италији и Француској, јер се у овим земљама оно конзумира, углавном, у сировом стању (18).

ЗАКЉУЧАК

Епидемиолошка ситуација трихинелозе у Аутономној Покрајини Војводини је повољнија у односу на ранији период, али је и даље нестабилна и представља сталну претњу јавном здрављу, због ширења жаришта болести, неспровођења адекватне контроле меса и све већег промета из нелегалне производње.

Поред придржавања већ постојећих законских прописа, значајну улогу у контроли ове болести има здравствено просвећивање становништва о важности термичке обраде и трихиноскопског прегледа меса и куповине меса од проверених произвођача.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pozio E, Murrell KD, 2006, Systematics and epidemiology of *Trichinella*, Adv. Parasitol. 63, 367-439. 2. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012, The EFSA Journal 2014, 12 (2), 3547. 3. Pozio E, Zerlenga DS, 2005, Recent advances on the taxonomy, systematic and epidemiology of *Trichinella*, Int. J. Parasitol. 35, 1191-204. 4. Serhir B, MacLean JD, Healey S, Segal B, Forbes L, 2001, Outbreak of trichinellosis associated with arctic walruses in northern Canada 1999, Can. Commun. Dis. Rep. 27, 31-6. 5. Pozio E, Rinaldi L, Marucci G, Musella V, Galati F, Cringoli G, Boireau P, La Rosa G, 2009, Hosts and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe, Int. J. Parasitol. 39, 71-9. 6. Cvetkovic J, Teodorovic V, Marucci G, Vasilev D, Vasilev S, Cirovic D, Sofronic-Milosaljevic Lj, 2011, First report of *Trichinella britovi* in Serbia, Acta Parasitologica, 56, 232-5. 7. Zarazne bolesti u AP Vojvodini, 2004-2012, Institut za javno zdravlje Vojvodine, Novi Sad. 8. Pozio E, 2007, World distribution of Trichinella spp. infections in animals and humans, Vet. Parasitol. 149, 3-21. 9. Izveštaj o zaraznim bolestima u 2012. godini na teritoriji Republike Srbije, 2013, Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović-Batut“ Beograd. 10. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe, 2008, ECDC, Stockholm. 11. Annual epidemiological report, 2013, Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligent data, ECDC, Stockholm. 12. Aleraj B, 2011, Zarazne bolesti u Hrvatskoj 2010. godine, Infektološki glasnik, 31, 139-48. 13.Omeragic J, Hodzic A, Zuko A, Jazic A, 2011, Review of investigations of parasitofauna of wild animals in Bosnia i Herzegovina, Veterinaria, 60, 251-9. 14. Kennedy ED, Hall RL, Montgomery SP, Pyburn DG, Jones JL, 2009, Trichinellosis surveillance-United States, 2002-7, MMWR, CDC, 58(SS09), 1-7. 15. Šeguljev Z, Vidić B, Ilić S, Petrović V, Petrović M, Ristić M, Prica N, 2011, Epidemije trihineloze u AP Vojvodini u periodu 2000-2009. godine, Vet. Glasnik, 65(5-6), 409-17. 16. Golab E, Szulc M, Wnukowska N, Rozej W, Fell G, Sadkowska-Todys M, 2007, Outbreak of trichinellosis in north-western Poland – Update and exported cases, June-July 2007, Euro Surveill. 12(29), pii=3238. 17. Bartuliene A, Liausediene R, Motiejuniene V, 2009, Trichinellosis outbreak in Lithuania, Ukmerge region, June 2009, Euro Surveill, 14(38), pii=19336. 18. Gottstein B, Pozio E, Nockler K, 2009, Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Control of Trichinella, Clin. Microbiol. Rev. 22(1), 127-45.

РАЗВОЈНИ ПУТ ВЕТЕРИНАРСКЕ СЛУЖБЕ У МАЧВАНСКОМ ОКРУГУ У 19. И 20. ВЕКУ

Гордана Анђелић-Бузаџић[1], Иван Павловић[2], Јовица Николовски[1]

[1]Висока пољопривредна школа струковних студија Шабац; [2]Научни институт за ветеринарство Србије, Београд

Кратак садржај

У XIX веку послови ветеринара - доктора ветеринарске медицине у Мачванском округу, као и у целој Србији, састојали су се у ветеринарско санитарном надзору стоке спремне за утовар на шабачкој и митровачкој скели на реци Сави у Аустро-Угарску, као и у спречавању ширења заразних и паразитских болести. Између два светска рата ветеринари су се углавном бавили вакцинацијом, лечењем стоке по позиву власника и ветеринарско инспекцијским прегледом у кланицама.

После Другог светског рата ветеринарска служба има највећи развој, јер има довољно школованих доктора ветеринарске медицине за обављање послова из ветеринарске делатности, а то су праћење, заштита и унапређење здравља животиња, заштита животиња од заразних, паразитских и других болести, откривање и дијагностиковање болести и лечење оболелих животиња, спровођење мера здравствене заштите животиња, заштита људи од зооноза, контрола безбедности хране животињског порекла, контролу здравља приплодних животиња и њихове репродуктивне способности, као и спровођење мера за лечење стерилитета и вештачког осемењавања и др. Овај тренд је трајао до 1991. године, тј. до распада СФРЈ, почетка грађанских ратова, да би се све кренуло испочетка у XXI веку.

Кључне речи: ветеринари, Мачвански округ, развојни пут

DEVELOPMENT OF VETERINARY SERVICE IN MAČVA DISTRICT IN THE 19th AND 20th CENTURIES

Gordana Anđelić-Buzadžić[1], Ivan Pavlović[2], Jovica Nikolovski[1]

[1]High agriculture school of vocational studies, Šabac; [2]Institute of veterinary medicine of Serbia, Belgrade

Abstract

In the nineteenth century work of veterinarians - a doctor of veterinary medicine in Mačva district as well as in the whole of Serbia consisted of veterinary sanitary inspection of cattle ready for shipping to Mitrovica and Sabac ferry on the river Sava in the Austro-Hungarian Empire and preventing the spread of infectious and parasitic diseases. Between the two world wars, vets are mainly engaged in vaccination, treatment of cattle at the invitation of the owner and the animal inspected in slaughterhouses.

After the Second World War veterinary service has the greatest development since there are enough trained veterinarians to carry out veterinary activities such as monitoring,

protection and improvement of animal health, animal protection from infectious, parasitic and other diseases, detecting and diagnosing diseases and treating patients animals, the implementation of measures of animal health care, protection from zoonoses, food safety control animal, health control of breeding animals and their reproductive capacity and the implementation of measures for the treatment of infertility and artificial insemination, etc. This trend lasted until the breakup of Yugoslavia in 1991, the beginning of the civil wars, and all the krenulu again in the XXI century.

Key words: veterinarian, Mačva district, development of veterinary service

Увод

Природни услови Мачве, Поцерине, Посавотамнаве, Подрињa, (данашњег Мачванског округа) са доста шума и пропланака, посебно у брдско-планинском подручју, погодовали су развоју сточарства, које је као привредна грана било веома развијено у XIX веку. Сточни фонд, скоро уништен у Првом српском устанку, од 1815. године почиње нагло да се развија и обнавља. Највише су гајене свиње, затим говеда, коњи, овце и козе. За гајење свиња коришћен је жир. Храстовог жира било је у изобиљу, свиње су се брзо размножавале, па их је било и за извоз. Река Сава била је граница између Србије и Аустро-Угарске, а број свиња у Шабачкој нахији у то време био је велики, па се трговало на шабачкој и митровачкој скели. Тако, у 1827. години забележен је промет од 137.860 свиња (1).

У то време, на свако домаћинство, долазило је у просеку десет до двадесет свиња, као и десет до петнаест оваца и коза. Повољни услови били су, као и данас, и за гајење говеда. Развијено је било и коњарство, јер су коњи коришћени у рату и миру, за обраду земље и транспорт путника и робе али и коњичке трке. Јеврем Обреновић је у част рођења сина Милоша 1829. године у Шапцу заказао трку и повелику гозбу како је касније писала штампа.

У Шапцу на Ђурђевдан 23. априла 1888. године (по старом календару) основан је први коњички клуб у Србији, назван коло јахача „Кнез Михаило“, са циљем да ради на побољшању коњарства и развоја љубави за јахаћи спорт у ширим слојевима. Било је развијено и пчеларство, а мед и восак су извожени у Аустро-Угарску. Поред живе стоке извожена је свињска маст, лој, кожа домаћих и дивљих животиња, пијавице којих је било доста у барама шабачке нахије, рађевском и јадарском крају, а коришћене су у медицинске сврхе и извожене су у Аустро-Угарску и Француску. Такође су извожене и корњаче којих је било у шумским и мочварним теренима. Извоз се обављао преко шабачке и митровачке скеле.

У седмој деценији 19. века популаризује се гајење свилене бубе, па су 1865. и 1866. године шест власника домаћинстава из Врањске (село у близини Шапца) који су имали у својим воћњацима дудово дрвеће, прихватили понуду да гаје свилену бубу.

Окружни ветеринари у мачванском округу у XIX веку

Почетком 19. века у Србији није било стручног ветеринарског кадра, што и није чудо јер је била под турском влашћу. Стоку су лечили углавном ковачи. У Карађорђево време у Србији је боравио Јован Петровић (познат као Јован Ковач) учени ковач и поткивач који се бавио и лечењем стоке (2,3).

Али то није било довољно, с обзиром да је примарна привредна грана тог доба било сточарство, а сточне заразе су биле велики проблем, који је наносио значајне губитке. Тако се из извештаја Митра Којића кнезу Милошу од 8. маја 1824. године (4) може закључити да је било шугавих оваца, од 1835. године постадоше зле године због угинућа услед метиљавости (4), а из извештаја Јосипа Милосављевића кнезу Милошу

од 23. јула 1836. године (4) овчије богиње су изазвале велику штету услед угинућа оваца. Као и у другим деловима земље, здравствено стање у шабачком и подрињском крају није било повољно. Јављале су се разне болести људи и животиња па је долазило и до извесних епидемија. О томе се водила евиденција, али су државне власти више пажње почеле да поклањају тек од уређења српско-турских односа 1830. године. Забележено је да су 1835. године у Поцерини почеле да обољевају свиње од неке опасне болести, а 1838. године прво у Мачви, а затим у Поцерини и Јадру, појавила се нека зараза међу говедима.

Министарство унутрашњих дела увидело је да је потребно бринути о здрављу стоке и оснива његово Санитетско одељење 1839. године, које је поред бриге о здрављу људи, бринуло и о здрављу стоке. Лекари су у то време у току студија слушали предмет Сточне заразе, и у недостатку ветеринара то је било довољно да се окружним лекарима - физикусима повери брига о здрављу животиња. Мада су били обучени у лечењу животиња, то није било довољно за спречавање ширења сточних оболења. У Србији XIX века приоритетно је било присуство ветеринарске струке у војсци, с обзиром на прилике које су биле у земљи. Поделом земље 1836. године на четири војне команде, у њих су постављени први војни лекари који брину и о здрављу стоке. Решењем од 1. 9. 1851. године постављен је први марвени лекар у Лекарско одељење Главог војног штаба. Законом о унапређењу санитетске струке у Србији, из 1881. године, дефинисано је да сваки округ у Србији мора да има свог окружног марвеног лекара.

У самом Санитетском одељењу Министарства унутрашњих дела био је главни марвени лекар. За првог цивилног ветеринара у данашњем Мачванском округу (тадашњи шабачки округ) 1883. године постављен је Кирил Миљковић, марвени лекар 1. класе. Ветеринари су прелазили из војне у цивилну службу, па су имали војне чинове. Број ветеринара се повећава и 1890. године за округ подрињски био је постављен Павле Лонер, марвени лекар 3. класе, а за шабачки Марко Дерок, марвени лекар 2. класе (6,7). Поред поменутих ветеринара до 1914. године са седиштем у Шапцу, Лозници и Митровици радили су следећи ветеринари: Јован Алексић, марвени лекар 3. класе, рођен у Црној Бари код Богатића, Миливоје Јовановић, марвени лекар 3. класе, Манојло Радовановић, марвени лекар 3. класе, рођен у Шапцу, Коста Врбић, марвени лекар, Петар А. Димитријевић, марвени лекар, Јован Екеровић, марвени лекар, Андреја Рашковић, марвени лекар 2. класе, Самуило Прогар, контрактуални (под уговором) марвени лекар 2. класе, Петар Бојић, марвени лекар 1. класе, Андреја Врвић, марвени лекар 3. класе, Младен Огњановић, марвени лекар 3. класе и Велимир Јанковић, марвени лекар 3. класе (8). Министарство народне привреде је 24. јула 1904. године донело решење за отварање Ратарске школе у Шапцу. У Ратарској школи хонорарни марвени лекари били су Маша Радовић, Манојло Радовановић и Душан Костић. Стручни предмети у овој школи били су из ратарства, воћарства, шумарства, али и сточарства, живинарства и марвеног лекарства (9).

Како су потребе за ветеринарима биле све веће, држава је 1882. године на студије у Беч послала десет стипендиста. Студије је завршило њих седам. Србија је извозила живу стоку у Аустро-Угарску, па је и разумљиво зашто је највећи број стипендиста упућиван у Беч. После стицања самосталности 1878. године, Србија је брзо склопила Трговински уговор са Аустро-Угарском. Извоз стоке у Аустро-Угарску дефинисан је Ветеринарском конвенцијом између две земље, која је склопљена када и Трговински уговор. Основни циљ конвенције је био спречавање преношења заразних болести. Србија је била обавезна да због говеђе куге забрани увоз и транзит говеда из Турске, Румуније и Бугарске. Услове из конвенције диктирала је Аустро-Угарска. Да би задовољила ове услове Србија је морала имати добро организовану ветеринарску службу, поготову у пограничним областима, као што је Мачавански округ, а ветеринари су били дужни да знају све оно што су знали аустроугарски ветеринари (8,10).

Крајем 19. века у Србији је било довољно ветеринара за рад на извозу стоке и организацији извоза. Ветеринари оснивају и своје удружење - Српско ветеринарско друштво 1890. године. Захваљујући њему, српска ветеринарска служба издвојена је из санитетске службе и прешла је у Министарство народне привреде. Ту је имала своје одељење, од 1900. године, на чијем челу је био главни марвени лекар.

Ветеринарска служба у мачванском округу у XX веку

Почетком XX века стање у струци је било у успону упоредо са увећањем броја стоке у округу. Али, Први светски рат прекида активност службе која је била у замаху. У Шапцу је основана Ратарска школа, која је 24. јуна 1904. године почела са радом и која је имала и сточарски одсек.

Почетком Првог светског рата, Мачвански округ, који се нашао на првој линији фронта и где су се водиле највеће битке српске војске (Церска и Колубарска битка), претрпео је и највећа разарања, како у људима, тако и у материјалном погледу, с обзиром да је највећи део сточног фонда био заплењен или уништен, а завладале су и сточне заразе. Марвени лекари су били мобилисани и њихова делатност се састојала у томе, пошто су они били на војној дужности, да лече оболелу и рањену стоку српске војске. Први светски рат однео је неколико ветеринара (Андреја Рашковић, Арсеније Гавровић и др.). У Србији је за време Првог светског рата сточни фонд уништен 70%, а пољопривредни инвентар за 40%.

У Шапцу од 1918. године ради Манојло Радовановић, као хонорарни марвени лекар на кланици и гарнизону у Шапцу. Од 1919. до 1928. године, а затим и од 1931. године, у Шапцу ради марвени лекар Велимир М. Јанковић, виши ветеринарски саветник. Ветеринар Иван Анић радио је у Шапцу од 1933. године. Министарски савет донео је одлуку 11. 6. 1920. године по којој су сви ветеринари добили официрске чинове. Њихова каријера у војсци почињала је са чином потпоручника, а завршавала се са пуковничким чином. После Првог светског рата земља се опоравља и ветеринарска служба је свесна да Србији, као сточарској земљи, треба више ветеринара и да сама треба да школује кадар. Уласком у заједничку државу Краљевину Срба, Хрвата и Словенаца, Србија се нашла пред тешким задатком да обнови сточарску производњу и нормализује животне прилике. За потребе заједничке државе основана је Висока ветеринарска школа 1919. године у Загребу (од 1924. године Факултет). Други факултет у Краљевини је основан 1936. године у Београду, а десет година раније, 1926. године, основан је Централни ветеринарски бактериолошки завод у Београду (11,12).

Између два светска рата ветеринари су се углавном бавили вакцинацијом и лечењем стоке по позиву власника, ветеринарским инспекцијским прегледом у кланицама. Са таквом праксом је настављено и одмах по завршетку Другог светског рата. На подручју Подрињског округа радило је седам ветеринара (пет државних и два приватна) од којих ниједан није био са територије Србије. Сточна производња је имала велики замах, а Мачва је представљала једно од најбогатијих подручја сточним фондом у Србији.

Рат и окупација 1941-1944. године, када је Мачва била у саставу тзв. НДХ, донело је до велике девастације и пљачке сточног фонда. Упоредо са ратним злочинима, усташе су опустошиле и сточни фонд. Истовремено с ратом су дошле и сточне заразе (сакагија, дурина, беснило, антракс и сл.) које су још више поткопале сточарство овог краја. Ветеринарска служба је замрла, појавиле су се сточне заразе које су десетковале и овако скоро потпуно опљачкан сточни фонд, тако да је стање које је затечено по ослобођењу 1945. године било више него лоше.

Након рата се кренуло са обновом сточног фонда, а осећао се хроничан мањак ветеринарских стручњака. Што се тиче епизоотиолошке ситуације на терену, у раздобљу од 1947-1952. године, она је била тешка. Према подацима ветеринара Анта Асмана, запосленог у Окружној ветеринарској амбуланти у Шапцу, од 1946-1952.

године било је дурине, сакагије, овчијих богиња, беснила, антракса, свињске куге, кокошије куге, туберкулозе говеда, шуге коња и оваца.

На подручју Подрињског округа непосредно након рата је радило седам ветеринара (пет државних и два приватна) од којих ни један није био са територије Србије. С обзиром на епизоотиолошко стање потребно је било да на подручју овог округа ради најмање једанаест ветеринара. Отварају се Реонске ветеринарске амбуланте (у Шапцу 1947. године), а од 1949-1952. године оформљене су ветеринарске станице, као нове организационе јединице произишле из потреба.

Одлуком Владе Србије, 1952. године, донета је Уредба о формирању Сточарско-ветеринарских станица, што је виши степен организованости ветеринарске службе, јер су поред ветеринара у овој служби ангажовани и зоотехничари, дипломирани инжењери сточарства, а циљ је био да се брже развија сточарство (1). Оснивају се среска и општинска ветеринарска инспекција а 1947. године при Пољопривредној школи у Шапцу основано је одељење за дијагностику сточних болести, у коме су радили дипл. вет. Зденка Чалић, дипл. вет Звонко Хечај и вет. болничар Богдан Радојчић. Ово је трајало до 1953. године када је Министарство пољопривреде основало „Ветеринарску дијагностичку станицу“ са управником дипл. вет. Маријом Митрић. Станица проширује делокруг рада и 1956. године формира лабораторију за контролу намирница у индустријској производњи, затим 1962. године прву инкубаторску станицу, а 1967. године гради и прву фарму бројлера у Шапцу. У овом периоду почиње се са вештачким осемењавањем крава, а прва крава у Србији осемењена је у Шапцу. Тада је почела и бржа измена расног састава говеда, а од 1967. године овде почиње и контрола и сузбијање маститиса.

У току 1973. године од Ветеринарско дијагностичке станице се формира Ветеринарско дијагностички завод који 1974. године са Ветеринарском станицом Шабац формира Сточарско ветеринарски центар. Он 1990. године прераста у Регионални ветеринарски завод Шабац, а од 1993. године послује као Специјалистички институт Шабац. У исто време, у Подрињско-колубарском региону се формирају ветеринарске станице, којих је током 90-их година прошлог века било 61, и у којима је радило преко 100 ветеринара и 120 ветеринарских техничара и болничара. У Мачванском округу до деведесетих година XX века повећава се бројно стање домаћих животиња, а извози се месо у Грчку, Италију и неке арапске земље.

Едукација ветеринарских кадрова настављена је и после рата, оснивањем средње ветеринарске школе 1948. године, која са прекидима ради до данас. У Шапцу је 5. октобра 1960. године основана и Виша пољопривредна школа, која је прерасла у Високу пољопривредну школу струковних студија и која у свом саставу има студијски програм Струковна ветерина.

Крај века доводи до новог рата 1991. године, а затим следи распад земље, смањује се како број становника, тако и сточни фонд, почиње приватизација ветеринарских станица и амбуланти, отварају се приватне ветеринарске апотеке и слободна продаја лекова. Све то је негативно утицало на струку, јер су сами власници почели да лече стоку, апликују антимикробне лекове и хормонске препарате, што се одразило на здравље људи кроз конзумирање меса, млека и млечних производа. Али, то је већ део приче за XXI век.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Симић И., 1977, Педест година ветеринарске станице у Шапцу. изд. Шабац: Ветеринарска станица у Шапцу, Шабац, 21-32. 2. Милић Р., Анђелковић Р., Зарић С., 2009, Развојни пут војне ветеринарске службе у Србији. Зборник реферата 8. Конгреса ветеринара Србије са међународним учешћем. Београд, Србија, 469-89. 3. Катић Р., 1954, Грађа за историју ветеринарске медицине Србије у периоду од XII до XIX века. Ветеринарски гласник 9: 561-7. 4. Стојанчевић В., 1984, Шабац и шабачка нахија од избијања првог устанка до краја кнез Милошеве владе. У: Стојанчевић В, Милосављевић П, Игњић С, Јосић П, Јевтић М. Шабац у прошлости 2, РНИРО ,,Глас Подрињa“ Шабац, 137-43. 5. Милић Даница, 1984, Један век привреде историје Шапца (1815-1914). У: Милић Д, Вучо Н, Стојановић Б, Јевтић М. Шабац у прошлости 3, изд. Шабац: РНИРО ,,Глас Подрињa“, Шабац. 6. Међуопштински историјски архив Шабац, Државни календар 1896. К-5. Шабац. 7. Међуопштински историјски архив Шабац, Државни шематизам 1852-1900. година, К-4. Шабац. 8. Међуопштински историјски архив Шабац, Државни шематизам 1901-1914. година, Д 619, Д 620, Д 621, Д 622, Д 623, Д 624. Шабац 9. Јевтић М., 1988, Пољопривредна школа у Шапцу. Изд. Шабац: РНИРО ,,Глас Подрињa“ Шабац 53-67. 10. Иванчевић Н., 1959, Делокруг рада ветеринарског стручњака. Зборник II Конгреса ветеринара и ветеринарских техничара Југославије. Београд, НРЈ, 122-3. 11. Павловић И., Лучић-Тодосић Ивана, Радосављевић В., Милошевић Б., 2006, Монографија 80 година Научног института за ветринарство Србије, Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, 1-5. 12. Павловић И., 2012, Мнографија Научног институт за ветеринарство Србије 1926-2012., Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, 10-18.

A. POPLITEA КОД СЛЕПОГ КУЧЕТА (*SPALAX LEUCODON*)

Ивана Нешић, Милош Благојевић, Зоран Зорић, Милена Ђорђевић, Славољуб Јовић, Зденка Благојевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Слепо куче припада реду глодара. Као експериментална животиња користи се у генетици за анализу кариотипа, дистрибуцију домета и еволуцију хромозомских форми *Spalacida* на Балканском полуострву.

Циљ нашег рада је да обрадимо заколенску артерију (*A. po*plitea) и дамо нова сазнања, као допринос у даљем развоју компаративне анатомије.

Испитивања су извршена на 5 слепих кучића. После искрвављења животиња у спољашњу бедрену артерију (*A. iliaca externa*) убризгана је контрастна маса, желатин обојен сликарском темпером. После ињицирања, крвни судови су препарисани и фотографисани.

A. poplitea је крвни суд који представља продужетак од *A. femoralis*. Њене завршне гране су *A. tibialis cran*ialis и *A. tibialis caudalis*.

На основу нашег испитивања дошли смо до закључка да *A. tibialis cra*nialis код слепог кучета на дорзалној страни метатарзуса анастомозира са *Ramus cranialis* од *A. saphena*.

Кључне речи: слепо куче, артерије, васкуларизација

THE POPLITEAL ARTERY IN THE MOLE RAT (SPALAX LEUCODON)

Ivana Nešić, Miloš Blagojević, Zoran Zorić, Milena Đorđević, Slavoljub Jović, Zdenka Blagojević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Mole rat (*Spalax leu*codon) belongs to the order of rodents. This experimental animal is used in the genetics for analysis of karyotype, distribution range and evolution of the chromosomal forms of Spalacida on Balkan Peninsula and bordering regions.

The aim of this work was to study the popliteal artery (*A. po*plitea) and give new knowledge as a contribution to the further development of comparative anatomy.

The investigations were performed on five mole rats. Contrast mass, gelatin stained with painting tempera was injected into the external iliac artery (*A. iliaca externa*) after bleeding the animals. After the injection, blood vessels were prepared and photographed.

The poplietal artery is the continuation of the femoral artery. Its terminal branches are cranial tibial artery (*a. tibialis cranialis*) and caudal tibial artery (*a. tibialis cau*dalis).

Based on our study we can conclude that in the mole rat *A. tibialis cranialis* on the dorsal surface of the metatarsus anastomoses with the cranial branch of the saphenous artery.

Key words: mole rat, arteries, vascularization

УВОД

Слепо куче (*Spalax leucodon*) припада фамилији *Spalacidae*, суперфамилији *Muroidae*, подреду *Myomorpha*, реду *Rodentia*. Животиње су ретке у урбаним срединама и у областима са интензивном пољопривредом. Најповољнији су терени са степском вегетацијом. То су сува, порозна и добро аерисана земљишта у равницама или у планинским пределима. Слепо куче живи под земљом и облик тела му је прилагођен начину живота.

Познати су подаци о начину живота слепог кучета (1). *Spalax leucodon* живи под земљом и врло ретко излази на површину. Животиња копа систем подземних ходника. Од ископаног материјала на површини земље настају веће хумке. Систем ходника нема неких правилности у распореду, али увек постоје хранидбени ходници, који су на око 15-20 cm испод површине земље и које животиња копа у потрази за храном и стални ходници, који се налазе на дубини од 20-50 cm, али досежу и до 4 m. У централном делу система ходника налази се гнездо животиње направљено од сувих биљака. У близини гнезда је складиште хране.

Феромони имају јако велику улогу у њиховој комуникацији. Многе *Spalacidae* комуницирају међусобно ударањем главе о зидове својих ходника и осећају вибрације које стварају други.

Животни век ове врсте је и до четири и по године, али у дивљини, ова врста једва доживи годину дана (2). Слепо куче је изразити хербивор. На обрађиваном земљишту храни се биљкама. То су најчешће кромпир, шаргарепа, црни лук, сточна репа, целер. Неке врсте се хране инсектима и бувама, а неке и воћем. Воду не пије, већ је узима путем хране.

У условима живота у лабораторији слепо куче се показало као врло осетљива животиња. Велики број животиња угине убрзо по доласку у кавез. После адаптације која траје неколико дана, смртност је много мања. Гладовање не подноси и угине већ после 24-36 часова, вероватно услед недостатка воде коју добија преко хране. Основни услови за држање животиња у кавезима су редовна исхрана, константна температура, влажност и редовно одржавање хигијене кавеза.

Слепо куче спада у „Природне реткости" и предложено је за црвену књигу фауне Републике Србије.

У релевантној литератури постоје подаци који се односе на васкуларизацију код текунице (3), златног хрчка (4,5), пса (6) и слепог кучета (7).

То је био један од главних разлога да обрадимо *A. poplitea* код слепог кучета и на тај начин омогућимо боље познавање грађе тела ове животиње и допринесемо развоју компаративне анатомије.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

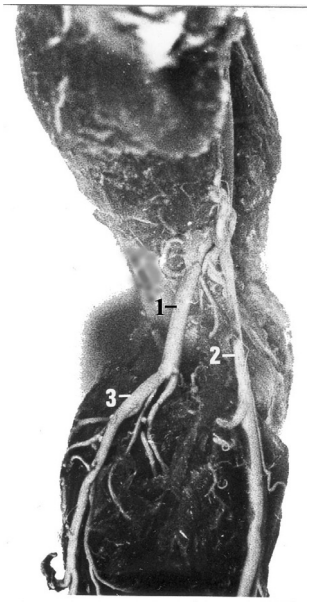
Као материјал за испитивање користили смо слепе кучиће из природе. С обзиром да је у Србији слепо куче заштићено законом, добили смо одобрење Етичког комитета ФВМ у Београду, Декана ФВМ у Београду и Министарства заштите животне средине Републике Србије за набавку слепих кучића.

За испитивање је употребљено 5 слепих кучића, оба пола, телесне масе 180-240 грама. Хватани су на терену јужног Баната у Шушари код Уљме (Делиблатска пешчара). Уз обавезну анестезију применом препарата Кетамидор 10% (i/m 0,02 ml/kg) уз премедикацију Ксилазином животиње су биле жртвоване. Искрвављење животиња извршено је на трбушној аорти (*Aorta abdominalis*). После искрвављења животиња иглом смо ушли у спољашњу бедрену артерију (*A. iliaca externa*). Затим смо концем подвезали иглу заједно са *A. iliaca externa*. У шприц смо узели контрастну масу, желатин обојен сликарском темпером и убризгали. После иницирања, иглу смо извадили, а

конац добро затегли. Препарате смо оставили 24 часа у фрижидеру. Сутрадан смо крвни судове препарисали и фотографисали. За фотографисање користили смо фотоапарат CANON, *Power shot SD 770IS, digital elph, 10.0 megapixels*.

РЕЗУЛТАТИ

A. poplitea је крвни суд који представља продужетак од *A. femoralis*. Пробија се између латералне и медијалне главе *M. gastrocnemius-a* (Слика 1). Улази у простор између кондила дисталног краја бутне кости и належе на зглобну чауру флексорне стране коленог зглоба. У току свог даљег пружања улази у простор између потколеног мишића (*M. popliteus*) и голењаче. Даје огранке за *M. gastrocnemius*, фемуротибијални зглоб и за *M. popliteus*. Њене завршне гране су *A. tibialis cranialis* и *A. tibialis caudalis*.



Слика 1. Топографски положај A. tibialis caudalis код слепог кучета (Spalax leucodon) 1-A. poplitea, 2-A. saphena, 3-A. tibialis caudalis

A. tibialis cranialis је јача грана од *A. popliteae*. Кроз *Spatium interosseum cruris* прелази на дорзо-латералну површину тибије, покривена *M. tibialis cranialis, M. fibularis tertius* и *M. extensor digitorum pedis longus* (Слика 2). На дорзалној страни метатарзуса анастомозира са *Ramus cranialis* од *A. saphena* и снадбева крвљу прсте.

Слика 2. Топографски положај A. tibialis cranialis код слепог кучета (Spalax leucodon) посматрано са дорзолатералне стране (подигнут M. fibularis tertius, M. extensor digitalis pedis longus и M. tibialis anterior) 1- A. tibialis cranialis

A. tibialis caudalis је слабија грана од *A. popliteae*. Лежи дистално уз каудалну површину тибије, између флексорних мишића прстију и *M. popliteus*, које васкуларише.

ДИСКУСИЈА СА ЗАКЉУЧКОМ

A. poplitea се дели код текунице (3) и златног хрчка (4,5) на *A. tibialis cranialis* и *A. tibialis caudalis*, с том разликом што се *A. tibialis caudalis* текунице разграњава на *Aa. metatarseae plantares*, слично као у пса (6). Код златног хрчка *A. tibialis caudalis* се разграњава у мишићима плантарне стране потколеног предела.

На основу нашег испитивања и истраживања другог аутора (7) установили смо да се код слепог кучета *A. poplitea* дели на *A. tibialis cranialis* и *A. tibialis caudalis*. На дорзалној страни метатарзуса *A. tibialis cranialis* анастомозира са *Ramus cranialis* од *A. saphena* и васкуларише прсте.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Савић ИР, 1965, Екологија врсте *Spalax leucodon Nordman 1840 (Rodentia*) у Југославији, Докторска дисертација. 2. Nowak R, 1999, Walker's Mammals of the World, v. 2, Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press. 3. Станојевић Д, 1965, Кардиоваскуларни систем текунице (*Citellus citellus*), Докторска дисертација, Београд. 4. Schwarze E, Michel G, 1977, Die arterielle Blutversorgung des Magen-Darm-Kanals, seiner Auhangsdrüse und der Mile beim Syr. Goldhamster. Anat. Anz. 109, 5, 426-35. 5. Popesko P, Rajtová V, Horák J, 1990, A colour Arlas of Anatomy of small laboratory animals, Volume two: rat, mouse, golden hamster, Published by Priroda Publishing house, Bratislava. 6. Howard E, 1993, Miller's Anatomy of the dog, third edition, Saunders Elsevier Philadelphia, Pennsylvania. 7. Благојевић З, 1982, Срце и артерије слепог кучета (*Spalax leucodon*), Магистарски рад, Београд. 8. Nomina anatomica veterinaria, 2012, fifth edition (revised edition), Published by the Editorial Committee Hannover (Gemany), Columbia, MO (USA), Ghent (Belgium), Sapporo (Japan).

A. RENALIS КОД ТЕКУНИЦЕ (*CITELLUS CITELLUS*)

Милош Благојевић[1], Душко Витровић[2], Ивана Адамовић[2], Ивана Нешић[1], Милена Ђорђевић[1], Зденка Благојевић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Пољопривредни факултет, Земун, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Текуница је једини представник свога рода код нас. Као експериментална животиња користи се у микробиологији, паразитологији, фармакологији и имунологији. Циљ рада је био да обрадимо део кардиоваскуларног система код текунице и на тај начин допринесемо бољем познавању грађе тела ове животиње и дамо допринос компаративној анатомији.

За испитивање је употребљено 5 текуница, оба пола, телесне масе 200-300 грама. После искрављења животиња у трбушну аорту (*Aorta abdominalis*) убризгане су различите контрастне масе, желатин обојен сликарском темпером или минијумом. После иницирања, крвни судови су препарисани и фотографисани.

*A. renalis dext*ra одваја се од латералног зида трбушне аорте, 3-4 mm каудално од *A. mesenterica cranialis*. У већини случајева овај крвни суд, пре уласка у бубрег, дели се на 2-3 гране које се разграњавају у бубрегу.

A. renalis sinistra одваја се од латералног зида трбушне аорте, 7-9 mm каудално од десне бубрежне артерије. Често се уместо једне леве бубрежне артерије појављују две, а ретко три.

На основу нашег испитивања закључили смо да код текунице постоји једна *A. renalis dextra* и често две, ретко три *Aa. renales sinistrae*.

Кључне речи: текуница, артерије, васкуларизација

THE A. RENALIS IN THE GROUND SQUIRREL (CITELLUS CITELLUS)

Miloš Blagojević[1], Duško Vitorović[2], Ivana Adamović[2], Ivana Nešić[1], Milena Đorđević[1], Zdenka Blagojević[1]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Faculty of agriculture, Zemun, University of Belgrade

Abstract

Ground squirrel is the only representative of its genus in our country. As experimental animal is used in microbiology, parasitology, immunology and pharmacology. The aim of this study was to examine a part of the cardiovascular system in the ground squirrel and thus contribute to a better understanding of body structure of this animal and contribute to comparative anatomy.

The studies were performed on five ground squirrels, both sexes, weight between 200-300 g. After bleeding the animals, various contrasting masses, gelatin stained with

painting tempera or minium were injected into the abdominal aorta (*Aorta abdominalis*). After the injection, blood vessels were prepared and photographed.

A. renalis dextra arises from the lateral wall of the abdominal aorta, 3-4 mm caudal to *A. mesenterica cranialis*. In most cases, this vessel divides into two or three branches before entering the hilus of the right kidney.

A. renalis sinistra arises from the lateral wall of the abdominal aorta, 7-9 mm caudal to the right renal artery. Often, instead of one left renal artery appear two, rarely three.

Based on our study we concluded that in the ground squirrel there are *A. renalis dextra* and often two, rarely three *Aa. renales sinistrae*.

Key words: ground squirrel, arteries, vascularization

УВОД

Текуница је сисар из реда глодара. То је веома љупка животиња дужине тела око 20 cm, кратког репа (5,5-7,5 cm), малених ушију и крупних очију. Телесна маса креће се од 200 до 300 грама. Трбушна страна је смеђе-сиве, а леђна нешто светлије боје. Њен изглед карактерише поза „свећице", када животиња седи на задњим ногама и усправљеног трупа осматра околину. Ова врста распрострањена је у југоисточном делу средње Европе. У нашој земљи настањује првенствено Војводину, док је у осталом делу Србије знатно ређа.

Текуница је презимар, чија хибернација траје, у зависности од узраста и пола, од краја лета до пролећа. Када настану хладни дани текуница се завлачи у своје јазбине и хлади се, тако да јој телесна температура, која у нормалним условима износи 37°C, падне на 10°C, 7°C или 3°C, што зависи од спољашње средине. Поред тога, код ње се смањује и број срчаних откуцаја на 1 до 2, а дисање на 3 до 4 пута у минути.

Све ово показује да у организму ове животиње, као и код осталих презимара, наступа велико снижавање интензитета свих животних функција, што је доказано многобројним физиолошким, биохемијским и хистолошким испитивањима појединих органских система код текунице.

Текуница спада у „Природне реткости" и предложена је за црвену књигу фауне Републике Србије.

С обзиром да је у Србији текуница заштићена законом као природна реткост, добили смо одобрење Етичког комитета Факултета ветеринарске медицине у Београду, Декана Факултета ветеринарске медицине у Београду и Министарсва заштите животне средине Републике Србије за набавку текуница из природе.

Са степеном развоја науке, познавање грађе тела текунице (*Citellus citellus*) у циљу експерименталних испитивања, захтева познавање макроскопске и микроскопске грађе, као и односа појединих органа и органских система животиње за одређене видове истраживачке делатности. За напред поменута истраживања од значаја је, поред осталог и познавање артеријске васкуларизације бубрега.

У релевантној литератури постоје подаци који се односе на васкуларизацију бубрега код кунића (1,2), пацова (3), златног хрчка (4), слепог кучета (1,5) и заморца (1,6,7).

То је био и циљ рада, да обрадимо бубрежне артерије код текунице и на тај начин дамо допринос компаративној анатомији.

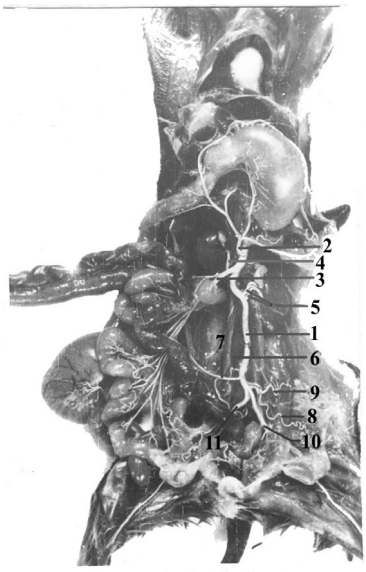
МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

За испитивање је употребљено 5 текуница, оба пола, телесне масе 200-300 грама. Животиње су биле клинички здраве. Текунице су хватане на терену јужног Баната и то у месту Шушара код Уљме (Делиблатска пешчара).

Уз обавезну анестезију применом препарата Кетамидор 10% (i/m 0,02 ml/kg) уз премедикацију Ксилазином животиње су биле жртвоване. За испитивање користили смо анатомске методе рада. Искрвављење животиња извршено је пресецањем *A. carotis commnunis*. После искрвављења животиња и отварања грудне дупље иглом смо из грудне (*Aorta thoracica*) ушли у почетни део трбушне аорте (*Aorta abdominalis*), а затим смо концем подвезали иглу заједно са трбушном аортом. Од контрасне масе користили смо желатин обојен сликарском темпером или минијумом. Шприц смо напунили контрасном масом, ставили на иглу, коју смо већ претходно поставили у почетни део трбушне аорте и убризгали контрасну масу. После ињицирања, иглу смо извадили из трбушне аорте, конац добро затегли и препарате оставили 24 часа у фрижидеру, да се контрасна маса стегне. Крвни судови су затим препарисани и фотографисани. За фотографисање смо користили дигитални фотоапарат OLYMPUS X-760, AF 3x optical zoom, 10.0 megapixels.

РЕЗУЛТАТИ

A. renalis dextra одваја се од латералног зида трбушне аорте, 3-4 mm каудално од кранијалне мезентеричне артерије (Слика 1_4). Пружа се латеро-кранијално и укршта се дорзално са каудалном шупљом веном (*V. cava caudalis*). У највећем броју случајева овај крвни суд, пре уласка у бубрег, дели се на 2-3 гране које се разграњавају у бубрегу.



Слика 1. Aorta abdominalis и њене гране код текунице (Citellus citellus)
1. Aorta abdominalis, 2. A. celiaca, 3. A. mesenterica cranialis, 4. A. renalis dextra, 5. Aa. renales sinistrae, 6. A. testicularis dextra, 7. A. mesenterica caudalis, 8. A. testicularis sinistra, 9. A. circumflexa ilium profunda sinistra, 10. A. iliaca externa sinistra, 11. A. iliaca externa dextra

Из десне бубрежне артерије, одмах после њеног одвајања од трбушне аорте, излазе: *A. phrenicoabdominalis* и *Aa. adrenales (suprarenales) caudales dextrae*.

A. phrenicoabdominalis се пружа у кранијалном правцу према дијафрагми и васкуларише њену десну половину.

Aa. adrenales (suprarenales) caudales dextrae, којих има 3-4, пружају се према каудалном делу десне надбубрежне жлезде, улазе у ову жлезду и доводе крв у њу.

A. renalis sinistra одваја се од латералног зида трбушне аорте, 7-9 mm каудално од десне бубрежне артерије (Слика 1_5). Непосредно после одвајања од трбушне аорте, лева бубрежна артерија дели се на две гране, које се пружају даље према хилусу левог

бубрега, у коме се разграњавају. Често се уместо једне леве бубрежне артерије појављују две, а ретко три. Из једне од ових излазе неколико *Aa. adrenales (suprarenales) caudales sinistrae* који васкуларишу каудални део леве надбубрежне жлезде.

Из *A. renalis sinistra*, као и из *A. renalis dextra* пре уласка у бубрег избијају *Aa. capsulares* за бубрежну капсулу и *Ramus uretericus* који васкуларише кранијални део уретера.

ДИСКУСИЈА СА ЗАКЉУЧКОМ

Код кунића (1,2), пацова (3), златног хрчка (4) и слепог кучета (1,5) излазе из трбушне аорте са сваке стране по једна *A. renalis dextra* и *A. renalis sinistra*. Код заморца (1,6,7) постоје кранијална и каудална десна и кранијална и каудална лева бубрежна артерија, као доста јаки, али кратки крвни судови. Код заморца мушког пола каудална десна и каудална лева бубрежна артерија излазе из трбушне аорте заједно са десном и левом тестикуларном артеријом (*A. testicularis dextra et A. testicularis sinistra*).

На основу нашег испитивања установили смо да код текунице постоји једна *A. renalis dextra* и две, а ретко три *Aa. renales sinistrae*. Ређе постоји једна *A. renalis sinistra*, која се непосредно по одвајању од трбушне аорте дели на два или више огранака.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Јанковић Ж, Станојевић Д, Благојевић З, 1977, Comparation des caracteristiques du quelques animaux de laboratoire (Oryctolagus cuniculus, Cavia cobaya et Spalax leucodon), Acta Anatomica, 99, 3, 329-33. 2. McLaughlin AC, Chiasson BR, 1990, Laboratory Anatomy of the rabbit, Wm C. Brown Publishers, USA. 3. Hebel R, Stromberg MW, 1976, Anatomy of the laboratory rat, The Williams-Wilkins Company, Baltimore, USA. 4. Popesko P, Rajtová V, Horák J, 1990, A Colour Atlas of Anatomy of small laboratory animals, Volume two: rat, mouse, golden hamster, Published by Priroda Publishing House, Bratislava. 5. Благојевић З, 1982, Срце и артерије слепог кучета (Spalax leucodon), Магистарски рад, Београд. 6. Shively MJ, Stump JE, 1975, The systemic arterial pattern of the guinea pig: The abdomen, The Anatomical Record 182, 3, 355-66. 7. Popesko P, Rajtová V, Horák J, 1990, A Colour Atlas of Anatomy of small laboratory animals, Volume one: rabbit, guinea pig, Published by Priroda Publishing House, Bratislava. 8. Nomina anatomica veterinaria, 2012, fifth edition (revised version), Published by the Editorial Committee Hannover (Germany), Columbia, MO (U.S.A.), Ghent.

ОСНОВНИ МОРФОМЕТРИЈСКИ ПАРАМЕТРИ БУГАРСКОГ ОВЧАРСКОГ ПСА

Миливоје Урошевић[1], Дарко Дробњак[1], Георги Христозов[2], Милан Урошевић[1], Јусуф Ограк[3], Драгутин Матаругић[4], Петар Стојић[5]

[1]Центар за очување аутохтоних раса, Београд; [2]Бугарска кинолошка федерација; [3]Ветеринарски факултет, Сивас Универзитета, Турска; [4]Шумарски факултет, Универзитет у Бања Луци, Република Српска, Босна и Херцеговина; [5]Институт ПКБ, Београд

Кратак садржај

Бугарска нема међународно признату расу паса, а најдаље на том путу отишло се у систематском раду са гоничима и бугарским овчарским псом. У циљу стандардизације бугарског овчарског пса, као аутохтоне расе паса у Бугарској, обављена су обимна морфометријска мерења паса ове расе, на територији Бугарске.

У овом истраживању извршено је морфометријско испитивање 12 екстеријерних параметара код 80 паса. Студијска популација обухватала је 36 мужјака и 44 женке расе бугарско овчарско куче. Старост паса испитиване популације се кретала од 1 до 8 година. Извршена су мерења следећих екстеријерних параметара: висина пса у гребену, висина леђа, висина сапи, дужина тела, дужина главе, дужина лобање, дужина њушке, ширина лобање, ширина њушке, дубина њушке, обим груди и обим дошапља.

Просечна висина у гребену мужјака износила је 71.45 cm, док је интервал ваирања од 66,5 до 76,5 cm. Код женки просек висине у гребену је 70,06 cm. Дужина тела мужјака је у просеку 79,02 cm, а код женки 74,85 cm. Утврђено је да код овог параметра постоји значајна статистичка разлика ($p<0,01$) између полова. Глава мужјака просечно је дуга 30 cm, а интервал варирања је од 26 до 34 cm, са коефицијентом варијације 7.73 и стандардном девијацијом од 2.32. Код женки глава је просечно дуга 28,08 cm уз интервал варирања од 24 до 32 cm, а коефицијент варијације 8.54. Између полова код овог параметра утврђено је да постоји статистичка значајност ($p<0,05$).

Бугарски овчарски пас у морфолошком смислу показује све типичне елементе грађе тела пастирских, молосоидних, паса.

Кључне речи: морфометријска мерења, стандардизација, пастирски пас, молосоид

BASIC MORPHOMETRIC PARAMETERS OF BULGARIAN SHEPHERD DOG

Milivoje Urošević[1], Darko Drobnjak[1], Georgi Hristozov[2], Milan Urošević[1], Jusuf Ograk[3], Dragutin Matarugić[4], Petar Stojić[5]

[1]Center for preservation of indigenous breeds, belgrade; [2]Bulgarian republican federation of cynology; [3]Faculty of veterinary medicine, Sivas, Turkey; [4]Faculty of forestry, University of Banja Luka, Republic of Srpska, BIH; [5]PKB Institute, Belgrade

Abstract

Bulgaria does not have an internationally recognized breed of dogs, but along in this path was went with the systematic work on scent hound breeds and Bulgarian shepherd dog. In order to standardize the Bulgarian shepherd dog, as native breed dogs in Bulgaria were conducted morphometric measurements of dogs of this breed, at the territory of Bulgaria.

This study was carried out morphometric evaluation of 12 exterior parameters in 80 dogs. The study population consisted of 36 males and 44 females of this breed. Age of dogs in study population ranged from 1-8 years. The following exterior parameters was measurement: height at the withers, back height, rump height, body length, head length, length of the skull, muzzle length, the width of the skull, muzzle width, depth of muzzle, chest size and scope of the pasterns.

The average height at the withers of males was 71.45 cm, while the interval of variation was from 66.50 to 76.50 cm. In females the average height at the withers is 70.06. Body length of males, is average, 79.02 cm and 74.85 cm in females. It has been found that in this parameter is a very statistically significant difference ($p < 0.01$) between the sexes. Head lenght in males is averaged 30.00 cm long, and the variation interval is from 26.00 to 34.00 cm with a coefficient of variation of 7.73 and a standard deviation of 2.32. In females the head is average long 28.08 cm with variation interval from 24.00 to 32.00 cm, and the coefficient of variation of 8.54. Between the sexes in this parameter, it was found that there was statistically significant ($p < 0.05$).

Bulgarian shepherd dog in a morphological sense, showing all the typical elements of the shepherds, molossoid dogs.

Keywords: morphometric measurement, standardization, shepherd, molossoids

УВОД

У циљу стандардизације бугарског овчарског пса, као аутохтоне расе паса у Бугарској, обављена су обимна морфометријска мерења паса ове расе, на територији Бугарске. До сада Бугарска нема међународно признату расу паса, а најдаље на том путу отишло се у систематском раду са гоничима и бугарским овчарским псом. Потребно је истаћи да се ова раса у бугарском језику назива „овчарско куче“, мада је по краниолошким карактеристикама молосоид, а овчарски пси су лупоиди. Као таква припада великој групи молосоида, који се према класификацији Међународне кинолошке федерације (ФЦИ) налазе у другој групи званичне систематизације раса. Осим разлике у краниологији молосоиди и лупоиди значајно се разликују и у начину и типу рада са стоком. Овом приликом задржан је назив ‚овчарски пас‘ пошто се у бугарској лингвистици не користи термин ‚пастир‘, што би више одговарало.

За потребе стандардизације ове расе утврђене су морфометријски параметри код 80 паса ове расе. Потребно је истаћи да бугарски овчарски пас у морфолошком смислу треба да показује све типичне елементе грађе тела пастирских, молосоидних, паса. Једна од тих особина је блага надграђеност тела.

У доступној литератури нема података о морфометријским параметрима ове расе паса. Постоје радови који се баве морфометријом пастирских паса других раса са подручја Балкана. Тако Урошевић и сарадници (1) саопштавају да просечна висина тела мужјака турског пастирског пса кангала износи 72,80 cm, а дужина тела 81,20 cm. Код женки је просечна висина тела 69,20 cm, а дужина тела 77,60 cm. Станковић (2) проучавајући грађу југословенског овчарског пса шарпланинца утврдио је да просечна висина гребена мужјака износи 62,87 cm, а код женки та вредност је била 60,75 cm. Дужина тела, на узорку од 67 паса, била је код мужјака, у просеку 68,78 cm, а код женки 68,45 cm. Урошевић и сарадници (3) утврдили су да је просечна висина гребена шарпланинца, на узорку од 75 паса, 60,90 cm, а дужина трупа 67,20 cm. Божиновски (4) утврђује да просечна висина гребена мужјака шарпланинца износи 67,70 cm, а женки 60,40 cm. Урошевић и Дробњак (5) саопштавају да код шарпланинаца, гајених у околини Београда, просечна висина гребена мужјака износи 70,03 cm, а женки 64,75 cm. Истраживањима краниолошких параметара, просечна дужина главе код турског пастирског пса кангала износи 28,79 cm, уз интервал варирања од 25 до 33 cm. Просечна дужина лобање је 17,34 cm, а њушке 11,52 cm. Однос између лобање и њушке је 60:40. Ширина лобање је просечно 16 cm, што је око 55% дужине главе. Ако упоредимо међусобан однос ширине лобање са њеном дужином, може се рећи да је лобања кангала приближно квадрат, и да стоје у односу 60:55. Ширина њушке је 8,35 cm, а дубина њушке 10,37 cm. Статистичка значајност између полова је била врло значајна ($p<0.001$) за средње вредности код свих мерених параметара, осим код дужине њушке где је вредност била значајна ($p<0.05$) (6).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

У овом истраживању извршено је морфометријско испитивање 12 екстеријерних параметара код 80 паса. Студијска популација обухватала је 36 мужјака и 44 женке расе бугарско овчарско куче. Старост паса испитиване популације се кретала од 1 до 8 година. Сви пси су узгајани на подручју у Софији, Пазарџику и Хаскову. Сви пси су поседовали родовнике издате од Бугарске кинолошке федерације. Извршена су мерења следећих екстеријерних параметара: висина пса у гребену, висина леђа, висина сапи, дужина тела, дужина главе, дужина лобање, дужина њушке, ширина лобање, ширина њушке, дубина њушке, обим груди и обим дошапља. Мерење висине је обављено Лудитиновим штапом, док је обим груди и дошапља мерен зоотехничком пантљиком, а дужине главе помичним мерилом са нониусом. Сва мерења је обавило једно лице, тако да је субјективна грешка сведена на минимум. Мерне тачке за параметре биле су следеће (7,8): висина паса мерена је од тла, вертикално преко лакатног зглоба до највише тачке на гребену, висина леђа од тла, вертикално до највише тачке на леђима, висина сапи је мерена од тла вертикално до највише тачке на сапима, дужина тела је мерена од предње ивице раменог зглоба до задње ивице седне кврге, обим грудног коша, иза лопатица, обим дошапља на дошапљу леве предње ноге, дужина главе мерена је од потиљне кврге до врха носне печурке, при чему се растојање од потиљне кврге до замишљене линије која спаја унутрашње очне углове сматра дужином лобање, а растојање од линије која спаја медијалне очне углове до врха носне печурке сматра се дужином носника. Ширина лобање мерена је на најширем делу лобање, испред ушију, ширина њушке мерена је на средини њушке, дубина њушке такође на средини њушке. Подаци су статистички обрађени у програму GraphPad Prism 5. Приказане су

средње вредности мерених параметара и индекса, максимална и минимална вредност, као и дескриптивни статистички параметри стандардна девијација, стандардна грешка и коефицијент варијације. Применом т-теста израчуната је статистичка значајност разлике мерених параметра између мужјака и женки.

Анализирани су и средње вредности индекса телесне развијености, и то: индекс формата, индекс надграђености, индекс масивности, индекс збијености трупа, индекс кошчатости, индекс главе, индекс лобање, индекс њушке. Индекси су израчунати према следећим формулама: индекс формата тела = (дужина тела/висина у гребену) x 100, индекс надграђености = (висина сапи/висина у гребену) x 100, индекс масивности = (обим грудног коша/висина у гребену) x 100, индекс кошчатости = (обим дошапља/висина у гребену) x 100, индекс збијености трупа = (обим груди/дужина тела) x 100, индекс главе = (дужина главе/висина у гребену) x 100, индекс лобање = (дужина лобање/дужина главе) x 100, индекс њушке = (дужина њушке/дужина главе) x 100, индекс ширине лобање = (ширина лобање/дужина главе) x 100 (7).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Просечна висина у гребену мужјака износила је 71,45 cm, док је интервал ваирања од 66,50 до 76,50 cm. Код женки просек висине у гребену је 70,06 cm, уз стандардну девијацију од 2.75. Мужјаци и женке бугарског овчарског пса су ниже у односу на кангала, где је просечна висина мужјака 72,80 cm, а женки 69 cm. Поредећи добијене просечне вредности висине бугарског ивчарског пса са вредностима висине шарпланинца из претходних истраживања, види се да је ова раса виша у гребену у односу на шарпланинца.

Висина леђа мужјака је у просеку 69,11 cm, а женки 67 cm. Из добијених резултата се може видети да постоји статистичка разлика ($p<0,05$) у висини леђа између полова. Интервал варирања висине сапи мужјака је од 66 до 78 cm, просечно 71,25 cm, а коефицијент варијације износи 4.76. Женке су просечно високе у сапима 68.56 cm. И код овог параметра постоји статистичка разлика ($p<0,05$) између полова.

Дужина тела мужјака је у просеку 79,02 cm, а код женки 74,85 cm. Утврђено је да код овог параметра постоји значајна статистичка разлика ($p<0,01$) између полова. Бугарско овчарски пас је правоугаоног формата теле где је дужина тела пса већа од 6 до 10% у односу на висину гребена. Ово је у сагласности са принципима грађе и код других пастирских паса, што је потврђено и у резултатима истраживања код шарпланинца и кангала.

Интервал варирања код обима груди доста је велики код мужјака и код женки. Код мужјака је од 71 до 94 cm, уз коефицијент варијације од 7,82, а код женки од 70 до 92 cm, са кеофицијентом варијације 7,84. Просечна вредност обима дошапља мужјака је 15,73 cm, а стандардна девијација 1.68, док је обим дошапља женки просечно 14.42 cm, а за овај параметер није утврђена статистичка значајност ($p>0,05$) између полова.

Глава мужјака просечно је дуга 30 cm, а интервал варирања је од 26 до 34 cm, са коефицијентом варијације 7,73 и стандардном девијацијом од 2,32. Код женки, глава је просечно дуга 28,08 cm, уз интервал варирања од 24 до 32 cm, а коефицијент варијације 8,54. Између полова код овог параметра је утврђено да постоји статистичка значајност ($p<0,05$). Дужина лобање код мужјака је просечно 17,77 cm, а дужина њушке 11,29 cm. Код женки лобања је у просеку дуга 17,07 cm, а њушка 10,50 cm. Ширина лобање је код мужјака варирала од 11,60 до 19 cm, а код женки од 10 до 18 cm. Код турског пастирског пса кангала просечна дужина главе је 28,79 cm, уз интервал варирања од 25 до 33 cm. Просечна дужина лобање је 17,34 cm, а њушке 11,52 cm. У односу на кангала, интервал варирања код ове расе је исти, с тим што су минималне и максималне вредности веће за по 1 cm. Код обе расе утврђена је статистичка значајност између полова код дужине главе, што нам указује да постоји полни диморфизам код ове расе.

Табела 1. Вредности измерених параметара и њихова значајност између полова

Параметар	Пол	N	Min	Max	CV	Sg	$\overline{xx} \pm SD$	t
Висина гребена	М	36	66.50	76.50	4.03	0.64	71.45±2.88	
	Ж	44	66.00	74.00	3.93	0.66	70.06±2.75	1.49^{ns}
	Тотал	80	66.00	76.50	4.05	0.47	70.81±2.87	
Висина леђа	М	36	64.00	74.00	4.23	0.67	69.11±2.92	
	Ж	44	63.00	72.00	4.40	0.73	67.00±2.95	2.14*
	Тотал	80	63.00	74.00	4.52	0.52	68.14±3.08	
Висина сапи	М	36	66.00	78.00	4.76	0.78	71.25±3.39	
	Ж	44	65.00	74.00	3.97	0.66	68.56±2.71	2.57*
	Тотал	80	65.00	78.00	4.76	0.56	69.94±3.32	
Дужина тела	М	36	71.50	90.00	6.53	1.10	79.02±5.16	
	Ж	44	68.00	82.00	5.78	0.96	74.85±4.32	2.82**
	Тотал	80	68.00	90.00	6.72	0.79	77.04±5.17	
Обим груди	М	36	71.00	94.00	7.82	1.36	83.48±6.52	
	Ж	44	70.00	92.00	7.84	1.25	81.54±6.39	1.04^{ns}
	Тотал	80	70.00	94.00	7.83	0.92	82.45±6.46	
Обим дошапља	М	36	13.00	18.00	10.67	0.51	15.73±1.68	
	Ж	44	11.00	17.00	13.38	0.55	14.42±1.92	1.73^{ns}
	Тотал	80	11.00	18.00	12.59	0.39	15.04±1.89	
Дужина главе	М	36	26.00	34.00	7.73	0.62	30.00±2.32	
	Ж	44	24.00	32.00	8.54	0.66	28.08±2.39	2.11*
	Тотал	80	24.00	34.00	8.63	0.48	29.07±2.51	
Дужина лобање	М	36	15.50	20.00	7.59	0.40	17.77±1.34	
	Ж	44	14.00	20.00	10.95	0.48	17.07±1.87	1.06^{ns}
	Тотал	80	14.00	20.00	9.66	0.39	17.37±1.67	
Дужина њушке	М	36	9.00	13.00	11.24	0.36	11.29±1.27	
	Ж	44	7.00	13.00	16.84	0.49	10.50±1.76	1.27^{ns}
	Тотал	80	7.00	13.00	14.43	0.31	10.88±1.57	
Ширина лобање	М	36	11.60	19.00	16.16	0.73	15.01±2.42	
	Ж	44	10.00	18.00	17.45	0.68	14.15±2.47	0.85^{ns}
	Тотал	80	10.00	19.00	16.74	0.49	14.55±2.43	
Ширина њушке	М	36	6.50	10.00	15.40	0.40	7.91±1.21	
	Ж	44	5.50	9.00	15.34	0.33	7.54±1.15	0.71^{ns}
	Тотал	80	5.50	10.00	15.17	0.25	7.70±1.16	
Дубина њушке	М	36	8.50	13.00	13.81	0.47	10.90±1.50	
	Ж	44	7.50	12.00	13.51	0.40	9.90±1.33	1.59^{ns}
	Тотал	80	7.50	13.00	14.20	0.32	10.38±1.47	

ns – нема статистичке разлике ($p>0,05$); * - постоји статистичка разлика ($p<0,05$);
** - постоји значајна статистичка разлика ($p<0,01$)

Коефицијент варијације за овај параметар код мужјака је 16,16, а код женки 17,45. Просечна ширина њушке женки је 7,54 cm, уз стандардну девијацију од 1,15, док је дубина њушке просечно 9,90 cm, са стандардном грешком 0,36. Код мужјака њушка је у просеку широка 7,91 cm, а дубока 10.90 cm, уз стандардну девијацију од 1,50. У табели 1, приказане су вредности статистичких вредности мерених параметара за оба пола збирно, као и раздовјено за мужјаке и женке. Приказане су утврђене статистичке разлике међу половима за дате параметре.

У табели 2 се налазе просечне вредности израчунатих индекса приказаних посебно за мужјаке и женке, као и за оба пола збирно. Индекс формата тела код мужјака је 110,70, а код женки 106,83. Код мужјака индекс надграђености је 99,72, а код женки 97,85 - што значи да ови пси нису надграђени. Надграђеност је једна од карактеристика пастирских паса. У овом случају бугарски овчарски пси нису надграђени, што није услучај са осталим пастирским псима који су до сада описани на Балкану. Вредност индекса масивности код мужјака је 116,83, а код женки 116,38. Индекс кошчатости мужјака је 22,01. Овај индекс кошчатости показује да су бугарски овчарски пси снажног костура. Када посматрамо индекс збијености трупа он је код женки већи и износи 108,93, док је код мужјака 105,64. Индекс главе мужјака је 42,00, а код женки 40,07. Овај индекс је у сагласности са принципима и карактеристикама грађе пастирских паса. Њушка је краћа од лобање и код мужјака ови индекси стоје у односу 41:59, а код женки 39:61. Индекс ширине лобање је исти и код оба пола износи 50,00. Краниолошки параметри индекса показују да су бугарски овчарски пси типични молосоиди и да припадају великој групи молосоидних пастирских паса.

Табела 2. Средње вредности израчунатих индекса

Параметар	**Пол**	**N**	$\overline{xx}$ **вредност (%)**
Индекс формата тела	М	36	110.70
	Ж	44	106.83
	Тотал	80	108.80
Индекс надграђености	М	36	99.72
	Ж	44	97.85
	Тотал	80	98.77
Индекс масивности	М	36	116.83
	Ж	44	116.38
	Тотал	80	116.43
Индекс кошчатости	М	36	22.01
	Ж	44	20.58
	Тотал	80	21.23
Индекс збијености трупа	М	36	105.64
	Ж	44	108.93
	Тотал	80	107.00
Индекс главе	М	36	42.00
	Ж	44	40.07
	Тотал	80	41.05
Индекс лобање	М	36	59.00
	Ж	44	61.00
	Тотал	80	60.00
Индекс њушке	М	36	41.00
	Ж	44	39.00
	Тотал	80	40.00
Индекс ширине лобање	М	36	50.00
	Ж	44	50.00
	Тотал	80	50.00

ЗАКЉУЧАК

Сумирајући резултате овог истраживања може се рећи да бугарски овчарски пас по својој грађи одговара по скоро свим параметрима грађи молосоидних пастирских паса. Једина особина која одступа од принципа грађе пастирских паса је надграђеност, односно да су сапи више од грбена, што је карактеристично за пастирске псе. По свом формату тела ова раса је правоугаоног формата и дужина тела је већа за 6 до 10% у односу на висину гребена. Међу половима постоји статистичка значајност у вредности мерених параметара и то нарочито код висине леђа, висине сапи, дужине тела и дужине главе. Добијени подаци дају допринос будућој стандардизацији ове расе.

***Захвалница**: Овај рад је настао у склопу пројекта „Израда зоотехничке студије за бугарског овчарског пса“, кога је реализовао Центар за очување аутохтоних раса.*

ЛИТЕРАТУРА:

1.Урошевић М., Дробњак Д., Ограк Y., 2012, Формат тела турског пастирског пса кангала. Агрознање, 13, 2, 209-21, 2. Станковић Д., 1967м Југословенски овчарски пас - шарпланинац - особине и употребна вредност. Војноветеринарски зборник, 1, 60-71. 3. Урошевић М., Латиновић Д., 1987, Фенотипска варијабилност важнијих својстава телесне грађе шарпланинца. Зборник кратких садржаја саветовања о шарпланинцу. Попова Шапка, 17. 4. Божиновски П., 1984, Одлики на шарпланинецот во СР Македонија. Македонски ветеринарски преглед, XIII, 2, 51-3, 5. Урошевић М., Дробњак Д., 2011, Промена појединих екстеријерних параметара код југословенског овчарског пса - шарпланинца као последица гајења у урбаној средини, 22. Симпозијум ветеринара Србије са међународним учешћем, Златибор, Зборник радова, 323-9, 6. Урошевић ММ., Дробњак Д., Озканал У., Ограк Y., Емина Умран Бозкурт, Матаругић Д., Ерат С., Матејевић М., Урошевић БМ., 2014, Варијабилност морфометријских параметара главе турског пастирског пса кангала, Зборник кратких садржаја 3. Међународног симпозијума и 19. Научно-стручног саветовања агронома Републике Српске, Требиње, 65-6. 7. Дробњак Д., Матић В., Милијевић Д., 2010, Екстеријер паса основе процене, Типо Штампа, Београд, Србија. 8. Atasoy F., Ünal N., Kanlı O., Yakan A., 2005,Damızlık Kangal köpeklerinde canlı ağırlık ve bazı vücut ölçüleri. Lalahan Hay. Arşt . Enst. Derg., 45(1): 33-9.

Пленарни радови

---

8. ЗАСЕДАЊЕ

1. ГМО У ЛАНЦУ ПРОИЗВОДЊЕ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА

2. ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ АЛЕРГЕНА У ЛАНЦУ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА

3. COXIELLA BURNETII - СТАРИ НОВИ ЗООНОТСКИ АГЕНС ПРЕНОСИВ ХРАНОМ

4. УТИЦАЈ ТЕХНОЛОШКИХ ПОСТУПАКА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ АФЛАТОКСИНА М1 У МЛИЈЕЧНИМ ПРОИЗВОДИМА

5. УТИЦАЈ УЗРОЧНИКА МАСТИТИСА НА ХИГИЈЕНСКУ ИСПРАВНОСТ МЛЕКА

6. ПРЕВЕНТИВНИ АНТИМИКРОБНИ ТРЕТМАНИ НА ФАРМАМА ГОВЕДА У ЦИЉУ СМАЊЕЊА КОНТАМИНАЦИЈЕ МЕСА У КЛАНИЦАМА И КОНСЕКВЕНТНОГ ТРОВАЊА ЉУДИ ХРАНОМ

ГМО У ЛАНЦУ ПРОИЗВОДЊЕ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА

Бранко Велебит, Бранкица Лакићевић, Бранка Боровић

Институт за хигијену и технологију меса, Београд

Кратак садржај

Генетски модификовани организми (ГМО) данас се све више користе у биологији и медицини за потребе истраживачких студија, производње вакцина, хормона и ензима, у развоју модела болести, али у највећој мери се користе за производњу хране. Животиње конзумирају огромну већину сирових или прерађених ГМ биљних култура, док само 2% укупне производње ГМО доспева директно у ланац исхране људи. У овом раду расправља се о статистичким показатељима производње ГМО у свету, о еколошкој користи од појединих ГМ биљних култура, о смањењу употребе класичних пестицида, о законским аспектима, означавању, као и улози регулаторних тела у безбедности коришћења ГМО. Поред тога, анализира се коришћење маркер гена у производњи ГМО који доприносе хоризонталном ширењу антибиотске резистенције, а описане су најчешће ГМ домаће животиње и користи које од њих има људска популација. Коначно, приказани су и резултати нових истраживања о судбини трансгене ДНК, након дигестије у желуцу и цревима животиња, као и промене у метаболизму ткива и органа код животиња храњених ГМО храном.

*Кључне речи***:** ГМО, храна, животиње

GMO IN THE CHAIN OF FOOD OF ANIMAL ORIGIN

Branko Velebit, Brankica Lakićević, Branka Borović

Institute for meat hygiene and technology, Belgrade

Abstract

Genetically modified organisms (GMO) nowadays are being increasingly used in biology and medicine for the purposes of genetic research studies, production of vaccines, hormones and enzymes, in disease modeling but to the greatest extent in food production. Vast majority of GM crop plants is being consumed raw or processed by animals while just 2% of entire GMO production directly enters in human food chain. In the paper world production statistics, benefits of some GM crops in reducing waste and agrochemical use in agriculture, as well as legal requirements, labeling and the roles of regulatory bodies in ensuring that GM crops and food are safe are discussed. Also the use of antibiotic resistance marker genes, the overview of GM farm animals and the relative safety of GM and risks are considered. Finally, results of current studies on transgenic DNA fate after digestion and GMO-induced metabolism fluctuations in tissue and organs of animals who have been GMO fed are rounded up.

Keywords: GMO, food, animals

УВОД

Упркос глобалној забринутости у погледу коришћења генетски модификоване хране и усева, употреба генетски модификованих организама (ГМО) у узгоју домаћих животиња континуирано расте. Од увођења прве комерцијалне ГМО биљне културе 1996. године, величина површина под ГМО биљкама до краја 2012. године порасла је са почетних 1,7 милиона хектара на преко 170 милиона хектара, тако да данашње површине под ГМО усевима заузимају око 10% укупног светског обрадивог тла (1).

За комерцијалну производњу широм света одобрено је укупно 8 трансгених биљних култура: соја, кукуруз, памук, уљана репица, шећерна репа, док биотехничка индустрија врши притисак на коришћење ГМ пиринча, парадајза и јабука, односно у САД-у на комерцијални узгој трансгене папаје, тиквица и луцерке.

У 2012. години, 97% укупних светских ГМ биљних усева узгајано је у само 8 земаља (САД, Бразил, Аргентина, Канада, Индија, Кина, Парагвај и Јужноафричка Република), док је 76,3% светске производње трансгених биљака произведено у САД, Бразилу и Кини (1).

У иступима група које подржавају коришћење ГМО као јединог начина за обезбеђење хране за брзорастућу светску популацију, сакривена је чињеница да само 2% ГМО биљних култура доспева директно у ланац исхране људи. Огромни остатак трансгене хране одлази у ланац исхране домаћих животиња, било као класични ГМО усеви, било као остаци прерађених биљака. САД, Кина и Бразил су не само светски лидери у узгоју трансгених биљака, већ и велики произвођачи хране за животиње, па је отуда оправдано и сумњати да храна за животиње пореклом из ових земаља, садржи у значајној мери и трансгене биљке (1).

У погледу удела трансгених биљака у компонентама хране за животиње, 94% америчког сојиног брашна потиче од ГМ соје, 88% америчког и бразилског кукуруза је генетски модификовано, 97,5% брашна уљане репице, пореклом из Канаде (највећег светског произвођача репице), такође је генетски модификовано, итд.

Означавање ГМО

Обавеза декларисања ГМО у храни прописана је у 64 земље света. Неке земље, као што су чланице ЕУ, Бразил и земље Латинске Америке у обавези су и да декларишу ГМО статус хране за животиње. Ово је посебно занимљиво за Бразил, који иако један од највећих светских произвођача ГМО, даје својим грађанима право на информацију и доношење одлука у случајевима када храна за животиње садржи ГМО. Остале земље, које не прописују обавезно декларисање ГМО хране за животиње, омогућавају да ГМО постане скривен део ланца исхране и директно су одговорне за настанак правног "*circulus vitiosus*", тј. тамо где ГМО декларација није истакнута на производима анималног порекла (месо, млеко и јаја) пореклом од животиња узгајаних на ГМО храни, огромна количина ГМО буде неопажено конзумирана у хуманој популацији. Поред тога, обавеза декларисања ГМО у храни и храни за животиње у САД не постоји, већ је свест потрошача који желе да избегну ГМО орјентисана ка потражњи за производима декларисаним као "органски", а однедавно се траже и сертификовани "нон-ГМО" месо, производи од млека и јаја.

Развој трансгених организама

Први експерименти са гајењем трансгених биљних култура отпорних на инсекте започети су 80-их година прошлог века. До тог периода, биљне културе су, преко 50 година, биле третиране различитим формулацијама бактерије *Bacillus thuringiensis* (Bt) за коју се већ знало да синтетише токсин са инсектицидним својствима према артроподама које се исхрањују лишћем биљке. Сврха огледа била је покушај смањења трошкова производње (смањењем коришћења синтетичких инсектицида)

и повећање приноса. У даљем току развоја, научници су покушали да у трансгеним биљкама обезбеде да свака ћелија понаособ синтетише једнаке количине токсина. Нажалост, униформност у експресији трансгених особина, до данас није постигнута. Карактеристичан пример за ову појаву је "Bt кукуруз", који у *in vivo* условима пољског начина узгоја, током година, знатно варира у погледу приноса и квалитета. Разлози су неједнака дистрибуција токсина у различитим деловима биљке током раста, популационе варијације циљне групе инсеката, али и акумулација токсина у инсектима, што је узроковало смрт предатора или паразита који се хране овим инсектима.

Већина међупроизвода као и молекуларно-биолошких техника које омогућавају развој и одрживу производњу трансгених организама интелектуално је власништво приватног сектора. Као последицу, научници из јавног сектора (нарочито у земљама у развоју) имају ограничене капацитете за развој побољшаних сојева биљака или животиња, укључујући и ГМО који би могли да помогну у превазилажењу локалних или националних рестрикција.

Последњих година расте број производа који су развијени из ГМО и који су постали доступни за јавну употребу. У Табели 1 су приказани ГМО биљног и животињског порекла, који су доступни на тржишту или су у развоју.

Табела 1. Доступни ГМО производи

ГМО	**Модификација**	**Извор гена**	**Сврха генетске модификације**	**Примарни корисници**
Кукуруз	Отпорност на инсекте	*Bacillus thuringiensis*	Смањење штете од инсеката	Фармери
Соја	Толеранција на хербицид Глупхосате	*Agrobacterium tumefaciens, Streptomyces* spp.	Боља контрола над коровом	Фармери
Памук	Отпорност на инсекте	*Bacillus thuringiensis*	Смањење штете од инсеката	Фармери
Escherichia coli К12	Синтеза химозина	Крава	Појефтињење производње сира	Прерађивачи и потрошачи
Уљана репица	Измењен састав масних киселина	*Umbellularia californica*	Побољшан квалитет уља	Потрошачи
Шљива	Отпорност на вирусе	Рох вирус	Побољшан принос и квалитет	Воћари
Пиринач	Експресија бета каротена	Нарцис, *Erwina* spp.	Додавање микронутријената	Потрошачи оболели од хиповит. А
Лосос	Хормон раста	Арктички лосос	Побољшан раст	Узгајивачи риба
Овца	Експресија антитела у млеку	*Homo sapiens*	Фортификовано млеко	Потрошачи
Кукуруз	Орална вакцина за пилиће	Вирус *Newcastle* болести	Индуковање имуног одговора	Фармери

Развој трансгених организама временом се проширио и на оне организме за које се сматрало да могу бити корисни за произвођаче хране и ланце малопродаје. Тако је 1994. године у САД пуштен у продају ГМ парадајз под називом "Флавр Савр" (2). То је био први ГМ производ који је уведен на тржиште свеже хране, спремне за употребу, а чије су особине биле успорено сазревање и пролонгирана одрживост. Овај

производ омогућавао је дистрибутерима дуже време неопходно за транспорт, прилику за механичко убирање плодова парадајза са минималном појавом дисколорација на местима нагњечења. Потрошачима је, пак, давао могућност избора, јер од тада нису морали да купују парадајз који је убран док је још зелен, па накнадно третиран етиленом ради бржег сазревања. Међутим, ГМ парадајз је временом показао и негативне особине, јер је хемијски састав потпуно промењен, укус је постао стран потрошачима, а кожица је постала претанка. Као последицу, «Флавр Савр» повучен је са тржишта свеже хране, али се и даље користи у прерађеним производима од парадајза (сосови, пелати итд.). Овај случај је и био иницијална каписла у развоју перцепције ГМО код потрошача и дистрибутера, тако да је поверење потрошача у безбедан производ однело превагу над краткорочним бенефитима које ГМ производи доносе.

Трансгене домаће животиње

Трансгене животиње су генетски модификоване животиње, тако да је технологијом рекомбинантне ДНК у нативни геном убачен један или више гена страних врста или је, пак, један или више гена избачено из сопственог генома. Прве експерименталне ГМ животиње (овца, свиња, зец) произведене су 1985. године (3), а до данас је произведено око 50 врста трансгених животиња. Сврха производње трансгених животиња је двојака: производња хране-која обухвата животиње модификоване тако да побољшавају економски важна својства (раст, квалитет меса, конверзија хране, лактација, састав млека, резистенција на маститис), односно животиње трансформисане тако да производе специфичне супстанце у свом млеку, крви и јајима.

Од домаћих животиња, свиња је најчешће коришћена за добијање економских трансгених особина. Првим огледима је техником микроинјекције пилеће ДНК (ген који кодира синтезу *Sloan-Kettering* протеина) у живу ћелију (соматску или ооциту) пренет ген за хормон раста, што је резултирало рађањем прасади која су имала већу мишићну масу, већи проценат кртог меса, док је истовремено стопа уноса хране по килограму произведеног меса била знатно мања (4,5). Услед стимулације инсулинског фактора раста, као медијатора у метаболизму хормона раста, ове свиње имале су знатно мању количину масног ткива у односу на немодификоване свиње. У недавно завршеном пројекту «*Enviropig*» у геном свиња расе Јоркшир пренет је ген за синтезу ензима фитазе, тако да су ове ГМ свиње активно лучиле фитазу у пљувачки, што је допринело максималној искористивости фосфора из зрна соје и житарица, док се у измету свиња налазило 60% мање фосфата него у измету немодификованих животиња. Ово је резултирало и еколошким ефектом, јер би код узгоја такве ГМ свиње требало за 30% мање земље за одлагање осоке, мања је емисија угљен диоксида, а мањи је и одлив фосфора у земљиште.

Током 1998. године у ДНК свиње додат је ген за синтезу говеђег α-лактоалбумина са циљем повећања количине новосинтетисаног лакталбумина у млеку крмача дојара, како би се повећала маса и смањила смртност прасади на сиси (6). У 2004. години развијена су трансгена прасад која су носила гене за синтезу незасићених масних киселина, есенцијалног фактора у исхрани сисара. Ова прасад показала су се отпорном на појаву атеросклерозе и коронарних болести срца (7).

Трансгене овце користе се доминантно за синтезу млека које садржи хумана антитела, док се у фармском узгоју користе трансгене животиње са повећаном количином вуне, односно животиње резистентне на поједине болести (*Maedi Visna*, лентивирусна пнеумонија, артритис и енцефалитис). Овце које су претрпеле рекомбинацију гена за прион протеин, не обољевају од спонгиоформних енцефалопатија (8,9). Поред тога, трансгене овце које садрже мишје алфа и капа имуноглобулине против гликополисахарида (фосфорилхолина) у ћелијском зиду бактерија, омогућавају овцама развој резистенције ка настанку болести (10).

Трансгени пилићи махом су произведени ради повећања резистентности на болести, побољшања искористивости хране и, са слабим успехом, повећања раста. Пилићи, због генетске грађе, не могу ефикасно да разлажу лактозу из хране за животиње на глукозу и галактозу, па им је експериментално убачен lacZ ген *Escherichia coli* за синтезу β-галактозидазе. Производни резултати показали су повећану ресорпцију калцијума, редукцију остеопорозе, али и јачање чврстине љуске јајета (11).

Трансгена говеда обично се производе ради коришћења у фармацеутској индустрији и као модел животиње за испитивање болести људи. Међутим, у последњих неколико година, расте интерес биотехничких компанија за производњу трансгених говеда са побољшаним квалитетом млека и отпорношћу ка болестима вимена. Прва трансгена говеда користила су се за синтезу млека са повећаном количином бактерицидног протеина - лизозима. У природном крављем млеку концентрација лизозима који штити новорођенчад од инфекција изразито је ниска. У погледу квалитативних особина, као што су концентрација лактозе, укупни протеини и маст, ГМ млеко није показивало значајна одступања од немодификованог млека (12). Поред тога, започела су испитивања (13) млека трансгених крава којима је убачен ген за синтезу н-3 полинезасићених масних киселина које су корисне за здравље људи, док је избачен природни ген за синтезу н-6 полинезасићених масних киселина (у корелацији са карциногеним променама, кардиоваскуларним обољењима и душевним поремећајима).

С обзиром да је лечење маститиса главни узрок економских губитака у производњи млека, више пута научна заједница покушала је да применом рекомбинантних техника учини виме отпорнијим на узрочнике супклиничких маститиса. Током 2005. године произведено је трансгено говедо које је у млечној жлезди синтетисало лизостафин, моћну антибактеријску супстанцу, која је кочила инфекцију узроковану *Staphylococcus aureus*-ом, док је последично у млеку опао број соматских ћелија (14).

Ризици и контроверзе око коришћења ГМ хране

Европска агенција за безбедност хране је 2007. године објавила да до сада, ни у једном органу животиња храњених ГМ храном, није пронађена секвенца рекомбинантне ДНК (15). На основу овог мишљења, већи број ГМ производа одобрен је за употребу у исхрани људи. Међутим, то није ублажило сумње и питања јавности који се односе на могућности детекције трансгених биљних гена, трансгених протеина у ткиву животиња, као и могућој алергености и токсичности ГМ биљних култура. Поред тога, поједини истраживачи публиковали су резултате испитивања који указују да је ипак могуће детектовати фрагменте рекомбинантне биљне ДНК након дигестије у желуцу и танком цреву (16,17,18). Апсорпција биљне ДНК преко цревно-крвне баријере је физиолошки догађај. Laudadio и сарадници (19) су спровели експерименталну студију о судбини фрагмената биљне ДНК, њиховој акумулацији у ткивима и органима животиње која конзумира храну и њеном потомству. Њихови резултати су показали да је могуће доказати присуство секвенце ДНК из хлоропласта у ткивима, али ниједан трансгени фрагмент није пронађен у крви или ткиву јагњета храњеног овчијим млеком.

Malatesta и сарадници (20) су 2008. године извели експеримент у коме су хранили мишеве ГМ сојом. Резултати ове студије показали су да код мишева храњених ГМ сојом долази до поремећаја метаболизма хепатоцита, појачане синтезе протеина стрес-одговора, као и појачане синтезе протеина калцијум-зависне међућелијске комуникације у поређењу са контролном групом храњеном немодификованом сојом. Поред тога, откривено је да је у експерименталној групи дошло до деформације митохондрија и једра ћелија, уз проширење пора, што је указивало на појачан ћелијски метаболизам.

Tudisco и сарадници (21) 2010. године су објавили резултате веома детаљне и научно утемељене студије о утицају ГМ хране на анатомско-физиолошке функције

козе и јарића. Њихови резултати показују да исхрана коза ГМ сојом не утиче на промену величине јетре, бубрега, скелетних мишића, слезине и срца. Што се тиче судбине фрагмената ДНК и могућности њихове детекције у животињским ткивима и органима, фрагменти биљне ДНК могу да, у одређеној мери, остану интактни након дигестије. Они, такође, могу да се преносе преко крви (вероватно и млека), што је и доказано налазом ових фрагмената у ткивима и органима новорођених животиња. Налаз малих ДНК фрагмената трансгених секвенци изразито је редак случај, али у контролисаним условима могуће их је открити у органима јарића, јагњића и зечева (17,18,22). У леукоцитима из млечне жлезде крава храњених ГМ сојом могуће је детектовати трансгену секвенцу, али исту није било могуће открити у самом крављем млеку, тј. у млеку је могуће открити само секвенцу ДНК из хлоропласта и то због несразмерно већег броја копија биљних гена у односу на гене за ГМ (23). Детекција ГМ секвенце у органима и ткивима животиња, сама по себи не оправдава јавне сумње у погледу конзумирања животиња које су храњене ГМ храном.

У погледу биохемијских промена у организму током конзумирања трансгене хране, уочено је да су нивои аспартат аминотрансферазе (АСТ) и аланин аминотрансферазе (АЛТ) нижи, али су и даље остали у физиолошким границама, па отуда овај налаз нема клинички значај. Међутим, у крви јарића који су сисали млеко коза храњених ГМ сојом, опажен је значајан пораст концентрације лактат дехидрогеназе (ЛДХ) у срцу, бубрезима и скелетним мишићима, што је указивало на повећану синтезу ензима. С обзиром да је ЛДХ одговоран за фаворизовање реакције лактат-пируват, појачана синтеза ензима могла би указивати на повећање интензитета општег метаболизма. Исти резултати опажени су и код зечева (21,24).

Посматрајући резултате ових студија, може се закључити да не постоје научни докази да локални пораст метаболизма ЛДХ може бити штетан по здравље људи и животиња. Наравно, свака промена метаболизма треба бити узета у обзир када су у питању дугорочне промене и акумулација фрагмената трансгених секвенци.

Од посебног значаја за даља истраживања утицаја ГМО је и питање да ли је исхраном трансгеним производима могућ трансфер резистенције према антибиотицима (АМР). Наиме, поједини маркер гени који се користе за котрансформацију таргет гена код свог донора кодирају и елементе антимикробне резистенције (нарочито на канамицин и ампицилин), па постоји могућност да мали фрагменти ДНК након пасаже цревно-крвне баријере доспевају у организам или у другом случају микробиота у цревима, локално, путем хоризонталног трансфера, стиче гене за АМР.

До данас, храна пореклом од трансгених животиња није добро прихваћена од стране потрошача. Анкете континуирано показују да јавно мњење више прихвата трансгене биљке него трансгене животиње. Експериментисање са животињама и вршење промена слабо је прихваћена пракса, а има и шире импликације, јер различите културе и религије ограничавају или забрањују конзумирање појединих производа анималног порекла.

ЛИТЕРАТУРА:

1. http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/44/executivesummary/default. 2. http://www.genome.gov. 3. Hammer, RE., Pursel VG., Rexroad Jr. CE, Wall RJ., Bolt DJ, Ebert KM, Palmiter RD, Brinster RL, 1985, Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. Nature (UK) 315, 680-3. 4. Nottle MB, Nagashima H, Verma PJ, et al., 1999, Meeting on the Application of Transgenic Animals for Use in Production AgricultureLocation: TAHOE CITY, CA. In: Murray, JD, Anderson GB, Oberbauer, AM (Eds.), Transgenic Animals in Agriculture, 145-6. 5. Pursel VG, Wall RJ, Mitchell AD,

Elsasser TH, Solomon MB, Coleman ME, DeMayo F, Schwartz RJ, 2004, Expression of insulin-like growth factor-I in skeletal muscle of transgenic swine. Anim Biotechnol. 2004;15(1):33-45. 6. Bleck GT, White BR, Miller DJ, Wheeler MB, 1998, Production of bovine alpha-lactalbumin in the milk of transgenic pigs. J. Anim. Sci. 76, 3072-8. 7. Saeki K, Matsumoto K, et al, 2004. Functional expression of a Delta12 fatty acid desaturase gene from spinach in transgenic pigs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 6361-6. 8. Clements JE, Wall RJ, et al, 1994, Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. Virology (New York) 200, 370-80. 9. Denning C, Burl S, et al, 2001. Deletion of the alpha(1,3)galactosyltransferase (GGTA1) gene and the prion protein (PrP) gene in sheep. Nat. Biotechnol. 19, 559-62. 10. Lo D, Pursel V, Linton PJ, Sandgren E, Behringer R, Rexroad C, Palmiter RD, Brinster RL, 1991, Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. Eur. J. Immunol. 21, 1001-6. 11. Mozdziak PE, Pophal S, Borwornpinyo S, Petitte JN, 2003, Transgenic chickens expressing beta-galactosidase hydrolyze lactose in the intestine. J. Nutr. 133, 3076-9. 12. Yang B, Wang J, et al, 2011, Characterization of bioactive recombinant human lysozyme expressed in milk of cloned transgenic cattle. PLoS One 6 (3): e17593. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0017593. 13. Wu X, et al, 2012, Production of cloned transgenic cow expressing omega-3 fatty acids. Transgenic Res. 21, 537-43. 14. Wall RJ, et al, 2005, Genetically enhanced cows resist intramammary Staphylococcus aureus infection. Nature Biotechnology 23:445-51. 15. EFSA 2007. Statement on the fate of recombinant DNA or proteins in meat, milk and eggs from animals fed with GM feed. Retrieved July 19, 2007, from http://efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale. 16. Nemeth A, Wurz A, Artim L, Charlton S, Dana G, Glenn K, Hunst P, Jennings J, Shilito R and Song P, 2004, Sensitive PCR analysis of animal tissue samples for fragments of endogenous and transgenic plant DNA. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52, 6129-35. 17. Mazza R, Soave M, Morlacchini M, Piva G and Marocco A, 2005, Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. Transgenic Research 14, 775-84. 18. Sharma R, Damgaard D, Alexander TW, Dugan MER, Aalhus JL, Stanford K and McAllister TA, 2006, Detection of transgenic and endogenous plant DNA in digesta and tissues of sheep and pigs fed Roundup Ready canola meal. Journal of Agricultural Food Chemistry 54, 1699-709. 19. Laudadio V, Petrera F, Tudisco R and Infascelli F, 2006, Genetically modified soya bean in sheep feeding: detection of DNA fragments in suckling lambs. Proceedings of 12th AAAP Animal Science Congress, 18–22 September, Bexco, Busan, Corea, 3-6. 20. Malatesta M, Boraldi F, Annovi G, Baldelli B, Battistelli S, Biggiogera M and Quaglino D, 2008, A long-term study on female mice fed on a genetically modified soybean: effects on liver ageing. Histochemistry and Cell Biology 130, 967-77. 21. Tudisco R, Mastellone V, Cutrignelli MI, Lombardi P, Bovera F, Mirabella N, Piccolo G, Calabro S, Avallone L and Infascelli F, 2010, Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings. Animal 105, 1-10. 22. Chowdhury, E.H., Kuribara, H., Hino, A., Sultana, P., Mikami, O., Shimada, N., Guruge, K.S., Saito, M., Nakajiama, Y., 2003, Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. J. Anim. Sci. 81:2546-51. 23. Klotz A and Einspainer R, 1998, Detection of "novel-feed" in animals? Injury of consumers of meat and milk is not expected. Mais 3, 109-11. 24. Malatesta M, Caporaloni C, Gavaudan S, Rocchi MB, Serafini S, Tiberi C and Gazzanelli G, 2002, Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical analyses of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean. Cell Structure and Function 27, 173-80.

ЗНАЧАЈ КОНТРОЛЕ АЛЕРГЕНА У ЛАНЦУ ХРАНЕ ЖИВОТИЊСКОГ ПОРЕКЛА

Весна Матекало-Сверак, Весна Јанковић, Данка Спирић

Институт за хигијену и технологију меса, Београд

Кратак садржај

Значај контроле алергена у ланцу хране животињског порекла произилази из чињенице да је преваленца за алергију изазвану храном у Европи око 3 до 4% и за децу и за одрасле. Присуство компонената које су, према светским и нашим прописима, означене као алергени, морају се на декларацији хране видно означити. У раду су дати резултати испитивања која несумњиво указују на важност перманентне контроле полупроизвода од меса на присуство недозвољених сулфита. У току 2012. године, сулфити су у овој групи производа од меса били присутни у 32,9% испитаних узорака, док је у току 2013. и првих 6 месеци 2014. године број значајно смањен и износио је 14,2% у свим испитаним узорцима. У производима од меса који се најчешће конзумирају, а који су узети са тржишта, лабораторијским испитивањима је утврђено да 15% финоуситњених барених кобасица, 5% конзерви од меса и 15% паштета од испитаних узорака, садржи сојине беланчевине које нису на декларацији назначене, а што представља потенцијалну опасност за људе који су алергични на сој. Такође, утврђено је и присуство глутена у бареним кобасицама и паштетама, а да на декларацији производа присуство глутена није уопште назначено. Имајући у виду да унос одређених алергена код одређене популације може да доведе до великих здравствених проблема, па чак и до смрти, присуство потенцијалних алергена у производима од меса се мора редовно контролисати, што представља најважнију меру у контроли безбедности хране анималног порекла. Поред редовне контроле, едукација произвођача, а поготово оних мањих, је неопходна и хитна мера коју треба спровести.

Кључне речи: производи од меса, алергени, беланчевине соје, глутен, сулфити

SIGNIFICANCE OF ALLERGENS CONTROL IN FOOD CHAIN OF ANIMAL ORIGIN

Vesna Matekalo-Sverak, Vesna Janković, Danka Spirić

Institute for meat hygiene and technology, Belgrade

Abstract

Importance of controlling allergens in the food chain of animal origin derives from the fact that the prevalence of food allergy in Europe is about 3 to 4% and for both children and adults. The presence of components that are marked as allergens must be visible on the food label according to the European and our national regulations. This paper represents the results of the testing that clearly indicate the importance of permanent control of meat preparations for the presence of banned sulphites. During 2012, the sulphites were present in 32.9% of samples of this meat products group, while in 2013 and in the first six months of 2014 the number decreased significantly and reached 14.2% of all tested samples. Results

of laboratory studies for the meat products that are commonly consumed, which have been taken from the market showed that 15% of finely ground sausages, 5% of canned meat and 15% of pate tested samples contained soy proteins that are not listed on the label, which is a potential danger for people allergic to soy. Gluten was detected in cooked sausages and pate samples while the presence of gluten was not labeled on these products. Bearing in mind that the intake of certain allergens by particular population can lead to major health problems, and even death, the presence of potential allergens in meat products must be checked regularly, which is the most important measure in the control of food of animal origin. Training of producers, especially smaller ones, in addition to regular checks is necessary and urgent measure to be implemented.

Key words: meat products, allergens, soy protein, gluten, sulphites

УВОД

Контрола алергена у прехрамбеним производима једна је од веома битних карика у ланцу безбедност хране. Не може се са сигурношћу тачно рећи која је за Европску популацију преваленца за алергију на храну. Ако се узме као критеријум храна која је дијагностикована као узрочник појаве алергијске реакције, онда се процењује да је преваленца у Европи између 3 и 4%, и за децу и за одрасле, мада се генерално подвлачи да су деца осетљивија и подложнија алергијама на храну од одраслих и према подацима неких аутора (1), преваленца код деце достиже и до 5%. Алергија на поједине намирнице, губи се после пубертета или у пубертету, али су зато и учесталије стечене алергије код старијег узраста, људи преко 65 година живота. Око 75% свих алергијских манифестација узрокованих храном код деце, потичу од јаја, кикирикија, млека, рибе и орашастог воћа (2).

Када говоримо о реакцијама које се јављају као последица узимања одређене хране, важно је подвући да су значајне две клиничке манифестације: *Алергија на храну* - процес који посредује IgE антителима против протеина хране и манифестује се брзом узрочно последичном реакцијом. *Нетолеранција на храну* је реакција на храну која може да изазове непријатне симптоме и везује се за многа хронична стања. То је имунолошка реакција у којој се стварају IgG антитела - IgG интолеранција. Сматра се да нетолеранција на храну вероватно неће да угрози живот, али може значајно променити квалитет живота (3). Док мање од 5% целокупне популације пати од алергија, процењује се да више од 35% популације, а по неким подацима и око 55%, пати од нетолеранције на храну. Она може да угрози било кога, у било ком старосном добу, али пошто се симптоми често јављају тек после извесног времена од узимања хране, откривање проблематичне хране може да буде тешко. То је дуготрајнија, хронична реакција организма која витално не угрожава пацијента, али је доказано да могући узроци болести или неких хроничних стања као што су артритис, астма, целијаклија, синдром хроничног умора, депресија, анксиозност, дигестивне сметње, надимање, задржавање воде у организму, отицање, инфекција уха, синузитис, фибромијалгија, мигренозне главобоље, вртоглавице, несанице, бол у мишићима, ментални умор, псоријаза, екцем и друга обољења коже, гојазност или губитак телесне тежине, могу лежати у IgG интолеранцији одређене намирнице.

Људи који су алергични или нетолерантни на одређену врсту хране, непожељне појаве могу избећи само ако из своје исхране изоставе намирнице које узрокују алергију/интолеранцију. Исхрана савременог човека не базира се већ дуго на конзумирању једноставне или појединачне хране, само месо или само млеко, или само одређено поврће. Уобичајено је да су храна, а поготово оброци, сложени из више врста хране, а најчешће из много компонената различите хране, што је посебно карактеристично за индустријску храну која се, због стила савременог живота, све више конзумира. Ова

констатација укључује и храну анималног порекла, а пре свега производе од меса и производе са месом - разна индустријска јела, јела у домаћинству и јела у ресторанима и киосцима брзе хране. У овако сложеним намирницама већа је могућност да се нађе нека компонента која код појединца може да изазове нежељену реакцију, било да је то алергиска реакција или реакција као последица интолеранције. Светска здравствена организација је установила листу највећих, односно најчешћих алергена из хране, која се редовно ажурира и по потреби проширује. У листу су уврштени само најчешћи алергени, мада морамо подвући да свака намирница за поједину индивидуу може бити изазивач алергијске реакције или реакције изазване интолеранцијом. Свака храна која у себи садржи једну или више компоненти хране или храну која је означена као алерген, мора јасно да буде истакнута на декларацији. И у складу са нашим најновијим прописима, Правилником о декларисању, означавању и рекламирању хране (4), налази се листа састојака који могу да изазову алергије и/или интолеранције, и који морају бити у декларацији наглашени другачијим фонтом, стилом или бојом позадине, тако да се јасно разликују од осталих састојака са списка састојака.

Састојци који могу да изазову алергије и/или интолеранције, исти су и у препорукама WHO и код нас, и то су:

1. Житарице које садрже глутен: пшеница, раж, јечам, овас, спелт, камут и варијетети добијени њиховим укрштањем и њихови производи;
2. Љускари и производи од љускара;
3. Шкољкаши и остали мекушци и њихови производи;
4. Јаја и производи од јаја;
5. Производи рибарства;
6. Кикирики и производи од кикирикија;
7. Соја и производи од соје;
8. Лупина и производи од лупине;
9. Млеко и производи од млека, укључујући и лактозу;
10. Језграсто воће: бадем, лешник, орах, индијски орах, пекан орах, бразилски орах, пистаћи, макадамија орах, *queensland* орах и њихови производи;
11. Целер и производи од целера;
12. Слачица и производи од слачице;
13. Семе сусама и производи од сусама;
14. Сумпор диоксид и сулфити у концентрацијама већим од 10 mg/kg изражено као SO_2.

У производима анималног порекла, пре свега у производима од меса и производима од млека, користи се храна или компоненте хране које су означени као алергени. Напомињемо, да се врло често, ради једноставнијег обележавања, под појмом алергени подразумева и храна која узрокује манифестације нетолеранције на храну. У изради различитих врста производа од меса, што и јесте главни фокус овог рада, користе се у савременој технологији многе врсте додатака анималног, биљног и *singl cell* порекла, као и велики број прехрамбених адитива, који такође могу бити узроком нежељених реакција, али је њихова преваленца, бар за сада, мала и нису сврстани у групу алергена, мада је и њихово декларисање обавезно.

Производи од меса у свом саставу могу садржати компоненате који су означени као алергени, због својих функционалних карактеристика: житарице које садрже глутен и њихове производе, јаја и производе од јаја,сoју и производе од соје, млеко и производе од млека, целер и производе од целера, слачицу и производе од слачице, сумпор диоксид и сулфите, а у неким панираним производима, јелима, може се наћи и сусам.

СУЛФИТИ

Сулфити или сулфатни агенси у форми натријум сулфита, натријум бисулфита, натријум-метабисулфита или калијум бисулфита и калијум метабисулфита су уобичајени конзерванси који се користе у изради многих намирница већ вековима, али њихова употреба није дозвољена у изради производа од меса. Поред тога што нису дозвољени у производима од меса, сулфити су јаки алергени, и за људе који су алергични на сулфит количина већа од 10 mg/kg, поред тога што може изазвати тешку главобољу, асматичан напад, може бити и летална (5).

Иако нису дозвољени за употребу у производима од меса, произвођачи их често користе, пре свега у изради полупроизвода од меса, ћевапчића, пљескавица, уситњеног обликованог меса за роштиљ и свежих кобасица за печење. Углавном су то мањи произвођачи који имају по једну или две месаре у којима успут и пеку роштиљ и произвођачи који снабдевају киоске и објекте брзе хране. Сулфити, поред тога што повећавају одрживост производа, утичу и на боју ових полупроизвода, што наравно, позитивно утиче на купце. Наша ветеринарска инспекција већ више година редовно контролише стање на тржишту и шаље узорке на анализу у акредитоване лабораторије.

У току 2013 године и првих шест месеци 2014. године у лабораторији Института за хигијену и технологију меса испитано је укупно 218 узорака полупроизвода од меса на садржај сулфита и сумпор диоксида. Садржај сулфита у узорцима и полупроизвода од меса урађен је волуметријски, акредитованом методом. Од испитиваних узорака у 31 производу, садржај сулфита био је преко 10 mg/kg, што значи да је 14,2% узорака било неисправно и представљало је велику опасност за потрошаче који су алергични на сулфите. У поређењу са 2012. годином, ситуација се ипак побољшала пошто је тада 32,9% испитаних узорака било неисправно.У овој групи производа од меса, најинтересантнији су ћевапчићи, пљескавице и група свежих кобасица за роштиљ. Проблематично је то што је 25,7% од свих испитаних узорака ћевапчића на садржај сулфита, било неисправно, а садржај сулфита се кретао у опсегу од 45 до 1444 mg/kg. У случају пљескавица, у истом периоду, урађено је 22 узорка на присуство сулфита. У 18.2% узорака утврђена је количина већа од 10 mg/kg, а опсег недозвољене количине био је у распону од 125,7 до 649,2 mg/kg. У групи свежих кобасица за роштиљ, у истом периоду испитано је укупно 43 узорака, од којих је 30,2% било неисправних. Садржај сулфита кретао се у границама од 70,59 до 478,50 mg/kg (Табела 1). Морамо напоменути, да се количина сулфита у вредностима 10 mg/kg, иако сулфити нису дозвољени за употребу у производима од меса, толерише, али количине преко те границе, представљају и те какву опасност за потрошаче. Морамо констатовати, да без обзира на чињеницу што је постотак неисправних узорака у 2013. и 2014. години у односу на 2012. годину, значајно смањен, они производи који се најчешће конзумирају, а то су ћевапчићи, пљескавице и кобасице за роштиљ, по садржају SO_2 и даље представљају једнаку опасност за потрошача.

Табела 1. Резултати присуства недозвољених количина сулфита у полупроизводима од меса

Врста узорка	**Број узорака**	**Недозвољена количина SO_2,%**
Све врсте полупроизвода од меса	218	14.2
Ћевапчићи	35	25.7
Пљескавице	22	18.2
Свеже кобасице за роштиљ	43	30.2

ГЛУТЕН

Глутен је протеинска фракција пшенице, ражи, јечма, овса или њихових хибридних врста и деривата, на коју су неке особе интолерантне, а који су нерастворљиви у води и у 0,5 М раствору натријум хлорида (6). Ова дефиниција слична је оној коју је предложила FDA: «Протеини који природно постоје у забрањеним житарицама и који могу узроковати негативне здравствене ефекте код особа са целијакијом» (7). Глутен, поготово пшенични, веома се често користи у прехрамбеним производима и производима од меса јер је добар емулгатор и стабилизатор и утиче на добру конзистенцију производа, а при том, нема битан утицај на укус, мирис и боју производа од меса, тако да га је органолептички тешко идентификовати (8). Глутен је веома штетан за особе које су интолерантне на глутен и његово декларисање је обавезно јер може бити фаталан за људе оболеле од целијакије. Целијакија је трајни, доживотни облик неподношења глутена, односно глијадина и сродних беланчевина присутних у брашну од пшенице, ражи, јечма и овса. Поремећај је наследног карактера, јавља се код генетски предиспонираних особа које у склопу исхране користе производе од ових житарица. Целијакија се код припадника беле расе среће код једног од 300 становника, док је веома ретка код људи других раса. Једина шанса за оболеле од целијакије је да воде нормалан, здрав живот, придржавајући се дијетотерапије, која подразумева искључивање из исхране намирница које садрже глутен. Међутим, глутен се често користи у мешавинама које су намењене за употребу у производима од меса као емулгатори и стабилизатори и индустрија меса их купује под разним трговачким називима, тако да лако може бити употребљен у изради производа од меса, а да при томе не буде декларисан, најчешће због необавештености или слабе стручности онога ко га примењује.

Производи од меса још увек се код нас веома слабо контролишу на присуство глутена. Напомињемо да се производ који садржи мање од 20 mg/kg глутена сматра „*gluten free*“, а производ који садржи мање од 100 mg/kg глутена, означава се као производ са мало глутена. Од октобра месеца 2013. па до краја јуна 2014. године у Институту за хигијену и технологију меса испитано је укупно 162 узорка на садржај глутена. Од тога, само 17 узорака производа од меса, од којих су три узорка (17,6%) била позитивна на присуство глутена у количини већој од 20 mg/kg. С обзиром да то баш и није репрезентативан узорак, са тржишта смо испитали још 20 производа и то оних који се најчешће купују (Табела 2).

Садржај глутена одређен је „сендвич тип“ методом квантитативног ЕЛИСА теста. Произвођач је Immunolab, GmbH Otto-Hahn-Str. 16 D-34123 Kassel, Germany. Лимит детекције методе је 1 mg/kg.

Табела 2. Присуство глутена у производима од меса

Врста производа	**1**	**2**	**3**
Фиоуситњене барене кобасице	20	10%	10%
Барене кобасице са комадима меса	20	5%	5%
Конзерве од меса у комадима	20	0	0
Куване кобасице, паштете	20	5%	5%
Ферментисане кобасице	20	0	0

1- Број испитиваних узорака
2- Број узорака у којима је доказано присуство глутена
3- Број узорака у којима је доказано присуство глутена а није декларисано

Као што се из табеле 2 види, производи од меса у којима је доказано присуство глутена, нису имали ни на декларацији назнаку да производ садржи глутен. Верујемо да бисмо до позитивних резултата дошли и приликом контроле уситњеног обликованог меса за роштиљ, с обзиром на то да ти производи често у себи садрже сојине производе, чак и у знатним количинама, а у нашим испитивањима наишли смо на неке беланчевинске производе соје који у себи садрже и преко 300 mg/kg глутена. Ово је последица крос контаминације још на њиви. Стога сматрамо да је контрола производа од меса на садржај глутена, у циљу заштите потрошача који у својој исхрани из здравствених разлога не смеју да уносе глутен, обавезна. То се нарочито односи на производе из групе барених кобасица, куваних кобасица и на полупроизводе од меса, пре свих пљескавице, ћевапчиће и свеже кобасице за роштиљ.

БЕЛАНЧЕВИНЕ СОЈЕ

Без обзира на многе здравствене погодности које се сојиним препаратима приписују, а што је и наука доказала, употреба сојиних беланчевина у свим прехрамбеним производима, па и у производима анималног порекла, мора бити назначена на декларацији производа, а сојини препарати се морају у неким земљама назначити и на козметичким препаратима. Соја је намирница која се сврстава у групу највећих алергена и налази се на листи коју чине намирнице «велики алергени», чија је употреба у прехрамбеним производима строго контролисана. Главни изазивачи алергије у соји су беланчевине глицинин и три јединице бета конглицинина, дакле беланчевине соје које су носиоци функционалности и које су присутне у свим сојиним производима који се користе као додаци храни (9). Проблеми са алергијама на сој нарочито су присутни у развијеним земљама света, где је и претежна употреба индустријске хране. Беланчевине соје почеле су да се користе у изради производа од меса у нашој земљи средином седамдесетих година прошлог века. У том периоду соја се користила у количинама од 1 до 4%, а најчешће мање од 2%, због специфичног укуса на легуминозу. Временом се технологија производње беланчевинских производа из соје развијала, а упоредо са тим и стицала се навика потрошача на специфичан укус соје, тако да је временом садржај препарата соје у производима од меса растао. Сојине беланчевине се веома често налазе у функционалним смешама које се користе у прехрамбеној индустрији под различитим трговачким именима, а често су и носиоци екстраката зачина и зачинских мешавина, тако да се сојине беланчевине лако могу наћи у производима, а да произвођач није ни свестан чињенице да мора да истакне на декларацији да производ садржи сојине протеине.

Од октобра месеца 2013. године до краја јуна 2014. године било је веома мало захтева на утврђивање присуства соје у производима анималног порекла. Због тога смо, исто као и у случају провере присуства глутена у производима од меса, испитали двадесет различитих производа од меса које смо узели са тржишта (Табела 3).

Метода коју смо користили за одређивање садржаја протеина соје је квантитативни ЕЛИСА тест заснован на „сендвич“ типу реакције антитела. Произвођач је R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Лимит детекције методе за одређивање садржаја протеина соје је 0,31 mg/kg протеина соје, а лимит квантификације је 2,5 mg/kg.

Табела 3. Присуство протеина соје у производима од меса

Врста производа	**1**	**2**	**3**
Финоуситњене барене кобасице	20	35%	15%
Барене кобасице са комадима меса	20	20%	0
Конзерве од меса у комадима	20	30%	5%
Куване кобасице, паштете	20	55%	15%
Ферментисане кобасице	20	5%	0

1- Број испитиваних узорака
2- Број узорака у којима је доказано присуство соје
3- Број узорака у којима је доказано присуство соје, а није декларисано

Као што се из табеле 3 може и видети, соја је врло присутна у изради производа од меса, а поготово у бареним кобасицама и паштетама, што је и дозвољено у сродним врстама производа, али уз обавезну и специјално наглашену декларацију. Забрињавајуће је то што у 15% финоуситњених барених кобасица и 15% куваних кобасица-паштета, у производима које највише воле деца, додатак соје није декларисан.

Имајући у виду да унос одређених алергена код одређене популације може да доведе до великих здравствених проблема, па чак и до смрти, присуство потенцијалних алергена у производима од меса се мора редовно контролисати, што представља најважнију меру у контроли безбедности хране анималног порекла. Поред редовне контроле, едукација произвођача, а поготово оних мањих, је неопходна и хитна мера коју треба спровести.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Palfi Erzsébet, Barna Mária, 2010, Food Allergen Labelling - It's Role in the Food Safety of Food Allergic Consumers, Journal on Processing and Energy in Agriculture, 19-22. 2. EFSA, 2014, Evaluation of allergenic foods for labeling, www.efsa.europa.eu/efsajourna. 3. Stanković Ivan, 2008, Alergeni u hrani - preosetljivost na hranu i sastojke namirnica, Vet. glasnik 62 (5-6) 341-9. 4. Pravilnik o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane, 2013, Službeni glasnik Republike Srbije 85/13. 5. More Daniel, 2014, Sulfite allergy, htpp:// allergies.about.com. 6. Codex Alimentarius Commission: Draft revised standard for gluten-free foods, Step 8. http://www.codexalimentarius.net/web/archives.jsp?year=08 webcite ALINORM 08/31/26 2008. 7. US Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration: Food labeling; Gluten-free labelling of foods. Proposed rule**.** http:// www.cfsan.fda.gov. Webcite, Fed Reg 2007. 8. Jankovic Vesna, Vesna Matekalo-Sverak, Danijela Vranić, Brankica Lakićević, Radivoj Petronijević, 2010, Utvrđivanje prisustva glutena u proizvodima od mesa, NODA, Novi Sad. 9. Matekalo-Sverak V., Turubatović L., Petronijević R., 2009, Procedures in improvement of the control of the quality of meat products - Consumer protection strategy, Meat Technology, 50, 1-2, 31-6.

COXIELLA BURNETII - СТАРИ НОВИ ЗООНОТСКИ АГЕНС ПРЕНОСИВ ХРАНОМ

Вера Катић[1], Станко Бобош[2]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Q грозница је зоонтско обољење изазвано бактеријом *Coxiella burnetii*, са ограниченим утицајем на јавно здравље, изузев у одређеним епидемиолошким околностима и код одређених ризичних група. Широко распрострањена инфекција *C. burnetii* код животиња, намењених за производњу хране и њен налаз у млеку за јавну потрошњу, наметнули су потребу да се преиспита улога хране у преношењу ове зоонотске бактерије на људе. Инфекције *C. burnetii* настају чешће код особа које су професионално изложене ризику од удисања аеросола контаминираног овом бактеријом, него путем конзумирања контаминиране хране. Међутим, *C. burnetii* се излучује путем млека заражених животиња (говеда, оваца и коза) током периода лактације, без обзира да ли заражене животиње испољавају клиничке знаке болести или не.

Постоје епидемиолошке индикације да је конзумирање сировог млека или производа од млека који садрже *C. burnetii* било повезано са серо-конверзијом код људи. Иако постоје подаци да *C. burnetii* ако се налази у сировом млеку или производима од сировог млека, које се конзумира, може да има за последицу сероконверзију, остаје нејасно да ли и, ако је тако, у којој мери, сирово млеко и производи од сировог млека имају улогу у настанку Q грознице људи.

Кључне речи: Q грозница, *Coxiella burnetii*, јавно здравље, фактори ризка

COXIELLA BURNETII AN OLD-NEW OF FOODBORNE ZOONOTIC AGENS

Vera Katić[1], Stanko Boboš[2]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Q fever is a zoonotic disease, caused by *Coxiella burnetii*, with limited public health impact, except under certain epidemiological circumstances and for particular risk groups. The widespread distribution of *C. burnetii* in food producing animals and its occurrence in the milk supply necessitates questioning the role of food as a vehicle for the transmission of this zoonotic bacterium to humans. *C. burnetii* infection in occupationally or otherwise exposed people is mainly due to inhalation of infected aerosols rather than consumption of contaminated food products. However, *C. burnetii* is excreted in milk of infected animals (cattle, sheep and goats) for variable periods during lactation irrespective whether

these animals are showing clinical signs or not. There are epidemiological indications that consumption of milk and/or milk products containing *C. burnetii* has been associated with sero-conversion in humans. Although there is evidence that *C. burnetii* if it is in the raw milk or products made from raw milk, which is consumed, may have resulted in sero-conversion, it remains unclear whether and if so to what extent, raw milk and products made from raw milk play a role in the onset of Q fever humans.

Key words: Q fever, *Coxiella burnetii*, public health, risk

Увод

Q грозница, обољење људи и животиња, изазвано бактеријом *Coxiella burnetii,* је широко распрострањена у свету изузев на Новом Зеланду. *C. burnetii* је присутна у окружењу где може да перзистира више година у форми сличној спорама (1). Врсте животиња код којих се најчешће јавља инфекција овом бактеријом су козе, овце и говеда, и у случајевима обољења људи, ове врсте животиња су најчешће доказане као извор инфекције (2,3). Q грозница је дуго сматрана професионалним обољењем ветеринара, фармера, радника у кланицама и истраживача у истраживањима која су укључивала рад са животињама. Инфекција људи примарно настаје удисањем прашине или аеросола контаминираних *C. burnetii* (4,5). *C. burnetii* се одржава у ваздуху и ношена ветром може се пренети на удаљеност до једну миљу, па инфекција људи овом бактеријом може да настане иако нису били у директном контакту са животињама. Према подацима Центра за контролу болести (*Centers for Disease Control* - CDC) у САД 63% регистрованих инфекција људи у периоду од 2000 до 2010. године није имало никакав контакт са животињама (6). Према подацима Градског завода за заштиту здравља Београда инциденција Q грознице у Србији је 0,26 на 100.000 становника.

У испитивању једног случаја Q грознице, здравствени радници могу да затраже помоћ од ветеринарске службе. Међутим, у случајевима епидемије, потребна је добра координација активности епидемиолошке и епизоотиолошке службе. Епидемиолошка истраживања Q грознице су веома комплексна због преноса микроорганизма аеросолом, његове отпорности у спољашњој средини, малог броја клиничких случајева у највећем броју инфицираних стада, излучивања *C. burnetii* из организма хронично инфицираних животиња, тешкоћа у интерпретацији резултата код свих врста, и могућности хроничне инфекције код људи.

Етиолошки агенс, *C. burnetii*, је грам-негативна облигатно интрацелуларна бактерија, адаптирана да се размножава у фаголизозомима макрофага. *C. burnetii* је прво била сврстана у породицу *Rickettsiaceae*. Међутим, резултати филогенетских испитивања, засновани углавном на анализи секвенци 16S rRNK, су показали да је род *Coxiella* удаљен од рода *Rickettsia* у филуму *Proteobacteria* (7). Данас је *C. burnetii* сврстана у породицу *Coxiellaceae*, ред L*egionellales*. На основу резултата секвенцирања комплетног генома *C. burnetii* потврђена је њена позиција у систематици микроорганизама (8). За разлику од рикеција *C. burnetii* ствара мале, непрозирне, високо резистентне форме сличне спорама (9). Висока резистентност се приписује постојању варијанти описаних у студијама *in vitro*: ваијанта крупних ћелија (*large-cell variants* - LCV), варијанта ситних ћелија (*small-cell variants* - SCV), и ситних непрозирних ћелија (*small dense cells* - SDC) ширине 0,2 μm и између 0,5 и 2 μm дужине или пречника 0,4 до 0,7 μm (9). Варијанте SDC и SCV представљају мале морфолошке варијанте бактерије које ће вероватно преживети екстрацелуларно као инфективне честице, особина која је важна за перзистенцију у средини и преношење (3). Друга битна карактеристика *C. burnetii* је да има две антигене форме: патогени фазе I, изоловани из инфицираних животиња или људи, и ослабљени патогени фаза II, добијени поновљеним пасажама *in-ovo* или *in vitro*. Током пасажа настају промене у липополисахаридима (ЛПС):

код ћелија I фазе ЛПС О-ланац је потпуне дужине, у средњој фази ЛПС О-ланац се смањује, а у фази II ЛПС ланц је скраћен. Варијације у ЛПС-а у фазама прате сталне хромозомске делеције које онемогућавају враћања ћелија из фазе II у фазу I (10).

Извори инфекције *C. burnetii*

Главним извором *C. burnetii* сматрају се говеда, овце и козе, а инфекција примарно настаје удисањем аеросола контаминираног из екскрета животиња (11-15). *C. burnetii* се лако распршује у ваздуху, па је утврђена инфекција овом бактеријом код људи који су били удаљени око једну миљу од извора инфекције (16). Преношење путем хране је забележено код особа које су конзумирале сирово млеко контаминирано овом бактеријом (17). Људи су веома осетљиви на инфекцију *C. burnetii*, а инфективна доза се креће од један до десет организама (18).

Коксијелемија код говеда полази од примарне колоније у плућима, и доводи до насељавања у органима, што је углавном привремено. У млечној жлезди и лимфним чворовима узрочник може да перзистира годинама (19). То потврђују резултати Радиновића (20) који је применом ELISA технике код 4,5% крава на једној фарми у Војводини утврдио антитела према *C. burnetii* и из узорака млека крава узетих у различитим фазама лактације, код којих је доказао присуство антитела, изоловао *C. burnetii*.

Храна животињског порекла као извор инфекције људи *C. burnetii*

Широко распрострањена инфекција *C. burnetii* код животиња, намењених за производњу хране и њен налаз у млеку за јавну потрошњу, наметнули су потребу да се преиспита улога хране у преношењу ове зоонотске бактерије на људе. Инфекције *C. burnetii* настају чешће код особа које су професионално изложене ризику од удисања аеросола контаминираног овом бактеријом, него путем конзумирања контаминиране хране (нпр. производи од млека, месо). Међутим, *C. burnetii* се излучује путем млека заражених животиња (говеда, оваца и коза) током периода лактације, без обзира да ли заражене животиње испољавају клиничке знаке болести или не, поред тога контаминација млека овом бактеријом може да настане индиректно фекалним путем. Конзумирање сировог млека и производа од сировог млека представља релативно већи ризик од изложености људи *C. burnetii,* него конзумирање термички обрађеног млека и производа од термички обрађеног млека. Према епидемиолошким подацима постоји индиција да код особа, које су конзумирале сирово млеко и производе од сировог млека контаминиране *C. burnetii*, долази до сероконверзије. Проучавајући могућу везу између Q грознице људи и конзумирања млека Шегуљев (21) је применом методе РВК доказала присуство специфичних антитела код 5.995 становника Војводине од којих је 10,81% конзумирало сирово млеко, а 9,16% уопште није конзумирало млеко. Међутим, према мишљењу експерата научних панела АХАВ и БИОХАЗ не постоје убедљиви докази да је након конзумирања млека и производа од млека, контаминираних *C. burnetii*, дошло до развоја клиничке слике Q грознице код људи.

Фактори ризика од преношења *Coxiella burnetti* путем хране на људе

При анализи ризика од преноса *C. burnetii* путем хране на људе треба узети у обзир: карактеристике бактерије (укључујући доза-одговор), њен налаз у храни и идентификацију врсте хране која представља највећи ризик за настајање инфекције, поступке контроле дуж ланца хране и, на крају осетљивост потрошача. Такође треба размотрити исход изложености инфекцији, без обзира да ли је изложена особа инфицирана или није, и ако је инфицирана да ли показује клиничке знаке болести.

Карактеристике бактерије, *C. burnetii*, који су значајне за процену ризика преношења храном односе се на изложеност СЦВ или ендоспора, која је стабилна у спољашњој средини и представља облик фаголизозома у макрофагима током ране

инфекције. Ендоспоре показују тропизам за репродуктивне органе, укључујући млечну жлезду, излучују се млеком латентно инфицираних животиња и животиња са клиничким знацима болести. Бактерија се излучује и детритусом код нормалног порођаја и абортуса, као и урином и фецесом инфицираних животиња.

Ендоспоре су изузетно отпорне на топлоту, притисак, сушење и могу да преживе неколико месеци у производима од млека, меса и производа од меса, води, абортираном фетусу, стајњаку, вуни, сену, на опреми и одећи у условима високе влажности, при ниским температурама и без сунчеве светлости. Ендоспоре су метаболички неактивне и на тај начин остају стабилне у земљишту и прашини током више година (22) и могу да се преносе путем прашине и до 11 миља (18 км). *C. burnetii* може да преживи у млеку 42 месеца на 4-6°C, у вуни од 12 до 16 месеци, у прашини 120 дана, 49 дана у урину (23). *C. burnetii* је веома отпорна на дејство киселина (до pH 4,5), УВ зраке, притисак (до 300 MPa) и, може да преживи у 10% раствору соли дуже од шест месеци. Уништава је у времену од 30 минута 5% H_2O_2, 0,5% хипохлорит, 70% етанол, а за мање од 30 минута 5% хлороформ или формалдехид гас (у влажној средини 80%), или пастеризација, најмање 72°C у трајању од 40 секунди (22,24) или 161 F/71,7°C за 15 секунди (25).

Испитивањем дужине излучивања *C. burnetii* из организма животиња истраживачи из Француске су утврдили да се микроорганизам код оваца излучује дуже путем вагиналне слузи него путем млека, насупрот томе излучивање код коза и говеда бактерија се дуже излучује путем млека (26). Наведени аутори сматрају да би то могао да буде разлог зашто се епидемије Q грознице код људи чешће доводе у везу са стадима оваца него са стадима говеда. У случају епидемије у Холандији, 2008. године, утврђено је да су се случајеви обољења људи могли довести у везу са клиничким случајевима стада музних коза, а у мањој мери са стадима музних оваца. Томе у прилог иду и резултати серолошких испитивања добијени применом ЕЛИСА теста који су показали да је око 2,4% оваца и 7,8% коза у Холандији било серо-позитивно (27-30). После појаве епидемије Q грознице у Холандији у подручју епидемије извршено је испитивање музних животиња и узорака млека узетих из сабирних танкова на фармама коза и оваца. Резултати испитивања узорака млека из танкова, добијени применом PCR методе, су показали да је 30% испитиваних узорака у 2008. години било позитивно. На основу тих испитивања је закључено да се испитивање збирног млека са фарме, PCR методом, може користити у циљу раздвајања инфицираних од неинфицираних стада. Међутим, позитиван резултат немора да значи да млеко садржи инфективне форме *C. burnetii* (29). Резултати испитивања узорака збирног млека са фарме се не могу користити у дијагностици абортуса будући да инфициране козе и говеда излучују млеком *C. burnetii* и у случајевима када нема клиничких знака болести (26). Веза између инфекције људи и оваца је утврђена и у Немачкој када је у епидемији Q грознице од 50 особа 30 било из исте области где је доказано и обољење оваца (31).

Испитујући збирно млеко са фарми крава, коза и оваца у Швајцарској утврђено је да је 17 од 359 (4,7%) узорака млека са фарми говеда позитивно на *C. burnetii*, насупрот томе сви узорци збирног млека са фарме оваца (81 узорак) и фарме коза (39 узорака) су били негативни на *C. burnetii* (32).

Праћењем излучивања *C. burnetii* млеком код коза у првој лактацији и преношење инфекције на јарад, Бери и сарадници (33) су утврдили да је од 21 јаради храњених млеком коза које су биле инфициране *C. burnetii*, само код три јарета утврђена позитивна серолошка реакција. У каснијој студији исти аутори (34) су потврдили да се *C. burnetii* излучује путем млека оваца у другој сезони јагњења (13% и 23% PCR-позитивни узорци млека једну и две недеље после јагњења појединачно).

Будући да је *C. burnetii* присутна у аеросолу објеката где бораве инфициране животиње, у стајњаку и излучевинама, посебно у време порођаја или абортуса, постоји могућност контаминације млека на фарми. Стога, постоји ризик од изложености људи *C. burnetii* преко намирница животињског порекла. О дози и одговору код људи, за *C. burnetii*, има мало података у литератури. Генерално, се сматра, али није доказано, да је за инфекцију која настаје удисањем аеросола, контаминираног *C. burnetii* довољна једна бактерија (35).

C. burnetii може да преживи у вимену више месеци (до 405 дана после инфекције) (25), а може да се размножава у вимену крава најмање три године (36).

Више истраживача сматра да се путем сировог контаминираног млека, као и производа од млека *C. burnetii* може пренети на људе. Ризик од преношења инфекције путем ингестије меса, контаминираног *C. burnetii* као последица бактеријемије или контаминације током процеса клања, није утврђен.

Будући да је инфективна доза одређена после интраперитонеалне инјекције, не би је требало сматрати одговарајућом за пер оралну инфекцију. Уношење *per os* ниске дозе *C. burnetii* не би довело да развоја болести (37).

Радници у кланицама и ветеринарски практичари имају највећу серопреваленце (између 24-33%) за *C. burnetii* (36). *Australian Food Standards* у процени микробиолошких хазарда повезаних са четири основне врсте меса, навели су Q грозницу.

У Аустралијској асоцијацији запослених у индустрији меса расте забринутост због повећаног броја случајева Q грознице на око 600 на националном нивоу сваке године, од којих је 90% случајева у Квинсленду, са 200 хоспитализованих људи и три случаја са смртним исходом. Није утврђена веза између конзумирања меса и појаве обољења радника (38). Q грознице је доказана код 24 радника који су радили у фабрици за прераду меса у Шкотској (39,40).

Млеко и производи од млека као извор *C. burnetii* за људе

У више студија је документовано да сирово млеко може да буде извор инфекције *C. burnetii* за људе (41,42), Значај инфекције која настаје *per os* и даље предмет проучавања и ставови о улози сировог млека у преношењу *C. burnetii* на људе инфекције су контроверзни. Епидемиолошке студије сугеришу да су особе, које конзумирају сирово млеко, изложене инфекцији *C. burnetii* (42,43). У прилог овом мишљењу иду и резултати Бенсон и сарадника (43) који показују да је код 42 од 120 особа, које су конзумирале сирово млеко, налаз најмање једног имунолошког теста био позитиван током испитиваног периода. Иако ниједна особа није показивала клиничке знаке болести присуство антитела, утврђено методом фиксације комплемента (CF), сматрано је да је особа била изложена *C. burnetii*. Описани су слични налази сероконверзије без инфекције или клиничких знакова болести (42).

За разлику од налаза Бенсон сарадника (43) постоје и подаци о одсуству имунолошког одговора код 34 особе које су конзумирале сирово млеко природно контаминирано *C. burnetii* произведено на подручју где се Q грозница јавља ендемски код говеда (44). Последњи аутори сматрају да је изостанак имунолошког одговора можда последица различитих концентрација или природе *C. burnetii*. Ова разлика у соју у недавној епидемији Q грознице у Холандији где је типизација *C. burnetii* повезане са епидемијом када је исти сој изолован из 92% узорака са фарме коза са подручја епидемије. Узорци узети од неколико говеда су се јасно разликовати од узорака узетих од коза (30).

Све напред изнето указује на вероватноћу да инфекција код особа професионално изложених *C. burnetii* пре настаје због изложености аеросолу, него као последица конзумирања млека и производа од млека. PCR позитиван резултат добијен испитивањем збирног млека на фарми није доказ да је млеку присутна инфективна форма *C. burnetii* (29).

Иако има података у литератури да *C. burnetii* ако се налази у сировом млеку, које се конзумира, може да има за последицу сероконверзију, остаје нејасно да ли и, ако је тако у којој мери, сирово млеко и производи од сировог млека имају улогу у настанку Q грознице људи.

Говеда, козе и овце се сматрају примарним резервоаром *C. burnetii* из којег настаје инфекција људи. Епидемиолошки подаци указују да су музне краве чешће хронично инфициране од оваца и оне су најзначајнији извор инфекције за људе.

Термичка обрада као метода контроле *C. burnetii* у млеку и производима од млека

Пастеризација је главни метод који се користи за елиминисање *C. burnetii* из млека, ако је присутан. По дефиницији *Codex Committee* за хигијену хране из 2004. године: пастеризација је микробиоцидни топлотни третман усмерен на смањење броја свих патогених микроорганизама у млеку и течним производима од млека, ако су присутни, до нивоа на коме не представљају значајну опасност по здравље. Услови пастеризације су одабрани да ефикасно униште *Mycobacterium tuberculosis* и *C. burnetii*. Он такође описује тренутне методе у употреби за пастеризацију. Енригхт и сарадници (45) су утврдили да се применом температура од 62,77°C у трајању од 30 минута сигурно уништава *C. burnetii*. У даљим истраживањима је утврђено да се као алтернатива наведеном режиму пастеризације може применити пастеризација у протоку током које се свака честица млека мора да претрпи деловање температура од 71,77°C у трајању од 15 секунди.

Студије о инактивације *C. burnetii* у течним производима од млека који садрже више масти или шећера као што су пастеризована павлака (до 40% млечне масти), чоколадно млеко (4% млечне масти и 22,5% укупне суве материје) су показале да је за ефикасну елиминацију *C. burnetii* из тих производа потребна температура 74,4°C током 15 секунди, а за елиминацију из сладоледа потребна је температура од 79,4°C у трајању од 15 секунди.

Методе за дијагностику Q грознице

У дијагностици Q грознице се поред клиничке слике болести користе микроскопски преглед препарата направљеног из клиничког материјала, методе за доказивање присуства антитела у крвном серуму и методе за изоловање и детекцију *C. burnetii*. Од серолошких метода у дијагностици Q грознице користе се: метода индиректне имунофлуоресценције (IFA), *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) и тест фиксације комплемента (*complement fixation test* - CFT).

Методе за детекцију и карактеризацију *C. burnetii*

C. burnetii, као интрацелуларна бактерија, може се изоловти на култури ткива, на пилећим ембрионима или лабораторијским животињама. Инокулација лабораторијских животиња (заморац, миш, хрчак) је корисна у случајевима који захтевају изолацију из ткива, измета, млека или узорака из животне средине контаминираних другим микроорганизмима.

За доказивање *C. burnetii,* данас се користе имунохистохемијска метода, ин-ситу хибридизација, ланчана реакције полимеразе (PCR), које су значајно осетљивије и прецизније од класичних метода бојења. Тренутно, PCR је метод избора у дијагностици Q грознице.

Идентификација *C. burnetii*

C. burnetii може се идентификовати на различите начине, у зависности од врсте узорка и сврхе испитивања (46-48). За микроскопски преглед праве се микроскопски препарати и боје једном од метода: *Stamp*, *Gimenez*, *Macchiavello*, *Giemsa* и модификовани Костер (47-51). Прве три технике дају најбоље резултате. Ове методе су сличне модификованој методи по *Ziehl-Neelsenu* које укључују базични фуксин за бојење бактерија.

C. burnetii се одликује веома великим бројем танких, љубичасто обојених кокобацила на плавој или зеленој позадини. Због малих димензија (0,3-1,5 μm дужина× 0,2-0,4 μm ширина), понекад је тешко да се открију на препарату, међутим, то је компензовано великим бројем.

Методе генотипизације

Због налаза код великог броја домаћина, велике отпорности *C. burnetii* у спољашњој средини и преношења путем ваздуха, епидемиологија Q грознице је веома сложена. За разумевање разлика у епидемиологији Q грознице у различитим географским подручјима, нарочито за утврђивање извора инфекције неопходна је генотипска карактеризација изолата *C. burnetii* (52,53).

За карактеризацију изолата *C. burnetii* користи се неколико метода као што су: *restriction endonuclease of genomic DNA* (54), електрофореза у пулзирајућем гелу (*pulsed-field gel electrophoresis- PFGE*) (55), и секвенце и/или PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) анализа гена icd, com1 и mucZ. У новије време су развијене две методе засноване на PCR: MLVA (*multi-locus variable number of tandem repeats analysis*) (56,57) и *multispacer sequence typing* (MST) (58) којима се може извршити типизацију *C. burnetii* без потребе да се изолује микроорганизам.

До данас, MLVA и MST методе се сматрају најдискриминаторнијим методама за типизацију *C. burnetii*, и помоћу њих се може идентификовати до 36 различитих генотипова. Успостављењем и доступношћу база података доприноси да се лако праве међулабораторијска поређењима, што треба да допринесе бољем разумевању преношења *C. burnetii* (52,53).

Закључно разматрање

Опште је прихваћено мишљење да инфекција *C. burnetii* пре настаје код особа професионално или на други начин изложених удисању аеросола контаминираног овом бактеријом, него као последица конзумирања хране животињског порекла (нпр. сирово млеко и производи од сировог млека контаминирани *C. burnetii*). *C. burnetii* се излучује путем млека заражених животиња (говеда, оваца и коза) током лактације, без обзира на то да ли животиње испољавају клиничке знаке болести или не. Поред тога, млеко се може контаминирати *C. burnetii* из фекалног извора. Контаминирано млеко и производи од млека могу се сматрати извором инфекције *C. burnetii* за људе. Стога се у случају појаве Q грознице у запату музних животиња, од животиња код којих није утврђена болест, млеко може користити ако се топлотно обради поступком после којег је реакција алкалне фосфатазе негативна. На тај начин ће производња млека бити усаглашена са захтевима дефинисаним у члану 133 тачка 1 и 2 Правилника о ветеринарско-санитарним условима, односно општим и посебним условима за хигијену хране животињског порекла, као и о условима хигијене хране животињског порекла (25/2011 и 27/2014). Не постоје доступни подаци у вези са потенцијалом преноса инфекције *C. burnetii* на људе путем меса и производа од меса.

Будући да је Q грозница зооноза, Министарство пољопривреде и заштите животне средине је у Правилнику о утврђивању програма мера здравствене заштите животиња за 2014. годину дефинисало да се испитивања на Q-грозницу врше у

циљу откривања извора болести после епидемије код људи и особа професионално изложених инфекцији, као и код сваког побачаја код говеда, оваца и коза. На основу анализе ризика код појаве болести, у зависности од процене ризика, Министарство може да одобри мониторинг на Q грозницу у епизоотиолошком подручју и убијање оболелих животиња на стручан и хуман начин. У циљу утврђивања преваленције Q-грознице спроводи се мониторинг према програму министарства.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Lyytikäinen O, Ziese T, Schwartländer B, Matzdorff P, Kuhnhen C, Jäger C, i sar, 1998. An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. Eur J Epidemiol. 14(2):193. 2. Van der Hoek W, 2012. The 2007-2010 Q fever epidemic in the Netherlands: risk factors and risk groups [PhD thesis]. Utrecht: Utrecht University; ISBN: 978-90-6464-565-5. 3. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2010. Technical report. Risk Assessment on Q fever, Stockholm: ECDC. 4. Morroy G, Bor HH, Polder J, Hautvast JL, van der Hoek W, Schneeberger PM, Wijkmans CJ, 2012. Selfreported sick leave and long-term health symptoms of Q-fever patients. Eur J Public Health, 22(6):814-9. 5. Van der Hoek W, Meekelenkam JC, Leenders AC, Wijers N, Notermans DW, Hukkelhoven CW, 2011. Antibodies against *Coxiella burnetii* and pregnancy outcome during the 2007-2008 Q fever outbreaks in the Netherlands. BMC Infect Dis 11;11-44. 6. World Organisation for Animal Health (OIE), 2010. Q fever. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: OIE; 2010. 7. Drancourt M. Raoult D, 2005. Genus I. *Coxiella*. *In:* Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology, Volume 2: The *Proteobacteria*, Part B: The *Gammaproteobacteria*, Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. & Garrity G.M., eds.Springer-Verlag, East Lansing, MI, USA, 237-41. 8. Sehadri R, et al., 2003. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA,* 100, 5455-60. 9. Heinzen RA, Frazier ME and Mallavia LP., 1990. Nucleotide-sequence of Coxiella-burnetii superoxide-dismutase. Nucleic Acids Research, 18, 21, 643-7. 10. Thompson HA, Hoovert TA, Vodkin MH, Shaw EI, 2003. Do chromosomal deletions in the lipopolysaccharide biosynthetic regions explain all cases of phase variation in *Coxiella burnetii* strains? An update. Ann. N.Y. Acad. Sci*.,* 990, 664-70. 11. Buhariwalla F, Cann B, Marrie TJ., 1996. A dog-related outbreak of Q fever. Clin Infect Dis;23:753-5. 12. Komiya T, Sadamasu K, Kang M-I, Tsuboshima S, Fukushi H, Hirai K, 2003. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infections among cats in different living environments. J Vet Med Sci;65:1047-8. 13. Langley JM, Marrie TJ, Covert A, Waag DM, Williams JC, 1988. Poker players' pneumonia: an urban outbreak of Q fever following exposure to a parturient cat. N Eng J Med. 319:354-6. 14. Marrie TJ, Durant H, Williams JC, Mintz E, Waag DM, 1998. Exposure to parturient cats is a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada J Infect Dis. 158:101-108. 15. Marrie TJ, MacDonald A, Durant H, Yates L, McCormick L., 1988. An outbreak of Q fever probably due to contact with a parturient cat. Chest. 93:98-103. 16. Astobiza I, Barandika JF, Ruiz-Fons F, Hurtado A, Povedano I, Juste RA, i sar. Four-year evaluation of the effect of vaccination against Coxiella burnetii on reduction of animal infection and environmental contamination in a naturally infected dairy sheep flock. Appl Environ Microbiol. 2011; 77(20):7405-7. 17. Thibon M, Villiers V, Souque P, Dautry-Varsat A, Duquesnel R, Ojcius DM. High incidence of Coxiella burnetii markers in a rural population in France. Eur J Epidemiol. 1996;12(5):509-13. 18. Van der Hoek W, Meekelenkamp JC, Dijkstra F, Notermans DW, Bom B, Vellema P, i sar. 2011. Proximity to goat farms and Coxiella burnetii seroprevalence among pregnant women. Emerg Infect Dis.,17(12):2360-3. 19. Boboš S, Vidić B. 2005, Patomorfologija mlečne žlezde preživara [monograph]. Novi Sad: Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Naučni Institut za veterinarstvo „Novi Sad". 20. Radinović

M., 2012. Nalaz specifičnih antitela za *Coxiella burnetii* kod hronično inficiranih krava i kontrola njenog izlučivanja mlekom [dissertation] Novi Sad: Univ. Novi Sad, Faculty of Agriculture. 21. Šeguljev Z., 1994. Rizik koji predstavlja infekcija izazvana sa *C. burnetii* za korisnike sirovog mleka u ishrani. Vet. glasnik; 48(3-4):299-301. 22. Frangoulidis D, 2010. Coxiella burnetii- stability in the environment and molecular typing. In proceedings of: Q-fever conference, Breda, The Netherlands, 25-6. 23. NABC, 2010. National Agricultural Biosecurity Centre, Kansas State University. 24. Waag DM, 2007. Coxiella burnetii: Host and bacterial responses to infection. Vaccine, 25(42), 7288-95. 25. Enright J B, Sadler W and Thomas R C, 1957a. Pasteurization of milk containing the organism of Q fever. American Journal of Public Health, 47, 695-700. 26. Rodolakis A, Berri M, Héchard C, Caudron C, Souriau A, Bodier C C, Blanchard B, Camuset P, Devillechaise P, Natorp J C, Vadet J P and Arricau-Bouvery N, 2007. Comparison of Coxiella burnetii shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. J Dairy Sci., 90 (12), 5352-60. 27. Schimmer B, Morroy G, Dijkstra F, Schneeberger PM, Weers-Pothoff G, Timen A, Wijkmans C, van der Hoek W, 2008. Large ongoing Q fever outbreak in the south of The Netherlands. Eurosurveillance, 13(31), 1-3. 28. Schimmer B, Dijkstra F, Vellema P, Schneeberger PM, Hackert V, ter Schegget R, Wijkmans C, van Duynhoven Y, van der Hoek W, 2009. Sustained intensive transmission of Q fever in the south of the Netherlands. Eurosurveillance, 14 (19), 5, 1-3. 29. Vellema P, van den Brom R, Dercksen DP, Moll L, Roest HJ, 2010. Research in relation to the approach of Q fever in the Netherlands. In: proceedings of: Q-fever conference, Breda, the Netherlands. 30. Roest H J, 2010. Dutch Coxiella burnetii. Presentation at the Q fever conference -One Health in relation to Q fever, in humans and animals, Breda, The Netherlands, 25 February 2010. 31. Ganter M, Bothe F, Eibach R and Runge M, 2010. Q-fever in Germany. In: proceedings of: Q-fever conference, Breda, The Netherlands, February 2010. 32. Fretz R, Schaeren W, Tanner M and Baumgartner A, 2007. Screening of various foodstuffs for occurrence of Coxiella burnetii in Switzerland. International Journal of Food Microbiology, 116 (3), 414-8. 33. Berri M, Rousset E, Hechard C, Champion J L, Dufour P, Russo P and Rodolakis A, 2005b. Progression of Q fever and Coxiella burnetii shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. Veterinary Record, 156 (17), 548-9. 34. Berri M, Rousset, E, Champion J L, Russo P and Rodolakis A, 2007. Goats may experience reproductive failures and shed Coxiella burnetii at two successive parturitions after a Q fever infection. Research in Veterinary Science, 83 (1), 47-52. 35. Harrison RJ, Vugia DJ and Ascher MS, 1990. Occupational health guidelines for control of Q fever in sheep research. Ann N Y Acad Sci, 590, 283-90. 36. Moffai MAJ, Massie A, Laing AG, Mackenzie RM, Robinson HG, 1970. Q-fever in North-East Scotland. The Lancet, Volume 296, Issue 7681; Pages 1025-7. 37. Madariaga MG, Rezai K, Trenholme GM, Weinstein RA, 2003. „Q fever: a biological weapon in your backyard“. Lancet Infect Dis, 3 (11), 709-21. 38. AMIEU, 2010. The Australasian Meat Industry Employees Union. 39. HPS, 2006. Health Protection Scotland. Q-fever in Forth Valley meat processing plant. HPS Weekly News 2006, 40, 29. 40. Donaghy M, Prempeh H, Macdonald N, 2006. Outbreak of Q fever in workers at a meat processing plant in Scotland, Euro Surveill., 11(34), 3031. 41. Marmion BP, Stoker MGP, Walker CBV, Carpenter RG, 1956. Q fever in Great Britain-epidemiological information from a serological survey of healthy adults in Kent ans East Anglia. J. Hyg. 54, 118-40. 42. Fishbein DB and Raoult D, 1992. A cluster of Coxiella burnetii infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 47, 35-40. 43. Benson W W, Brock D W and Mather J, 1963. Serologic analysis of a penitentiary group using rawmilk from a Q fever infected herd. Public Health Rep, 78, 707-10. 44. Krumbiegel ER, Wisniewski HJ, 1970. Q fever in Milwaukee. II. Consumption of infected raw milk by human volunteers. Arch. Environ. Health, 21, 63-5. 45. Enright J B, Sadler W and Thomas R C, 1957b. Thermal inactivation of Coxiella burnetti and

its relation to pasteruization of milk. Public Health Monograph No 47 (PHSC Publication No 517. US Government Printing Office, Washington DC. 46. Fornier PE, Marrie TJ, Raoult D, 1998. Diagnosis of Q fever. *J. Clin. Microbiol*., 36, 1823-34. 47. Russo P, 1997. Infection à *Coxiella burnetii* ou Fièvre Q. *In:* Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants, Rodolakis A. & Nettleton P., eds. L'Espace Vétérinaire, Casablanca, Morocco, 103-14. 48. Sanchis R, Russo P, Calamel M, Pepin M, 1997. Diagnostic différentiel des avortements infectieux des petits ruminants. *In:* Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants, Rodolakis A. & Nettleton P., eds. L'Espace Vétérinaire, Casablanca, Morocco, 25-34. 49. Gimenez DF,1964. Staining rickettsiae in yolk-sack cultures. *Stain. Technol.,* 39, 135-40. 50. Quinin PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR, 1994. Bacterial pathogens: microscopy, culture and identification. *In:* Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited*,* 21-30. 51. Sanford SE, Josephson GK, MacDonald A, 1994. *Coxiella burnetii* (Q fever) abortion storms in goat herds after attendance at an annual fair. *Can. Vet. J.,* 35, 376-8. 52. Chmielewski T, Sidi-Boumedine K, Duquesne V, Podsiadly E, Thiéry R, Tylewska-Wierzbanowska S, 2009. Molecular epidemiology of Q fever in Poland. Pol J Microbiol, 58 (1), 9-13. 53. Klaassen CHW, Nabuurs-Franssen MH, Tilburg JJHC, Hamans MAWM, Horrevorts AM, 2009. Multigenotype Q fever outbreak, the Netherlands. Emerging Infectious Diseases, 15(4), 613-4. 54. Hendrix lR, Samuel JE and Mallavia LP, 1991. Differentiation of Coxiella-Burnetii isolates by analysis of Restriction-Endonuclease-Digested DNA Separated By SDS-PAGE. Journal of General Microbiology, 137, 269-76. 55. Jager C, Willems H, Thiele D, Baljer G, 1998. Molecular characterization of Coxiella burnetii isolates. Epidemiology and Infection, 120, 2, 157-64. 56. Arricau-Bouvery N, Hauck Y, Bejaoui A, Frangoulidis D, Bodier CC, Souriau A, Meyer H, Neubauer H, Rodolakis A and Vergnaud G, 2006. Molecular characterization of Coxiella burnetii isolates byinfrequent restriction site-PCR and MLVA typing. BMC Microbiol, 6, 38. 57. Svraka S, Toman R, Skultety L, Slaba K, Homan W, 2006. Establishment of a genotyping scheme for Coxiella burnetii. FEMS Microbiol Lett., Jan 254(2), 268-74. 58. Glazunova O, Roux V, Freylikman O, Sekeyova Z, Fournous G, Tyczka J, Tokarevich N, Kovacava E, Marrie TJ and Raoult D, 2005. Coxiella burnetii genotyping. Emerging Infectious Diseases, 11, 8, 1211-7.

UTICAJ TEHNOLOŠKIH POSTUPAKA NA KONCENTRACIJU I STABILNOST ODREĐENIH KONTAMINANATA - AFLATOKSINA M1 U MLIJEČNIM PROIZVODIMA

Zoran Đerić, Sejad Mačkić

Agencija za sigurnost hrane BiH

Kratak sadržaj

Savremeni pristup osiguranja visokog nivoa zaštite zdravlja ljudi je zasnovan na novom konceptu i politici sigurnosti hrane koja je u svijetu posljednjih decenija doživjela suštinsku promjenu u smislu prelaska sa kontrole finalnih proizvoda na sveobuhvatni integrisani sistem sigurnosti „od farme do stola“, i prevenciju rizika, gdje se veća pažnja posvećuje mikrobiološkim i hemijskim zagađenjima koji su danas najčešće uzrok pojave bolesti prenosive hranom i oboljenja ljudi *(Zakon o hrani - „Službeni glasnik BiH“, 50/04).*

Zadnjih godina smo na osnovu rezultata laboratorijskih analiza, svjedoci povećane koncentacije mlijeka aflatoksinom M1 (u daljem tekstu: AFM1) kako u Bosni i Hercegovini tako i u zemljama regiona kao posledicu ishrane krava muzara kontaminiranom hranom aflatoksinom B1. Aflatoksin AFM1 je toksični metabolit mikotoksina aflatoksina B1, nastaje u jetri životinja i ljudi poslije konzumacije hrane kontaminirane aflatoksinom B1. Unošenjem toksina plijesni u organizam životinja i ljudi putem hrane nastaju alimentarne intoksikacije, tzv. mikotoksikoze koje mogu da poprime široke razmjere, što se i desilo u svim zemljama regiona. Najvjerojatniji način dospijeća AFM1 u organizam čovjeka je čestom konzumacijom mlijeka i mliječnih proizvoda (dijete - mlijeko, sir, maslac, jogurt). Nekoliko studija u različitim zemljama imaju različite visoke ili niske standarde za AFM1 u različitim kategorijama mlijeka i mliječnih proizvoda.

Ključne riječi: aflatoksin, mikotoksini, mikotoksikoze, izloženost

IMPACT OF TECHNOLOGICAL PROCEDURE TO CONCENTRATION AND STABILITY CERTAIN CONTAMINANTS - AFLATOXIN M1 IN MILK PRODUCTS

Zoran Đerić, Sejad Mačkić

Food safety agency of BIH

Abstract

Modern approach of providing a high level of human health protection is based on a new concept of policies on food safety in the world and in recent decades undergone substantial change in moving from control of final products to a comprehensive integrated system of safety “from farm to table” and risk prevention, where more attention is paid to the microbiological and chemical contaminants that are now commonly cause of food-borne illnesses and diseases of people *(Food low - „Official Gazette of BiH“ no: 50/04).*

In recent years we have based on the results of laboratory tests, witnessing increased concentrations of aflatoxin M1 in milk (AFM1) in Bosnia and Herzegovina and in the countries of the region as a result of feeding cows with contaminated food, aflatoxin B1. Aflatoxin AFM1 is a metabolite of mycotoxins aflatoxin B1 in the liver of animals and humans after consumption of food contaminated with aflatoxin B1. Mold toxins entering the body of animals and humans caused by food poisoning, so-called. mycotoxins with major proportions, which has happened in all countries of the region. The most likely way of maturity AFM1 in the human body is the frequent consumption of milk and dairy products (baby-milk, cheese, butter, yogurt). Several studies in different countries have different amounts (high or low) of AFM1 in various categories of milk and dairy products. This significantly variable of AFM1 quantity can be due to several factors affecting the AFM1 content in the product

Keywords: aflatoxin, mycotoxins, mycotoxicosis, exposure

Uvod

Zbog svoje povezanosti s velikim brojem mikotoksikoza na prvom mjestu nalaze se tri roda plijesni: *Aspergillus, Penicillium, Fusarium*. Do biosinteze mikotoksina dolazi ako je prisutna mikotoksikotvorna plijesan, ako je pogodan supstrat za rast i razmnožavanje plijesni i povoljni uslovi okoline. Plijesni mogu rasti i proizvoditi mikotoksine na plodovima prije žetve, nakon žetve, tokom prerade i skladištenja. Štetnost mikotoksina zavisi od količine mikotoksina, vrste mikotoksina, dužine izloženosti i osjetljivosti domaćina.

Mikotoksini se obično u hrani ne nalaze pojedinačno, već kao mješavina i mogu djelovati sinergistički. Neki od mikotoksina su mutagenog karaktera, neki karcinogenog, neki stvaraju specifičnu toksičnost organa, a neke su toksične na osnovu drugih mehanizama. Ljudi i životinje najčešće su izloženi mikotoksinima preko kontaminirane hrane.

Aflatoksini su toksični produkti plijesni *Aspergillus flavus, A. parasiticus* i *A. nomius*. Ime potiče od same gljive *Aspergillus flavus.* Karakteristično za aflatoksine je da floresciraju na UV svijetlu. Poznata su četiri glavna oblika: B1, B2 (plava "blue" boja na UV-svijetlosti), G1 i G2 (žuto zelena "*green*"), te dva dodatna metabolička produkta M1 i M2 (koji su izolovani iz mlijeka). *Aspergillus flavus* sintetizuje aflatoksine B1 i B2, dok *Aspergillus parasiticus* i *Aspergillus nomius* proizvode aflatoksine G1 i G2. Aflatoksin M1 poznat kao mliječni toksin (2,3) nastaje u jetri nakon metaboličke transformacije hrane kontaminirane aflatoksinom B1.

Mogu biti prisutni u stočnoj hrani, sirovinama i poluproizvodima za proizvodnju ljudske hrane, kao i u gotovoj ljudskoj hrani - žitaricama, kukuruzu, riži, voću, orašastom voću (posebno kikirikiju, pistacijima, lješnjak), sjemenkama pamuka i hrani životinjskog porijekla posebno mlijeku, ukoliko su životinje hranjene kontaminiranom stočnom hranom.

Aflatoksini su povezani sa mnogim bolestima kod ljudi i životinja: oštećuju jetru i bubrege, te uzrokuju rak jetre. Unos ovih spojeva u organizam i u ekstremno malim količinama tokom dužeg vremenskog perioda može biti opasno po ljudsko zdravlje. Karcenogenost AFM1 zavisi od stepena izloženosti i vremena trajanja izloženosti. AFM1 ima manji mutageni potencijal u odnosu na AFB1. Takođe, toksični i kancerogeni efekti AFM1 doveli su do promjene kategorizacije iz grupe 2B u grupu 1.

Procjena rizika

Pojava aflatoksina AFM1 u mlijeku je posledica, uzrok je hrana za životinje kontaminirana sa aflatoksinom B1. Aflatoksin B1 i B2 se u jetri sisara metabolizuju u aflatoksine M1 i M2, koji se mogu naći u mlijeku i mliječnim proizvodima. Procjena rizika, kao dio analize rizika, naučno je utemeljena i predstavlja osnovu za definisanje standarda u oblasti sigurnosti hrane. U navedenoj procjeni rizika za AFM1 u mliječnim proizvodima,

navedene su sve potrebne komponente procjene rizika: pojava i nivoi AFM1 u mliječnim proizvodima, njegove fizičko-hemijske karakteristike, sa posebnim akcentom na njegovu stabilnost na razne tretmane i oblike proizvodnje i prerade proizvoda od mlijeka, humanu ekspoziciju, granične sigurnosne limite (TDI), toksičnost, te rezultate brojnih studija u svijetu. Sve navedeno koristi se za definisanje standarda, u ovom slučaju definisanje graničnih vrijednosti za AFM1 u mliječnim proizvodima.

Budući da je AFM1 stabilan tokom pasterizacije i sterilizacije mlijeka i mliječnih proizvoda, izloženost relativno malim količinama AFM1 može značajno narušiti ljudsko zdravlje, naročito djece koja su glavni konzumenti mlijeka i mliječnih proizvoda. AFM1 može se dokazati u mlijeku 12 do 24 sata nakon konzumacije aflatoksinom B1 a najviši se nivoi dostižu nakon nekoliko dana. Nakon prestanka unosa AFB1 u organizam, koncentracija aflatoksina M1 se smanjuje unutar 72 sata do količine kada se više ne može dokazati.

Uporedni parametri maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK) za sirovo mlijeko, pasterizovano mlijeko i mlijeko za izradu proizvoda na bazi mlijeka

Treba naglasiti da maksimalno dozvoljene koncentracije (MDK) za AFM1 u mliječnim proizvodima na nivou EU nije definisana zbog poteškoća u identifikovanju standardizovanog konverzionog faktora za razne mliječne proizvode, a što treba uzeti u obzir.

Tabela 1: MDK vrijednosti za AFM1 u mlijeku i određenim proizvodima od mlijeka u pojedinim zemljama

Zemlja	MDK (µg/kg ili µg/l)	Hrana	Referenca
Švedska	**0,050**	Tečni mliječni proizvodi	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Austrija	**0,050**	Mlijeko	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,250	Sir	*Dashti et al., 2009*
Njemačka	**0,050**	Mlijeko	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Holandija	**0,020**	Maslac	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,200	Sir	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Švicarska	**0,050**	Mlijeko i mliječni proizvodi	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,250	Sir	*Anon, 1997; Creppy, 2002; Dashti et al., 2009*
Belgija	**0,050**	Mlijeko	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Italija	**0,250**	Sir	*Italian Health Department, 2004*
	0,450	Tvrdi sir	
USA	**0,50**	Mlijeko	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Češka Republika	**0,10**	Mlijeko za djecu	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,50	Mlijeko za odrasle	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,03	Mlijeko za djecu	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Francuska	**0,05**	Mlijeko za odrasle	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
Turska	**0,05**	Mlijeko i mliječni proizvodi	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,20	Sir	*Anon, 1997; Creppy, 2002*
	0,25	Sir	*Sarimehmetoglu et al., 2004*
Argentina	**0,50**	Sir	*Dashti et al., 2009*
Turska	**0,25**	Sir	*Sarimehmetoglu et al., 2004*

Uporedni parametri MDK za sirovo mlijeko, pasterizovano mlijeko i mlijeko za izradu proizvoda na bazi mlijeka iznosi:

- Zemlje EU 0,050 m/kg
- BiH 0,050 m/kg
- Hrvatska, Srbija, Crna Gora, Makedonija 0,050 m/kg
- Australija, Turska 0,050 m/kg
- SAD 0,50 m/kg

Međutim, zbog svega navedenog kao i različitih studija koje su dale različite podatke za MDK AFM1 u proizvodima od mlijeka ova oblast je različito regulisana u zemljama EU za određene proizvode od mlijeka:

Siru	Holandija	0,20 μ/kg
	Austija, Švajcarska, Honduras, Turska	0,25 μ/kg
Maslacu	Holandija	0,20 μ/kg

Uticaj tehnoloških postupaka na koncentraciju i stabilnost određenih kontaminanata - AFM1 u mliječnim proizvodima

Prema Ekspertnom komitetu za aditive u hrani (JECFA, 2001-4.), rezultati brojnih studija efekata prerade mlijeka na koncentraciju AFM1 su različiti. Koncentracija AFM1 ne smanjuje se termičkim tretmanima. Proizvodnja jogurta, sira, mlijeka u prahu, ili maslaca, ne dovodi značajno do gubitka AFM1, iako se redistribuira unutar proizvoda. Parcijalno se eliminiše iz mlijeka fizikalnim ili hemijskim procedurama koji uključuju adsorbense, vodik-peroksid ili UV zračenje. AFM1 je relativno stabilan tokom prerade i skladištenja raznih mliječnih proizvoda.

Termički tretman: studije pokazuju da tretman, poput pasterizacije i sterilizacije, koji se koriste u industriji mlijeka, ne uzrokuju značajne promjene količine AFM1 u mliječnim proizvodima.

Budući da je AFM1 stabilan tokom pasterizacije i sterilizacije mlijeka i mliječnih proizvoda, izloženost relativno malim količinama AFM1 može značajno narušiti ljudsko zdravlje, naročito djece koja su glavni konzumenti mlijeka i mliječnih proizvoda.

Čuvanje na niskim temperaturama: studije ispitivanja stabilnosti AFM1 u mlijeku uslijed izlaganja niskim temperaturama pokazuju različite rezultate. I pored toga, finalni zaključak je da niske temperature ne utiču na sadržaj AFM1 u mlijeku i proizvodima od mlijeka.

Koncentrisanje i sušenje mlijeka: evaporacija, koncentrisanje ili sušenje mlijeka kao rezultat može dati parcijalno ili potpuno uklanjanje vode iz mlijeka sa ili bez zagrijavanja, može povećati koncentraciju određenih mliječnih sastojaka i kontaminanata kao što je AFM1, i može povećati osjetljivost toksina na kisik, svjetlost ili druge faktore destabilizacije. Veliki gubitak AFM1 uslijed navedenih postupaka utvrđen je u nekim studijama u svijetu.

Proizvodnja fermentisanih mliječnih proizvoda: studije nisu pokazale signifikantno smanjenje sadržaja AFM1 u fermentisanim mliječnim proizvodima, kao što su kefir i jogurt. Neke studije su dokazale visok procenat uzoraka jogurta kontaminiranih sa AFM1 a koji je proizveden od termički tretiranog mlijeka (66,1% pozitivnih uzoraka). Prosječan srednji nivo kontaminacije u uzorcima jogurta bio je niži u odnosu na mlijeko. Vjerovatno, neki sojevi mliječno-kiselinskih bakterija koji postoje u jogurtu utiču na AFM1 u smislu dekontaminacije.

Proizvodnja maslaca: AFM1 je uglavnom rastvorljiv u vodenoj fazi mlijeka ili se adsorbuje na čestice kazeina. Podaci nekoliko studija pokazuju manju proporciju AFM1 u maslacu u odnosu na mlijeko. Tokom proizvodnje maslaca, proteinska membrana oko masnih globula se kida i serumska faza se odvaja. Zbog nerastvorljivosti AFM1 u maslacu i njegovog afiniteta za kazein, vezuje se za frakciju proteina. Zbog toga, maslac može sadržavati manje količine AFM1 u poređenju s drugim mliječnim proizvodima.

Proizvodnja sira: AFM1 je predominantno vezan za kazein, tako da u siru može biti prisutan u većim koncentracijama. Studije su pokazale oko 3 puta veću koncentraciju u mnogim mekim sirevima i oko 5 puta veću koncentraciju u tvrdim sirevima u odnosu na mlijeko. Veća prisutnost i nivoi AFM1 nađeni su u bijelom siru u jednoj studiji. Zbog afiniteta AFM1 na kazeinsku frakciju u mlijeku, koncentracija toksina bila je veća u siru u odnosu na mlijeko od kojeg je sir proizveden. Ova studija je pokazala da je 81,9% uzoraka bijelog sira bilo pozitivno na AFM1. I druge studije u svijetu pokazuju slične rezultate. Za sir količina AFM1 zavisi od sljedećih faktora: vrste sira, proizvodnih postupaka proizvodnje, uslovi zrenja sira, analitičkih metoda, geografskog područja, godišnjeg perioda proizvodnje, skladištenja i dr.

Tokom proizvodnje sira, AFM1 može biti smanjen u siru povećanjem temperature zasiravanja sa 30 na 40°C, smanjenjem rezanja veličina grude sira i povećanjem vremena od sirenja jedan do dva sata, što izaziva veći prelazak AFM1 u surutku. AFM1 je termostabilan i tokom pasterizacije mlijeka, više od 90% AFM1 je zadržan u mlijeku.

Međutim, tokom proizvodnje sira postoji podjela AFM1 između: sira, surutke i salamure. Rezultati o raspodeli AFM1 tokom proizvodnje sira između grude sira i surutke mogu biti promjenjljivi. Neki autori Lopez i sar., 2001 (5) radili su ispitivanja prerade sira koristeći vještački kontaminirano mlijeko sa AFM1 i utvrdili da najveći dio količine (60%) AFM1 otpada na surutku, dok je 40% AFM1 ostao u siru. Takođe, neki istraživači su objavili da je najveći procenat AFM1 u siru bio u rasponu između 66-80% (3). Pored 37% AFM1 u mlijeku koje je ostalo u surutki još 30% AFM1 se izgubilo iz sira tokom salamurenja i pravilnog skladištenja.

Rezultati

U BiH nisu rađene studije o promjeni koncentracije AFM1 prilikom postupka prerade proizvoda od mlijeka i nema dovoljno ulaznih parametara za konačno davanje mišljenja po tom pitanju. Prije dozvoljene isporuke proizvoda od mlijeka (sira) dobijenog od mlijeka sa povećanom količinom AFM1 u njemu, moramo biti sigurni u zdravstveni rizik kojim izlažemo potrošače. Na osnovu naučnih mišljenja u svijetu, nije moguće postaviti granične limite za AFM1 za mliječne proizvode zbog poteškoća u identifikovanju standardizovanog konverzionog faktora za mliječne proizvode.

Da bi se obezbijedio visok nivo zaštite zdravlja ljudi i vratilo povjerenje potrošača, sirovo ili pasterizovano mlijeko koje se koristi za izradu proizvoda na bazi mlijeka (sir, pavlake, razni namazi, maslac i drugi proizvodi), mora ispunjavati MDK vrijednost (0,050 µg/kg), propisanu važećim Pravilnikom o maksimalno dozvoljenim količinama za određene kontaminante u hrani („Službeni glasnik BiH“, br. 37/09 i 39/12). Ukoliko je nivo aflatoksina M1 u mlijeku veći od dopuštenog mlijeko se ne smije koristiti za prehranu ljudi, niti za proizvodnju mliječnih proizvoda

Prema članu 8. navedenog Pravilnika (9):

- stav (2) Subjekti u poslovanju s hranom moraju u proizvođačkoj specifikaciji navesti i opravdati poseban postupak koncentracije ili razrjeđivanja za postupke sušenja, razrjeđivanja, prerade i/ili miješanja ili za sušenu, razrjeđenu, prerađenu i/ili složenu hranu;
- Stav (3) Ako subjekt u poslovanju s hranom ne primjenjuje odgovarajuće faktore koncentracije ili razrjeđivanja, ili ako nadležni organ smatra da taj postupak neprimjeren s obzirom na dato obrazloženje, nadležni organ sam će odrediti dati faktor na osnovu dostupnih informacija s ciljem maksimalne zaštite zdravlja ljudi;

Obzirom da su donešeni propisi i definisane MDK za određene kontaminante u hrani i da je primarna uloga i odgovornost subjekata u poslovanju s hranom proizvodnja zdrave i ispravne hrane, da novi koncept sigurnosti hrane tek počeo da se primjenjuje na ovim prostorima, da su znanja proizvođača, poštivanja i primjena određenih procedura oskudna i nedovoljna, prišlo se tome da nadležni organ na osnovu nekoliko ulaznih parametara i faktora koncentracije odredi vrijednosti MDK u proizvodima od mlijeka.

Urađen je proračun MDK vrijednosti za proizvode od mlijeka, na bazi određene MDK za mlijeko (≤0,05 µg/kg), raspoloživih podataka vezanih za proizvodnju i preradu proizvoda od mlijeka (faktora koncentracije) i procjenjene prosječne ekspozicije stanovništva u BiH, te su predložene sljedeće MDK vrijednosti za AFM1 u određenim proizvodima od mlijeka kao Uputstvo parametara koje laboratorije i nadležni inspekcijski organi trebaju uzimati u obzir:

Tabela 2. Preporučene vrijednosti MDK za određene proizvode

Proizvod	MDK za mlijeko za proizvodnju proizvoda na bazi mlijeka(µg/kg)	Faktor Koncentracije, (EF)-faktor obogaćivanja	Preporučena vrijednost MDK u µg/kg
Svježi sir	≤0,05	2,5 - 3	0,125 - 0,150
Meki i polutvrdi sir		4 - 5	0,200 - 0,250
Tvrdi i ekstra tvrdi sir		5 - 8	0,250 - 0,400
Mlijeko u prahu		7 - 8	0,350 - 0,400
Jogurt, kefir i ostala fermentisana mlijeka		0,8 – 1,1	0,04 - 0,055

Diskusija

Iz navedenog proizlazi kako predmetni proizvodi predstavlja značajan rizik za zdravlje potrošača, naročito za potrošačke grupe kojima se preporučuje konzumiranje mlijeka u većim količinama (djeca, mladi, trudnice i dojilje).

Postoji nekoliko raspoloživih podataka u nacionalnoj i međunarodnoj literaturi o koncentracionim faktorima u različitim mliječnim proizvodima, ali ovi podaci su loše primjenjivi, budući da je M1 dihidroderivat B1, koji se smatra najtoksičnijim mikotoksinom iz skupine aflatoksina, čijim dugotrajnim unosom u organizam može doći do razvoja hepatocelularnoga karcinoma, međunarodna Agencija za praćenje pojave karcinoma (IARC) ga je svrstala u grupu I toksina, sa mogućim karcinogenim efektom.

Za takvu vrstu spojeva se smatra kako ne postoji prag doze ispod koje ne bi došlo do potencijalne opasnosti nastajanja tumora. Dakle, samo nulti nivo izloženosti neće dovesti do rizika. Izvještaji dobiveni nakon provedenih procjena rizika ukazuju na to da i vrlo nizak nivo izloženosti aflatoksinu M1, odnosno samo 1 ng/kg tjelesne težine/dan ili niže, doprinosi riziku od nastajanja raka jetre.

Radi komparacije dajemo preračunate vrijednosti na bazi MDK od 0,50 µg/kg u mlijeku, kojoj se pribjeglo zbog povećane koncentacije mlijeka aflatoksinom M1 u nekim zemljama regiona. Mlijeko sa takvim vrijednostima je korišteno za proizvodnju proizvoda od mlijeka namijenjenih za tržište.

Tabela 3. Vrijednosti MDK za određene proizvode kod izmjenjenih vrijednosti MDK mlijeka

Proizvod	MDK za mlijeko za proizvodnju proizvoda na bazi mlijeka(µg/kg)	Faktor Koncentracije, (EF)-faktor obogaćivanja	Preporučena vrijednost MDK u µg/kg
Svježi sir	0,50	2,5 - 3	1,25 – 1,50
Meki i polutvrdi sir		4 - 5	2,00 – 2,50
Tvrdi i ekstra tvrdi sir		5 - 8	2,50 – 4,00
Mlijeko u prahu		7 - 8	3,50 – 4,00
Jogurt, kefir i ostala fermentisana mlijeka		0,8 – 1,1	0,4 - 0,55

Preporuke i zaključci

Budući da je M1 dihidroderivat B1 i smatra se najtoksičnijim mikotoksinom iz skupine aflatoksina, kumulativnog djelovanja, čijim dugotrajnim unosom u organizam može doći do razvoja hepatocelularnoga karcinoma, samo nulti nivo izloženosti neće dovesti do rizika, nastajanja raka jetre. Upravo iz tog razloga jednostavnom računicom obrađene su vrijednosti znatno niže od danas važeće MDK za mlijeko a to su: (≤0,03 µg/kg) i (≤0,01 µg/kg).

Tabela 4. Vrijednosti MDK za određene proizvode na bazi MDK vrijednosti (≤0,03 µg/kg)

Proizvod	MDK za mlijeko za proizvodnju proizvoda na bazi mlijeka(µg/kg)	Faktor Koncentracije, (EF)-faktor obogaćivanja	Preporučena vrijednost MDK u µg/kg
Svježi sir	≤0,03	2,5 - 3	0,075 – 0,90
Meki i polutvrdi sir		4 - 5	0,12 – 0,15
Tvrdi i ekstra tvrdi sir		5 - 8	0,15 – 0,24
Mlijeko u prahu		7- 8	0,21 – 0,24
Jogurt, kefir i ostala fermentisana mlijeka		0,8 – 1,1	0,012 - 0,033

Tabela 5. Vrijednosti MDK za određene proizvode na bazi MDK vrijednosti (≤0,01 µg/kg)

Proizvod	MDK za mlijeko za proizvodnju proizvoda na bazi mlijeka(µg/kg)	Faktor Koncentracije, (EF)-faktor obogaćivanja	Preporučena vrijednost MDK u µg/kg
Svježi sir	≤0,01	2,5 - 3	0,025 – 0,030
Meki i polutvrdi sir		4 - 5	0,04 – 0,05
Tvrdi i ekstra tvrdi sir		5 - 8	0,05 – 0,08
Mlijeko u prahu		7- 8	0,07 – 0,08
Jogurt, kefir i ostala fermentisana mlijeka		0,8 – 1,1	0,008 - 0,011

Za definisanje MDK vrijednosti u proizvodima od mlijeka u formi propisa neophodno je uraditi *„totalnu dijetarnu studiju"* i dodatne konsultacije sa ekspertima, nadležnim institucijama u BiH i zemljama okruženja, te sa EFSA-om.

Takođe, na osnovu preporuke EFSA-e (4) kao i Agencije za sigurnost hrane BiH neophodno je provoditi redovni monitoring krmnih smjesa, kravljeg mlijeka te kukuruza i njegovih proizvoda, naročito ukoliko je uzgojen u suptropskim krajevima uz primjenu svih agrotehničkih mjera koje pogoduju rastu plijesni i sintezi aflatoksina.

Određivanje aflatoksina M1 u proizvodnji i prometu mlijeka i proizvoda od mlijeka mora da bude obavezna redovna procedura pri inspekcijskom nadzoru.

Na osnovu naučnog mišljenja EFSE (5,6,7) potrebno je smanjiti ekspoziciju aflatoksinima iz svih izvora, jer su aflatoksini genotoksični i kancerogeni.

Iz ovog se nameće preporuka i EFSI da se revidira MDK vrijednost za mlijeko namijenjeno za proizvodnju proizvoda na bazi mlijeka, kako je navedeno u tabelama 4. i 5.

LITERATURA:

1. Zakon o hrani, „Službeni glasnik BiH“, 50/04. 2. Aycicek H, Yarsan E, Sarimehmetoglu B, Cakmak O, 2002, Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey. Vet. Hum. Toxicol., 44, 295-6. 3. Fallah AA, Jafari T, Fallah A, Rahnama M, 2009, Determination of aflatoxin Ml levels in Iranian white and cream cheese. Food and Chemical Toxicology, 47, 1872-5. 4. JECFA, 2001, Safety Evaluation f Certain Mycotoxins in Food – Prepared by the 56th meeting of the JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) - FAO Food and Nutrition Paper 74/WHO Foods Additives Series 47. 5. Lopez C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L, Perez J, 2001, Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. International Journal of Food Microbiology, 211-5. 6. European Food Safety Authority, 2004, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. EFSA Journal, 39: 1-27. 7. European Food Safety Authority, 2005, Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic. EFSA Journal; 282: 1-31. 7. European Food Safety Authority, 2007, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for Aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. EFSA Journal; 446: 1-127. 8. European Food Safety Authority, 2009, Effects on public health of an increase of the levels for aflatoxin total from 4 μg/kg to 10 μg/kg for tree nuts other than almonds, hazelnuts and pistachios. Scientific Opinion. Statement of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain. EFSA Journal; 1168: 1-11. 9. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama za određene kontaminante u hrani, „Službeni glasnik BiH“, 37/09 i 39/12.

УТИЦАЈ УЗРОЧНИКА МАСТИТИСА НА ХИГИЈЕНСКУ ИСПРАВНОСТ МЛЕКА

Миодраг Радиновић, Станко Бобош, Марија Пајић, Аннамариа Галфи

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Производња млека и квалитет млека крава зависи од фазе лактације, здравља вимена и услова смештаја и исхране. Неодговарајуће окружење и неадекватна мужа може да доведе до инфекције вимена и промене у квалитету и количини млека. Губици у производњи млека код крава инфицираних са примарним патогенима су већи у раној лактацији. Стадијум лактације такође утиче на састав млека, тако да током прве фазе лактације садржај протеина у млеку је најнижи и највиша дневна производња, док садржај млечне масти осцилира током лактације. У збирним узорцима млека, најчешће изолован примарни патогени су *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*. Наведени микроорганизми доводе до поремећаја секреције и повећања броја соматских ћелија. Постојање супклиничких маститиса изазвало је смањење производње млека, тако да је просечна дневна производња у инфицираних крава била нижа од просека на фарми. Краве са негативним бактериолошким налазом у збирним узорцима млека имале су просечан број соматских ћелија који одговара IDF стандардима и дневну производњу већу од просечне.

Кључне речи: патогени, млеко, поремећај секреције

INFLUENCE OF UDDER PATHOGENS ON THE MILK SAFETY

Miodrag Radinović, Stanko Boboš, Marija Pajić, Annamaria Galfi

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Milk production and milk quality in cattle depends on the stage of lactation, udder health and housing conditions and nutrition. Improper environment and inadequate husband can lead to infection of the udder and changes in the quality and quantity of milk. Losses in milk production in cows infected with the primary pathogens were higher in early lactation. Stage of lactation also affects the composition of milk, so that during the first stage of lactation protein content in milk is the lowest and highest daily production, and milk fat content fluctuates during lactation. The cumulative milk samples, most frequently isolated pathogens are the primary *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. These micro-organisms leads to an increase in secretion disorder, and somatic cell count. The existence of subclinical mastitis caused a decrease in milk production, so that the average daily production in infected cows was lower that the average farm. Cows with negative bacteriological findings in cumulative milk samples had an average somatic cell count which corresponds the IDF standards and their daily production was higher than average.

Key words: pathogens, milk, secretion disorder

УВОД

Производња и квалитет млека високо продуктивних крава зависи од стадијума лактације здравља вимена услова смештаја и исхране (3). Према подацима из литературе око 50% крава оболи од маститиса током живота (6). Ово обољење наноси велике губитке у говедарству, а посебно млекарству, како због смањене производње, тако и због лошијег квалитета млека. Упални процеси у млечној жлезди крава најчешће су последица присуства инфективних агенаса бактериолошког порекла, који доводе до поремећаја секреције вимена и субклиничког маститиса, што утиче на смањење укупне дневне производње млека, које по крави износи од 5-25% (1). Губици млека зависе од стадијума болести вимена и његовог целуларног одговора, који пратимо кроз број соматских ћелија у 1 mL млека. Форма испољавања маститиса зависи од ћелијског одговора млечне жлезде. Постоји клинички видљива форма и субклиничка форма, која се открива праћењем присуства поремећаја секреције. Субклиничка форма маститиса код крава настаје као резултат интеракције макроорганизама и микроорганизама. У одређеном тренутку микроорганизми пролазе баријеру одбране макроорганизма и преузимају доминантну улогу у вимену. Као узрочници маститиса, односно поремећаја секреције вимена најчешће се у литератури помињу патогени првог реда, *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus*, патогени другог реда, коагулаза негативне стафилококе и неагалактичне стрептококе, као и микроорганизми околине где у условима лоше хигијене доминирају колиформи (7). Добра контрола здравља вимена крава данас не може да се замисли без контрола броја соматских ћелија у стадним, збирним и појединачним узорцима млека (8).

Циљ рада је био да се поређењем резултата бактериолошке анализе збирних узорака млека са две фарме испита утицај различитих патогена на хигијенску исправност млека.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Збирни узорци млека од крава са обе фарме бактериолошки су обрађени и испитани у лабораторији за хигијену млека Департмана за ветеринарску медицину Пољопривредног факултета у Новом Саду. У циљу утврђивања узрочника маститиса засејавање узорака млека је вршено на крвни агар.

За диференцирање *Streptococcus agalactiae* и других стрептокока примењиван је CAMP-ескулин тест и биохемијска испитивања на: каталазу, хемолизу, коришћење цитрата ферментације угљених хидрата (лактозе, малтозе, манита, салицила, сахарозе, трехалозе), *metil red Voges-Proskauer* тестове, отапање желатина, хидролизу аргенина и разлагање натријум-хипурата.

Staphylococcus aureus је на крвном агару растао у виду округлих, белих, сиво-белих, а понекад и златно-жутих и лимун-жутих колонија, пречника 3-5 mm, ређе са α, нешто чешће са αß, а најчешће ß хемолиозом. То су Грам позитивне коке у гроздовима, паровима и ређе у краћим ланцима.

Често су изоловане и микрококе које најчешће нису стварале хемолизу на крвном агару, а понекад веома уску зону хемолизе, ширине до 1 mm. Ћелије су по облику сличне стафилококама.

Аутоматско бројање соматских ћелија вршено је методом проточне цитометрије. За потребе овог рада аутоматско бројање соматских ћелија вршено је "Combifos" апаратом, произвођача Foselectric из Данске.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултати бактериолошког прегледа збирних узорака млека са обе фарме приказани су у табели 1. Добијени резултати бактериолошког прегледа узорака млека узетих на испитиваним фармама о рашчирености инфекција вимена одговарају налазима De Haas и сарадника 2004. године (10).

Табела 1. Бактериолошки налаз збирних узорака млека

Ознака Фарме	Резултат бактериолошког прегледа									
	Бактериолошки негативно		Патогени I реда		Патогени II реда		Сапрофити		Укупно	
	број	%	број	%	број	%	број	%	број	%
A	3	17,6	14	82,3	0	0	0	0	17	100
B	6	33,3	2	11,1	5	27,7	5	27,7	18	100

На фарми А (табела 2), од укупно бактериолошки прегледаних 17 узорака млека највећи је број узорака са изолованим *Staphylococcus aureus* и износио је 11 (64,7%). Најмањи је број узорака са изолованим *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus* и износио је 1 (5,8%).

Табела 2. Бактериолошки налаз из збирних узорака млека са фарме А

Бактериолошки налаз	**број**	**%**
Бактериолошки негативно	3	17,6
Staphylococcus aureus	11	64,7
Streptococcus agalactiae	2	11,7
Str. agalactiae + *Staph. aureus*	1	5,8
Укупно прегледано	17	100

На фарми Б (Табела 3) од укупно бактериолошки прегледаних 18 узорака збирног млека, број узорака са негативним бактериолошким налазом из збирног млека износи 6 (33,3%). Док су патогени првог и другог реда дијагностиковани у 11,1% и 27,8% збирних узорака млека.

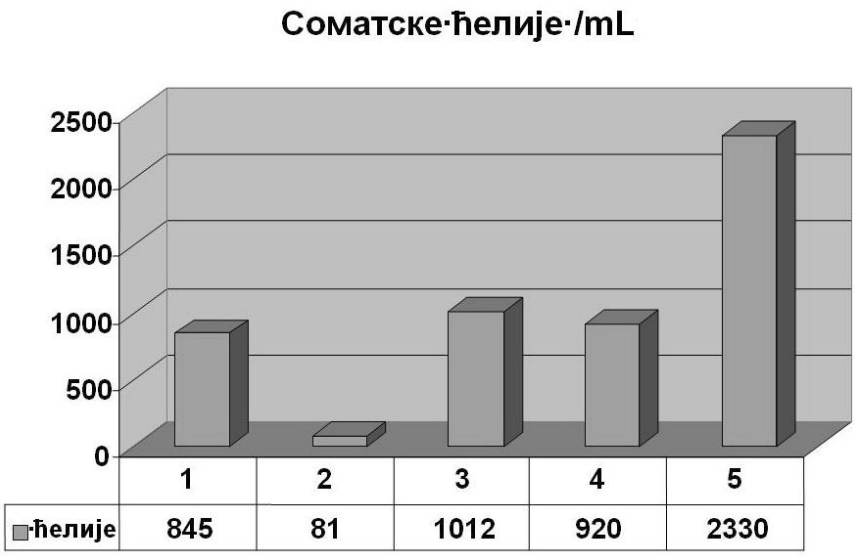
Табела 3. Бактериолошки налаз из збирних узорака млека са фарме Б

Бактериолошки налаз	**број**	**%**
Бактериолошки негативно	6	33,3
Str. agalactiae + *Staph. aureus*	2	11,1
Неагалактичке стрептококе	5	27,8
Corynebacterium bovis	3	16,6
Микрококе	2	11,1
Укупно прегледано	18	100

Добијени резултати истраживања указују да присуство бактеријске микрофлоре вимена није довољан показатељ за процену хигијенске исправности млека, него је потребно утврдити о којој се микрофлори ради, односно врсту бактеријске инфекције вимена. Патогени првог реда (*Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*) значајно утичу на хигијенску исправност млека и здравље вимена крава (2), а значај патогена другог реда и сапрофита (*Corynebacterium bovis*, неагалактичке стрептококе, микрококе)

је знатно мањи. На фарми А из 82,3% збирних узорака млека изоловани су патогени првог реда. Наведени микроорганизми доводе до пораста броја соматских ћелија, што потврђује и просечан број соматских ћелија у збирним узорцима млека са фарме А који је износио 845.000/mL. Резултати огледних истраживања на фарми А одговарају налазима Jayarao и сарадника 2004. године (2). На фарми Б (табела 3) проценат бактериолошки позитивних збирних узорака млека са изолованим патогенима првог реда је био 11,1%, са изолованим патогенима другог реда, где смо сврстали коагулаза негативне стафилококе и неагалактичне стрептококе, износио је 27,7%. Сапрофитска микрофлора коју чине микрококе и *Corynebacterium bovis* је изолована у 27,7% збирних узорака млека крава, што одговара налазима Williamson и сарадника 2008. године (4). У дијаграму 1 приказана је средња вредност броја соматских ћелија у 1 mL млека код крава са изолованом различитом микрофлором. Најмањи је број соматских ћелија био код крава са негативним бактериолошким налазом из збирних узорака млека и износио је 81.000 у 1 mL млека, а највећи код крава код којих је изолован *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus,* где је износио 2.330.000/mL млека.

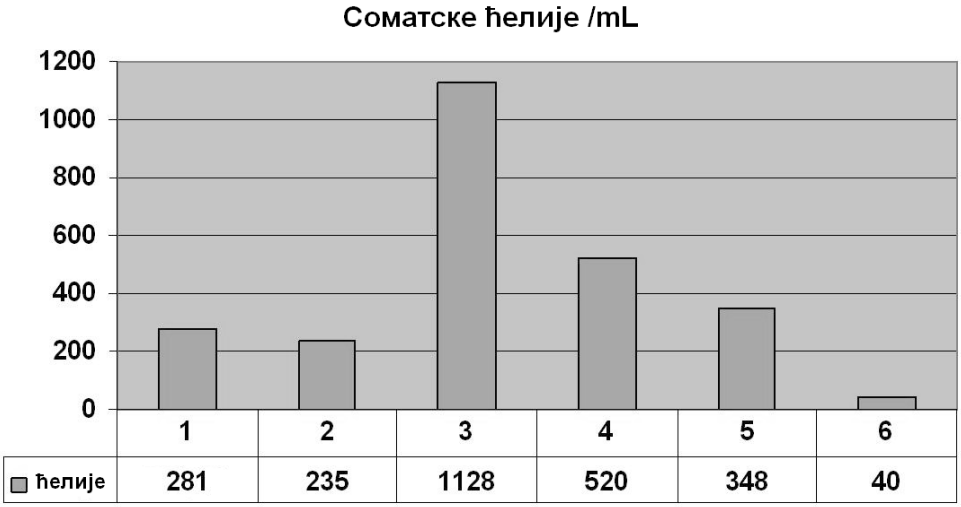
Дијаграм 1. Резултати броја соматских ћелија у збирним узорцима млека крава са фарме А



Легенда: 1-Просечан број соматских ћелија са фарме; 2-Краве са негативним бактериолошким налазом; 3-Краве са изолованим *Staphylococcus aureus*; 4-Краве са излованим *Streptococcus agalactia*; 5-Краве са изолованим *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*.

Овакав налаз у складу је са наводима (9) који говоре о значајном повећању броја соматских ћелија код крава са интрамамарном инфекцијом са наведеним узрочницима.

Дијаграм 2. Резултати броја соматских ћелија у збирним узорцима млека крава са фарме Б



Легенда: 1-Просечан број соматских ћелија са фарме; 2-Краве са негативним бактериолошким налазом; 3-Краве са изолованим *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*; 4-Краве са излованим неагалактичким стрептококама; 5-Краве са изолованим *Corynebacterium bovis*; 6-Краве са изолованим микрококама.

ЗАКЉУЧАК

Резултати бактериолошких прегледа збирних узорака млека на обе огледне фарме указују да налаз патогена првог реда доводи до повећања броја соматских ћелија поремећаја секреције и субклиничког маститиса. Од патогена првог реда из збирних узорака млека најчешће је изолован *Staphylococcus aureus*, чији налаз у вимену доводи до повећања броја соматских ћелија и преко 2.000.000/mL. Међутим, број соматских ћелија испод 250.000/mL говори о непостојању активног ћелијског одговора млечне жлезде у случајевима хроничних инфекција вимена проузрокованих *Staphylococcus aureus*.

Захвалница: *Резултати истраживачког рада изнети у овом раду су део Пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја број 31084 „Праћење здравственог стања дивљачи и увођење нових биотехнолошких поступака у детекцији заразних и зоонозних агенаса - анализа ризика за здравље људи, домаћих и дивљих животиња и контаминацију животне средине“.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hamann J, 2002, Milk quality and udder health in relation to modern milking technique. XXII World Buiatrics Congress. August 18-23. Hannover, Germany, 334-45. 2. Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DRH, 2004, Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. J Dairy Sci.; 87(10):3561-73. 3. Sheldrake RF, Hoare RJT, McGregor GD, 1983, Lactation Stage, Parity, and Infection Affecting Somatic Cells, Electrical Conductivity, and Serum Albumin in Milk. J Dairy Sci.; 66(3):542-7. 4. Williamson N, Petrovski K, Fernandez C, 2008, Challenge with Streptococcus uberis to Evaluate the Efficacy of Teat Sealers in Preventing Mastitis. XXV World Buiatrics Congress. July 6-11. Budapest, Hungary. 5. Boboš S, Stojanović L, Vidić B, Bugarski D, 1997, Brojanje somatskih ćelija u mleku krava radi dijagnostikovanja i praćenja infekcija vimena i stada. Vet. glasnik, 51(9-10):481-589. 6. Boboš S, Plavšić M, 2004, Correlation between number of somatic cells and milk quality in large herds with subclinical mastitis. Congress of middle - europe buiatrics, Debrecen, Hungary. 7. Schalm OW, Carroll EJ, Jain NC, 1971, Bovine mastitis. Lea and Febiger Philadelphia. 8. Katić V, Boboš S, Jurca J, 1990, Značaj preventivnih mera u suzbijanju mastitisa. Vet. glasnik, 44(3-4):299-308. 9. Ward GE, Schultz LH, 1972, Relationship of Somatic Cells in Quarter Milk to Type of Bacteria and Production. J Dairy Sci, 55(10):1428-31. 10. De Haas Y, Veerkamp RF, Barkema HW, Gröhn YT, Schukken YH, 2004, Associations Between Pathogen-Specific Cases of Clinical Mastitis and Somatic Cell Count Patterns. J Dairy Sci.; 87(1):95-105. 11. Boboš S, Vidić B, 2005, Mlečna žlezda preživara-morfologija-patologija-terapija. Novi Sad: Poljoprivredni fakultet Novi Sad - Departman za veterinarsku medicinu, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad".

ПРЕВЕНТИВНИ АНТИМИКРОБНИ ТРЕТМАНИ НА ФАРМАМА ГОВЕДА У ЦИЉУ СМАЊЕЊА КОНТАМИНАЦИЈЕ МЕСА У КЛАНИЦАМА И КОНСЕКВЕНТНОГ ТРОВАЊА ЉУДИ ХРАНОМ

Драган Роган, Весна Лалошевић, Николина Новаков, Бојана Видовић

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Научни радници широм света идентификовали су неколико превентивних мера које потенцијално могу смањити број патогених бактерија у дигестивном систему говеда, а самим тим смањити и тровање људи месом и производима од меса. У овом излагању базираћемо се само на *E.coli* која производи *шига токсин* (STEC) предоминантно на *E.coli* O157:H7, као и на *non*-O157 STEC. Мере које се спомињу углавном се могу поделити у три врло широке категорије, и то на: а. менаџмент праксу у товилиштима и транспорт говеда; б. менаџмент воде и хране говеда ц. интервенције на живим животињама. У овом прегледном раду осврнућемо се углавном на третман/мере код живих животиња. Треба јасно истаћи да третмани пре клања говеда никако нису довољни и да захтевају даљу анализу критичних тачака у кланицама. Улога третмана живих животиња је да се смањи присуство патогена и мора претходити мерама у кланицама да би се смањио улазак патогена у ланац исхране људи. Мере пре клања говеда које су знатно истраживане су: *антимикробна средства* - синтетички и природни антибиотици, *бактериофаги* - врло специфични вируси присутни у природи који специфично убијају само одређење сојеве бактерија укључујући STEC, *колицини* - протеини произведени од једног соја STEC или других бактерија који могу убити друге STEC бактерије; *пребиотици* - несварљиве органске материје које промовишу раст и размножавање корисних бактерија на штету патогених STEC бактерија; *пробиотици* - који помажу дигестивном систему да спречи колонизацију патогених бактерија посредством антибактеријских компоненти или поспешивањем неспецифичног имунолошког одговора домаћина али и везивањем за епител дигестивног тракта што физички онемогућавају патогене опортунистичких бактерија да колонизирају епител дигестивног тракта говеда; *вакцине* - биолошки препарати који стимулишу специфичан имунолошки систем и доводе до спречавања колонизације STEC бактерија. Генерално, истраживања су показала да горе наведени третмани - мере, појединачно не елиминишу STEC из дигестивног тракта говеда, док мултипле мере смањују ниво патогена и њихову преваленцу.

Кључне речи: *Escherichia coli* O157:H7, вакцине, пробиотици, бактериофаги, колицини

PREVENTIVE ANTIMOCROBIAL TREATMENT ON FARMS IN ORDER TO REDUCE CONTAMINATION OF MEAT IN SLAUGHTER HOUSES AND CONSEQUENTLY FOOD POISONING OF CONSUMERS

Dragan Rogan, Vesna Lalošević, Nikolina Novakov, Bojana Vidović

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Scientists around the world have identified several preventive interventions that could potentially reduce the number of pathogenic bacteria in the digestive system of cattle and consequently reduce food poisoning of consumers by meat and meat products. In this paper we will focus only on *E. coli* O157:H7 which produces Shiga toxin (STEC), as well as on non-*E. coli* O157:H7 STEC bacteria. This review will present the control and intervention methods that have been suggested, implemented and described in literature in the view of reduction of STEC bacteria in cattle. Interventions that have been implemented could be divided into three categories: a) management practice and transport, b) cattle water and feed management, and c) live animal treatment. In this paper we will predominantly focus on live animal treatment and interventions. We would like to emphasise that live cattle pre-slaughter treatment does not substitute the need for sanitary procedures in slaughter houses. Instead, the goal is to reduce the pathogen to levels that the Hazard Analysis and Critical Control Points system (HACCP) in slaughter houses would be able to control the pathogens more effectively. The role of pre-slaughter animal treatment is to reduce the number of pathogens in the multi-hurdle approach and supplements in plant interventions in order to block pathogen entry into food supply. Interventions prior to slaughter of cattle which have been studied in detail are: *antimicrobial treatments* - with synthetic and natural antibiotics; *bacteriophages treatment* -with specific viruses that exist in the environment and specifically kill only specific strains of bacteria, including food borne pathogens; *prebiotic s*- organic compounds indigestible by the host which promote growth of the good bacteria at the expense of pathogenic ones; *colicins* - antimicrobial proteins that have been produced by one STEC bacteria or by some other, but could kill another strain of STEC bacteria; *probiotics*- they help the digestive system to block the colonization of pathogenic bacteria by antibacterial components or by promoting nonspecific immunological response of the host or by competitive attachment to the epithelium of intestines; *vaccines* – promote development of specific immunological response and block colonization with STEC bacteria. In general it could be concluded that the above-mentioned individual treatments/intervention could not eliminate STEC from the digestive system of cattle, while multiple interventions could decrease the level of pathogens and its prevalence in cattle.

Key words: *Escherichia coli* O157:H7, vaccines, probiotics, bacteriophages, colicins

УВОД

Шига токсин *Escherichia coli* O157:H7 (STEC) i non-O157 STEC изазива обољење људи. Ове фекалне бактерије су присутне у дигестивном тракту преживара и не изазивају патолошке промене. Фецесом доспевају у природну средину али контаминарају кожу говечета, а потом и труп на линији обраде. Код преживара ове бактерије не изазивају обољење али код људи изазивају тешка обољења, као што су хеморагични колитис, хемолитични уремични синдром (ХУС), дифузна крвављења, дисфункцију бубрега и смрт. STEC производи потентан цитотоксин који не изазива цитопатологију код домаћина - говечета, из разлога што говеда не поседују рецепторе за цитотоксин - шига токсин (1) али исти токсин изазива озбиљна обољења код људи после колонизације бактерија и производње цитотоксина (2). Трансмисија STEC најчешће настаје током летњих месеци због повећане преваленце STEC код говеда (3) лоше навике печења меса (недовољно печено) и повећане конзумације. Шига токсин *E.coli* O157:H7 је први пут описан као узрочник обољења људи 1982. године, док је већ 1993. године постао примарни, фокус истраживача широм света, када је 700 људи оболело после исхране недовољно печеним хамбургером у ресторанима брзе хране у САД, па отуда и назив *Hamburger disease* (Обољење изазвано хамбургером). Током 1994. године *Food Safety and Inspection Service* (FSIS) САД су јавно објавиле да је присуство STEC O157:H7 недопустиво у млевеном месу говеда, те су прописали "*zero tolerance policy*" за овај патоген у млевеном месу. Исте године покренут је програм узорковања *E.coli* O157:H7 у свим федералним кланицама и продавницама меса (*United states government accountability office- Report to the secretary of agriculture, 2012*). Надаље, FSIS је такође објавио да задржава право да повуче контаминирано месо овим патогеном, као и све производе од меса из продаје уколико се докаже да су контаминирани STEC O157:H7, и да се контаминирано месо мора нешкодљиво уклонити или послати на летални термичку обраду меса на 72^0C- "*lethality step*". Инфекције настале са *E.coli* O157:H7 и *non* O157 STEC кошта САД сваке године једну милијарду долара (2) у директним и индиректним трошковима, док су инвестиције у месној индустрији на смањењу ризика контаминације износиле преко две милијарде долара. Улагања у истраживања *E.coli* O157:H7 у Северној Америци прешла су такође 2 милијарде долара и још увек се улаже у научни рад, јер нема адекватног решења за елиминацију овог патогена из дигестивног тракта говеда. Штете у месној индустрији су несагледиве а настале су због повлачења из продаје десетина милиона тона меса.

Третмани говеда у циљу смањења присуства E. coli O157:H7 и non-O157 STEC бактерија

Третмани антибиотицима

Неомицин, антибиотик одобрен за третман ентеричних обољења, показао се као изузетно ефикасан у смањењу броја *E.coli* O157:H7 у дигестивном тракту (4) али и на кожи (5). Други истраживачи су доказали да додавање хлортетрациклина и тилозина смањују излучивање *E.coli* O157:H7 код свиња (6). Верује се да генерална промена микробиолошког екосистема настала после третмана са антибиотицима индиректно утиче на популацију *E.coli* O157:H7 и због тога се сматра да би третман са антибиотицима омогућио *E.coli* O157:H7 предност за несметано размножавање у дигестивном тракту. Употреба антибиотика за смањење *E.coli* O157:H7 у дигестивном тракту се не препоручује из оправданог разлога да би се избегла могућа резистенција на антибиотике.

Пробиотици

Пробиотици су живе или инактивисане бактерије које помажу дигестивном систему да спречи колонизацију патогених бактерија посредством антибактеријских компоненти или побољшањем имунолошког одговора домаћина. Однедавно се све више употребљавају у говедарству, а традиционално су се употребљавали да повећавају квалитет производње меса и млека. Генерално се може рећи да пробиотици мењају екологију микроорганизама у гастроинтестиналном тракту посредством неколико механизама. Пробиотске бактерије се везују за унутрашњу површину интестиналног епителијума и баш то физичко везивање спречава опортунистичке бактерије да се вежу за интестиналниепител(7).Испарљивемаснекиселинепроизведенетокоммикробиолошког врења такође могу бити токсичне за патогене бактерије а што не искључује ни *E.coli* O157:H7. Остали производи које пробиотске бактерије стварају су етанол и колицини/ бактериоцини који поседују антибактеријска својства. Пробиотици имају врло комплексан механизам деловања који омета трансмисију и колонизацију *E.coli* O157:H7 код говеда и самим тим доприноси свеукупном процесу смањења тровања храном.

Један други приступ који се од недавно такође доста користи у говедарству у циљу смањења *E.coli* O157:H7, а побољшању ферментације у румену и повећања производње је давање микроорганизама; квасаца, плесни и бактерија или чак крајњих производа ферментације а познат је као Direct-Fed Microbials (DFM). Важно је напоменити да културе *Lactobacillusa acidophilus* бактерија добијене директно из румена а потом дате јунадима са храном смањују излучивање *E.coli* O157:H7 фецесом за 50% (9).

Колицини (Colicines)

Колицини су антимикробни протеини које производе одређени сојеви *E.coli,* а који убијају или спречавају размножавање других *E.coli,* укључујући и *E.coli* O157:H7. Овај концепт за убијање бактерија тровача хране није нов, али се није употребљавао из економских разлога јер је био скуп, па су се колицини само користили за третман финалних производа од меса (9). Са напретком рекомбинантне експресије протеина, трошкови производње и пречишћавања су се знатно смањили, а њихова употреба постаће извесна. Истраживања су показала да колицини спречавају колонизацију *E.coli* O157:H7 у дигестивном тракту (10). Додавање колицина у храну говеда изгледа једноставно и могло би се претпоставити да би колицини одиграли велику улогу у контроли бактерија тровача хране, међутим стварност је сасвим другачија. Истраживања су показала да осетљивост *E.coli* O157:H7 према појединачним колицинима је изузетно варијабилна. Ако колицини нађу своје место у превенцији патогена преносивих храном онда се мора употребљавати неколико категорија колицина, а свакако се не сме заборавити да колицини, који су протеини, морају бити сачувани од гастричне и цревне дигестије да би имали своју функцију.

Пребиотици

Пребиотици су органске компоненте које не поседују говеда и које не могу варити али их могу варити одређене бактерије. На пример фрукто-олигосахариди су шећери које не могу варити интестинални ензими говеда али долазе до цекума и колона домаћина где служе као храна за бактерије домаћина и обезбеђују нутритивне материје за интестиналну мукозу. Поједини пребиотици омогућавају предност одређеним бактеријским популацијама нативне микрофлоре на пример: *Bifidobacteria* и *Butyrivibrio,* тако што елиминишу патогене бактерије из дигестивног тракта услед компетиције за нутритивним материјама, или слободном површином за везивање за мукозу посредством производње "фактора блокирања" и антимикробних компонената (10). Употреба пребиотика у контроли патогена хране је тренутно ограничена првенствено због њихове цене али уколико цена постане прихватљива њихова употреба са пробиотицима ће бити изгледнија.

Бактериофаги (Вируси бактерија)

Бактериофаги су врло специфични вируси присутни у природи који специфично убијају само одређене сојеве бактерија. Генерално свака бактерија се може инфицирати са бактериофагима који се налазе у природи али и у алиментарном тракту говеда (12). Бактериофаги имају врло узан спектар и могу бити активни/делотворни само на једну бактеријску врсту или одређени бактеријски сој који поседује специфицан рецептор на својој површини (13). Висока специфичност омогућава бактериофагу да буде искоришћен у третману патогених бактерија и често се такав третман назива "паметна бомба", која циљано убија врсте које желимо да елиминишемо, без поремећаја целог микробиолошког екосистема у дигестивном тракту - као што је случај са антибиотицима. Бактерофаги "отму" циљаној бактерији биосинтетичку машинерију да би сами себе репродуковали. Када искористе све хранљиве материје намењене бактерији, долази до пуцања бактерије и ослобађања нових потомака бактериофага који настављају поново инфицирање истог соја бактерије и овај процес се одвија у облику ланчане реакције. Експоненцијално умножавање бактериофага се наставља све док постоје и циљне бактерије. Један недостатак бактериофага је што бактерије постају резистентне на одређени бактериофаг, па се из тог разлога препоручује коктел бактериофага за третман бактерија преносивих храном у алиментарном тракту. Бактериофаги су испитивани у редукцији *E.coli* O157:H7 у дигестивном систему, као и смањењу бактерија на кожи. Тренутно се налази у продаји комерцијални производ од литичног бактериофага. Резултати истраживања су показали врло високу ефикасност бактериофага када су коришћени за прскање коже (главни извор контаминације меса) и сигнификантна редукција *E.coli* O157:H7 је установљена у испитиваном месу код животиња чија је кожа прскана бактериофагима (9,13). Као резултат регистрован је комерцијални препарт за третман живих животиња од стране компаније *Omnilytics and Elanco, Finalyse, USA*. Можда треба напоменути да се кланицама у Северној Америци препоручује да користе бактериофаге у свим критичним тачкама производње. Без обзира да ли су бактериофаги употребљени алиментарно или у облику спреја за третирање говеда пре клања или за третирање контаминираних трупова, морају се одабрати на основу следећих критеријума: 1) да буду активни према различитим сојевима *E.coli* O157:H7, као и non-O157 STEC сојева, 2) да коктел бактериофага има афинитет према више рецептора, да би се избегла резистенција, и 3) бактериофаги морају искључиво да буду *литични* (не смеју да преносе генетски материјал), јер је преносом генетског материјала посредством бактериофага *E.coli* добила шига токсин гене и постала патогена.

Вакцинација

Вакцинација је врло распрострањена у ветеринарској медицини и логично би требало очекивати да вакцинација против патогена преносивих храном би знатно смањила излучивање *E.coli* O157:H7. С обзиром да *E.coli* O157:H7 не изазива обољење код говеда и да природна имуностимулација са овим патогеном не узрокује снажан имунолошки одговор и самим тим не блокира колонизацију бактерије, јасно је да је велики изазов осмислити вакцину која би блокирала колонизацију бактерије, а самим тим смањила излучивање бактерије фецесом и контаминацију животне средине. Без обзира на поменуте изазове интервенција вакцинацијом на фармама је један од најбољих метода да би се смањила преваленца *E.coli* O157:H7, како код природног домаћина - говечета, тако и у животној средини. С обзиром да говеда имају централну улогу у дисеминацији *E.coli* O157:H7 у животну средину, контаминацијом меса и преношењем инфекције на људе путем хране, ефикасном вакцином би се контролисала ова опака зооноза. С обзиром на специфичну физиологију и патогенезу *E.coli* O157:H7 примењена су за сада два успешна приступа у изради вакцине.

Први приступ је *Siderfore Receptor and Porin* (SRP) протеинска вакцина. Сидерфоре су протеини које лучи бактерија у животну средину у сврху лакшег добијања гвожђа из сопствене животне средине. *E.coli* O157:H7 лучи сидерфоре у интестинални тракт говеда. SRP вакцина је управо уперена против SRP протеина и тим поступком спречава транспорт гвожђа у бактерију, а што резултира смрћу бактерије. Овакав тип вакцине је регистрован и користи се у САД и истраживања су показала да SRP вакцина смањује фекалну концентрацију *E.coli* O157:H7 за 98%, а да у исто време није изазвала никаве здравствене нити производне сметње код вакцинисаних животиња (14). Друга група аутора је потврдила да вакцинација са SRP вакцином смањује преваленцу *E.coli* O157:H7 за 50%. Из литературе се такође уочава да је SRP вакцина много ефикаснија када се користи трократно него двократно.

Други тип вакцине, која је такође регистрована у Канади, је заснован на секреционом систему тип III код бактерија. Да би *E.coli* O157:H7 извршила колонизацију дигестивног система говеда потребно је да транслоцира бактеријске протеине у ентероците говечета. Протеини које *E.coli* O157:H7 транслоцира у ентероците колективно су названи секреторни протеин типа III, а још су названи ефекторским протеинима, из простог разлога што су они неопходни за колонизацију бактерија (Tir, EspA, EspB, EspG, EspF, EspH, Map и sep 2). Поменути протеини испитивани су у улози протективних протеина. Хипотеза је била да ако су ови протеини ефекторски, да ли се они могу употребити као антигени за стимулацију специфичног имунолошког одговора код говеда. Истраживања су показала да ефекторски протеини стимулишу имунолошки одговор и да специфична антитела за Tir, EspA и EspF могу блокирати колонизацију бактерија у дигестивном тракту говеда. Врло је важно напоменути да Tir ефекторски протеин *E.coli* O157:H7 после транслокације у ентероците бива транспортован и инкорпорисан у спољашну мембрану ентероцита, где служи као рецептор за бактеријски структурни протеин интимин, који се налази у спољашној мембрани бактерије. Специфична антитела настала вакцинацијом говеда са типом III се везују за Tir рецептор и онемогућавају везивање бактеријског протеина интимина. Други важан секреторни протеин типа III *E.coli* O157:H7 је EspA, а његова је улога да омогући физичку везу између бактерије и ентероцита и да послужи као цев кроз коју ће бактерија убризгати своје протеине у ентероците говечета. У ствари, то је први протеин кога бактерија лучи да би успоставила везу са ентероцитима домаћина. Истраживања су показала да су ова два протеина протективна и да њихова специфична антитела блокирају колонизацију у дигестивном систему говечета. Ефикасност ове вакцине испитивана је у товилиштима и доказано је да вакцина смањује излучивање *E.coli* O157:H7 са 23% на 9%, док је друга група истраживача утврдила да је било смањено фекално излучивање са 46% на 14%. Последња истраживања у товилиштима су потврдила да вакцинација са тип III секреторним протеинима умањује излучивање бактерије за 65% (14,15,16).

ЗАКЉУЧЦИ

Превентивни третмани на фармама говеда доприносе смањењу *E.coli* O157:H7 и других non-O157:H7 STEC бактерија на фармама, животној средини, као и у ланцу исхране људи. Традиционална истраживања су била фокусирана углавном на безбедност меса после клања животиња. Међутим, за ефикасну заштиту људи мора се водити рачуна не само о безбедности говеђег меса, већ и о безбедности пијаће воде, контаминацији животне средине, као и директних контаката са инфицираним животињама. Данас постаје очигледно да свеобухватна иницијатива *"једно је здравље"* је вероватно најпогоднији приступ у контроли или елиминацији патогена који доспевају у животну средину. Овај приступ идентификује и процењује повезаност између животиња, људи и животне средине. Вредности оваквог приступа потврђене су

од стране *Center for Disease Control* (CDC), који је утврдио да три четвртине свих нових обољења људи припадају алиментарним инфекцијама и зоонотског су карактера. Треба јасно истаћи да третмани пре клања говеда никако не искључују потребу за системом безбедности хране и анализу критичних тачака њиховим решењима у кланицама. Улога мера код живих животиња је да се смањи присуство патогена код живих животиња и мора бити постављено у свеопштем изазову који ће помоћи мерама у кланицама да би се смањио улазак патогена у ланац хране људи.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pruimboom-Brees IM, Morgan TW, Ackreman MR, Nystrom ED, Samuel JE, Comick NA, Moon HW, 2000, Cattle lack vascular receptors for Escherichia coli O157:H7 shiga toxin. Proc.Nat. Acad. Sci. (USA).93:10325-9. 2. Scharff RLD, 2010, Health-related costs fromfood borne illness in United States. 3. Edrington TS, Callaway TR, Ives SE, Engler MJ, Looper ML, Anderson RC, Nibet DJ, 2006, Seasonal shedding of E. coli O157:H7 in ruminants: a new hypothesis, Foodborne Path. Dis. 3, 413-21. 4. Elder RO, Keen JE, Wittum TE, Callway TR, Edrington TS, Anderson RC, Nisbet DJ, 2002. Intervention to reduce fecal shedding of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in naturally infected cattle using neomycin sulfate, J. Anim. Sci. 80, (Suppl.1) Abst 15. 5. Ransom JR, Belk KE, Sofos JN, Scanga JA, Rossman ML, Smith GC, Tatum JD, 2003, Investigation of on farm management practices as pre-harvest beef microbiological interventions, In National Cattlemen's Beef Association Research Fact sheet, Centennial, CO. 6. Comick NA, 2010, Tylosin and chlorotetracycline decrease the duration of fecal shedding of E. coli O157:H7 by swine, Vet. Microbiol. 143, 417-9. 7. Collins DM, and Gibson GR, 1999, Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut, Am. J. Clin. Nutr. 69,1052-7. 8. Brashears MM, Galyean ML, Loneragan GH, Mann JE, Killinger-Man, Prevalence of Escherichia coli O157:H7 and performance by beef feedlot cattle given Lactobacillus direct-fed microbial, J. Food. Prot. 66,748-54. 9. Abercrombie JG, Paynter MJB, Hayasaka SS, 2006, Ability of colicin V to control Escherichia coli 0157:H7 in ground beef, J.Good Safe. 26:103-14. 10. Leathman MP, Banerjee PS, Autieri SM, Mercado-Lubo R, Conway T, Cohen PS, 2009, Precolonized human commensals Escherichia coli strains serve as a barrier to E.coli O157:H7 growth in the streptomycin-treated mouse intestine. Infect. Immun. 77, 2876-86. 11. Zopf D, Roth S, 1996, Oligosaccharide anti-infective agents, The Lancet (North America) 347, 1017-21. 12. Callaway TR, Edrington TS, Brabban AD, Keen JE, Anderson ML, Rossman ML, Engler MJ, Genoveze KJ, Gvartney BL, Reagan JO, Poole TL, Harvey RB, Kutter EM, Nisbet DJ, Fecal prevalence of Escherichia coliO157:H7 in feedlot cattle in the southern plains region of the United States. Foodborne Path.Dis. 3, 234-44. 13. Coffey B, Rivas L, Duffy G, Coffey A, Ross RP, McAuliffe O, 2011, Assessment of Escherichia coli 0157:H7-specific bacteriophages e11/2 and e4/1c in model broth and hide enviroments. Int J Food Microbiol. 147, 188-94. 14. Lederberg J, 1996, Therapeutic bacteriophage, Proc. Natl. Acad. Sci. 93. 15. Thomson AB, Loneragan GH, Thomton AB, Lechtenberg DA, Emery DA, Burkhardt DT, Nagraja TG, 2009, Use of siderophore receptors and porin protein based vaccine to control the burden of Escherichia coli O157:H7in feedlot cattle. Foodborne Path. Dis. 6, 871-7. 16. Rogan D, Smith DR, Moxley RA, Potter AA, Straus CE, 2009, Vaccination with type III secretion proteins reduces E.coli O157:H7 shedding and contamination in cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology 128, 318-24. 17. Rogan D, Vaccination of cattle with E. colitype three proteins reduces shedding, colonization and hide contamination, 2007, Conference of the Societe of the Francise de Buiatrie, Paris, France Proceedings, 89-91. 18. Allen K, Rogan D, Finlay BB, Potter AA, Asper DJ, 2011, Vaccination with type three secreted proteins leads to decrease shedding in calves after experimental infection with Escherichia coli O157:H7, Canadian Journal of Veterinary Research, 75, 98-1005.

Пленарни радови

---

9. ЗАСЕДАЊЕ

1. МЕЂУЉУДСКИ ОДНОСИ У МАЛОЈ ПРАКСИ

2. УЛОГА ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ У РАДУ МАЛЕ КЛИНИЧКЕ ПРАКСЕ

3. САВРЕМЕНЕ ИНСТРУМЕНТАЛНЕ МЕТОДЕ У МАЛОЈ ПРАКСИ

4. ЗНАЧАЈ PCR-RFLP МЕТОДЕ У ПРЕЦИЗНОЈ, СПЕЦИЈСКОЈ ИДЕНТИФИКАЦИЈИ УЗРОЧНИКА БАБЕЗИОЗЕ ПАСА

5. УПОРЕДНА АНАЛИЗА ПАРАМЕТАРА ИНТРАОПЕРАТИВНОГ И ПОСТОПЕРАТИВНОГ БОЛА КОД КУЈА ПРИЛИКОМ ЛАПАРОСКОПСКЕ И КЛАСИЧНЕ ОВАРИЕКТОМИЈЕ

6. ПОЛИЦИСТИЧНО ОБОЉЕЊЕ БУБРЕГА МАЧАКА - ЗАСТУПЉЕНОСТ У ПОПУЛАЦИЈИ ПЕРСИЈСКИХ МАЧАКА; ПОРЕЂЕЊЕ УЛТРАЗВУЧНЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ И ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ И ПОЈЕДИНИХ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА

7. ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЕНДОПАРАЗИТОЗА ДИВЉИХ КАНИДА У ПОЈЕДИНИМ РЕГИОНИМА ЗЕМЉЕ СРБИЈЕ

8. МОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ДИСТРИБУЦИЈА МАЛИГНИХ МЕЛАНОМА КОД ПАСА У БИОПСИЈСКОМ МАТЕРИЈАЛУ

9. ПРВИ НАЛАЗ LINGUATULA SERRATA КОД ПАСА У ВОЈВОДИНИ

10. НАЛАЗ АНТИТЕЛА НА УЗОРОЧНИКЕ RICKETTSIA CONORII И BABESIA CANIS КОД ЛОВАЧКИХ ПАСА У ВОЈВОДИНИ

МЕЂУЉУДСКИ ОДНОСИ У МАЛОЈ ПРАКСИ

Војислав Илић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Релације између ветеринара представљају резултанту сабирања многих, некомпатибилних, независних и често врло супротних вектора који делују у нашој служби. Смањење потребе за ветеринарском услугом, све мање животиња (подаци Републичког завода за статистику Републике Србије), неоправдано велики број активних ученика/студената на свим нивоима образовања, нарастајуће неповерење у неопходност и квалитет ветеринарске услуге која се нуди на тржишту, изостанак основног формалног образовања из комуникологије, менаџмента и маркетинга, су само најмаркантнији утицајни вектори. Оштра конкуренција за пласман услуге, непознавање теоретских принципа пласмана и специфичног понашања услуге на тржишту, неупућеност у принципе етике, етичког понашања и решавања евентуалних конфликтних ситуација међу колегама, довели су наше међуљудске и међуколегијалне односе у непримерене воде.

Неколегијалност, непристојност, непоштовање, неоправдани и неосновани скептицизам, негирање сваког ауторитета, необавештеност и недовољно образовање су само неке манифестације непримерених релација међу колегама. Образовни систем, ВКС, СВД и Управа за ветерину Министарства за пољопривреду и заштиту животне средине Републике Србије морају да савладају инертност нашег образовног система, слабу организованост и аутизам за ову проблематику, заокупљеност проблемима сасвим друге природе и да обезбеде брже и ефикасније промене на овом пољу.

Кључне речи: међуљудски односи, комуникологија, етика, ветринарска пракса

INTERPERSONAL RELATIONS IN SMALL ANIMAL PRACTICE

Vojislav Ilić

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Relations between veterinarians are the result of adding many incompatible, independent and often quite the opposite vectors acting on our service. Reducing the need for veterinary services, decreased number of anmals (reports of the Statistical Office of the Republic of Serbia), unreasonably large number of active students at all levels of education, the growing confidence in the necessity and quality of veterinary services being offered in the market, lack of basic formal education in communications, management and marketing are just the most striking influential vectors.

Strong competition for placement of services, lack of theoretical principles and specific lending conduct services in the market, ignorance of the ethical and behavior

principles and resolving of possible conflicts among colleagues led our interpersonal and intercollegiate relations in inappropriate water.

No collegiality, rudeness, disrespect, unjustified and unfounded skepticism, the denial of all authority, uninformed and lack of education are just some manifestations of the inappropriate relations among colleagues.

The education system, Veterinary Chamber of Serbia, Serbian Veterinary Society and Veterinary Directorate of the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management of the Republic of Serbia, must overcome the inertia of our education system, poor organization and autism, for this problem, a preoccupation with the problems of a completely different nature to provide faster and more effective change in this area.

Keywords: interpersonal relations, communication, ethics, the Veterinary Practice

Карактер и природа релације ветеринар-ветеринар има врло снажан утицај на статус струке у друштву у коме функционишемо. Потентност струке да решава проблеме са којима се сусрећемо у реалном времену и простору одражава се и на квалитет пружене ветеринарске услуге.

У данашње време ветеринарска струка се среће са пар огромних, готово нерешивих проблема. С једне стране, континуирано опада број животиња, на чијим је третманима струка заснивала своје функционисање и опстанак. Подаци који се могу добити од Републичког завода за статистику показују да последњих десетак година број говеда, свиња, коња, оваца и коза континуирано опада (1). Једино број живине варира и показује дискретни тренд повећања. Нажалост, у овој производњи мало је посла за ветеринаре. Наша струка, а поготово корисници наших услуга у руралним подручјима нису, још увек, прихватили нови статус кућних љубимаца у власничким породицама. Велика празнина, али и простор на коме може много да се уради, се налази на пољу едукација тог становништва о предностима савременог начина држања кућних љубимаца. С друге стране, некоординисан и неконтролисан процес школовања средње-стручног и факултетски образованог кадра узима свој данак (2,11). Као и свакој другој роби, и радној снази, када је на тржишту има у вишку, вредност опада. У садејству са претходно наведеним факторима, целокупна струка, запослени а и ветеринари који покушавају да нађу посао, налазе се у врло незавидној и компликованој ситуацији.

Природа нашег основног бављења, ветеринарска делатност у ужем смислу, углед и утицај који имамо у средини у којој функционишемо, наша неодговорност и незаинтересованост онемогућавају нас да имамо икакав утицај на број животиња и број ветеринара (2,12,13).

На нашу жалост, поред два поменута проблема, на које не можемо да утичемо, у савременој пракси срећемо се са још једним огромним проблемом. У хуманој медицини лекари губе битку за поштовање Ескулаповог ауторитета, ми смо је одавно изгубили. Наши клијенти немају више поверење у нашу етику, знање и квалитет услуге коју пружамо. Нажалост, не видим ни намеру, ни жељу икога у оквиру ветеринарске струке да се озбиљније позабави овим проблемом који свакодневно констатујемо сви ми који се ветерином бавимо у њеном основном смислу (4). Враћање поверења клијента у квалитет онога што радимо једино може покренути ланчану реакцију рехабилитације угледа струке.

Струке које се баве пласманом услуге на тржишту имају научно доказане моделе настајања незадовољства клијента конзумираном услугом (15). Знају се и мере које ово могу да контролишу и умање негативне последице овакве ситуације. Нажалост, наше образовне институције не препознају значај и важност ових информација и њих нема у официјелним наставним програмима. Готово исто, игнорантски, се према овом проблему понашају и ауторитети који воде континуирану едукацију ветеринара (7,8).

Међутим, већ са основним, неопходним, знањима и уз минималне трошкове, проблематичне ситуације би могле да се решавају у корист ветеринара. Теоретске основе би омогућиле сваком ветеринару да, сходно својим капацитетима и потребама, модулира идеју клијента о конзумираној ветеринарској услузи, што би могло битно да смањи угао тренда опадања поверења друштва у целини у квалитет и важност услуге коју пружамо (14,15).

Ма шта ми мислили или говорили постојимо и још увек функционишемо као струка само зато што специфична група људи, држаоци животиња, имају потребу за нашим знањем, вештинама и услугом. Идеја власника о квалитету услуге коју код нас добијају свакако није нешто неважно, секундарно, просто и једноставно како се може наслутити ако се читају наше стручне књиге.

Притиснути суровим, голим, економским опстанком, ускраћени за квалитетне, научно засноване и доказане механизме функционисања и опстанка на тржишту, потпуно је разумљиво што аматерски експериментишемо и пуно грешимо у нечем врло суштинском и професионалном. „Необразовани“ и “необавештени” окренути смо непримереним, непрофесионалним и неетичким механизмима борбе за клијента (4,5,6). Банални али репрезентативни пример је наша погрешна идеја да своје маркетиншке пројекте усмеримо, не ка старим, провереним клијентима наше праксе, већ ка нама потпуно непознатој популацији потенцијалних клијената.

Највећи део ветеринарске популације функционише у матрици коју савремни економисти називају Црвени океан, што подразумева концепт много појединачних субјеката који на ограниченом тржишту нуде мање више идентичне или сличне услуге, односно робу. У том концепту колега, који се бави истим послом, је сурова конкуренција и експлицитна опасност за функционисање и опстанак ваше праксе. Сва наша претходна искуства нас уче да према неком, тако опасном по опстанак наше праксе, не треба имати милости. У оваквом концепту тржишне утакмице само најсуровији и најагресвнији, вођени макијавелијевским мотом “Циљ оправдава средства”, имали су и имају шансе да опстану на тржишту. Сурова тржишна утакмица и опипљива опасност опстанка нам дају неопходан амбијент за рат до истребљења (17).

У таквом распореду фигура и са врло редукованим избором потеза није чудно или неочекивано што смо посегли за непримереним, нестручним и неетичким потезима и стратегијама и тако се самоматирамо.

Колега се доживљава као оштра конкуренција и експлицитна опасност. Оклеветати га за пропусте, прогласити га за незналицу и манипулатора намеће се као брзо и ефикасно решење. Подржано наговештајима или експлицитним констатацијама да сам најбољи, најобразованији, најсавеснији, најоперемљенији и најјефтинији гарантује нам победу и опстанак на тржишту.

Како су наведене категорије тешко мерљиве и заснивају се на индивидуалним, субјективим проценама, нашој машти је дозољено, да чак и нас саме убеди у постављене полуистине и получињенице, а онда се “болест” још више компликује. Овај једноставан, неетичан и наизглед функционалан пут до жељених резултата, подржан је чињеницом да смо годинама урушавали све ауторитете који би, евентуално, могли да арбитрирају у овој шаховској симултанци, у којој сви играју против свих, те се тако не знају ни правила игре. Сви и на свим нивоима, по хризонтали, али и по вертикали, играмо по овим, назовимо их, правилима (4,5,6).

Аматерска опсервација стања на нашем тржишту покреће ланац логичког закључивања у коме се на први покушај и не види недостатак. *Ветеринари који се овако понашају опстају. Ја желим да опстанем. Ја морам овако да се понашам*. Када је у питању опстанак, овакав закључак се намеће, а свако експериментисање је ризично, поготово када не постоји шанса да се чују и друге опције.

Сведоци смо многих догађаја у струци који врло прецизно и сликовито дефинишу наше релације и природу тих односа. Поменута девастација ауторитета, за коју постоје многи кривци на најразличитијим позицијама и са најразличитијим утицајима је посебан проблем. Срозавање ауторитета релативизује целу струку и поставља велики знак питања испред и иза научне и стручне заснованости свега онога што радимо. Апсурдно је и тешко у светлу етике, логике и ветеринарске струке објаснити како институција осуђује и у лошем контексту коментарише и кажњава колегу који је поступио по наређењу више инстанце. Коме сада веровати (4,5,6)?

Компетентно тело које се бави етиком и квалитетом наших односа према клијенту, колегама, институцијама, прави класичну логичку грешку, у логици познату као *Ad hominem*. Незадовољно резултатима рада колега, уместо да се бави управо изворoм свог незадовољства, резултатима рада, рад колега покушава да дезавуише тиме што ће поставити сумњу у њихове дипломе, знање, стручност, етичност, образовање, спонтано правећи још већу грешку, јер нигде не дефинише критеријуме по којима су донешене овакве оцене (4,5,6,8,11).

Посебну ноту деструкције у наше међуколегијалне односе, уноси и наша неодговорност, необавештеност и непринципијелност у функционисању структура које би, између осталог, требало да уводе управо ред и етику у наше пољуљане релације (2,3,12,13).

И површно сагледавање ове проблематике, покушај лоцирања примарних извора проблема, размере ентропије система и могућих путева опоравка указује на потпуну незаинтересованост, како нас као појединаца, тако и организованих структура којима би управо овај аспект струке требало да буде примарно поље деловања.

Једина шанса да се из овог стања, *circulus vitiosus*, некако покренемо је форсирана едукација студената, али ништа мање и ветеринара, из области „меких“ ветеринарских вештина. Потпора оваквој тврдњи може се наћи и у водичу за ветеринарску едукацију (*Veterinary Education, Core Curriculum, OIE Guidelines*) из септембра 2013. године (16). Водич предвиђа да етику и сродне информације студенти ветеринарске медицине треба да слушају у завршним годинама студирања, док комуникационе вештине, принципе учења и критичког мишљења, треба да слушају током свих година студирања, везане за тренутну стручну проблематику којом се на дотичној години баве. Како генерације активних ветеринара нису добили овај сет информација током својих студија, неопходно је да се са тим вештинама упознају у процесу континуиране едукације.

ЛИТЕРАТУРА:

1. www.stat.gov.rs. 2. Закон о ветеринарству, Републике Србије. 3. Привилник о лиценци за обављање ветеринарске делатности. 4. Кодекс ветеринарско-медицинске етике. 5. Дисциплинско-етички правилник. 6. Правилник о раду етичког комитета. 7. Правилник о стручном усавршавању. 8. Правилник о раду стручног одбора. 9. Пословник о раду скупштине ВКС. 10. Пословник о раду управног одбора. 11. Закон о високом образовању. 12. Статут ВКС. 13. Статут СВД. 14. www.avma.org. 15. www.dvm360.com. 16. www.oie.int. 17. http://www.blueoceanstrategy.com/.

УЛОГА ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ У РАДУ МАЛЕ КЛИНИЧКЕ ПРАКСЕ

Милан Јовановић, Јелена Француски, Милош Вучићевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Клиничка пракса и рад у савременим амбулантама које се баве патологијом и терапијом кућних љубимаца немогућа је без лабораторијске дијагностике. Лабораторијска испитивања обухватају хематолошка и биохемијска испитивања крви, затим преглед различитих пунктата, мокраће, фецеса, као и цитолошка и хистопатолошка испитивања узорака добијених од кућних љубимаца. Последњих година у пракси се све више примењују и брзи имуноесеј тестови (ELISA), као и PCR дијагностичке методе.

Кључне речи: лабораторијска дијагностика, хематологија, биохемија, цитологија

T*HE ROLE LABORATORY DIAGNOSTICS IN SMALL CLINICAL PRACTICE*

Milan Jovanović, Jelena Francuski, Miloš Vučićević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Clinical practice and work in modern clinics dealing with pet's pathology and treatments is impossible without laboratory diagnosis. Laboratory tests including hematologic and biochemical blood tests, examination of different types of puncture, urine, feces, and cytological and histopathological examination of samples obtained from pets. In recent years, the practice is increasingly applied and rapid immunoassay tests (ELISA) and PCR diagnostic methods.

Key words: laboratory diagnostic, hematology, biohemistry, citology

Развијена клиничка пракса у раду са кућним љубимцима, подразумева и примену лабораторијских испитивања која нам помажу у разјашњавању природе проблема, праћење тока болести и олакшавају избор одговарајуће терапије. Пре свега је важно клиничким прегледом открити оне индикације код којих је примена лабораторијских испитивања индикована, односно определити се за одговарајуће лабораторијске процедуре.

Лабораторијска испитивања су једна најприступачнијих испитивања и у већини случајева их је могуће спровести и у теренским условима. Све већи број лабораторија ради и узорке добијене од животиња. Савремена лабораторијска испитивања обухватају испитивања крви (хематолошке и биохемијске анализе), затим преглед мокраће, фецеса, различитих пунктата и др. Поред овога, у лабораторијска испитивања морамо убројити и

цитолошка, микробиолошка, хистопатолошка и друга испитивања узорака добијених од кућних љубимаца. Последњих година је све присутнија дијагностика која продразумева примену ензимских имуноесеј тестова (ELISA), који омогућавају откривање антигена или антитела за одређена вирусна, бактеријска или паразитарна обољења, и на крају најсавременија дијагностичка метода као што је и PCR (*Polymerasa chain reaction*).

На основу потпуне анамнезе и комплетног клиничког прегледа можемо поставити сумњу на постојање одређених поремећаја, а у појединим случајевима и коначну дијагнозу. Међутим у великом броју случајева неопходно је применити још низ специјалистичких дијагностичких метода како би се поставила коначна и што тачнија дијагноза.

Пре свега, потребно је на адекватан начин узети узорак (крви, урина, фецеса, ткива), затим тај узорак транспортовати на одговарајући начин, а на крају захтевати израду само најнеопходнијих анализа, које ће нам у зависности од симптома и клиничког прегледа, омогућити постављање тачне дијагнозе. Ово је важно, поред осталог, јер се мора водити рачуна и о платежној моћи власника животиње, имајући у виду да трошкови лечења некада могу превазићи вредност саме животиње (1,2).

Узимање крви захтева претходни договор са лабораторијом у којој ће анализе бити рађене, јер у зависности од апарата и жељених анализа, зависи и количина узорка, као и коришћење или не одговарајућег антикоагуланса. По узимању, крв се мора што пре транспортовати на одговарајући начина до лабораторије. Некада се узорак може и конзервирати, најчешће замрзнути, али се мора водити рачуна да се активност појединих параметара, пре свега ензима, мења временом, као и да долази до промена својстава неких других параметара.

Пре примене резултата добијених лабораторијским анализама неопходно је познавати физиолошке вредности за те параметре, са којима би смо могли да упоредимо добијене вредности. Ове вредности су изражене у јединицама SI система и различите су код сваке животињске врсте.

Значај поузданих хематолошких анализа у дијагностици и праћењу тока болести код животиња је веома велики. Постоје многе индикације за извођење таквих анализа које нам помажу у разјашњавању природе проблема, олакшавају избор одговарајуће терапије и праћење тока болести, а и повећавају успех у лечењу. Пре свега је важно определити се за одговарајуће методе хематолошких прегледа и обухватити све оне хематолошке елементе који ће, у веома кратком року, дати неопходне информације о здравственом стању пацијената. Хематолошка испитивања обухватају низ квантитативних и морфолошких анализа еритроцита, леукоцита и тромбоцита, као и њихових развојних стадијума (2,3).

Хематолошке анализе се изводе из пуне крви са одговарајућим антикоагулансом (амонијум, литијум или натријум-хепаринат 0,75 mg/ml крви, EDTA − *Ethylen Diamin Tetraacetic Acid* 2 mg/ml крви, натријум-оксалат 2 mg/ml крви или натријум-цитрат 5 mg/ml/l крви). Такође, неопходно је приликом узимања крви напаравити и неколико крвних размаза и обојити их ради испитивања морфологије крвних елемената (1,2,3).

Поред комплетне крвне слике, односно хемограма, који подразумева одређивање броја еритроцита, леукоцита, тромбоцита, концентрације хемоглобина, хематокрита, еритроцитних индекса (MCV, MCH, MCHC, RDW), леукоцитарне формуле и морфологије ћелија, у циљу адекватне интерпретације добијених резултата, неопходно је одредити и концентрацију укупних протеина и серумског гвожђа, као и утврдити брзину седиментације еритроцита. Интерпретација ових резултата је веома важна, и никада не можемо посматрати параметре појединачно, већ само као једну целину.

Приликом испитивања основних карактеристика везаних за функцију еритроцита, поред њиховог броја, вредности хематокрита, концентрације хемоглобина

и вредности еритроцитних индекса, веома је важно одређивање и броја ретикулоцита, чије присуство говори о регенеративној способности костне сржи. Осим овога, праћење морфологије еритроцита има посебан значај. Поремећаји морфологије еритроцита се утврђују пажљивим посматрањем обојених крвних размаза и за ово је неопходно нешто више искуства.

Поред одређивања укупног броја леукоцита, неопходно је увек одредити и леукоцитарну формулу. Ове анализе се данас изводе на савременим хематолошким аналајзерима.

Свакодневна лабораторијска испитивања подразумевају и биохемијске анализе помоћу којих смо у могућности да добијемо информације о функционалном стању органа и органских система. Присуство појединих интрацелуларних ензима у крвном серуму може да буде користан индикатор различитих обољења, под условом да се поуздано утврди њихово порекло. Њихово присуство у крви је најчешће знак оштећења појединих ћелија и ткива, мада то није увек правило. Неки ензими, нпр. могу у већој мери доспети у крв и код реверзибилних поремећаја пермеабилности ћелијске мембране или услед појачане функције ћелија, нпр. током процеса регенерације ткива. Многи клинички значајни ензими се налазе у ћелијама различитих органа, неретко у форми различитих изоензима, који се могу диференцирати само електрофорезом, што скупа интерпретацију резултата чини доста комплексном (3,5,6).

Другу групу клинички важних биохемијских параметара чине уобичајени састојци крви - конституенти или примарни састојци крвне плазме и различити метаболити који се транспортују путем крви: протеини, електролити, глукоза, уреа, креатинин, липиди, жучне боје, жучне киселине, микро- и макроелементи, витамини, хормони итд. Они нису тако осетљиви као ензими, због чега се екстремна одступања могу уочити само у појединим клиничким стањима и само у таквим ситуацијама се могу назвати специфичним за орган или обољење. Тако, нпр. изражена хипоалбуминемија може да буде знак инсуфицијенције јетре, хипербилирубинемија знак оштећења јетре, хипергликемија дијабетеса, уремиа знак инсуфицијенције бубрега, хипо- или хиперкалиемија или натриемија су знак примарног дисбаланса електролита итд. Сва ова одступања, међутим, могу да настану и у другим случајевима, због чега се интерпретацији сваког резултата мора прићи веома озбиљно. На вредности испитаних биохемијских параметара и њихову интерпретацију, коначно, утичу и многи други фактори, као што су начин узимања крви, време које протекне од узимања крви до издвајања серума или плазме и саме анализе, изглед серума - да ли је липемичан или хемолизиран, начина чувања узорка, примењене методе, квалитета реагенаса и опреме итд (1,5,6).

Такође, у лабораторији можемо врштити и анализе фецеса и урина које нам помажу у постављању брзе и тачне дијагнозе, као и у примени адекватне терапије.

Копролошке дијагностичке методе се користе за откривање оних паразитских болести чији су узрочници локализовани у дигестивном тракту или органима који са њиме комуницирају, па се сходно томе могу установити прегледом измета. Преглед фецеса се састоји из макроскопског и микроскопског прегледа. Макроскопским прегледом, у фецесу се могу пронаћи одрасли облици појединих хелмината, као и извесне примесе, као што су несварена храна, слуз, крв и др. Овај преглед нам може открити нека патолошка стања у дигестивном тракту и показати на које евентуалне паразите треба обратити пажњу приликом микроскопског прегледа. Микроскопски прегледамо препарат направљен на одговарајући начин и при томе се могу пронаћи јаја и ларвице хелмината, као и вегетативни и цистични облици протозоа. Препарат треба систематски и потпуно прегледати тако да ниједан део не остане непрегледан. Врло је важно добро познавање изгледа јаја и ларвица хелминта, као и циста протозоа, јер се у измету могу наћи микроскопске честице које јако личе на јаја и ларве, а

представљају честице животињског и биљног порекла и називају се псеудопаразити. Приликом испитивања препарата можемо само одређивати врсте елемената (јаја и ларве хелмината и вегетативне и цистичне облике протозоа), при чему говоримо о квалитативном микроскопском прегледу или их можемо и бројати, када говоримо о квантитативном микроскопском прегледу.

Преглед урина подразумева физичко-хемијске анализе урина, као и микрскопске и микробиолошке анализе. Прегледом урина можемо контролисати здравствено стање бубрега и мокраћних путева и пратити примену терапије и њен ефекат на ове органе (6).

Осим ових испитивања, у дијагностици појединих инфективних обољења користе се брзи тестови који за кратко време дају веома поуздане информације о постојању болести на коју смо приликом клиничког прегледа посумњали. Примена ових тестова је једноставна, они су лаки за руковање, могу се чувати и на собној температури, а очитавање резултата је брзо и лако. Ови тестови су ензимски имуноесеј тестови (ELISA) који омогућавају откривање антигена: *Dirofilaria immitis* паса и мачака, *Giardia* паса и мачака, *Parvovirus* паса, *Feline leukemia virus (FeLV), Paramyxoviridae* паса, или антитела на следеће узрочнике болести као што су: *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia canis, Feline immunodeficiency virus (FIV), Feline coronavirus.* Код већине тестова за испитивање се могу користити пуна крв, крвни серум или плазма. Код тестова за испитивање присуства антигена вируса штенећака користе се конјунктивални, односно назални брис, а за откривање антигена парвовирозе паса и ђардије код паса и мачака користе се ректални брисеви.

Извођење тестова је једноставно и у сваком паковању се налази упутство за извођење, као и потребан конјугат (реагенс) помоћу кога се откривају присутни антигени, односно антитела. Праћењем и придржавањем приложеном упутству сваки ветеринар у својој амбуланти или на терену може урадити тест и потврдити или отклонити своје сумње о постојању неког инфективног обољења паса и мачака.

Применом ових тестова постиже се добијање брзих резултата са високим степеном тачности (98%), за веома кратко време, док су пацијент и његов власник присутни у нашој амбуланти, а очитавање резултата је једноставно и разумљиво и за саме власнике, што даје још већи значај самој примени оваквих тестова у свакодневној клиничкој пракси.

Цитолошки преглед је минимално инвазивна дијагностичка метода која има за циљ да се што брже, лакше и економичније добију валидне информације о ткиву или течности која се испитују. Цитолошким прегледом можемо поставити коначну дијагнозу, искључити присуство одређених патолошких стања, поставити сумњу о одређеним и препоручити даљу примену других дијагностичких метода (биопсија, хируршка екстирпација, CT, MRI и друго).

Цитолошки препарат се може добити применом различитих метода: аспирацијом, отиском, лаважом и скарификацијом. Аспирација иглом се најчешће примењује код испитивања туморозних маса на кожи и увећаних лимфних чворова. Аспирацијом се узоркују синовијална и цереброспинална течност, слободна течност у абдоминалној и торакалној шупљини, док се респираторни тракт може испитати бронхо-алвеоларном лаважом. Уз помоћ ултразвука, унутрашњи органи попут јетре, бубрега, слезине, мезентеријалних лимфних чворова или медијастиналних маса се такође могу прегледати и узети узорци за цитолошки преглед. Отисак препарат и скарификација се најчешће примењују код промена на кожи (7,8).

Да би се добио репрезентативан узорак било да се ради о аспирацији иглом, отиску или скарификацији, потребно је узети узорак са више места. Приликом узорковања слободне абдоминалне и торакалне течности и бронхо-алвеоларне лаваже довољно је узети 5-10 ml течности, док количина узорка телесних течности

(синовијална, цереброспинална течност) зависи од величине животиње и места узорковања. Довољна је једна кап синовијалне течности да би се направио цитолошки препарат, док је за цереброспиналну течност потребно узорковати минимално 0.5 ml за цитолошки преглед. Приликом узорковања треба водити рачуна да се узорак што мање или уопште не контаминира крвљу, јер то отежава тумачење и постављање дијагнозе. Након прављења препарата за цитолошки преглед и сушења, бојење се врши *Romanowsky* типом бојења, најчешће *Diff quick*-ом. Адекватно припремљен препарат садржи довољну количину ћелија, адекватне је дебљине (није ни претанак, ни предебео) и обојености, на основу кога се може поставити дијагноза или сумња на присуство одређеног патолошког стања. На основу морфологије ћелија и типа ћелијске популације процењује се да ли се ради о инфламаторном или неопластичном процесу или о узорку без патолошких промена. Уколико је присутна инфламација (присуство неутрофилних гранулоцита, макрофага итд.) потребно је дефинисати да ли се ради о септичном или асептичном процесу. Важно је истаћи, да уколико се на препарату не уочи присуство бактерија, то не искључује присуство септичног процеса. Уколико се процени да се ради о неопластичном узорку ткива/течности потребно је одредити ком типу ћелија припадају (округлим, епителним или мезенхималним итд.) и потом проценити да ли се ради о малгином или бенигном процесу. Плеоморфизам је један од најважнијих критеријума малигности (1,7,8).

Цитолошки преглед има различиту специфичност и сензитивност која зависи од врсте ткива и течности која се испитују, начина и могућности њиховог узорковања и технике прављења цитолошког препарата. Цитолошко испитивање кутаних, субкутаних лезија и лимфних чворова има висок степен корелације са хистопатолошким прегледом, насупрот нпр. цитолошком испитивању унутрашњих органа. Аспирати јетре и слезине имају знатно мању специфичност и сензитивност, не само због њихове величине, већ и због врло честог развоја мултифокалних промена на њима, па је стога тешко узети репрезентативан узорак.

Цитологија је врло значајна дијагностичка метода у ветеринарској пракси. Познавање и разумевање њених предности и мана, као и карактеристика ткива и течности која се испитују, омогућиће нам да сагледамо њене реалне могућности.

Молекуларно-генетичке дијагностичке методе су високо осетљиве и специфичне анализе које данас употпуњују, а често и у потпуности замењују остале лабораторијске процедуре. Оне омогућују специфично умножавање дела нуклеинске киселине патогена из испитујућег узорка до 10^6 копија, односно до детектабилних граница, без обзира на старост или стање узорка и тога да ли је патоген жив или не (9). Основа ових метода јесте реакција ланчане полимеразе (*Polymerase Chain Reaction* - PCR), која данас представља једно од најкоришћенијих средстава у свакодневном научном и стручном раду. Анализа ДНК или РНК почиње изолацијом и умножавањем нуклеинске киселине из биолошких узорака. Изолација подразумева ослобађање ДНК или РНК из ћелија али је врло битно при узорковању одабрати адекватан узорак у ком је реално очекивати да би патоген могао бити присутан. По изолацији нуклеинске киселине, следи *in vivo* или *in vitro* амплификација жељеног дела ДНК или РНК. Молекуларно-генетичке анализе базиране на PCR методологији пружају бројне методолошке предности у односу на све друге методе традиционално примењиване у ветеринарској медицини (10). Најширу примену у дијагностици молекуларно-генетичке анализе налазе у детекцији и типизацији узрочника болести. Детекција и типизација вирусних, бактеријских, гљивичних патогена и паразита применом PCR пружа знатно већу осетљивост, специфичност и брзину у поређењу са осталим дијагностичким методама. PCR дијагностика омогућава детекцију спорорастућих микроорганизама, као и оних чија је култивација тешка или немогућа. Такође, PCR дијагностика се користи у ситуацијама када су клиничке микробиолошке процедуре

неадекватне, временски врло захтевне, тешке, скупе или ризичне по извођаче. Због тога су молекуларно-генетичке методе довеле до револуције у свакодневној клиничкој пракси и дијагностици инфективних болести. Посебан значај имају у случајевима када је неопходна брза и поуздана дијагностика, која је пресудна за доношење одлуке о третману пацијента. Усавршавање PCR технике, нарочито увођење *real-time* PCR методе, проширило је дијагностичке могућности молекуларних анализа (11). Захваљујући високој специфичности и осетљивости, молекуларно-генетичке анализе су уведене као међународно важеће за утврђивање присуства многих високо инфективних агенаса у клиничком материјалу, а нарочито оних вирусне етиологије. Осетљивост PCR се често креће испод 1 TCID/50 (односно једне ткивно инфективне јединице), што ове методе чини често осетљивијим од изолације вируса, услед много већег броја некомплетних и дефектних у односу на број инфективних вирусних честица (9).

У Лабораторији за генетику животиња Катедре за биологију Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду, тренутно је могуће урадити низ молекуларно-генетичких дијагностичких анализа обољења паса, мачака и других кућних љубимаца. Лабораторија за генетику животиња тренутно пружа услуге из области болести малих животиња, попут дијагностике обољења паса (штенећак, парвовироза, ерлихиоза, дирофилариоза - *Dirofilaria immitis, D. repens*, бабезиоза - *Babesia canis, B. gibsoni*), дијагностике обољења мачака (полицистично обољење бубрега мачака - *Polycystic Kidney Disease*, панлеукопенија мачака) и дијагностике обољења птица (болест кљуна и перја птица - *Psittacine Beak and Feather Disease*, PBFD). Такође, у Лабораторији за генетику животиња ради се и детерминација пола птица.

На основу свега изнетог, сматрамо да је лабораторијска дијагностика део клиничке дијагностичке процедуре, која у "малој" клиничкој пракси брзо, поуздано и са малим материјалним издацима, омогућава ветеринару да постави тачну дијагнозу, примени адекватну терапију и прати ток болести.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH, 1999, Small animal clinical diagnostis by laboratory methods; Philadelphia, WB Saunders. 2. Ker M, 2002, Veterinary laboratory medicine clinical biohemistry and haematology, Blackvell Science, Landon UK. 3. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, 2012, Veterinary hematology and clinical chemistry, Wiley-Blackwell, Oxvord UK. 4. Stockham LM, Scott AM, 2008, Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd Edition, Blacwell Publishing, Iowa USA. 5. Latimer K, 2011, Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 5th Edition, Wiley-Blackwell, Oxvord UK. 6. Sink , Feldman 2004, Laboratory urinolisis and Hematology for Small Animal Practitioners, Teton NewMedia USA. 7. Cowell LR, Tyler DR, Meinkoth HJ, DeNicola BD, 2008, Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat, Mosby Elsevier, USA. 8. Sharkey LC, Dial SM, Matz ME 2007, Maximizing the Diagnostic Value of Cytology in Small Animal Practice Vet Clin Small Anim. 37, 351-72. 9. Petrović T, Velhner M, Petrović J, Stojanov I i sar., 2010, Savremene metode laboratorijske dijagnostike u veterinarskoj medicini i mogućnosti njihove primene, Arhiv veterinarske medicine, 3, 1, 39-61. 10. Vučićević M, Stevanov-Pavlović M, Stevanović J i sar., 2013, Sex determination in 58 bird species and evaluation of CHD gene as a universal molecular marker in bird sexing, Zoo Biol, 32, 3, 269-276. 11. Stanimirović Z, Stevanović J, 2012, Primena molekularno-genetičkih analiza u veterinarskoj medicini. Zbornik predavanja sa XXXIII Seminara za inovacije znanja veterinara, 17-33, Beograd, Srbija.

САВРЕМЕНЕ ИНСТРУМЕНТАЛНЕ МЕТОДЕ У МАЛОЈ ПРАКСИ

Вања Крстић, Драган Ристановић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Од савемених дијагностичких метода у малој пракси ригидна ендоскопија заузима значајно место у дијагностици обољења горњих партија респираторног тракта, унутрашњих органа абдомена и лапароскопске стерилизације паса. Ендоскопским прегледом се добија реална слика о стању слузница носних ходника паса, уз могућност прикупљања материјала, путем биопсије, за хистопатолошке и цитолошке анализе. Такође, ендоскоп се може искористити и за уклањање страних тела из горњих партија респираторног тракта малих животиња. Лапароскопија је минимално инвазивна дијагностичка метода, која омогућава ветеринарима да спроведу темељну визуелизацију трбушне дупље и лако узму узорак ткива за хистопатолошка испитивања. На тај начин се долази до прецизније дијагнозе, а тиме се спроводи и одговарајући третман појединих патолошких стања абдоминалне дупље паса. Након овакве интервенције, опоравак пацијента је сигурнији и бржи. Поред лапароскопске дијагностике обољења органа трбушне дупље, последњих годину дана, на Факултету ветеринарске медицине у Београду, спроводи се и лапароскопска хирургија.

Кључне речи: лапароскопија, пас, ригидна ендоскопија

CONTEMPORARY INSTRUMENTAL METHODS IN A SMALL PRACTICE

Vanja Krstić, Dragan Ristanović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

The possibilities and importance of rigid endoscopy in the diagnosis of diseases of the upper parts of the respiratory tract, internal abdominal organs, and laparoscopic sterilization of dogs, have an important place in veterinary practice. Endoscopic examination provides with an accurate picture of the state of mucous nasal passages of dogs with the possibility to collect biopsy samples for histopathological and cytological analysis. At the same time, the endoscope can be used for the removal of foreign bodies from the upper parts of the respiratory tract of small animals. Laparoscopy is a minimally invasive diagnostic method, which allows veterinarians to conduct a thorough visualization of the abdominal cavity and easy sampling of tissues for histopathological examination. In this way, a more accurate diagnosis is obtained, thus enabling appropriate treatment for specific conditions of the abdominal cavity of dogs. After this intervention the patient's recovery is safer and faster. Besides laparoscopic diagnostic procedures of diseases of the abdominal cavity during the last year at the Faculty of Veterinary Medicine in Belgrade we have performed laparoscopic surgery procedures, also.

Key words: laparoscopy, dogs, rigid endoscopy

РИНОСКОПИЈА КОД ПАСА

Риноскопија је преглед лумена и мукозе носних ходника са ендоскопом. Преглед обухвата, анатомски гледано, две процедуре: антериорну риноскопију, којом се прегледа носна шупљина и то уласком кроз носне отворе и постеријорну риноскопију, преглед хоана и назофаринкса, али у овом случају уводимо ендоскоп преко усне шупљине, маневришемо око слободне ивице меког непца и гледамо уназад (ростралнo) ка хоанама. Обољења носне шупљине, синуса и назофаринкса манифестују се једним или више симптома, као што су: кијање, носни исцедак, стридор (инспираторни шум и звиждање) и оток лица. Ова дијагностичка метода је индикована када постоји сумња на:

- хроничну упалу носне слузнице;
- аспергилозу код паса;
- страно тело у носним ходницима;
- неоплазије у носним ходницима.

Потребни инструменти за риноскопију су: обични отоскоп, зубно огледало и чврсти/савитљиви ендоскоп. За успешан преглед инструменти морају бити прилагођени величини пацијента. Отоскоп је обично довољан ако желимо прегледати предње (антериорне) партије носне шупљине. Зубним огледалом можемо прегледати назофаринкс код средњих и великих паса, мада на овај начин добијамо ограничен поглед на испитивану област. Чврсти (ригидни) ендоскоп, укључујући и артроскоп и педијатријски цистоскоп, веома су корисни за антериорну риноскопију, посебно уколико постоји могућност прегледа под различитим угловима (типично 5 до 70 степени). Обично је дијаметар оваквог ендоскопа 2-3 mm са омотачем дијаметра 3,7-4,7mm. Ригидни ендоскоп поседује канал за испирање и биопсију. Мада су флексибилни ендоскопи (2,5-5 mm) скупи, веома су погодни, како за антериорну, тако и за постериорну риноскопију. Ипак код оваквих ендоскопа, због узаног канала, може бити отежано или онемогућено вршење биопсије. Приликом риноскопије неопходна је општа инхалациона анестезија и адекватна аналгезија. Пре риноскопије прегледа се и палпира усна шупљина, како би се уочиле евентуалне абнормалности, као што су: хиперемија мукозе, обилна секреција, деформације тврдог непца (тумори), елонгација и вентрална депресија меког непца, страна тела, обољења зуба или десни и увећане тонзиле, затим рендгенолошки преглед главе и комплетан лабораторијски преглед (испитивање пуне крви, серума и анализа урина). Пацијент се за риноскопију поставља у лежећи, стернални положај. Њушка је на ослонцу који ће олакшати улазак ендоскопа кроз носни отвор у носну шупљину, односно кроз уста до назофаринкса. Преглед је боље обављати у замраченој простојии. Ово нам омогућава да светлост ендоскопа видимо кроз максилу што ће нам помоћи при локализацији лезија између носа и синуса. Носни исцедак или секундарна крварења могу прегледачу замутити поглед на назалну мукозу. Ово се уклања удувавањем ваздуха или течности, како би се очистио врх ендоскопа. Сталним протоком флуида капилари избледе, па је изглед слузокоже нешто светлији. Повременим удувавањем и сукцијом ваздуха уклања се секрет и крв, а слузокожа је типично розе боје.

Постериорна риноскопија

Користи се за утврђивање назофарингеалних обољења. Маневрисањем малим флексибилним ендоскопом на ивици непца у два правца добијамо добар преглед ове регије. У првом случају врх ендоскопа ретрофлексирамо за 180º пре увођења у уста, а затим се уводи до слободне ивице меког непца и ту се врши исправљање. У другом случају уводи се ендоскоп до меког непца, а онда врши ретрофлексија. Ретроверзијом преко меког непца добијамо инверзну слику назофаринкса и хоана. У овој позицији леви синус нам је на десној страни, а десни на левој страни видног поља. Назофарингеална граница меког непца је у горњем делу видног поља. Померањем ендоскопа 1-2 cm

аборално, благом ротацијом у лево или десно, добијамо бољи преглед. Уколико је потребно вршити биопсију пожељно је биопсер увести у канал пре него што вршимо флексију. Код животиња са дугим носем, због велике удаљености ивице непца и хоана, преглед је ограничен. Здрава мукоза хоана је ружичасте боје и глатка. Иритирано ткиво је хиперемично, крвари при благом притиску. Лимфоидна хиперплазија је честа код хроничног кијања и повезана је са сталном стимулацијом назофарингеалне мукозе антигенима. Анатомски се могу уочити структуре, као што су отвор еустахијеве тубе, меко непце, спој меког и тврдог непца, носна преграда, постериорне хоане и каудални део леве и десне носне конхе. Могу се наћи бенигне промене, као што су стенозе и полипи. Често се срећу и малигни тумори, а нешто ређе се наилази на страна тела или паразите. Након биопсије могу настати блага до умерена крварења, која након неколико минута престају. Уколико су крвављења обилнија могу се у носне отворе ставити сунђерчићи натопљени епинефрином (1:10000 раствор). Код јако упорног крварења подвезује се каротидна артерија на врату.

Антериорна риноскопија

Улазак у носну шупљину је често отежан због широке аларне хрскавице која раздваја отворе. Зато се риноскоп уводи медијално, а затим исправља, како би се доспело до дубљих партија. Када се прође хрскавица, ендоскоп се поставља тако да је септум вертикално оријентисан. У овој позицији хоане се препознају као три примарна коштана завијутка латерално. Такође уочавамо и главне ваздушне меатусе. Антериорни преглед обухвата и преглед назалне мукозе сва три примарна меатуса и конхи. Она је ружичасте боје и глатка са фином мрежом капилара. Иако су крварења честа, лакоћа са којом она настају може указати на инфламацију. Од осталих поремећаја на мукози можемо уочити хиперемију, разне ерозије и улцерације. Сваки меатус се прегледа и процењује се да ли је нормалан пролаз ваздуха. Проширени меатус указује на деструкцију турбиналија. Деструктивни ринитис се често среће код хроничне упале носне слузнице. Специфичан пример су секундарне бактеријске инфекције (након вирусне инфекције, обољења зуба или страног тела) или хроничне гљивичне инфекције код паса (*aspergillosis*). Код аспергилозе се уочавају беле мукоидне или папирјасте наслаге на слузокожи носа или синуса. Секрет може испунити канал и сакрити страно тело или тумор. Зато се врши лагана сукција течности, водећи рачуна да не дође до крварења. Оток мукозе може сузити меатус. Ткиво у меатусу је најчешће нека неоплазија (аденокарцином, фибросарком, лимфосарком) или гљивични гранулом (*cryptococcosis* код мачака и *sporotrichosis* или *rhinosporidiosis* паса).

ОСНОВНИ ПРИНЦИПИ ЛАПАРОСКОПСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ ПОЈЕДИНИХ ОРГАНА АБДОМЕНА КОД ПАСА

Лапароскопија је захват који је најмање могуће инвазиван и минимално оштећује пацијента, а који се изводи у циљу постављања дијагнозе, као и у случају хируршких интервенција. Лапароскопија омогућава ветеринарима да обаве детаљну визуелну инспекцију органа абдоминалне шупљине и да узму узорак ткива у кратком временском интервалу, а са минималним болом по пацијента. У току лапароскопије оштећења меких ткива су незнатна, а узорци појединих органа узимају се на прави начин и у потребној количини, што у великој мери олакшава постављање тачне дијагнозе, спровођења теапије и третмана обољења појединих органа трбушне дупље. После лапароскопије пацијент се брже опоравља, а мањи отвор тј. инцизија, која се у току ове процедуре направи, у великој мери смањује компликацију постоперативних траума и инфекцију ране.

Иструменти и анестезија при лапароскопији

Основни комплет који се користи за обављање лапароскопије на ФВМ у Београду је: ендоскопска камера и монитор, извор светлости (ксенон), угљен диоксид инсуфлатор, *Veress*-ова игла, стерилно црево за инсуфлацију, 5 mm 29 cm 30^0 ендоскоп, 6 mm лапароскопска канула (најмање две), 5 mm ендоскопски форцепс за биопсију (*cup* и/или *punch* модел), 0,9% физиолошки раствор и опрема за снимање. Уобичајна је пракса да се лапароскопија обавља уз примену опште инхалационе анестезије. При инсуфлацији угљен диоксида у абдоминалну дупљу путем мониторинга потребно је пратити стање кардиоваскуларног и респираторног система. Поремећај ових система може се избећи правилним одржавањем интраабдоминалног притисака, у распону од 10 до14 mmHg.

Постоје два основна приступа лапароскопији: десни - латерални и вентрални - по средишњој линији. Десна латерална лапараскопија се примењује и препоручује код дијагностичких испитивања јетре, жучне кесе, десног режња панкреаса, дуоденума и десног бубрега и десне надбубрежне жлезде. Вентрална лапароскопија се често користи за хируршки захват, преглед јетре, жучне кесице, панкреаса, желуца, црева, репродуктивног тракта, мокраћне бешике и слезине.

Лапароскопија започиње формирањем радног простора инсуфлацијом угљен диоксида у абдоминалну дупљу путем *Veress* игле. Први корак је прављење инцизије на одабраном месту на кожи величине 1 mm, користећи врх скалпела број 11 или 15. Тачка пробоја треба да је на вентралној средишњој линији или у паралумбалној фоси. Кожа абдоминалног зида прихвати се пеаном, подигне и натегне, *Veress*-ова игла се прихвата за цилиндрични део и игла се убацује под углом у кожу, тако да врх игле има каудални правац ка пелвису. Приликом уласка игле у перитонеални простор, осети се благи „поп“, тада се конус на врху *Veress* игле отвори, при чему се на њу ставља шприц са физиолошким раствором. Ако се у лумену шприца појави крв или течност, врх игле се помери. Ако све тече како треба, убацује се 1-2 ml стерилног физиолошког раствора у абдомен. Приликом убацивања раствора не сме бити никаквог отпора. Када је постављена *Veress*-ова игла, стерилно црево се закачи на конус и припаја за инсуфлатор угљен диоксида. Абдомен се постепено инсуфлира док се не добије притисак од 10 до 14 mmHg. Кроз напет абдомен поставља се канула прављењем инцизије на кожи. Држећи у длану горњи крај кануле, праве се покрети окретања, све док врх кануле не уђе у перитонеални простор. Непосредно по пробијању абдоминалног зида, уклони се оштар троакар из кануле да би се искључила оштећења ткива и органа. Да би се спречио излазак гаса, вентил на канули треба затворити непосредно после извлачења троакара. Кроз гумени запушач кануле, уводи се телескоп са камером. Друга канула се поставља кроз абдоминални зид на исти начин како је већ описано. У току постављања друге кануле, а да би се избегла оштећења висцералних органа, њен правац треба да се прати преко телескопа.

Биопсија појединих орагана трбушне дупље

Јетра

Биопсија јетре се најчешће ради када је пацијент у левом латералном положају са десним латералним прилазом. Прва канула (телескопска) се поставља у каудодорзални абдоминални зид, у региону паралумбалне фосе. Друга канула се поставља на истом нивоу као и прва, али више ка медијалној линији. На овај начин може да се прегледа 85% ткива јетре, екстрахепатични жучни систем и десни режањ панкреаса. Када се незнатно извуче телескоп, може да се прегледа жучна кеса, која се налази између десног латералног и десног медијалног лобуса јетре, који када се уздигну, учине видљивим висцералну површину јетре и проксимално жучно стабло. Жучна кеса

може да се палпира сондом, при чему се врши процена притиска билијарног стабла. Цистични дуктус се у том случају може пратити, при чему се стиже до заједничког жучног дуктуса, који се улива у дуоденум.

За узимање узорака, препоручује се купасти форцепс за биопсију (5 mm). Узорак јетре може да се узме помоћу форцепса, било са руба органа или са површине. Важно је да се узорци узимају са три или четири локације, укључујући и ткиво које је наизглед нормално.

Панкреас

Десни режањ панкреаса лежи близу дуоденума, између два слоја мезодуоденума. Тело панкреаса близу пилоруса повезује десни и леви режањ. Леви лобус се налази у дубоком листу великог оментума. Биопсија панкреаса се обавља тако што се користи десни латерални прилаз. На овај начин, јасно се види дуоденум, десно крило панкреаса, екстрахепатични билијарни систем и јетра. Често је претходно потребно да се издигне велика кривина желуца и да се истовремено оментум повуче кранијално, а у циљу прегледа левог лобуса панкреаса. Као и у случају биопсије јетре, и код панкреаса је потребно користити две кануле. Оне се постављају у каудални део абдомена и то на ситусе који су слични по својој позицији као и код лапараскопије и прегледа јетре. У случају биопсије панкреаса, за разлику од биопсије јетре, ситусе треба померити 3-4 cm каудалније. Нормални панкреас је бледо љубичасте боје и равномерно нодуларне структуре. За узимање узорака, најбоље је да се користи *punch-type forceps*, али може да се употреби и *cup biopsy forceps*. Ситус за биопсију треба да се одабере при ивици и крају панкреаса, удаљено од дуктуса, који пролази кроз центар жлезде и улази у дуоденум преко канала заједничког и за жуч.

Бубрези

Лапароскопија је веома практична метода којом могу да се прегледају бубрези и узме узорак ових органа. Препоручује се употреба аутоматске *core-type* игле за биопсију. Непосредна визуелизација бубрега омогућава ветеринару да наведе иглу за биопсију ка жељеном ситусу са кога ће се узети узорак и истовремено да контролише и прати могуће крварење после процедуре. Осим у случајевима када је неопходно да се узме узорак из левог бубрега, лакше је обављати биопсију на десном бубрегу, пошто је десни бубрег слабије покретан у абдомену. Пацијент се поставља у делимичан или потпуни леви латерални положај. Ситус убода игле се одређује перкутаном палпацијом абдоминалног зида уз истовремено посматрање органа помоћу телескопа. Када се узимају узорци биопсијом, ситус продора игле кроз абдомен треба да је постављен каудално у односу на дијафрагму. На почетку, направи се убодна инцизија на кожи димензије 1 mm и то на месту убода игле коју треба усмерити у абдоминалну шупљину и ка бубрегу. Уобичајени ситус за узимање узорка је кранијални или каудални пол бубрега. Потребно је обратити пажњу да се узорак узме из кортекса бубрега и са што мање медуле органа. Игла за биопсију се поставља у реналну капсулу и „откачиње“. После тога, игла се извлачи из абдоминалне дупље. Обично се на месту са кога је узет узорак јаве мања крварења. Крварење може да се контролише и санира са палпационом сондом коју треба притиснути на месту биопсије и држати неколико минута у том положају.

ЛАПАРОСКОПСКА ОВАРИЈЕКТОМИЈА

Лапароскопска оваријектомија, која се свакодневно обавља на Клиници за мале животиње, Факултета ветеринарске медицине у Београду, подразумева елективно уклањање јајника. Ова процедура се обавља у општој, инхалационој анестезији. Хируршка интервенција започиње припремом хируршког поља. Животиња се поставља у дорзални положај. Инсуфлација угљен диоксида се спроводи употребом *Veress* игле, која се поставља неколико центиметара изнад пупка. Затим постављамо троакар канулу, а на месту *Veress* игле, други трокар са канулом. Ова два радна канала служе за увођење телескопа, тј. инструмента којим се обавља интервенција. На овај начин добијамо квалитетну визуелизацију јајника, које затим специјалном куком фиксирамо за зид трбушне дупље. Каутеризација крвних судова се обавља биполарном пинцетом за ендоскопску хирургију. Лигаменти и рогови материце се пресецају ендоскопским маказама, односно *grasping* форцепсом. Овим форцепсом се врши екстирпација јајника из абдомена. По завршеној процедури места на којима су били трокари ушивају се по слојевима. Много је разлога због чега је овај начин стерилизације куја супериорнији у односу на класичну оваријектомију. Неки од разлога су: утрошак материјала је минималан, настанак постоперативне инфекције је изузетак, морбидитет је знатно мањи, анестезија мање ризична и интезитет бола је минималан.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Крстић Н., Крстић В., 2007, Рендгенолошка и ендоскопска дијагностика обољења дигестивног и респираторног система паса и мачака, Београд. 36-9. 2. Philip L., David S., 2008, Canin end Feline Endoscopy and Endosurgery. BSAVA, UK. 158-66. 3. Todd R.T, Clarence A.R., 2011, Small animal Endoscopy 3rd Edition, Elsevier Mosby, 466-76.

ЗНАЧАЈ PCR-RFLP МЕТОДЕ У ПРЕЦИЗНОЈ, СПЕЦИЈСКОЈ ИДЕНТИФИКАЦИЈИ УЗРОЧНИКА БАБЕЗИОЗЕ ПАСА

Дарко Давитков, Милош Вучићевић, Јевросима Стевановић, Вања Крстић, Бојан Гајић, Урош Главинић, Зоран Станимировић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Бабезиоза паса представља често и са аспекта клинике веома значајно протозоално обољење које преносе крпељи. У периоду од јануара до априла 2014. године испитали смо 33 пса са клиничким симптомима који су указивали на бабезиозу паса. Након општег прегледа, извађена је крв од сваког пса за микроскопско испитивање, да би се урадила комплетна крвна слика, као и ДНК анализе уз помоћ PCR-RFLP методе. Главни клинички знаци установљени приликом прегледа су били: апатија, анорексија, грозница, промењен урин, бледе слузнице, иктерус, спленомегалија и повраћање. Главне промене детектоване анализом крвних слика биле су слаба до озбиљна тромбоцитопенија и блага до веома озбиљна нормоцитно нормохромна хемолитичка анемија. Микроскопским прегледом обојених крвних размаза установљено је присуство *Babesia* spp. код 28 паса. У пет случаја који су на основу микроскопског прегледа били негативни накнадно је PCR методом установљено присуство узрочника бабезиозе. Две врсте рода *Babesia* су утврђене PCR-RFLP методом која је усмерена на 18S-rRNA ген *Babesia* spp., *B. canis* (32/33, 96.97%) и *B. gibsoni* (1/33, 3,03%). Ово проучавање потврђује присуство *B. canis* и *B. gibsoni* код паса са израженим клиничким симптомима на територији Србије, као и значај PCR-RFLP методе у прецизној специјској идентификацији узрочника бабезиозе паса.

Кључне речи: *Babesia canis/gibsoni*, пси, PCR-RFLP, Србија

SIGNIFICANCE OF PCR-RFLP METHOD IN PRECISE SPECIES IDENTIFICATION OF THE CANINE BABESIOSIS CAUSE

Darko Davitkov, Miloš Vučićević, Jevrosima Stevanović, Vanja Krstić, Bojan Gajić, Uroš Glavinić, Zoran Stanimirović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Canine babesiosis is a frequent and clinically significant protozoal tick-borne disease. We studied 33 symptomatic dogs with clinical findings compatible with babesiosis from January 2014 to April 2014. After clinical examination, blood sample was taken from each dog for microscope examination, complete blood count and DNA analyses using PCR-RFLP method. The main clinical signs detected were: apathy, anorexia, fever, modified urine, pale mucous membranes, icterus, splenomegaly and vomiting. The main clinicopathological findings in *Babesia* infections were a slight to severe thrombocytopenia and a mild to very severe normocytic normochromic hemolytic anemia. Microscopic evaluation of stained

blood smears revealed 28 positive samples. *Babesia* spp. was ruled out by microscopic examination in five cases, but was later confirmed by the PCR method. Two *Babesia* species were differentiated by PCR-RFLP procedure targeting 18S rRNA gene, *B. canis* (32/33, 96.67%) and *B. gibsoni* (1/33, 3.33%). This study confirms the presence of *B. canis* and *B. gibsoni* in symptomatic dogs from Serbia as well as the usefulness of PCR-RFLP method for precise species identification of the babesiosis cause.

Keywords: *Babesia canis/gibsoni*, dogs, PCR-RFLP, Serbia

УВОД

Бабезиозу паса изазивају различите врсте протозоа рода *Babesia.* Ради се о паразитози раширеној широм света која се карактерише деструкцијом еритроцита, доводећи до системских клиничких манифестација. Историјски гледано, бабезиоза паса се дуго могла установити само на основу присуства паразита у еритроциту (прегледом крвних размаза). Све велике форме *Babesia* су означаване као *Babesia canis*, док се за све мале форме сматрало да се ради о *Babesia gibsoni*. Међутим, развојем молекуларних метода дошло се до сазнања да и друге врсте рода *Babesia* инфицирају псе и изазивају различита обољења. На тлу Европе молекуларним методама је потврђено присуство четири врсте узрочника бабезиозе паса: *Babesia canis, B. vogeli, B. gibsoni* и *B. microti-like*, позната и под називом *Theileria annae* (1,2). Географска раширеност узрочника бабезиозе паса је свакако у спрези са распрострањеношћу адекватних вектора, изузимајући *B. gibsoni* код које је доказан и директан пренос између паса.

Детекција бабезија на обојеном крвном размазу светлосном микроскопијом је дуго година била стандардна дијагностичка техника. Визуелна детекција бабезија у крвном размазу (односно присуства мерозоита у еритроцитима) нам једино може у појединим случајевима за кратко време потврдити да се ради о бабезиози, док је за одређивање врсте неопходна PCR дијагностика. Огромна предност молекуларних метода у односу на традиционалне методе дијагностике бабезиозе паса јесте њихова значајно већа осетљивост и специфичност (3). PCR-RFLP метода је брза, приступачна и често коришћена техника за молекуларну идентификацију паразитских врста (4,5,6). Специјска идентификација узрочника је од огромног значаја у одабиру адекватне терапије, предвиђању тока болести и свакако од неприкосновеног значаја у праћењу глобалне епизотиолошке ситуације.

Циљеви овог рада јесу да се испита присуство *Babesia* spp. у узорцима крви паса који испољавају клиничке симптоме бабезиозе уз помоћ PCR-RFLP методе и да се процени значај ове методе у свакодневној, специјској идентификацији узрочника, као и да се упореди овај начин дијагностике са традиционалним прегледом обојених крвних размаза.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У периоду од јануара до априла 2014. године испитали смо 33 пса са симптомима који су указивали на бабезиозу паса. Сви пси су примљени у Наставној болници Факултета ветеринарске медицине у Београду, где је и извршен општи клинички преглед. Сви пси су били са територије града Београда и ниједан пас није напуштао територију Републике Србије.

Извадили смо крв у вакутејнере са EDTA. Комплетна крвна слика је урађена на апарату IDEXX ProCyte Dx (IDEXX *Laboratories*, USA). Сви случајеви када је хематокрит био нижи од 37% су означавани као анемија. Извршена је процена озбиљности анемије као што је описано у литератури (7). Тромбоцитопенија је класификована као слаба (142-100 x 10^9/L), блага (99-50 x 10^9/L), умерена (49-25 x 10^9 /L) или озбиљна (<25 x 10^9/L) (8).

Направљени су размази периферне крви, обојени *Diff-Quick*® бојом (*Medion Diagnostics GmbH, Düdingen, Switzerland*) и прегледани светлосном микроскопијом, да би се установило евентуално присуство паразита унутар еритроцита.

ДНК је изолована из узорака крви са EDTA користећи „*QIAamp DNA blood Mini kit*“ (*Qiagen*) у складу са упутством произвођача. *In vitro* клонирање фрагмента ДНК је обављено путем реакције ланчане полимеризације, односно путем PCR амплификације у апарату који има могућност брзе промене температурних услова (5). За потребе детекције паразита рода *Babesia* коришћени су прајмери PIRO-A (5'-AATACCCAATCCTGACACAGGG-3') и PIRO-B (5'-TTAAATACGAATGCCCCCAAC-3'), који умножавају сегмент величине око 410 bp 18S-rRNA гена *Babesia* spp. (9). Све PCR реакције су извођене у апарату Multigene Gradient Thermal Cycler (Labnet International Inc.). 25 μL PCR реакциона смеша је садржала 1×PCR-пуфер (Kapa Biosystems), 1,5 mM $MgCl_2$ (Kapa Biosystems), 100 μM dNTP (Kapa Biosystems), 2 μM сваког прајмера, 0,5 U *Taq* полимеразе (Kapa Biosystems) и 5 μL изоловане ДНК.

Почетна денатурација се одвијала на 95ºC током 3 минута, затим је у 40 циклуса поновљена денатурација 30 секунди на 94°C, хибридизација 30 секунди на 62°C и екстензија на 72°C током 1 минута. Финална ДНК екстензија се одвијала на 72°C током 7 минута. Продукти PCR амплификације су раздвојени електрофорезом (при струји од 50 mA и напону од 50V у трајању од 45 минута) на 2% агарозном гелу. За визуелизацију ДНК у гелу коришћен је етидијум бромид који флоуресцира кад се осветли UV светлом.

На основу до сада објашњеног поступка могли смо само да утврдимо да се ради о бабезиози паса или пак да искључимо сумњу уколико нисмо добили траку на гелу. За даљу специјску идентификацију извршено је одређивање полиморфизма у дужини рестрикционих фрагмената (*Restriction Fragment Lenght Polymorphism*-RFLP). Извршена је дигестија PCR продуката са *Taq*I и *Hinf*I рестрикционим ензимима. Након третмана рестрикционим ензимима, добијени фрагменти су анализирани путем електрофорезе. Гел смо бојили етидијум бромидом, а визуелизација је вршена на UV трансилуминатору. На основу дигестије са *Taq*I рестрикционим ензимом може се утврдити инфекција са *B. vogeli* (пошто само она поседује рестрикционо место за овај ензим и добиће се два фрагмента, дужине 175 и 210 бп), а код свих других врста PCR продукти ће остати непресечени. *Hinf*I рестрикциони ензим не сече ампликоне *B. canis* i *B. vogeli,* али сече *B. rossi* (па ће се добити два фрагмента дужине 175 и 230 бп), *B. gibsoni* (фрагменти дужине 200 и 205 бп) и *B microti-like* (фрагменти дужине 70 и 370 бп). Једино *Babesia canis* не поседује рестрикционо место ни за један од два наведена ензима.

РЕЗУЛТАТИ

У испитаној групи паса оболелих од бабезиозе било је много више мужјака него женки (79% и 21% респективно). Најмлађи инфицирани пас је имао свега 2 месеца, док је најстарији имао 14 година. Заступљеније су биле чистокрвне расе у односу на мешанце (82% и 18% респективно).

Главни симптоми болести који су установљени при прегледу паса били су: апатија (96,97%), анорексија (90,91%), грозница (78,79%), промењена боја мокраће (51,51%), бледе слузнице (48,48%), иктерус (30,30%), спленомегалија (24,24%) и повраћање (26,67%).

Тромбоцитопенија је била присутна у 32/33 случаја (96,97%) и даље класификована као слаба 2/33 (6,06%), блага 3/33 (9,09%), умерена 4/33 (12,12) и озбиљна 23/33 (69,7%). Анемија је била присутна у 18/33 (54,54%) и даље класификована као блага у 5/33 (15,15%), умерена 4/33 (12,12%), озбиљна 6/33 (18,18%) и веома озбиљна 3/33 (9,09%). У већини случајева анемија је била нормоцитна и нормохромна. Двадесет четири од 33 испитиваних паса (72,73%) је имало лимфопенију, 11/33 (33,33%) леукопенију и 6/33 (18,18%) неутропенију. Леукоцитоза је била присутна код четири пса (12.12%) и неутрофилија код 3 пса (9,09%).

Прегледом обојених размаза периферне крви светлосном микроскопијом у 28 случаја је установљено присуство паразита у еритроцитима. Код свих 33 пса је методом PCR установљено присуство *Babesia* spp. Помоћу RFLP анализе је утврђено да се је у 32 случаја радило о *B. canis,* а у једном случају о *B. gibsoni.*

ДИСКУСИЈА

До сада је молекуларним методама доказано да неколико врста рода *Babesia* могу инфицирати псе на тлу Европе и довести до различитих клиничких симптома. Присуство *B. canis* је већ потврђено у Румунији, Мађарској, Хрватској, Италији, Пољској, Шпанији, Швајцарској, Португалији, Русији, Немачкој, Словенији, Француској, Албанији, Холандији и Норвешкој (1). *B. gibsoni* као узрочник бабезиозе паса потврђена је молекуларним методама код два пса у Немачкој (10), четири пса у Шпанији (11,12), једног пса у Италији (13), 14 паса у Румунији (14), док је код шест паса у Хрватској утврђена субклиничка инфекција овим узрочником (15). Наши резултати потврђују претходна запажања из околних земаља да се *B. canis* сматра главним узрочником бабезиозе паса у овом делу Европе.

Клинички знаци бабезиозе паса приказани у овом раду не одступају од других истраживања спроведених на тлу Европе, како у фреквенци појаве симптома, тако и у редоследу појављивања. У нашем истраживању било је више оболелих мужјака него женки, што је у сагласности са резултатима ранијих анализа спроведених у другим земљама (16,17,18). Очигледна доминација мужјака међу нашим пацијентима се пре може објаснити чињеницом да је много више мужјака генерално међу псима на територији града Београда, као и њиховим условима држања, него као правом полном предиспозицијом. На основу урађених крвних слика може се рећи да су главне детектоване промене блага до озбиљна тромбоцитопенија, блага до веома озбиљна хемолитичка анемија, лимфопенија и леукопенија.

У пет случајева на основу микроскопског прегледа обојених размаза периферне крви није установљено присуство *Babesia* spp. С обзиром да су код свих тих случајева клиничка слика и крвна слика одговарале клиничким манифестацијама бабезиозе паса, у кратком временском року је урађено молекуларно испитивање. Сви они, као и осталих 28 паса који су били позитивни светлосном микроскопијом, били су позитивни PCR методом. Од тих пет случајева који су били негативни светлосном микроскопијом у једном случају се је радило о *B. gibsoni*, што је утврђено RFLP методом. Наши резултати су у корелацији са другим студијама које су показале већу осетљивост молекуларних техника у односу на визуелну детекцију *Babesia* spp. (14,19).

ЗАКЉУЧАК

Овај рад потврђује присуство *B. canis* и *B. gibsoni* код симптоматских паса на територији Србије као и значај PCR-RFLP методе у прецизној, специјској идентификацији узрочника, као и за извођење будућих епизоотиолошких студија. Традиционалне методе дијагностике су употпуњене, у многим земљама чак и у потпуности замењене молекуларним методама дијагностике, у којима је PCR неизбежан корак.

Захвалница: *Истраживање је финансирано средствима Пројекта из програма Интегралних и интердисциплинарних истраживања Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије "Молекуларно-генетичка и екофизиолошка истраживања у заштити аутохтоних анималних генетичких ресурса, очувања добробити, здравља и репродукције гајених животиња и производњи безбедне хране", Ев. бр. III46002.*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Solano-Gallego L, Baneth G, 2011, Babesiosis in dogs and cats–expanding parasitological and clinical spectra. Vet. Parasitol. 181, 48-60. 2. Matijatko V, Torti M, Schetters TP, 2012, Canine babesiosis in Europe: how many diseases? Trends Parasitol. 28, 99-105. 3. Bashiruddin JB, Cammà C, Rebêlo E, 1999, Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. Vet. Parasitol. 84, 75-83. 4. Solano-Gallego L, Trotta M, Carli E, Carcy B, Caldin M, Furlanello T, 2008, *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. Vet. Parasitol. 157, 211-21. 5. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Genersch E, Kovacevic RS, Ljubenkovic J, Radakovic M, Aleksic N, 2011, Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder. Apidologie 42, 49-58. 6. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I, Stanimirovic Z, 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies. Apidologie 44, 522-36. 7. Weiss D, Tvedten H, 2012, Erythrocyte Disorders In: Willard, M.D., Tvedten, H. (Eds.), Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. fifth ed. WB Saunders, Philadelphia, 38-62. 8. Furlanello T, Fiorio F, Caldin M, Lubas G, Solano-Gallego L, 2005, Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form Babesia from dogs of northeastern Italy. Vet. Parasitol. 134, 77-85. 9. Olmeda AS, Armstrong PM, Rosenthal BM, Valladares B, del Castillo A, de Armas F, Miguelez M, Gonzalez A, Rodriguez JA, Spielman A, Telford 3rd, S.R., 1997, A subtropical case of human babesiosis. Acta Trop. 67, 229-34. 10. Hartelt K, Rieker T, Oehme RM, Brockmann SO, Muller W, Dorn N, 2007, First evidence of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) in dogs in Western Europe. Vector Borne Zoonotic Dis. 7, 163-6. 11. Criado-Fornelio A, Gonzalez-del-Rio MA, Buling-Sarana A, Barba-Carretero JC, 2003, Molecular characterization of a *Babesia gibsoni* isolate from a Spanish dog. Vet. Parasitol. 117, 123-9. 12. Tabar MD, Francino O, Altet L, Sánchez A, Ferrer L, Roura X, 2009, PCR survey of vetor borne pathogens in dogs living in and around Barcelona, an area endemic for leishmaniosis. Vet. Rec. 164, 112-6. 13. Trotta M, Carli E, Novari G, Furlanello T, Solano-Gallego L, 2009, Clinicopathological findings, molecular detection and characterization of *Babesia gibsoni* infection in a sick dog from Italy. Vet. Parasitol. 165, 318-22. 14. Imre M, Farkas R, Ilie MS, Imre K, Dărăbuş G, 2013, Survey of babesiosis in symptomatic dogs from Romania: Occurrence of Babesia gibsoni associated with breed. Ticks and Tick-borne Dis. 4, 500-2. 15. Beck R, Vojta L, Mrljak V, Marinculic A, Beck A, Zivicnjak T, Caccio SM, 2009, Diversity of *Babesia* and *Theileria* species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. Int. J. Parasitol. 39, 843-8. 16. Máthé A, Vörös K, Papp L, Reiczigel J, 2006, Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). Acta Vet. Hung. 54, 367-85. 17. Adaszek L, Martinez AC, Winiarczyk S, 2011, The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. Vet. Parasitol. 181, 160-5. 18. René-Martellet M, Chêne J, Chabanne L, Chalvet-Monfray K, Bourdoiseau G, 2013, Clinical signs, seasonal occurrence and causative agents of canine babesiosis in France: Results of multiregional study. Vet. Parasitol. 197, 50-7. 19. Macintire DK, Boudreaux MK, West GD, Bourne C, Wright JC, Conrad PA, 2002, Babesia gibsoni infection among dogs in the south-eastern United States. J. Am. Vet. Med. Assoc. 220, 325-9.

УПОРЕДНА АНАЛИЗА ПАРАМЕТАРА ИНТРАОПЕРАТИВНОГ И ПОСТОПЕРАТИВНОГ БОЛА КОД КУЈА ПРИЛИКОМ ЛАПАРОСКОПСКЕ И КЛАСИЧНЕ ОВАРИЈЕКТОМИЈЕ

Маја Васиљевић, Вања Крстић, Роберт Трујановић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Циљ овог истраживачког рада је да се упореди интраоперативни и постоперативни бол код куја приликом оваријектомије класичном хируршком методом и лапароскопском методом.

Истраживање је рађено у Наставној болници Факултета ветеринарске медицине у Београду. Укупно 20 куја је подељено у две групе. Прва група (10 куја) рађена је класична оваријектомија (КОВ), и друга група (10 куја) рађена је лапароскопска оваријектомија (ЛОВ). Кује из обе групе су пре операције клинички прегледане, добиле су исту премедикацију (карпрофен, медетомидин), након тога је урађена индукција (пропофол), а општа анестезија је одржавана инхалационо (севофлуран). Интраоперативно на 5 минута пратили смо фреквенцу рада срца, фреквенцу дисања, вредност артеријског крвног притиска, вредност телесне температуре, а затим 15, 30 минута, 1, 3 и 6 часова постоперативно. За оцену интезитета бола користили смо модификовану „*Total pain score*“ скалу.

Током оваријектомије, пацијенти из групе КОВ су реаговали променама у мониторингу, и то: смањењем вредности артеријског крвног притиска, повећањем фреквенце срчаног рада, затим хипервентилацијом током повлачења левог лигамента и током ушивања коже, сниженом телесном температуром, мереном одмах по завршетку операције, као и тежим опоравком и буђењем након анестезије. Код пацијената из групе ЛОВ током оваријектомије није дошло до промена у мониторингу током операције, а постоперативно су имале мањи бол, брже су се опоравиле и будиле из анестезије.

Лапароскопска оваријектомија је мање инвазивна метода и пацијенти се брже и лакше опорављају после анестезије. Интензитет бола код лапароскопске оваријектомије, како интра-, тако и постоперативно је значајно слабији у односу на класичну оваријектомију.

Кључне речи: пас, оваријектомија, лапароскопија, бол

COMPARATIVE ANALYSIS OF INTRAOPERATIVE AND POSTOPERATIVE PAIN PARAMETERS IN DOGS DURING LAPAROSKOPIC AND CLASSICAL OVARIECTOMY

Maja Vasiljević, Vanja Krstić, Robert Trujanović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

The aim of this research is to compare intraoperative and postoperative pain parameters in dogs during laparoskopic and classical ovariectomy.

Research was conducted at Teaching hospital of the Faculty of Veterinary Medicine in Belgrade. A total of 20 dogs were divided in two groups. The first group (10 dogs) was preformed classical ovariectomy (COV), and the second group was preformed laparoskopic ovariectomy (LOV). A total of 20 dogs were clinically examined and got the same premedication (Carprofen, medetomidine). After that induction (propofol) anesthesia was maintained by inhalation of sevoflurane. Parameters that we monitored intraoperatively (heart rate, respiration, arterial blood pressure, body temperature) were measured. Mentioned parameters we have monitored at each 5 minutes intraoperatively, and then at 15, 30 minutes, 1, 3, 6 hours postoperatively. We used "Total pain score" to measure pain intensity.

During the ovariectomy patients from gropu COV reacted by monitoring changes. Those changes were: lower arterial pressure, increased heart rate, hyperventilation during withdrawal of ligament and during skin sewing, body temperature measured after operation was lower, recovery and awaking after anesthesia were more difficult. There were no monitoring changes during operation at the patients of LOV group, and postoperative pain were lower, recovery and awaking were faster which was confirmed by patients monitoring. Laparoskopic ovariectomy is less invasive method, and patients recovery after anesthesia is faster and easier. Intraoperative and postoperative pain intense during laparoskopic ovariectomy is significantly lower than during classical ovariectomy.

Key words: dog, ovariectomy, laparoskopic, pain

УВОД

Оваријектомија представља хируршко отклањање оба јајника код куја. Овим хируршким захватом превенира се настанак тумора млечне жлезде, хиперестрогенизација, појава оваријалних циста, дијабетес мелитус, итд (1). Оваријектомија се може извршити класичном хируршком методом и лапароскопски. У наставној болници Факултетета ветеринарске медицине од 2012. године ради се и лапароскопска оваријектомија. Најчешћа компликација код класичне оваријектомије су интраабдоминална крварења, која настају услед неадекватног лигирања крвног суда (2). Такође, много је већа шанса да настану компликације приликом зарастања ране, из разлога што је рез већи него код лапароскопске оваријектомије (3,4). Код лапароскопске оваријектомије, ово је немогуће, јер је обезбеђена визуелизација путем камере (5). Лапароскопском оваријектомијом се постиже мањи рез на кожи и заобилазе се најболније фазе које су неизбежне код класичне оваријектомије, као што је повлачење лигамената и екстраперитонизација јајника (5,6), због чега је мањи интра- и постоперативни бол (7). Из наведених разлога, у овом раду пратимо промену параметара интра- и постоперативно, који нам указују на постојање бола.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У наставној болници Факултета ветеринарске медицине у Београду у периоду од марта 2013. до марта 2014. године доведено је на оваријектомију 20 куја (старости од 7 месеци до 3 године, телесне масе од 5 до 35 кг). Све кује су након клиничког прегледа сврстане у ASA I категорију. Преоперативна аналгезија код свих куја је подразумевала s.c. аплиакцију карпрофена 4 mg/kg (*Rymadil, Pfizer Animal Health*). Након 20 минута стављен им је интравенски катетер и дата премедикација медетомидин 0,03 mg/kg i.v. (*Domitor, Pfizer Animal Health*). Након тога је урађена индукција са пропофолом 2 mg/kg i.v. (*Diprivan, AstraZeneca, UK*), а затим ендотрахеална интубација. Одржавање опште инхалационе анестезије је рађено помоћу севофлурана *(Sevorane, Abbot, Canada*) и инхалационог апарата (*TIBERISU 19A DRÄGER*). Кује су подељене у две групе. Првој групи (10 куја) рађена је калсична оваријектомија (КОВ), а другој групи (10 куја) рађена је лапароскопска оваријектомија (ЛОВ). За интраоперативну аналгезију кујама из друге групе апликован је кетамин 2 mg/kg i.v. (*Ketamidor, Marlo farma, Beograd*). Мерене су вредности фреквенце рада срца, фреквенце дисања, вредности артеријског крвног притиска и телесне температуре помоћу апарата *Mindray PM-900VET*. Добијене вредности смо користили да би на основу модификоване *Total pain score* скале проценили степен бола. Наведене параметре смо пратили на сваких 5 минута интраоперативно, а затим 15, 30 минута, 1, 3 и 6 часова постоперативно. Интезнитет бола је мерен у одређеним фазама: 1. фаза ендотрахеалне интубације, 2. фаза инцизије, 3. фаза повлачења левог лигамента, 4. фаза повлачења десног лигамента, 5. ушивање коже. Након екстубације, у току интезивне неге, пратили смо понашање животиња и на основу добијених вредности оцењивали смо степен седације и интезитет бола.

РЕЗУЛТАТИ

1. Процена бола на основу промена параметара праћених интраоперативно код класичне оваријектомије (КОВ)

Код ове групе куја у првој и другој фази није било промена у вредностима фреквенце рада срца, дисања, артеријског крвног притиска и телесне температуре, а у трећој фази дошло је код свих пацијента до повећања вредности срчане фреквенце (више од 140 откуцаја у минути) и хипотензије (90/50/60 mmHg), која се није мењала до краја операције. У истој фази дошло је до хипервентилације (преко 36 респирација у минути), која се у четвртој фази благо смањивала, да би у петој фази пацијенти опет имали убрзано дисање, које је било присутно до краја операције (у интервалу од 30 до 45 респирација у минути). Дисање је било убрзано и три сата након операције (36 респирација у минути), а након овог периода враћало се у физиолошке границе. Нормализација артеријског крвног притиска је наступила један сат по операцији. По завршеној операцији пацијенти су имали смањену телесну температуру (око 36,8 C°), да би након петнаест минута почела да расте, а у тридесетом минуту по операцији била је повишена за један степен. Вредност телесне температуре се тек након три сата од операције вратила у физиолошке вредности. Коришћењем "*Total pain scor*" скале добили смо следеће резултате: постоперативно све кује су након једног сата биле будне, подизале главу и имале несигуран ход, а шест сати од операције сви пацијенти су били будни и имали сигуран ход. У првих сат времена постоперативно код свих куја био је присутан бол јаког интезитета, које је тек након шест сати постао благог интезитета.

2. Процена бола на основу промена параметара праћених интраоперативно код лапароскопске оваријектомије (ЛОВ)

Код ове групе куја интраоперативно фреквенца рада срца, дисања, вредности артеријског крвног притиска и телесне температуре се није мењала по фазама. Постоперативно све кује су након петнаест минута биле будне, а сат времена од лапароскопске оваријектомије су сигурно ходале. Код ових пацијената био је присутан бол благог интезитета у првих тридесет минута, а након једног сата од операције знаци бола нису били присутни.

ДИСКУСИЈА И ЗАКЉУЧАК

Животиње показују различита понашања у болним ситуацијама. Апетит, положај тела, кретање, реакција на додир су промењени ако је бол присутан што је уочено и у нашем раду, а поклапа се са подацима из литературе (8). За оцену интензитета бола у литератури се наводе различите скале, засноване на праћењу субјективних и објективних параметара (9,10). У нашем раду искоришћена је модификована «*Total pain score*". Занимљиво је истаћи да су једним делом ове скале адаптиране из педијатријске медицине, због познате тешкоће оцењивања бола код беба које још нису у стању да говоре, а осећају бол (11). Из литературе је до сада познато да за разлику од лапароскопске оваријектомије, код класичне оваријектомије су више угрожени геријатријски пацијенти и пацијенти са поремећеном коагулацијом, јер је код оваквог хируршког захвата већа хируршка траума и зарастање ране је спорије (3,12). Данас се све више власника паса одлучује за лапароскопску оваријектомију из разлога што оваква хируршка метода омогућава скоро безболно стање после операције, пацијенти се брзо опорављају и враћају нормалним активностима, што је забележено у до сада објављеним радовима и потврђено у нашем раду (13,14). На основу добијених резултата може се закључити да је код групе паса којима је рађена класична оваријектомија (КОВ) дошло до пада вредности артеријског крвног притиска, повећања фреквенце рада срца, затим хипервентилације током повлачења левог лигамента и током ушивања коже, пада телесне температуре мерене одмах по завршетку операције. Следећи резултат који смо добили указује на тежи опоравак и буђење након операције. Код групе паса којима је рађена лапароскопсака оваријектомија (ЛОВ) наведени параметри нису били измењени током операције, а постоперативно су имале бол мањег интезитета и опоравак је био бржи. Употреба анестетика код пацијената из групе ЛОВ је била много мања, у смислу да интраоперативно нисмо морали додавати кетамин, за разлику од групе КОВ којој је због бола апликован више пута. Такође, концентрација севофлурана код куја из групе ЛОВ је била мања, него код куја из групе КОВ, чиме су штетни ефекти овог анестетика сведени на минимум и омогућено је брже буђење из опште анестезије. Можемо на крају закључити да је лапароскопска оваријектомија за разлику од класичне оваријектомије мање инвазивна, да је интензитет бола који се наноси животињи много мањи него код класичне оваријектомије, и да се пацијенти брже и лакше опорављају после анестезије.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Howe LM., 2006, Surgical methods of contraception and sterilization, Theriogenology: 66(3):500-9. 2. Joshua JO., 1965, The spaying of bitches, Veterinary Record: 77, 642-7. 3. Davidson EB, Moll HD, Payton ME., 2004, Comparison of laparoscopic ovariohysterectomy and ovariohysterectomy in dogs, Vet.Surg: 33(1):62-9. 4. Devitt CM, Cox RE, Hailey JJ., 2005, Duration, complications, stress and pain of open ovariohysterectomy versus a simplemethod of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs, J Am Vet Med Assoc: 15;227(6):921-7. 5. Duerr FM, Twedt DC, Monnet E., 2008, Changes in pH of peritoneal fluid associated with carbon dioxide insufflation during laparoscopic surgery in dogs, Am J Vet Res: 69(2):298-301. 6. Bakhtiari J, Khalaj AR, Aminlou E, Niasari-Naslaji A., 2012, Comparative evalution of conventional and transvaginal laparoscopic ovaryohysterectomy in dogs, Vet Surg: 41(6):755-8. 7. Gower S, Mayhew P., 2008, Canine laparoscopic and laparoscopic-assisted ovariohysterectomy and ovarioectomy, Compend Contin Educ Vet: 30(8):430-2. 8.Hancock RB, Lanz OI, Waldron DR, Duncan RB, Broadstone RV, Hendrix PK., 2005, Comparison of postoperative pain after ovariohysterectomy by harmonic scalpel-assisted laparoscopic compared with median celiotomy and ligation indogs, Vet Surg: 34(3):273-82. 9. Lascelles BD, Cripps PJ, Jones A, Waterman AE., 1997, Post-operative central hypersensitivity and pain: the pre-emptive value of pethidine for ovariohysterectomy. Pain: 73(3):461-71. 10. Lascelles BD, Cripps PJ, Jones A, Waterman AE., 1998, Efficacy and kinetics of carprofen, administered preoperatively or postoperatively, for the prevention of pain in dogs undergoing ovariohysterectomy. Vet Surg; 27(6)568-82. 11. Lemke KA, Runyon CL, Horney BS., 2002, Effects of preoperative administration of ketoprofen on anesthetic requirements and signs of postoperative painin dogs undergoing elective ovariohysterectomy. J Am Vet Med Assoc: 221(9):1268-75. 12. Ko JC, Mandsager RE, Lange DN, Fox SM., 2000, Cardyorespiratory responses and plasma cortisol concentrations in dogs treated with medetomidine before undergoing ovariohysterectomy. J Am Vet Med Assoc; 217(4):509-14. 13. Reece JF, Nimesh MK, Wyllie RE, Jones AK, Dennison AW., 2012, Description and evalution of a right flank, mini-laparotomy approach ti canine ovariohysterectomy. Vet Rec; 171(10):248. 14. Leece EA, Brearley JC, Harding EF., 2005, Comparison of carprofen and meloxicam for 72 hours following ovariohysterectomy in dogs. Vet Anaesth Analg; 32(4):184-92.

ПОЛИЦИСТИЧНО ОБОЉЕЊЕ БУБРЕГА МАЧАКА - ЗАСТУПЉЕНОСТ У ПОПУЛАЦИЈИ ПЕРСИЈСКИХ МАЧАКА; ПОРЕЂЕЊЕ УЛТРАЗВУЧНЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ И ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ И ПОЈЕДИНИХ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА

Дајана Слијепчевић
Ментор: Милош Вучићевић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Полицистично обољење бубрега (*Polycystic Kidney Disease* - PKD) је наследно аутозомално обољење мачака, које се најчешће дијагностикује код персијских мачака. Цисте се применом ултразвука могу дијагностиковати најраније са 16 недеља. Данас је ултразвучна дијагностика замењена осетљивијим и специфичнијим молекуларно-генетичким тестовима. Циљ истраживања било је испитивање заступљености обољења у одабраној групи персијских мачака и упоредна анализа ултразвучне и молекуларно-генетичке дијагностике, као и преглед хематолошких и појединих биохемијских параметара (уреа, креатинин, фосфор), који могу бити показатељи функционалног стања бубрега. Испитивано је 27 мачака, расе персијска мачка, старости између 4 месеца и 8 година. Свим мачкама су испитани хематолошки и појединих биохемијски параметри и урађен је ултразвучни преглед бубрега. Од свих јединки је узет брис усне дупље ради молекуларно-генетичког испитивања присуства мутације на егзону 29 која условљава појаву болести. Проценат PKD позитивних мачака на молекуларно-генетичким тестовима је био 41,8%, док је ултразвучно било позитивно 18,5% мачака. Испитивани хематолошки и биохемијски параметри су код свих мачака били у физиолошким границама. Молекуларно-генетичке методе су најефикасније методе за поуздану и рану дијагностику полицистичног обољења бубрега код персијских мачака. Анализа ДНК се може примењивати у најранијем периоду живота - одмах након рођења и искључује потребу за применом других дијагностичких поступака. При томе, трајање и интензитет дискомфора за животињу при узорковању бриса за изолацију ДНК су мањи него при ултразвучној дијагностици и при узимању узорака за хематолошке и биохемијске анализе.

Кључне речи: PKD, персијске мачке, ултразвук, молекуларна дијагностика, хематолошки и биохемијски параметри

FELINE POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE – FREQUENCY IN POPULATION OF PERSIAN CATS; COMPARISON BETWEEN ULTRASOUND DIAGNOSIS AND GENETIC TESTING AND DETERMINATION OF HEMATOLOGICAL AND CERTAIN BIOCHEMICAL PARAMETERS

Dajana Slijepčević
Supervisor: Miloš Vučićević

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Polycystic kidney disease (PKD) is inherited autosomal disorder in cats, mostly diagnosed in Persian cats. Renal cysts can be diagnosed by ultrasound, but minimum is 16 weeks old. Today ultrasound is replaced by genetic testing which is more accurate and specific. Analysing the frequency of this disorder in randomly selected group of Persian cats, and comparison between ultrasound and genetic tests, and an overview of haematological and some biochemical parameters (urea, creatinine, phosphorus), which are indicators of renal function. We examined 27 cats, all Persian breed, aging between 4 months and 8 years. Complete blood count and some biochemical parameters were measured, and ultrasound of kidneys was performed. Also, swabs of oral cavity were taken for molecular genetic testing for the presence of mutations on exon 29, that causes the disease. Percentage of PKD positive cats was 41.8% in genetic tests, and 18.5% ultrasonographically. Every cat had all haematological and biochemical parameters within reference interval. Molecular genetic methods are the most effective ones for reliable and early diagnosis of polycystic kidney disease in Persian. DNA analysis can be used in early stages of life - right after birth, and excludes the need for other diagnostic procedures. Taking buccal swab for DNA isolation is less stressful for animal than ultrasound and taking samples for haematological and biochemical analysis.

Key words: PKD, Persian cats, ultrasound, molecular tests, haematological and biochemical parameter

УВОД

Први литературни подаци о полицистичном обољењу бубрега (*Polycystic Kidney Disease* - PKD) су се појавили 1969. године (1), а данас ово обољење представља једно од најчешћих узрока угинућа у популацији персијских мачака. PKD је најчешћа наследна болест која се јавља у популацији персијских мачака и мачака које су настале укрштањем са овом расом (2,3) са преваленцом на глобалном нивоу од око 37% Генетска мутација која доводи до овог обољења идентификована је на PKD1 гену који је смештен на шеснаестом пару аутозома. Мутација је типа трансверзије, тј. замене цитозина у аденин (C→A) услед које настаје стоп кодон на позицији 3284 у егзону 29 и доводи до губитка 25% C терминуса протеина (4). Ова *nonsense, point* мутација је аутозомално доминантна и у хомозиготном стању доводи до ембрионалног (5) или неонаталног (1) угинућа, те се обољење клинички манифестује само код хетерозиготних јединки. Обољење се карактерише стварањем цисти различитих величина у кортексу и медули бубрега и величина цисти може да варира у опсегу испод једног милиметра, па до преко једног центиметра, док њихов број може бити од једне до 200 цисти. Оболеле мачке не показују клиничке симптоме обољења већи део свога живота, најчешће до

седме године (6,7). Чак и уколико животиња не показује клиничке знаке обољења, контролом хематолошких и одређених биохемијских параметара који су индикатори функционалног стања бубрега (уреа, креатинин, фосфор), могу се контролисати здравствено стање и напредовање болести. Када се испоље клинички знаци, у виду анорексије, повраћања и полиурије, тада је већ више од 70% паренхима бубрега ван функције. Из овог разлога јако је битно радити правовремену и адекватну дијагностику код предиспонираних раса (4). Једино се тако благовремено могу идентификовати оболеле животиње и на тај начин спречити да остављају потомство и даље преносе обољење (8). Иако дисфункција бубрега није клинички уочљива, цисте су присутне од рођења, али су код млађих јединки врло малих димензија (10).

Ултрасонографија је практична и неинвазивна метода за детекцију циста на бубрезима код одраслих мачака (9). Сматра се да се цисте најраније могу дијагностиковати применом ултразвука са 7 недеља старости (10). Осетљивост ове методе код мачака старијих од 16 недеља је 75%, а код старијих од 36 недеља 91% (9). Цисте већих димензија могу у потпуности деформисати ткиво бубрега. Препоручује се да мачке буду старе најмање 10 месеци да би се ултразвучном методом тврдило да су негативне на PKD (1).

Анализом ДНК може се идентификовати да ли PKD постоји код мачке на основу специфичног региона ДНК у коме се налази *point* мутација која је узрок обољења. Коришћењем специфичних прајмера се умножава регион величине 559 базних парова (бп) путем реакције ланчане полимеризације (*Polymerase Chain Reaction* - PCR). Добијени продукт умножавања (PCR ампликон) се третира рестрикционим ензимом *Sch*I (*Mly*I) да би се утврдило присуство мутације. Уколико је мутација присутна, након дигестије рестрикционим ензимом, као производ ће се добити два фрагмента величине 316 и 243 бп. Ако мутација није присутна, након RFLP анализе (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) као продукт се добија фрагмент величине 559 бп (6).

Циљ овог рада био је да се код случајно одабране групе персијских мачака утврди заступљеност PKD применом ултразвучне и ДНК анализе и да се упореди осетљивост примењених метода. Такође, циљ је био испитати да ли су хематолошки и одабрани биохемијски параметри (уреа, креатинин, фосфор), који одражавају функционално стање бубрега, у физиолошким границама.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Узорковање материјала за преглед - Анализирано је 27 мачака персијске расе којима су испитани хематолошки и поједини биохемијски параметри (уреа, креатинин и фосфор), урађен ултразвучни преглед бубрега и анализом ДНК испитано присуство мутације на егзону 29. Ту групу је чинило 17 женки и 10 мужјака, старости између 4 месеца и 8 година. Крв је узета пункцијом *v. cephalica antebrachii* у вакутајнере са антикоагулансом (EDTA) за комплетну крвну слику, а за биохемијске параметре у епрувете без антикоагуланса. Код свих 27 мачака ДНК је изолована из бриса усне дупље. Узорак је узет уз помоћ стерилног бриса.

Хематолошке и биохемијске анализе - Хематолошке анализе су рађене на апарату IDEXX ProCyte Dx (IDEXX Laboratories, USA). Од биохемијских параметара одређиване су вредности урее, креатинина и фосфора у крви на апарату IDEXX VetTest 8008 (IDEXX Laboratories, USA).

Ултразвучни преглед - Животиње су прегледане у лежећем дорзалном положају. Оба бубрега су прегледана ултразвучно коришћењем Aloka ProSound 5000 SSD (Hitachi Aloka Medical, Japan) ултразвучног апарата са линеарном сондом од 10 MHz и конвексном сондом од 7 MHz.

Молекуларно генетичка анализа – изолација ДНК, PCR-RFLP - ДНК из бриса усне дупље изолована је помоћу комерцијалног сета „KAPA Express Extract Kit”

(Kapa Biosystems, Woburn, MA) по упутствима произвођача. PCR реакциона смеша је припремљена коришћењем комерцијалног сета KAPA2G Robust HotStart ReadyMix према упутствима произвођача. 25 μL PCR реакциона смеша је садржала 12,5 μL KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (2X), 1,25 μL сваког прајмера PKD1 F (3' CAG GTA GAC GGG ATA GAC GA 5') и PKD2 R (3' TTC TTC CGT GTC AAC GAC TG 5') (5) и 10 μL изоловане ДНК. PCR реакција се одвијала у PCR апарату MultiGene Gradient (Labnet International Inc.). Почетна денатурација се одвијала на 94ºC током 3 минута, затим је у 35 циклуса поновљена денатурација 30 секунди на 94°C, хибридизација 30 секунди на 55°C и екстензија на 72°C током 1 минута. Финална ДНК екстензија се одвијала на 72°C током 1 минута. Продукти PCR амплификације су раздвојени електрофорезом на 2% агарозном гелу. Добијени ампликони су третирани рестрикционим ензимом *Sch*I (*Mly*I) (Thermo Fisher Scientific Inc, USA). Продукти дигестије су били анализирани на 2% агарозном гелу.

РЕЗУЛТАТИ

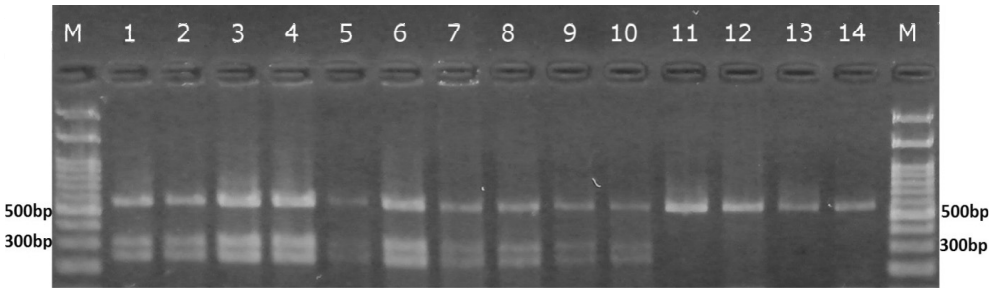
Хематолошке и биохемијске анализе - Хематолошки параметри су код свих испитиваних мачака били у физиолошким границама. Вредности биохемијских параметара (урее, креатинина и фосфора) су код свих испитиваних мачака били у физиолошким границама (Табела 1). Средња вредност урее код PKD позитивних мачака била је 7,5 mmol/l, креатинина 103 μmol/l и фосфора 2,05 mmol/l.

Табела I. Табеларни приказ биохемијских параметара PKD позитивних мачака

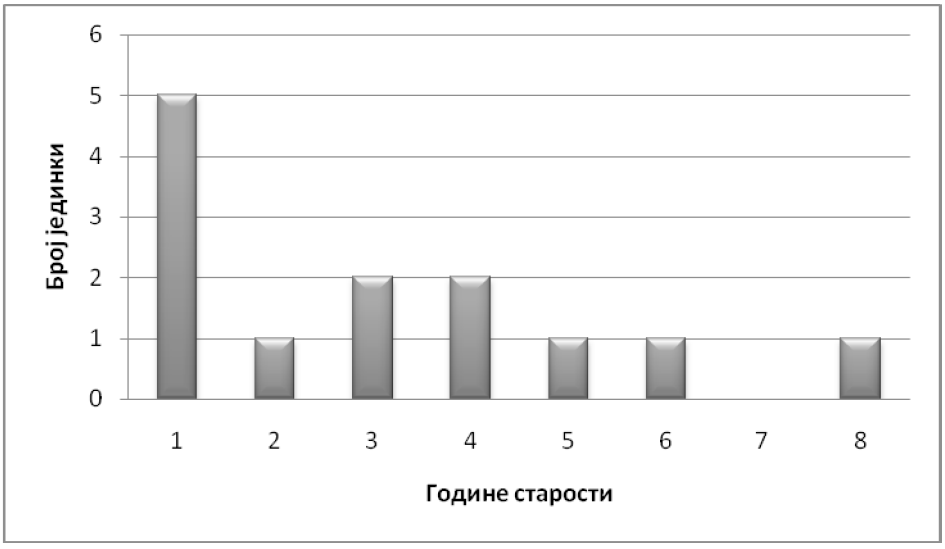
Старост јединке	Уреа	Референтна вредност	Креатинин	Референтна вредност	Фосфор	Референтна вредност
	(mmol/l)		μmol/l		mmol/l	
4 године	7.2	5.7-12.9	122	71-212	1.44	1-2.42
5,5 година	7.3	5.7-12.9	110	71-212	1.24	1-2.42
4 године	9.9	5.7-12.9	145	71-212	1.84	1-2.42
3,5 година	7.4	5.7-12.9	119	71-212	1.52	1-2.42
8година	7.5	5.7-12.9	95	71-212	1.27	1-2.42
1,5 година	7.0	5.7-12.9	112	71-212	1.90	1-2.42
5 месеци	6.7	5.7-11.8	62	53-141	3.30	1.45-3.35
9 месеци	5.3	5.7-12.9	84	71-212	1.99	1-2.42
3,5 година	7.4	5.7-12.9	138	71-212	1.22	1-2.42
4 месеца	7.5	5.7-11.8	74	53-141	3.16	1.45-3.35
4 месеца	9.3	5.7-11.8	72	53-141	3.35	1.45-3.35

Ултразвучни преглед - Цисте су ултразвучно визуелизоване као анехогена или хипоехогена поља сферичног облика. Од укупно 27 мачака, код 5 мачака (четири женке и једног мужјака), односно 18,5%, ултразвучно су дијагностиковане једна или више цисти на бубрезима. Само једна јединка је имала цисту на једном бубрегу, док је код преостале четири позитивне јединке било присутно више од једне цисте и то на оба бубрега. Највећи број цисти био је лоциран у кортексу и на граници кортекса и медуле. Најмлађа мачка код које су ултразвучно дијагностиковане цисте била је старости 3,5 године.

PCR - RFLP - Након PCR-RFLP методе код јединки код којих није присутна мутација одговорна за настанак PKD на гелу ће се визуелизовати само трака величине 559 бп, док ће се код јединки код којих постоји мутација, поред те траке визуелизовати и продукти дигестије величине 316 и 243 бп (Слика 1). Молекуларно генетичка испитивања су показала укупно 13 (48,1%) позитивних јединки (девет женки и четири мужјака). Свих пет мачака код којих су ултразвучно дијагностиковане цисте биле су ПКД позитивне на мутацију која је узрок обољења. Ове животиње су старости између



Слика 1. Приказ добијених резултата наагарозном гелу обојеном у етидијум бромиду након дигестијеамплификованог егзона 29 применом ензима*Sch*I (*Mly*I).
M - Ladder (100bp DNA ladderNippon Genetics, Germany), 1- Позитивна контрола, 2-10 - PKD позитивне јединке, 11-14 - PKD негативне јединке



Слика 2. Старост мачака позитивних на PKD молекуларно-генетичком анализом

ДИСКУСИЈА

PKD мачака је једно од најчешћих обољења које код персијске расе доводи до угинућа (2). PKD представља аутозомално доминантно наследно обољење које се са сличним манифестацијама јавља код људи и манифестује се стварањем цисти у кори или сржи бубрега, јетре или панкреаса (7). Мутација је врло честа код персијских мачака и сродних раса и досеже учесталост од чак 40%. Терапија овог обољења не постоји, те је превенирање кључно у борби против ове болести. Превенција се састоји у искључивању PKD позитивних мачака из репродукције, а да би се то могло учинити неопходно је радити поуздану и рану дијагностику (8). Цисте су присутне од самог рођења, међутим, клинички симптоми се испољавају углавном тек код старијих животиња, јер својим растом врше притисак на паренхим бубрега и доводе до реналне инсуфицијенције (6). Време појављивања клиничких симптома варира од мачке до мачке и углавном је у периоду од 3 до 10 година (1).

У нашем раду у групи од 27 персијских мачака код њих 5 су ултразвучним прегледом уочене цисте (18,5%). Анализом ДНК, применом методе PCR-RFLP, код 13 мачака (48,1%) потврђено је присуство мутације која је узрок обољења PKD. Ова преваленца учесталости је већа у односу на резултате добијене у САД где је свега 20% PKD позитивних мачака (2), затим резултате добијене у Словенији где је преваленца износила 36% (6) и Италији 41,1% (9), као и преваленцом која се сматра важећом на глобалном нивоу, односно 37% (10). Међутим, добијени резултати су у корелацији са резултатима добијеним у Великој Британији, 49,2% (11), као и са резултатима у Аустралији где је преваленца 45% (1). Пошто се ово обољење може јавити и код мачака других раса, које су сродне персијским мачкама, данас се сматра да приближно 6% мачака у САД има PKD, што ово обољење чини најчешћим наследним обољењем код мачака (2).

Хематолошки параметри и праћени биохемијски параметри (уреа, креатинин и фосфор) су били унутар референтних вредности код свих PKD позитивних мачака у овом раду. Сматра се да је основни разлог томе што обољење доводи до здравствених проблема код старијих јединки (1), а већина испитиваних животиња је била млађа од 5 година. У раду Domanjko-Petric и сар. (2008) код 10 оболелих мачака установљене су повишене вредности нивоа креатинина, али њихова просечна старост је била 12 година. Из наведених чињеница можемо закључити да хематолошки и биохемијски параметри могу бити унутар физиолошких граница, иако животиња поседује мутацију која условљава развој цисти. Из тог разлога оне не представљају добар ослонац у дијагностици овога обољења.

Код свих животиња код којих је ултразвучним прегледом утврђено постојање циста, ДНК анализом утврђено је присуство мутације која је узрок PKD. Међутим, код 8 мачака (од којих је најмлађа била старости четири месеца, а најстарија 1,5 год.) потврђено је присуство мутације молекуларно генетичким методама док ултразвучним прегледом није уочено присуство цисти. Разлог томе је што цисте могу бити јако мале и на тај начин је онемогућена њихова визуелизација ултразвучном методом. Из тог разлога, за откривање јединки које су позитивне на PKD једино је сврсисходно користити молекуларно генетичка испитивања уколико су мачке млађе од 3 месеца (6), док поједини аутори наводе да се до старости од 10 месеци могу искључиво користити анализе ДНК (1). Ова чињеница нам потврђује да се молекуларно генетичким методама детекција мутације може обавити у најранијој младости – одмах након рођења. Насупрот томе, код ултразвучне дијагностике сумњиве јединке би требало да поново долазе на преглед ради континуиране контроле на присуство и прогресију цисти. Такође, узимање узорка (бриса) за ДНК анализу, животиње се излажу много мањем дискомфору него при припреми и спровођењу ултразвучне дијагностике.

Молекуларно генетичке методе су најефикасније и најпоузданије за правовремено дијагностиковање PKD мачака и могу се користити у првим данима живота. При томе, трајање и интензитет дискомфора при узорковању бриса за изолацију ДНК су мањи него при ултразвучној дијгностици и при узимању узорака за хематолошке и биохемијске анализе. Код свих персијских мачака (и сродних раса) неопходно је обавити анализе ДНК у циљу испитивања присуства мутације која условљава PKD пре него се власници и одгајивачи одлуче за њихово парење. С обзиром да одгајивачи углавном доносе одлуке о парењу пре обављене дијагностике, потребно је вршити континуирану едукацију власника и одгајивача, како би се омогућило спречавање ширења болести, као и дужи и квалитетнији живот оболелих мачака.

Захвалница

Истраживање је финансирано средствима Пројекта из програма Интегралних и интердисциплинарних истраживања Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије "Молекуларно-генетичка и екофизиолошка истраживања у заштити аутохтоних анималних генетичких ресурса, очувања добробити, здравља и репродукције гајених животиња и производњи безбедне хране", Ев. бр. III46002.

Хематолошке и биохемијске анализе су финансиране од стране Superlab, Београд.

Узорак ткива у парафину пореклом од мачке оболеле од PKD коришћен као позитивна контрола добијен је љубазношћу колега са Катедре за патолошку морфологију Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Barrs VR, Gunew M, Beatty JA, Malik R, 2001, Prevalence of autosomal dominant polycystic kidney disease in Persian cats and related-breeds in Sidney and Brisbain, Australian Veterinary Journal, 79, 257-9; 2. Lyons A. L, Biller D, Carolyn A. Erdman, Monika J. Lipinski, Amy E. Young, Roe B, Qin B, Grahn R, 2004, Feline Polycystic Kidney Disease Mutation Identified in PKD1, Journal of the American Society of Nephrology, 15, 2548-55; 3. Helps CR, Tasker S, Barr FJ, Wills SJ, Gruffydd-Jones TJ, 2006, Detection of the single nucleotide polymorphism cause feline autosomal dominant polycistyc kidney disease in Persian from the UK using novelreal-time PCR assay, Molecular and Cellular Probes, 21, 31-4; 4. Lyons AL, 2010, Feline Genetics: Clinical Applications and Genetic Testing, Topics in Companion Animal Medicine, 25, 203-12; 5. Lee Ya-Jane, Hsin-Yu Chen, Min-Liang Wong, Wei-Li Hsu,2010, Molecular Detection of Autosomal-Dominant Feline Polycystic Kidney Disease by Multiplex Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 22, 424-8; 6. Domanjko-Petrič A, Černec D, Cotman M, 2008, Polycystic kidney disease: a review and occurrence in slovenia with comparison between ultrasound and genetic testing, Journal of Feline Medicine and Surgery 10, 115-8; 7. Son A, Dhirapong A, Dosev DK, Kennedy IM, Weis RH, Hristova KR, 2008, Rapid and quantative DNA analysis of genetic mutations for polycystic kidney disease (PKD) using magnetic/luminescent nanoparticules, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 390, 1829-35; 8. Criado-Fornelio A, Bulinga A, Barba-Carretero JC, 2008, Identification of feline polycystic kidney disease mutation using fret probes and melting curve analysis, Research in Veterinary Science, 86, 88-90; 9. Bonazzi M, Antonella Volta, Gnudi G, Maria C. Cozzi, Maria G. Strillacci, Michele Polli, Maria Longeri, Sabrina ManfredI, Bertoni G, 2009, Comparison between ultrasound and genetic testing for the early diagnosis of polycystic kidney disease in Persian and Exotic Shorthair cats, Journal of Feline Medicine and Surgery, 11, 430-4; 10 Biller D, DiBartola S, Eaton KA, Pflueger S, Wellman ML, Radin MJ, 1996, Inheritance of Polycystic Kidney Disease in Persian Cats, Journal of Heredity, 87, 1-5; 11. Cannon MJ, Mackay AD, Barr FJ, Rudorf H, Bradley KJ, 2001, Prevalence of polycystic kidney disease in Persian cats in the United Kingdom. Veterinary Record, 149, 409-11.

ЕПИЗООТИОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЕНДОПАРАЗИТОЗА ДИВЉИХ КАНИДА У ПОЈЕДИНИМ РЕГИОНИМА СРБИЈЕ

Тамара Илић[1], Жолт Бечкеи[1], Тамаш Петровић[2], Никола Васковић[3], Павле Гавриловић[4], Санда Димитријевић[1]

[1]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду; [2]Научни институт за ветеринарство "Нови Сад"; [3]ВСИ "Краљево"; [4]ВСИ "Панчево"

Кратак садржај

Дивље каниде имају велики епизоотиолошко-епидемиолошки значај, с обзиром да код њих паразитирају узрочници извесних векторских болести. Повећање учесталости интеракције између домаћих и дивљих канида, повећава ризик за појаву, ширење и одржавање инфекција паразитске етиологије у популацији домаћих канида.

Пошто су резултати досадашњих истраживања паразитских инфекција лисица и шакала на подручју Србије оскудни, спроведена су систематична истраживања са циљем да се идентификују резервоари појединих паразитских инфекција код ове врсте дивљачи и утврде пријемчиви домаћини. Испитивање је спроведено на 172 лисице и 60 шакала, одстрељених у периоду од 2010. до 2013. године, на 7 епизоотиолошких подручја Србије (Западно-бачки, Јужно-банатски, Моравички, Златиборски, Рашки, Расински и Зајечарски округ).

На паразитолошкој секцији и квалитативним методама копролошке претраге са концентрацијом паразитских елемената, код лисица су дијагностиковани следећи ендопаразити: врсте из рода *Isospora* (19,18%), *Alaria alata* (49,41%), *Pseudamphistomum truncatum* (1,16%), *Schistosoma mansoni* (0,58%), *Taenia* spp. (4,65%), *Toxocara canis* (49,41%), *Ancylostomatidae* (40,69%), *Trichuris vulpis* (55,23%) и *Capillaria aerophila* (12,79%). Најзаступљенији ендопаразити шакала су били: *Isospora* spp. (6,66%), *Alaria alata* (30%), *Pseudamphistomum truncatum* (3,33%), *Metagonimus yokogawai* (1,66%), *Toxocara canis* (23,33%), *Ancylostomatidae* (33,33%) и *Trichuris vulpis* (11,66%).

Добијени резултати представљају смерницу за осмишљавање и примену адекватних мера заштите домаћих канида. Познавање етиологије и епизоотиологије паразитских инфекција дивљих канида у Србији је од посебног значаја због биолошког и еколошког ризика који се може очекивати, а условљен је зоонозним инфекцијама ове врсте дивљачи у земљама из окружења.

Кључне речи: епизоотиологија, лисице, шакали, ендопаразити, Србија

EPIDEMIOLOGYCAL CHARACTERISTICS OF ENDOPARASITES IN WILD CANIDS IN REGIONS OF SERBIA

Tamara Ilić[1], Zsolt Becskei[1], Tamaš Petrović[2], Nikola Vasković[3], Pavle Gavrilović[4], Sanda Dimitrijević[1]

[1]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade; [2]Scientific veterinary institute "Novi Sad"; [3]Veterinary specialist institute „Kraljevo"; [4]Veterinary specialist institute „Pančevo"

Abstract

Wild canines have a great epizootic and epidemiological significance, given that they are hosts for parasites which are vectors for diseases. The increasing interaction between domestic and wild canids, increases the risk of occurrence, expansion and persistance of parasitic infection in the population of domestic canids. Since the results of previous studies of parasitic infections of foxes and jackals in Serbia are scarce, we carried out systematic research in order to identify reservoirs of certain parasitic infections in jackals and foxes and determine the susceptible hosts. The research was carried out on 172 foxes and 60 jackals, shot in the period between 2010 and 2013, on 7 epizootical regions of Serbia (West-Backa, South-Banat, Moravicki, Zlatiborski, Raski, Rasinski and Zajecar district). In the foxes, with parasitological dissection and methods of coprological study with the concentration of parasitical elements, the following endoparasites were detected: *Isospora* (19,18%), *Alaria alata* (49,41%), *Pseudamphistomum truncatum* (1,16%), *Schistosoma mansoni* (0,58%), *Taenia* spp. (4,65%), *Toxocara canis* (49,41%), *Ancylostomatidae* (40,69%), *Trichuris vulpis* (55,23%) and *Capillaria aerophila* (12,79%). The most frequent parasites of the jackal were: *Isospora* spp. (6,66%), *Alaria alata* (30,00%), *Pseudamphistomum truncatum* (3,33%), *Metagonimus yokogawai* (1,66%), *Toxocara canis* (23,33%), *Ancylostomatidae* (33,33%) i *Trichuris vulpis* (11,66%). The results represent a guideline for the design and implementation of appropriate measures to protect domestic canids. Knowledge of the etiology and epidemiology of parasitic infections of wild canids in Serbia is of special importance because of the biological and ecological risks that can be expected, which are caused by zoonotic infections of this kind of wild animals in the neighboring countries.

Key words: epidemiology, foxes, jackals, endoparasites, Serbia

МОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ДИСТРИБУЦИЈА МАЛИГНИХ МЕЛАНОМА КОД ПАСА У БИОПСИЈСКОМ МАТЕРИЈАЛУ

Божидар Аћимовић
Ментор: Дарко Маринковић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Малигни меланом је малигни тумор пигментних ћелија - меланоцита или меланобласта, неуроектодермалног порекла. Извршена је анализа у којој су обухваћени малигни меланоми у периоду од 2004. до 2013. године. Циљ овог рада је одређивање заступљености, топографске локализације и расне, полне и старосне дистрибуције малигних меланома паса, добијених биопсијом, дијагностикованих на Катедри за патологију, Факултета ветеринарске медицине, Универзитета у Београду; типа меланобласта и меланоцита, као и заступљености меланина у њима. У овом ретроспективном истраживању коришћени су архивски узорци ткива пореклом од 51 пса различите расе, пола и старости, укалупљени у парафинске калупе. Са укупно регистрованим 51 малигним меланомом у том периоду, они су чинили 1,74% свих тумора. Кожни облик чинио је 56,86% (29) од укупног броја дијагностикованих малигним меланома. Од овог броја 17 (58,62%) се налазило на телу, 7 (24,14%) је било локализовано на глави, док за 5 промена не постоје подаци о локализацији. У усној дупљи било је локализовано 21 (41,18%) од укупног броја тумора 51 (100%). Просечна старост паса код којих су тумори овог типа установљени износила је 9,54 година, док је највише (7 паса), било са 10,5 година. Од укупно 51 случаја, 19 (37,25%) су били мужјаци, 10 (19,61%) су биле женке, док код 22 (43,14%) случајева није утврђен пол јединке. Малигни меланоми су најчешће дијагностиковани на кожи код мешанаца и паса расе шар пеј, затим код немачких овчара, чау чауа, лабрадор ретривера и ротвајлера. У свим испитаним туморима уочена су оба типа ћелија, епителоидан и вретенаст са различито израженом доминацијом.

Кључне речи: пас, кожа, меланом, хистопатологија

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND DISTRIBUTION MALIGNANT MELANOMAS IN DOGS IN BIOPSY MATERIAL

Božidar Aćimović
Supervisor: Darko Marinković

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Malignant melanoma is a malignant tumor of the pigment cells - melanocytes or melanoblasts, which is of neuroectodermal origin. The analysis where the malignant melanoma were included in the period from the 2004th the 2013th year. The aim of this study is to determine occurence, topographic localisation as well as breed, sex and age distribution of malignant melanoma in dogs, obtained from biopsy, diagnosed at the Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade; types of melanoblasts and melanocytes and the presence of melanin in them. In this retrospective study, we used archival tissue samples originating from 51 dogs of different breed, sex and age, embedded in paraffin blocks. With a total of 51 malignant melanoma registered during this period, they represented 1,74% of all tumors. Cutaneous form accounted for 56,86% (29) of the total number of diagnosed malignant melanoma. Seventeen (58,62%) diagnosed malignant melanomas were located on the body, 7 (24,14%) on the head, and for the 5 there were no data for the localization. In the oral cavity, there is a localized 21 (41,18%) of the total number of tumor 51 (100%). The average age of dogs with diagnosed malignant melanoma was 9,54 years and the maximum (7 dogs) was 10,5 years. Of the total 51 cases, 19 (37,25%) were males, 10 (19,61%) were females, while in 22 (43,14%) cases there were no data regarging sex of an animal. Malignant melanomas were usually diagnosed in mongrel dogs and breed Shar Pei, then in German Shepherd, Chow Chow, Labrador retrievers and rottweilers. In all the studied tumors were observed both types of cells, spindle and epithelioid with different expressed domination.

Key words: dog, skin, melanoma, histopathology

ПРВИ НАЛАЗ *LINGUATULA SERRATA* КОД ПАСА У ВОЈВОДИНИ

Ференц Чордаш[1], Иван Павловић[2], Тамаш Чордаш[3], Bela Lengyel[4]

[1]Ветеринарска амбуланта "ФериТом", Зрењанин; [2]Научни институт за ветеринарство Србије, Београд; [3]Факултет ветеринарске медицине у Београду-студент; [4]Ветеринарска болница "Miskolci Állatkórház Kft.", Мађарска

Кратак садржај

Linguatula serrata је космополитски зоонотски паразит који живи у назалним дисајним путевима и фронталном синусу паса, вукова, лисица, мачака и других сисара месождера. На подручју Балкана *Linguatula serrata* је спорадично налажена на подручју јужне Србије и Македоније, тако да је налаз који смо ми описали први валидан податак о налазу овог паразита на северу Балкана.

Кључне речи: *Linguatula serrata*, пси, Војводина

THE FIRST FINDING OF LINGUATULA SERRATA IN DOGS IN VOJVODINA

Ferenc Čordaš[1], Ivan Pavlović[2], Tamaš Čordaš[3], Bela Lengyel[4]

[1]Veterinary ambulance "FeriTom", Zrenjanin; [2]Institute of veterinary medicine of Serbia, Belgrade; [3]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade - student; [4]Veterinary hospital "Miskolci Állatkórház Kft.", Hungary

Abstract

Linguatula serrata is a cosmopolitan zoonotic parasite that lives in the nasal airways and frontal sinus of dogs, wolves, foxes, cats and other mammalian carnivores. In the Balkans *Linguatula serrata* is sporadically found on this territory in southern Serbia and Macedonia to the findings that we have described the first valid data on the findings of this parasite in the north of the Balkans.

Key words: *Linguatula serrata,* dogs, Vojvodina

УВОД

Linguatula serrata је космополитски зоонотски паразит који живи у назалним дисајним путевима и фронталном синусу паса, вукова, лисица, мачака и других сисара месождера (1,2,3). Најчешће се јављаја на блиском истоку и у тропским и субтропским регијама, а може се наћи у земљама Азије, блиског истока, јужне Европе, северне Африке и Америке (4,5,6). Иако је *Linguatula serrata* први пут описао аустријски истраживач *Isak Ignac Frölich* 1789. године, филогенетско место ове пентастомида није до краја решено, а на основу молекуларних истраживања она је данас сврстана у групу *Maxillopda*, подгрупу *Porocephalida,* у којој се осим *L. serrata* налази и друга зоонотска пентастомида *Armillifer armillatus* (7,8,9).

На подручју Балкана *Linguatula serrata* је спорадично налажена али сви подаци који су приступачни о њој старији су више од 70 година (10,11,12,13,14) и сви они су били везани за налазе на подручју јужне Србије и Македоније, тако да је налаз који смо ми описали први валидан податак о налазу овог паразита на северу Балкана.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У ординацију је доведено штене немачког овчара старо 5 месеци, које је по анамнестичким подацима лечено око 2 месеца од учесталих дијареја, слабог узимања хране, кашља, и опште лошег стања, које је се са периодичним побољшавањем расположења, као и престанком дијареје, поново понављало. Уз то, код пса се периодично јављао ринитис и слузави жућкасти носни исцедак, кијање и повремени кашаљ слабијег интензитета. Како се стање није стабилизовало, штене је доведено у ординацију где је прво урађен клинички преглед.

Пошто је власник донео измет пса, као и неколико паразита, узорци измета и паразита упућени су у Научни институт за Ветеринарство Србије Београд. Како штене потиче из одгајивачнице где се налазе родитељи штенета, урађен је визуелн преглед оба родитеља, при чему је утврђено да су оба пса неухрањена, кахектична и деловали су болесно. Од обе животиње узет је фецес и упућен у НИВС Београд на преглед.

Сви узорци фецеса прегледани су седиментационом и флотационом методом (15,16). У измету штенета и оба родитеља су установљена јаја паразита која су била овоидног облика, браонжуте боје и величине 70-90 μm и која су у потпуности морфолошки одговарала пентастомидама *Linguatula serrata*. Детерминација адултних паразита је извршена на основу морфолошких карактеристика и на основу њих је потврђено да се о овој врсти паразита (17).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Током прегледа су нађена укупно три адултна паразита, која су припадала врсти *Linguatula serrata.* Просечна величина паразита је износила 6.45 cm - појединачно, величина је износила 4.2 cm, 7.4 cm и 7.7 cm. Паразити су били безбојни и провидни. У литератури се наводи да дужина *Linguatula serrata* може бити од неколико миллиметара до 15 cm (9). Одрастао мужјак паразита може бити од 1,8 до 2 cm, док одрасла женка је од 8 до 13 cm што се уклапа у наше налазе.

Као одрасла јединка *Linguatula serrata* живи у назалним дисајним путевима и фронталном синусу паса, вукова, лисица, мачака и других сисара месождера. То се потврдило и нашим налазима. Обољење је чешће код паса у топлијим крајевима, што најбоље илуструју налази Rahman и Solimana (18) који су у Бангладешу установили лингулозу код 43% паса, Akyol и cap (19), Aydenizoz и Guclua (4) и Meshgi и Asgariana (5) који су у Турској утврдили преваленцу од 53.7 - 67.4%, или Khalil-a (20) који је лингулозу утврдио код 8% паса у Каиру.

Инфекција прелазних домаћина настаје јајашцима паразита која се избацују у спољну средину када носилац паразита кашље или кија и из плућа путем спутума. Ако бивају прогутана од стране крајњег домаћина, јајашца пролазе кроз фецес и ослобађају се у спољашњој средини. У нашем случају она су нађена у фецесу сва три оболела пса.

Прелазни домаћин уноси јајашца путем воде или влажне вегетације из спољашње средине (19,21). Јајашца лако преживљавају у влажној средини, као што су баре и влажна вегетација. Ларвени облик је ендопаразит код хербивора и домаћих животиња, као што су овце, козе, камиле, говеда, зечеви, глодари и свиње (13,21). Након ингестије од стране биљоједног прелазног домаћина, јајашца се излегу у први стадијум ларве, који подсећа на ваш. Ларве користе своје ноголике изданке за кретање кроз прелазног домаћина. Први стадијум ларве *L. serrata* пробија зид црева, и изазива имуногени одговор домаћина (2). Ова фаза инфекције је асимптоматична. Након серије

пресвлачења унутар капсуле, трећи стадијум ларве губи ноголике изданке и може да путује између абдоминалног простора и абдоминалног зида. Док су ларве инкапсулиране, многи од њих умиру и калцифицирају се након две године, али ако се крајњи домаћин храни са прелазним домаћином док су ларве у трећем стадијуму, месојед се зарази паразитом (8). Ларве се хране унутар капсуле прелазног домаћина у различитим ткивима. На блиском истоку *L. serrata* прави велике економске штете, где у једној регији може бити инфицирано и 50% хербивора и других прелазних домаћина (6,21,23,24).

Ларве се развију у одрасли облик у назалном простору код месоједних сисара, и ту се размножавају (2). Одрасли облици се хране у респираторном тракту крајњег домаћина. Користећи кукице, они се причвршћавају, и хране се крвљу, лимфом и слузом епителијалних ћелија, пре него што се избацују из крајњег домаћина. Мало је података о животном веку одраслих јединки, али друге врсте пентастомида живе око 10 година (25).

Људи могу бити случајни, коначни и прелазни домаћини *Linguatule serrate*. Конзумирањем живих и полупрерађених прелазних домаћина омогућавају ширење и преношење заразе. Најчешће је присутан назофарингеалан облик инфекције, која се назива и Халзоунов синдром (26,27). Могуће су изузетно ретко и интраокуларне инфекције - до сада су забележена само 5 случаја и то 2 на северу САД, и по један у Португалији, Израелу и Екватору (28,29,30,31,32).

Постоји антибиотска терапија за секундарне инфекције насатале од стране паразита. Међутим, хируршка интервенција је обично једини начин да се одстрани паразит. У терапији паса може се применити ивермектин.

ЗАКЉУЧАК

Налаз *L. serrata* указује да на подручју Војводине постоје услови за циркулацију и биолошки циклус овог паразита. Промена климатских услова и присуство малих преживара и глодара, прелазних домаћина ове пентастомиде, отвара могућност њеног перзистирања у природним стаништима а налаз адулта код паса, иницира потребу за даљим епидемиолошким испитивањима присуства *L. serrata,* како код паса, тако и код дивљих канида и прелазних домаћина ових паразита на подручју Војводине.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Blagburn, BL, Hendrix CM., Current WL, 1983, Canine linguatulosis. Canine Practi., 10, 54-5. 2. Drabick J, 1987, Pentastomiasis. Revi. Inf. Dis., 9, 1087-95. 3. Bredal WP, 1998, The prevalence of nasal mite (Pneumonyssoides caninum) infection in Norwegian dogs. Vet. Parasitol. 76, 233-7. 4. Aydenizoz M., Guclu F, 1997, The prevalence of Linguatula serrata (Frohlich, 1789) in Konya province.Turkiye Parazitologi Dergisi 21, 75-8. 5. Meshgi B., Asgarian O, 2003, Prevalence of Linguatula serrata Infestation in Stray Dogs of Shahrekord, Iran J. Vet. Med. B, 50, 466-7. 6. Shekarforoush SS., Razavi SM., Izadi M, 2004, Prevalence of Linguatula serrata nymphs in sheep in Shiraz, Iran. Small Rumin, Res. 52:99-101. 7. Lavrov DV, Brown WM, Boore JL, 2004, Phylogenetic position of the Pentastomida and (pan) crustacean relationships. Proc Biol Sci. ;271:537-44. 8. Møller OS, Olesen J, Avenant-Oldewage A, Thomsen PF, Glenner H, 2008, First maxillae suction discs in branchiura (Crustacea): development and evolution in light of the first molecular phylogeny of branchiura, pentastomida, and other “maxillopoda”. Arthropod Struct Dev. 37:333-46. 9. Almeida WO, Christoffersen ML, Amorim DS, Eloy ECC, 2008, Morphological support for the phylogenetic positioning of Pentastomida and related fossils. Revis.Biot. 2, 181-90. 10. Ježić J, Simić Č, 1929, Prilog poznavanju parazitarne invazije pasa u varoši Skoplju, Jug. vet. glasnik IX, 12 383-4. 11. Nevenić V, 1940, Endoparaziti pasa na teritoriji Srbije i Južne Srbije, Glasnik higijenskog zavoda XXIII, 2, 233-44. 12. Nevenić V., 1953, Helminti pasa na teritoiriji pojedinih mesta Narodnih Republika Makedonije, Srbije i Crne Gore, Vet.

glasnik VII, 235-41. 13. Nevenić V., Lozanić B, 1957, Linguatuloza pluća zeca, Godiišnjak instituta za lovstvo IV, 144-8. 14. Buljević S, Rendić Dj, 1958, Jedan nalaz Lingatula serrata u jetri goveda, Vet.glasnik XII, 544-7. 15. Euzeby J, 1981, Diagnostic Experimental des Helminthoses Animales, Tom 1, ITVS Paris; 195-214. 16. Pavlović I., Anđelić-Buzadžić G, 2011, Parazitske bolesti sa osnovama parazitologije, Visoka poljoprivredna škola strukovnih studija u Šapcu, Šabac. 17. Soulsby, EJL., 1982, Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.Bailliere Tindall, London, 497. 18. Rahman H., Soliman KN., 1971, A preliminary study on the occurrence of Linguatula serrata in street dogs of Bangladesh. Bangladesh Vet. J. 5, 65-7.19. Akyol, CV., Coskun SZ., Sonmez G., Senlik B., 1995, Linguatula serrata infection in Bursa stray dogs and its importance from the point of public health. Turkiye Parazitologi Dergisi 19, 267-72. 20. Khalil GM., 1970, Incidence of Linguatula serrata infection in Cairo mongrel dogs. J. Parasitol. 56, 485. 21. Schmidt GD, and Roberts LS, 1989, Foundations of Parasitology, 4th ed. Times Mirror/Mosby, St Louis. 22. Saiyari M, Mohammadian B.,Sharma RN., 1996, Linguatula serrata (Frolich 1789) nymphs in lungs of goat in Iran.Trop. Anim. Heal. Prod. 28, 312-4. 23. Tafti AK, Makeki M.,Oryan A., 2001, Pathological study of intestines and mesentric lymph nodes of camels (Camelus dromedarius) slaughtered in Iran J. Camel Pract. Res. 8, 209-13. 24. Hami M., Naddaf S., Mobedi I., Zare-Bidaki M., Athari S., Hajimohammadi B., Anaraki-Mohammed G, 2009, Prevalence of Linguatula serrata infection in domestic bovids slaughtered in Tabriz Abattoir, Iranian J.Parasitol. 4, 25-31. 25. Riley J, 1983, Recent advances in our understanding of pentastomid reproductive biology. Parasitol, 86, 59-83. 26. Schacher JF, Saab S., Germanos R., Boustany N, 1969, The aetiology of halzoun in Lebanon: recovery of Linguatula serrata nymphs from two patients. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 63, 854-8. 27. Elbadawi EKS., Gezuli ELA, Eisa AM, Slepnev NK, 1978, Linguatula serrata nymph in a goat in the Sudan. Vet. Rec. 102, 171. 28. Hunter WS, Higgins RP, 1960, An unusual case of human porocephaliasis. J.Parasitol, 48, 68-70. 29. Deweese MW, Murrah WF, Caruthers SB, 1962, Case report of a tongue worm (Linguatula serrata) in the anterior chamber. Arch Ophthalmol. 68:587-9. 30. Sousaefaro B, Pinhao RC, 1964, An isolated case of ocular parasitosis caused by Linguatula serrata. J Soc Cienc. Med. Lisb; 128, 401-20. 31. Lang Y, Garzozi H, Epstein Z, Barkay S, Gold D, Lengy J, 1987, Intraocular pentastomiasis causing unilateral glaucoma. Br J Ophthalmol. 71:391-5. 32.Lazo RF, Hidalgo E, Lazo JE, Bermeo A, Llaguno M, Murillo J, Ocular linguatuliasis in Ecuador: case report and morphometric study of the larva of Linguatula serrata. Am J Trop Med Hyg. 1999; 60:405-9.

НАЛАЗ АНТИТЕЛА НА УЗРОЧНИКЕ *RICKETTSIA CONORII* И *BABESIA CANIS* КОД ЛОВАЧКИХ ПАСА У ВОЈВОДИНИ

Александар Поткоњак[1], Сара Савић[2], Љубица Спасојевић Косић[1], Вук Врачар[1], Николина Новаков[1], Александар Бурсаћ[3], Огњен Стеванчевић[1], Ненад Стојанац[1]

[1]Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду; [2]Научни институт за ветеринарство, Нови Сад; [3]ЈКП "Зоохигијена и ветерина Нови Сад"

Кратак садржај

Већину обољења паса, које преносе крпељи, изазивају бактерије и протозое. Неколико инфекција паса повезано је са рикецијама које преносе крпељи. Међу њима, медитеранска пегава грозница ја најчешћа и најраспрострањенија. Узрочник медитеранске пегаве грознице је *Rickettsia conorii*. Протозоа *Babesia canis canis* је најраспрострањенија и највирулентнија у Европи. Према нашим сазнањима, за подручје Војводине, нема објављених резултата који показују серопреваленцију обољења ловачких паса изазваних узрочницима *Rickettsia conorii* и *Babesia canis*. Циљ овог рада је да се утврди преваленција антитела на узрочнике *Rickettsia conorii* и *Babesia canis* код ловачких паса у Војводини.

Овим истраживањем обухваћено је 58 ловачких паса са подручја Аутономне Покрајине Војводине. За утврђивање присуства IgG на *Rickettsia conorii* коришћен је тест индиректне имунофлуоресценције MegaScreen® FLUO RICKETTSIA conorii, произвођача MEGACOR Diagnostik GmbH, Austria, док је за утврђивање присуства IgG на *Babesia canis* коришћен тест индиректне имунофлуоресценције MegaScreen® FLUO BABESIA canis, истог произвођача. Титар специфичних антитела IgG у серуму паса 1:64 и виши сматрао се позитивним на антигене узрочника *R. conorii*, док се вредност титра 1:128 и виша сматрала позитивним на антигене узрочника *B. canis*.

Применом наведених тестова, у крвним серумима 26 паса (44,82%) нађена су антитела класе IgG на антигене узрочника *R. conorii*, док је 19 паса (32,75%) било серопозитивно на антигене узрочника *B. canis*.

Неопходна су даља епидемиолошка истраживања у циљу дефинисања мера контроле ових обољења.

Кључне речи: *Rickettsia conorii*, *Babesia canis*, медитеранска пегава грозница, бабезиоза, ловачки пси, серопреваленција

FINDINGS OF RICKETTSIA CONORII AND BABESIA CANIS ANTIBODIES IN HUNTING DOGS IN VOJVODINA

Aleksandar Potkonjak[1], Sara Savić[2], Ljubica Spasojević Kosić[1], Vuk Vračar[1], Nikolina Novakov[1], Aleksandar Bursać[3], Ognjen Stevančević[1], Nenad Stojanac[1]

[1]Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad; [2]Scienfitic veterinary institute, Novi Sad; [3]JKP "Zoohigijena i veterina Novi Sad"

Abstract

Most of the dog infections, transmitted by ticks, are caused by bacteria and protozoa. Several dogs infections are associated with rickettsia transmitted by ticks. Among them, the Mediterranean spotted fever is most frequent and most widespread. Mediterranean spotted fiver is caused by *Rickettsia conorii*. Protozoa *Babesia canis canis* is the most widespread and most virulent in Europe. To our knowledge, in the area of Vojvodina, there are no published results showing the seroprevalence of diseases caused by pathogens *Rickettsia conorii* and *Babesia canis* in hunting dogs. The aim of this study was to determine the prevalence of *Rickettsia conorii* and *Babesia canis* antibodies in hunting dogs in Vojvodina.

In this study 58 hunting dogs from the Autonomous Province of Vojvodina were included. To determine the presence of IgG antibodies to *Rickettsia conorii* test for indirect immunofluorescence MegaScreen ® FLUO Rickettsia conorii manufacturers MegaCor Diagnostik GmbH, Austria, was used and to determine the presence of IgG antibodies to *Babesia canis* indirect immunofluorescence test MegaScreen ® FLUO Babesia canis, from same manufacturer was used. Titer of IgG antibodies in the sera of dogs 1:64 and higher was considered positive for *R. conorii*, while the titer 1:128 or higher was considered positive for *B. canis*.

Using these tests, in the blood serums of 26 dogs (44.82%) *R. conorii* IgG antibodies were found, while 19 dogs (32.75%) were seropositive to *B. canis* antigens.

Further epidemiological studies are needed in order to define measures of control of these diseases.

Key words: *Rickettsia conorii*, *Babesia canis*, Mediterranean spotted fever, babesiosis, hunting dogs, seroprevalence

УВОД

Трансмисија многих вирусних, бактеријских и паразитских узрочника повезена је са крпељима, укључујући и неколицину новооткривених узрочника обољења људи и животиња, а нарочито паса. У групи хематофагних инсеката, крпељи су после комараца други најзначајнији извор узрочника инфективних и паразитских обољења за људе, али су први као извор узрочника обољења за животиње (1). Надаље, учесталост обољења које преносе крпељи је у порасту у свету (2). Такав пораст инциденције и преваленције ових обољења је резултат сложене интеракције фактора као што су измена климе и станишта, повећање бројности и дистрибуције крпеља, неповољни хигијенски и економски услови. Сваки од набројаних фактора може да носи различиту тежину, као и да има другачију улогу у специфичним локалним околностима за појаву ових обољења (3).

Већину обољења паса, које преносе крпељи, изазивају бактерије и протозое. Ерлихиоза и бабезиоза су најзначајнија обољење паса из ове групе, услед појаве

изражене клиничке слике са потенцијалним фаталним исходом. Други узрочници, попут борелија и рикеција, често доводе до инапарентних инфекција паса са високим процентом серопозитивности (4).

Неколико инфекција паса повезано је са рикецијама које преносе крпељи. Међу њима, медитеранска пегава грозница ја најчешћа и најраспрострањенија. Узрочник медитеранске пегаве грознице је *Rickettsia conorii* (*R. conorii*) која се преноси убодом крпеља врсте *Rhipicephalus sanguineus* или случајном инокулацијом узрочника из смрвљеног крпеља у мукозне мембране (5). Ово обољење је широко распрострањено по Средоземљу и Блиском Истоку. Утврђена је висока преваленција антитела на рикеције из групе пегавих грозница код паса у неколико земаља Средоземља, али тек треба да се утврди да ли експозиција узрочнику доводи до клиничке манифестације обољења (6).

До сада је регистровано 12 врста бабезија које изазивају обољење код паса широм света, док је на подручју Европе утврђено присуство само 4 врсте. Од европских врста бабезија, *Babesia canis canis* (*B. canis*) је најраспрострањенија и највирулентнија. Она је велика бабезија и ендемски је распрострањена у већем делу континенталне Европе. Дистрибуција *B. canis canis* је уско повезана са дистрибуцијом свог главног вектора крпеља врсте *Dermacentor reticulatus* (7). Код паса, инфекције овим хаемопаразитима узрокују широк спектар клиничких манифестација, од субклиничких, до тешких обољења, која се карактеришу појавом фебре, анемије, иктеруса, спленомегалије, слабости и колапса, који су повезани са интра- и екстраваскуларном хемолизом, системском инфламацијом, тромбоцитопенијом и пигментуријом (8).

Према нашим сазнањима, за подручје Војводине, нема објављених резултата који показују серопреваленцију обољења ловачких паса изазваних узрочницима *Rickettsia conorii* и *Babesia canis*. Циљ овог рада је да се утврди преваленција антитела на узрочнике *Rickettsia conorii* и *Babesia canis* код ловачких паса у Војводини.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Овим истраживањем обухваћено је 58 ловачких паса са подручја Аутономне Покрајине Војводине.

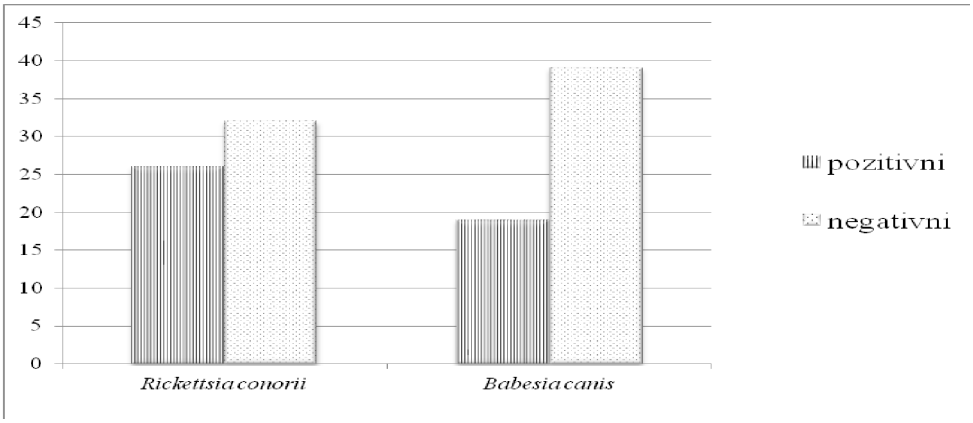
Узорци пуне венске крви прикупљени су у стерилне вакутајнере са активатором коагулације, асептичном венепункцијом v. *cephalica antebrachii*. Крвни серуми су издвојени након један сат од узимања узорака, центрифуговањем на 3.000 обртаја у минути, током 10 минута.

У циљу утврђивања присуства антитела класе G на узрочника *Rickettsia conorii* коришћен је тест индиректне имунофлуоресценције (ИИФ) произвођача MEGACOR Diagnostik GmbH, Austria (MegaScreen® FLUO RICKETTSIA conorii). Као извор антигена у ИИФ тесту коришћена је ћелијска култура инфицирана узрочником *R. conorii*. Позитивна реакција карактерише се појавом јасно дефинисаних структура сличних кокобацилима, зелене флуоресценције, у цитоплазми инфицираних ћелија. Негативан налаз карактерише се присуством црвено обојених ћелија или евентуалном појавом флуоресценције, другачије од оне нађене у позитивној контроли. Титар специфичних антитела IgG у серуму паса 1:64 и виши сматра се позитивним на антигене узрочника *R. conorii*.

У циљу утврђивања присуства антитела класе G на узрочника *Babesia canis* коришћен је ИИФ тест произвођача MEGACOR Diagnostik GmbH, Austria (MegaScreen® FLUO BABESIA canis). Као извор антигена у ИИФ тесту коришћени су псећи еритроцити инфицирани узрочником *B. canis* са карактеристичним мерозоитима у цитоплазми. Позитивна реакција карактерише се појавом јасно дефинисаних мерозоита, зелене флуоресценције у цитоплазми инфицираних еритроцита. Негативан налаз карактерише се присуством црвено обојених ћелија или евентуалном појавом флуоресценције, другачије од оне нађене у позитивној контроли. Титар специфичних антитела IgG у серуму паса 1:128 и виши сматра се позитивним на антигене узрочника *B. canis*.

РЕЗУЛТАТИ

Применом ИИФ теста у крвним серумима 26 паса, од укупно 58 испитиваних серума, нађена су антитела класе IgG на антигене узрочника *R. conorii*, што представља серопреваленцију од 44,82%. Негативну реакцију дала су 32 серума. Од укупно 58 крвних серума паса, такође применом ИИФ теста, 19 је било позитивно на присуство антитела класе IgG на антигене узрочника *B. canis*, што представља серопреваленцију од 32,75%. Негативну реакцију дало је 39 серума (Графикон 1).



Графикон 1. Приказ односа броја серопозитивних и серонегативних паса на антигене узрочника *R. conorii* и *B.canis*

ДИСКУСИЈА

У овом истраживању антитела на *R. conorii* нађена су код 44,82% паса. Серопреваленција *Rickettsia spp*. код паса у ендемским подручјима је висока (26%-60%) (9). Вредност серопреваленције добијена у нашем истраживању одговара подацима које су код паса у Хрватској (51%) објавили Пунда-Полић и сарадници (10). У сероепидемиолошкој студији спроведеној у руралном подручју у Израелу (6), доказана је веома висока серопреваленција *R. conorii* од 81% у популацији од 85 паса, што је у сагласности са претходним студијама, такође спроведеним у Израелу (82-84%). Исти аутори наводе да је чак 58% паса у Израелу, код којих је постављена сумња на обољења која се преносе векторима, серопозитивно на *R. conorii*. Ипак, у истраживању спроведеном 2009. године у Албанији није утврђено присуство *R. conorii* код паса, иако постоје подаци о присуству овог узрочника у суседној Грчкој (5).

R. sanguineus је вектор и једини доказани резервоар узрочника медитеранске пегаве грознице (11). Последњих година географска дистрибуција неких врста крпеља у Европи знатно се изменила. Јуришић и сарадници указују на присуство великог броја јединки свих развојних стадијума крпеља врсте *R. sanguineus* на псима са подручја Руме, при чему је ова врста чинила 96,49% од укупног броја детерминисаних крпеља (12). Проучавањем специјског диверзитета крпеља, на територији Београда утврђено је да је врста *R. sanguineus* на првом месту по заступљености са 35,05% у односу на друге врсте крпеља (13). Висока вредност серопреваленције (44,07%) добијена у нашем истраживању могућа је последица евидентног пораста бројности популације крпеља врсте *R. sanguineus* као вектора и резервоара овог узрочника. Серолошка унакрсна реактивност међу рикецијама из групе пегавих грозница је честа, стога је могуће да су неки од паса укључених у ово истраживање били изложени некој другој врсти рикеција из ове групе уместо *R. conorii* (14).

У већини европских земаља појава *B. canis* је у сагласности са географском дистрибуцијом њеног вектора и једна је од најважнијих узрочника обољења паса која се преносе крпељима на подручју Европе. Поред спорадичних налаза *B. canis* у другим врстама крпеља, *D. reticulatus* је познат као вектор овог узрочника у Европи. У Србији крпељ врсте *D. reticulatus* чешће може да се нађе у Војводини и на подручју Београда, док се у остатку државе његово присуство само спорадично региструје. Експанзија ове врсте крпеља забележена је у Мађарској и Немачкој (15). Истраживања спроведена у Србији доказала су присуство *B. canis* у следећим врстама крпеља *R. sanguineus*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*i *H. conncina* (Mihaljica 15,16). Сходно повећању бројности вектора и доказаном присуству *B. canis* на нашем подручју, била је очекивана серолошка потврда овог узрочника код паса. Антитела на *B. canis* у нашем истраживању нађена су у серумима 32,75% паса. Павловић и сарадници су, применом директног микроскопског прегледа обојених размаза крви, установили да се преваленција бабезиозе паса изазване узрочником *B. canis* на подручју града Београда кретала од 71,7% до 75,5% у периоду од 1997. до 2001. године (17). Веома висока серопреваленција обољења изазваног *B. canis* пријављена је код паса у Италији (70%) (18). Ипак, истраживачи у Албанији (9,9-13%), Румунији (19,8%) и Мађарској (5,7%) пријављују знатно ниже вредности преваленције овог обољења (5,19,20,21). Специфичност имунофлоресцентног теста, услед унакрсне реактивности међу бабезијама и другим паразитима из типа *Apicomplexa*, је ниска (8). Стога, могућа изложеност паса другим паразитима из типа *Apicomplexa* може бити разлог више вредности серопреваленције добијене у нашој студији него у земљама у окружењу. Ипак, Имре и сарадници указују на знатно вишу серопреваленцију обољења изазваног *B. canis* код ловачких паса, у односу на општу популацију паса. Исти истраживачи, једино повећану изложеност убодима крпељима у току лова код ових паса, доводе у позитивну корелацију са серопозитивношћу на антигене бабезија и наводе као фактор ризика, у односу на друге епидемиолошке факторе попут расе, пола и старости (21).

ЗАКЉУЧАК

У овом истраживању доказано је присуство антитела на антигене *Rickettsia conorii* и *Babesia canis* у популацији ловачких паса те су неопходна даља епидемиолошка истраживања у циљу дефинисања мера контроле ових обољења, јер пси могу да представљају извор узрочника медитеранске пегаве грознице од које обољевају и људи, док бабезиоза паса представља веома значајно обољење паса у ветеринарској медицини.

Захвалница*: Ово истраживање је финансирао Покрајински секретаријат за науку и технолошки развој АП Војводине (назив пројекта: Истраживање лајмске болести и других векторски преносивих зооноза у Војводини, број пројекта: 114-451-1892/2011) као и Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (назив пројекта: Праћење здравственог стања дивљачи и увођење нових биотехнолошких поступака у детекцији заразних и зоонозних агенаса - анализа ризика за здравље људи, домаћих и дивљих животиња и контаминацију животне средине, број пројекта: ТР31084)*

ЛИТЕРАТУРА:

1. Chomel B, 2011, Tick-borne infections in dogs - An emerging infectious threat. Vet Parasitol; 179: 294-301. 2. Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D, 2012, Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. Trends Parasitol; 28(10): 437-46. 3. Godfrey ER, Randolph SE, 2011, Economic downturn resultsin tick-borne disease upsurge. Parasite Vector; 4(35):10. 4. Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB, 2001, Tick-borne infectious diseases of dogs. Trends Parasitol; 17: 74-80. 5. Hamel D, Silaghi C, Knaus M, Visser M, Kusi I, Rapti D, Rehbein S, Pfister K, 2009, Detection of *Babesia canis* subspecies and other arthropod-borne diseases in dogs from Tirana, Albania. Wien Klin Wochenschr; 121(3): 42-5. 6. Harrus S, Lior Y, Ephros M, Grisaru-Soen G, Keysary A, Strenger C, Jongejan F, Waner T, Baneth G, 2007, Rickettsia conorii in Humans and Dogs: A Seroepidemiologic Survey of Two Rural Villages in Israel. Am J Trop Med Hyg; 77(1): 133-5. 7. Smith FD., Ellse L, Wall LE, 2013, Prevalence of Babesia and Anaplasma in ticks infesting dogs in Great Britain. Vet Parasitol; 198(1-2): 18-23. 8. Irwin PJ, 2009, Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. Parasite Vector; 2(1): S4. 9. Solano-Gallego L, Kidd L, Trotta M, Di Marco M, Caldin M, Furlanello T, Breitschwerdt E, 2006, Febrile illness associated with Rickettsia conorii infection in dogs from Sicily. Emerg Infect Dis (12): 1985-8. 10. Punda-Polić V, Klismanić Z, Capkun V, Bradarić N, 2003, Demographic and epidemiologic features of Mediterranean spotted fever cases in the region of Split, Croatia. Ann NY Acad Sci; 990: 143-8. 11. Oteo JA, Portillo A, 2012, Tick-borne rickettsioses in Europe. Ticks Tick Borne Dis; 3(5-6): 271-8. 12. Jurišić A, Petrović A, Rajković D, Potkonjak A, Lako B, Sučić I, Vračar V, 2014, Tick on dogs in urban areas. Book of Abstracts, 5th CASEE CONFERENCE 2014 „Healthy Food Production and Enviromental Preservation - The Role of Agriculture, Forestry and Applied Biology", University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Serbia, 25-27 May,: P3.17. 13. Milutinović M, Petrović Z, Radulović Ž, 2002, Bionomija i specijski diverzitet krpelja Beograda. Zbornik radova V Beogradske konferencije sa međunarodnnim učešćem: Kontrola štetnih organizama u urbanoj sredini. Beograd, Srbija,: 63-9. 14. Philip RN, Casper EA, Ormsbee RA, Peacock MG, Burgdorfer W, 1976, Microimmunofluorescence test for the serological study of rocky mountain spotted fever and typhus. J Clin Microbiol; 3: 51-61. 15. Mihaljica D, Radulović Ž, Tomanović S, Ćakić S, Penezić A, Milutinović M, 2012, Molecular detection of Babesia spp. in ticks in northern Serbia. Arc Biol Sci; 64(4): 1591-8. 16. Tomanović S, Chochlakis D, Radulović Z, Milutinović M, Cakić S, Mihaljica D, Tselentis Y, Psaroulaki A, 2013, Analysis of pathogen co-occurrence in host-seeking adult hard ticks from Serbia. Exp Appl Acarol; 59(3): 367-76. 17. Pavlović I, Milutinović M, Petković D, Terzin D, Terzin V, 2002, Epizootiological research of canine babesiosis in the Belgrade district. J Protozool Res; 12: 10-5. 18. Pennisi MG, Caprì A, Solano-Gallego L, Lombardo G, Torina A, Masucci M, 2012, Prevalence of antibodies against Rickettsia conorii, Babesia canis, Ehrlichia canis, and Anaplasma phagocytophilum antigens in dogs from the Stretto di Messina area (Italy). Ticks Tick Borne Dis; 3(5-6): 315-8. 19. Hornok S, Edelhofer R, Farkas R, 2006, Seroprevalence of canine babesiosis in Hungary suggesting breed predisposition. Parasitol Res; 99(6): 638-42. 20. Lazri T, Duscher G, Edelhofer R, Bytyci B, Gjino P, Joachim A, 2008, Infektion mit arthropodenübertragenen Parasiten bei Hunden im Kosovo und in Albanien unter besonderer Berücksichtigung der Leishmanieninfektionen. Wien Klin Wochenschr, 4: 54-8. 21. Imre M, Farkas R, Ilie M, Imre K, Hotea I, Morariu S, Morar D, Dărăbuş G, 2013, Seroprevalence of Babesia canis infection in clinically healthy dogs from western Romania. J Parasitol; 99(1): 161-3.

П л е н а р н и р а д о в и

---

10. ЗАСЕДАЊЕ

1. АКТУЕЛНА ПАТОЛОГИЈА ЦЕНТРАЛНОГ НЕРВНОГ СИСТЕМА У СРБИЈИ И СУСЕДНИМ ЗЕМЉАМА

2. ХЕРПЕСВИРУСНИ МИЈЕЛОЕНЦЕФАЛИТИС КОЊА

3. ЛЕУКОЕНЦЕФАЛОМАЛАЦИЈА КОЊА - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

4. СЕРОПРЕВАЛЕНЦА ИНФУЕНЦЕ КОД КОЊА НА ТЕРИТОРИЈИ ВОЈВОДИНЕ

5. КАСТРАЦИЈА ПАСТУВА КОМПЛЕТНОГ АБДОМИНАЛНОГ КРИПТОРХИДА МЕТОДОМ ПАРАИНГВИНАЛНЕ ЛАПАРАТОМИЈЕ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

6. АРТРИТИС - РЕШИВ ИЛИ НЕРЕШИВ ПРОБЛЕМ

АКТУЕЛНА ПАТОЛОГИЈА ЦЕНТРАЛНОГ НЕРВНОГ СИСТЕМА КОЊА У СРБИЈИ И СУСЕДНИМ ЗЕМЉАМА

Драгиша Траиловић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Током последњих неколико година регистрован је већи број случајева обољења и угинућа коња праћених симптомима поремећаја централног нервног система, при чему је у мањем броју потврђена егзактна дијагноза (беснило, EHV 1 инфекција, микотоксикозе, хепатичка енцефалопатија), док је добар део остао нерасветљен. Како се међу потенцијалним узрочницима могу наћи и многобројни инфективни агенси, пре свега арбовируси, који поред коња могу да угрозе и здравље људи, расветљавању овог проблема се мора приступити најозбиљније, тим пре што су у земљама у окружењу већ потврђене неке од зооноза арбовирусне етиологије.

Кључне речи: енцефалитиси, енцефалопатије, диференцијална дијагноза, коњи

CURRENT PATHOLOGY OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF HORSES IN SERBIA AND NEIGHBORING COUNTRIES

Dragiša Trailović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Over the last few years, numerous cases of disease accompanied with symptoms of central nervous system disorders and subsequent deaths were registered in horses in Serbia. The exact diagnosis, i.e. rabies, EHV-1 infection, mycotoxicosis, hepatic encephalopathy, was confirmed only in a small number of cases; while most of the cases remained unclear. Many infectious agents, mainly arboviruses that can endanger human health can be potential causative candidates of the horse disease, so the clarification of the problem should be approached very seriously especially regarding the fact that arboviral zoonoses have been confirmed in neighboring countries in the region.

Keywords: encephalitis, encephalopathy, differential diagnosis, horse

УВОД

Обољења централног нервног система коња су код нас дуго занемаривана, иако се одавно зна да се међу њима налази више опасних зооноза. До тешких енцефаломијелитиса доводе многи неуротропни вируси, ређе пантропни вируси, бактерије и гљивице (1-5). Један од разлога за то је без сумње велика удаљеност земаља у којима су ове болести дужи низ година присутне. Последњих година, међутим, и код нас су учестали случајеви обољења и коња и људи (5-7), због чега је крајње време да се овај проблем стави на дневни ред.

Најчешћа обољења централног нервног система коња у Србији

У Србији је велики број коња позитиван на херпесвирусне инфекције (EHV 1 и EHV 4). С обзиром на проблеме које је током последњих тридесетак година изазивао херпес вирус тип 1, многи случајеви обољења новорођене ждребади и ждребних кобила, праћени нервним симптомима, аутоматски су приписивани овом вирусу, неретко без адекватне потврде (8-10). Према евиденцији Катедре за болести копитара, месоједа, живине и дивљачи Факултета ветеринарске медицине у Београду херпесвирусни мијелоенцефалитис је клинички потврђен само код неколико кобила енглеског пунокрвњака после абортуса изазваног херпесвирусом тип 1, мада је број абортуса био далеко већи. У периоду од 1980. до 1987. године на појединим ергелама енглеског пунокрвњака је чак половина ждребних кобила сваке године побацивала, при чему је скоро половина живорођене ждребади угињавала у првој недељи живота (9-11). Код ждребади интраутерино инфициране херпесвирусом у више наврата су описани нервни симптоми, с тим што су у појединим случајевима истовремено регистровани и други разлози за то - компликован порођај и асфиксија, анемија и септикемија, због чега се поставља питање да ли је за појаву нервних симптома одговоран само херпесвирус. У једном случају сумње на EHV 1 после побачаја кобиле, на пример, утврђена је хепатичка енцефалопатија.

Беснило већ дуго представља претњу и за људе и за животиње. Пре пар година смо имали бесног коња на периферији Београда - коњ је био на пашњаку близу шуме, где је у исто време уловљена бесна лисица. Како се коњи у Србији ретко држе на пашњацима изложеним лисицама, беснилу се код коња не придаје нарочита важност.

Последњих неколико година већу пажњу привлачи грозница Западног Нила. Присуство вируса у Србији потврђено је серолошки и код коња и код птица и код људи, премда до сада није описан ни један клинички случај код коња (6,12,13). Према евиденцији Европског центра за контролу и превенцију болести (14), у региону је прошле године далеко највећи број случајева грознице Западног Нила код људи регистрован у Србији - 302 случаја (у Грчкој 86, Мађарској 31, Румунији 24, Хрватској 16, Црној Гори 4, Босни и Херцеговини 3 и Македонији 1), од чега више од половине у Београду - 171. На подручју Београда је утврђен и највећи број серопозитивних коња - 42 од укупно 1092 испитаних (6).

Крпељски енцефалитис је регистрован код људи у окружењу - зна се да могу да оболе и коњи, код коња, међутим, за сада није потврђен ни клинички ни серолошки. Јапански и амерички - западни, источни и венецуелански енцефалитис нису никада регистровани на овим просторима, што не значи да се не могу једног дана и појавити (8). То се односи и на борна енцефалитис који је дуго био присутан искључиво на простору средње Европе, пре свега у Немачкој, да би недавно био откривен на Исланду (16).

У суптропским и тропским крајевима регистровани су и други, пре свега арбовирусни енцефалитиси (17). По неким ауторима, готово сваке године се јавља по неко ново обољење, што у условима климатских промена којима смо изложени представља озбиљан разлог за забринутост (7). При томе, нису само вируси потенцијални узрочници обољења мозга. Недавно је на једној ергели током непуних месец дана угинуло 13 коња са симптомима налик на енцефалитис, док је неколико грла преживело - патохистолошки је потврђена леукоенцефаломалација, типична за тровање фумонизином (енгл. *moldy corn poisoning*), да би након тога у храни било потврђено присуство фумонизина Б1.

У свим наведеним случајевима клиничка слика сама по себи није била довољно специфична да без додатних испитивања укаже на врсту болести и евентуалног узрочника. Клинички се не могу јасно диференцирати инфламаторне болести централног нервног система, нпр. поједине инфективне болести од дегенеративних, цереброваскуларних и метаболичких поремећаја, или пак тровања, због чега је у

случају појаве болести која је праћена нервним симптомима неопходно да се размотри могућност присуства великог броја етиолошки различитих поремећаја, од примарних обољења централног нервног система до различитих секундарних компликација обољења других органа и система органа.

Клиничке манифестације обољења централног нервног система

Обољења нервног система се испољавају углавном поремећајима кретања, осетљивости и свести. Поремећаји свести - депресија и ексцитација, уско су везани за болести мозга и 12 мождани нерава. Поремећаји кретања са обостраним - симетричним сметњама моторичног и сензитивног карактера, без поремећаја свести, запажају се код обољења кичмене мождине, док се локални поремећаји кретања и осетљивости запажају код обољења периферних нерава (8). У пракси се, иначе, најчешће срећемо са обољењима код којих су у исто време захваћени и мозак, и кичмена мождина и периферни нерви, због чега су истовремено присутни и поремећаји кретања и поремећаји свести. Код напред наведених инфективних обољења се само у мањем броју може говорити о енцефалитисима, много чешће о менингоенцефалитису, енцефаломијелитису или менингоенцефаломијелитису.

Запаљење мозга и кичмене мождине је са клиничког аспекта најважније, због чега ће детаљније бити описани симптоми енцефалитиса и мијелитиса. Код акутног енцефалитиса опште стање се знатно мења: апетит је смањен, некад и перверзан (грижење дрвета, камења), понекад се запажа појачана саливација, празно жвакање, шкргутање зубима... Грозница није редовна појава, коњунктиве су обично зажарене, пулс и дисање су у односу на фреквенцу и ритам промењени, често се запажа апатија, отупелост, заузимање различитих нефизиолошких ставова, безизражајан поглед, фуриозно понашање, надирање на препреке, мањежно кретање, некоординисани покрети (атаксија) итд. Подрхтавање очне јабучице, невољни покрети очних јабучица у виду клоничних, ритмичких грчева и ослабљен пупиларни рефлекс са постојаном мидријазом указују на церебрални синдром. Уколико је процес локализован у подручју продужене мождине, где се налазе једра 6-12. мождиног нерва, манифестује се синдром булбарне парализе: парализа усана, језика, доње вилице, ушију, ждрела итд. (8).

Симптоми налик на енцефалитис могу бити изазвани цереброваскуларним поремећајима, анемијом, хиперемијом или крварењима у мозгу. Код изражене акутне анемије мозга доминирају знаци поремећаја свести, зависно од степена анемије: животиња несигурно хода или стоји у месту, заноси се, слабије реагује на спољашње надражаје (звук, бич) - код јачег степена јављају се несвестица и грчеви, као предзнак угинућа животиње. Код хроничне анемије мозга лакшег степена симптоми се теже могу препознати - може се уочити отупелост, невеселост и/или страх - појачана плашљивост... Сличне симптоме можемо видети и код хиперемије и конгестије мозга - апатију и сомноленцију, неретко наизменичне појаве ексцитација, првенствено у вези са развојем едема мозга. Због повећања интракранијалног притиска код хиперемије и крварења у мозгу долази до проширења зеница - мидријазе. Видљиве слузнице су код хиперемије зажарене, а код анемије обично бледе. Слични симптоми се, на крају, могу видети и код различитих компресивних поремећаја у мозгу (тумори, хематоми, хидроцефалус), при чему симптоми зависе од локализације и степена компресије.

У случајевима када је патолошким процесом захваћена кичмена мождина доминирају поремећаји кретања - атаксија, пареза и парализа, у зависности од локализације оштећења. Патолошки процес, на пример запаљење кичмене мождине, може да захвати целу кичмену мождину у једном нивоу (*myelitis transversa*), истовремено у више жаришта (*myelitis disseminata*), постепено у правцу краниокаудално (*myelitis descendens*) или обрнуто (*myelitis ascendens*). Дисеминирани мијелитис (*myelitis disseminata*) испољава се парализом или парезом задњег дела тела

(параплегија) или сва четири екстремитета (тетраплегија). У акутним случајевима постоји болност, укоченост при стајању или кретању, брзо замарање и заношење тела. Код трансверзалног мијелитиса (*myelitis transversa*) долази до потпуне моторичне и сензитивне парализе каудално од места запаљењског процеса (8).

Код оштећења вратног дела кичме (од 1. до 6. вратног пршљена) може да наступи смрт услед прекида дисања - у овом случају су захваћени и остали нерви респираторних мишића, а нарочито дијафрагме. Оштећења кичмене мождине каудално од извора нерава дијафрагме изазивају слабост у кретању и неосетљивост целог тела, изузев главе и предњег дела врата. У овом случају се за време дисања не запажају активни покрети грудног и трбушног зида - грудни зид мирује док се трбушни покреће пасивно, због сачуваних функција нерава дијафрагме (8).

Оштећење торакалног дела кичмене мождине доводи до губљења покрета и неосетљивости абдоминалне регије и целог задњег дела тела. Код оштећења лумбосакралног дела кичмене мождине запажају се моторичне и сензитивне парализе задњег дела тела, укључивши мокраћну бешику и ректум, са појавом невољног уринирања и дефецирања (8).

Ток болести је веома различит. У појединим случајевима запаљења мозга трају веома кратко, док се запаљења кичмене мождине могу продужити од једне до две недеље. Психичке промене, поремећаји у кретању, повећана или смањена осетљивост појединих партија тела могу се пролонгирати и више месеци или година. Компликације су готово редовна појава.

Најважнији узрочници енцефаломијелитиса коња

До запаљења мозга, можданих овојница и кичмене мождине могу да доведу различити инфективни агенси - вируси, бактерије, гљивице и празити. Највећу пажњу без сумње привлаче вирусни енцефалитиси, пре свега они који су изазвани арбовирусима (2,4,7,8). У великој групи вируса које преносе артроподе, у првом реду инсекти (**arbo** од **ar**thropod-**bo**rne virus), налази се велики број узрочника енцефаломијелитиса код коња, других животиња и људи, што, наравно, не умањује значај других вируса (беснило, херпесвирусна инфекција). Бактерије су са епизоотиолошког аспекта мање важне, премда се менингоенцефаломијелитиси могу наћи у вези са инфекцијом многим патогеним бактеријама (*Streptococcus equi, Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Actinobacillus equulli, Listeria monocytogenes, Klebsiella, Enterobacter, Salmonella, Pasteurella* итд.). Не треба при томе заборавити на тетанус и ботулизам, два релативно честа обољења изазвана токсинима бактерија *Clostridium tetani* и *Clostridium botulinum*, иако се ове болести не могу описати као енцефаломијелитис (1,8).

Паразити су са епизоотиолошког аспекта такође важни (1,5,8). То се у првом реду односи на протозое (*Sarcocystis neurona, Toxoplasma gondi),* премда се промене на мозгу и кичменој мождини могу наћи у случају миграције ларви других паразита *(Strongylus vulgaris, Micronema deletrix*, *Drachia megastroma, Hypoderma spp.* и сл.).

Табела 1. Преглед најважнијих узрочника обољења централног нервног система коња

ВИРУСИ

Флавивирусне инфекције (Flaviviridae, род Flavivirus)
West Nile virus
Japanese encephalomyelitis virus
Tick-borne encephalitis virus
Kunjin virus
St. Louis virus
Murray Valley virus
Louping ill virus
Powassan virus

Тогавирусне инфекције (Togaviridae, род Alphavirus)
Western equine encephalomyelitis virus

Eastern equine encephalomyelitis virus

Venezuelan equine encephalomyelitis virus

Semliki Forest virus

Буњавирусне инфекције (Bunyaviridae, род Bunyavirus)
Snowshoe hare virus

Jamestown Canyon virus
Main Drain virus

LaCrosse Encephalitis virus

Shuni virus
Парамиксовирусне инфекције (Paramyxoviridae, род Henipavirus)
Hendra virus
Nipah virus
Херпесвирусне инфекције (Herpesviridae, род Varicellovirus)
Equine herpesvirus 1 (EHV 1)
Auyezky's disease virus (SHV 1)
Други вируси
Borna virus (Bornaviridae, род Bornavirus)
Rabies virus (Rhabdoviridae, род Lyssavirus)
Equine encephalosis virus (Reoviridae, род Orbivirus)

БАКТЕРИЈЕ

Escherichia coli
Actinobacillus equlli
Actinobacillus lignieresii
Streptococcus equi
Streptococcus zooepidemicus
Streptococcus suis
Pasteurella caballi
Pseudomonas aeruginosa
Rhodococcus equi
Brucella abortus
Mycobacterim bovis
Klebsiella pneumoniae

Listeria monocytogenes
Staphylococcus
Actinomyces
Sallmonella

РИКЕЦИЈЕ

Anaplasma phagocytophilum

ГЉИВИЦЕ

Cryptococcus neoformans
Aspergillus niger
Aspergillus fumigatus

ПАРАЗИТИ

Strongylus vulgaris
Helicephalobus gingivalis
Drashia megastoma
Hypoderma (lineatum, bovis, diana)
Parastrongylus spp.
Setaria
Habronema
Trypansoma evansi
Sarcocystis neurona
Balamuthia mandrillaris

ОТРОВНЕ БИЉКЕ

Раставић (*Equisetum arvense)*
Коњска жука (*Equisetum palustre)*
Папрат (*Pteridium aquilinum*)
Пијани љуљ (*Lolium temulentum*)
Мразовац (*Co1chicum autumnale*)
Кукољ (*Agrostema githago*)
Пенушавац (*Saponaria officinalis)*
Плави јединђ (*Aconitum napellus*)
Мак (*Papaver somniferum*)
Булка *(Papaver rhoeas*)
Црна булка *(Papaver argemone*)
Дивљи мак *(Papaver hybridum*)
Лупина (*Lupinus luteus, Lupinus albus, Lupinus angustifolius)*
Млечика (*Euphorbia cyparissias*)
Цревце (*Stellaria media*)
Различак (*Centaurea picris)*
Барска кукута (*Cicuta virosa*)
Буника (*Hyoscyamus niger*)
Велебиље (*Atropa belladonna*)
Татула (*Datura stramonium*)
Дивљи сирак (*Sorghum halepense*)
Суданска трава (*Sorghum sudanense*)
Летњи различак (*Centurea solstitialis*)

МИКОТОКСИНИ

Фузариотоксин Т2 (*Fusarium tricinctum* и *Fusarium verticillioides*)
Фумонизин (*Fusarium verticillioides)*
Сатратоксини *(Stachybotrys chartarum)*

ХЕМИЈСКИ ОТРОВИ И ЛЕКОВИ

Органофосфорни пестициди
Органохлорни пестициди
Пиретрини и пиретроиди
Различити лекови

МЕТАБОЛИЧКИ ПОРЕМЕЋАЈИ

Хепатичка енцефалопатија
Уремија
Хипокалциемија
Хипо и хипертонична дехидрација и хиперхидрација
Метаболичка ацидоза и алкалоза

Највећи значај придаје се обољењима негнојног карактера проузрокованим неуротропним вирусима (источни, западни и венецуелански енцефаломијелитис, *West Nile* енцефалитс, беснило итд.), ређе болестима изазваним пантропним вирусима, бактеријама и гљивицама. Посебан значај, при томе имају вируси које преносе инсекти, због чега представљају велику опасност за популацију коња, али неретко и људи, будући да се најчешће ради о зоонозама.

Тогавирусни и флавивирусни енцефалитиси

Група арбовируса које преносе артроподе игра веома важну улогу у патологији коња. У групу РНК вируса из фамилије *Togaviridae*, род *alphavirus*, спадају вирус источног енцефалитиса (енгл. *Eastern equine encephalomyelitis virus - EEV*), вирус западног енцефалитиса (енгл. *Western equine encephalomyelitis - WEV*) и вирус венецуеланског енцефалитиса (енгл. *Venezuelan equine encephalitis virus - VEV*). Поред вируса из фамилије *Togaviridae,* у арбовирусне узрочнике енцефалитиса спада и узрочник јапанског енцефалитиса (енгл. *Japanese encephalitis virus - JEV*), који припада фамилији *Flaviviridae*, род *Flavivirus*. Фамилији *Flaviviridae* припада и *West Nile virus* (WNV) - узрочник грознице Западног Нила (2,3,4,8,15,17).

Алфавирусни енцефаломијелитиси се првенствено јављају у Северној и Јужној Америци, а флавивирусни у Азији - Јапану, Кореји, Кини и источном делу Русије. Осим West Nile вируса који је серолошки потврђен, остали вируси из ове групе нису регистровани у Србији. Резервоар вируса су птице и глодари, док су преносиоци инсекти. Ензоотије се појављују у неправилним интервалима, најчешће у топлим и влажним срединама које погодују развоју комараца. Мочварне птице су кључни резервоар, при чему птице селице могу разносити вирус на широка пространства. Коњи и људи су коначни домаћини који не развијају увек критичну виремију за инфицирање комараца, мада се у случају масовнијег јављања ни тако нешто не сме занемарити (8).

На основу клиничких налаза није могуће диференцирати источни, западни, венецуелански и јапански енцефалитис. Инфекција свим овим вирусима може резултирати субклиничким обликом болести, генерализованим фебрилним обликом са израженом слабошћу, анорексијом и тахикардијом или енцефалитисом са типичним нервним симптомима, који се често завршава угинућем. Иницијални симптоми могу проћи незапажено. Код венецуеланског енцефалитиса су, при томе, описана и изненадна угинућа без претходно видних симптома болести (2,4,8).

Грозница Западног Нила

У групи вирусних мијелоенцефалитиса последњих година све већу пажњу привлачи грозница Западног Нила или *West Nile encephalitis*, обољење које је првобитно било раширено у Африци и Азији, да би се последњих година проширило по Америци и неким европским државама. Узрочник ове болести је арбовирус из рода *Flaviviridae*, који изазива едем и запаљење мозга и кичмене мождине код коња, птица и људи. Добио је назив по регији у Уганди где је први пут откривен 1937. године. Од 1999. године се веома брзо шири на подручју Сједињених Америчких Држава. Резервоари вируса у природи су дивље птице, али се може наћи и код домаћих птица, дивљих и домаћих животиња (паса, мачака, медведа, дивокоза), с тим што се клинички знаци болести испољавају углавном код коња, магараца, мула, неких птица (домаћих гусака) и човека.

Вирус преносе комарци, углавном из рода *Culex* (*Culex tarsalis, Culex pipiens*) мада је изолован и из других хематофагних инсеката и крпеља. Комарац уноси у себе вирус сисањем крви инфициране птице и убодом га преноси на коње и људе. Болест при томе не може прећи са коња на коња или другу врсту (8,18).

Инкубациони период траје од 5 до 15 дана. Код коња који клинички оболе јављају се симптоми енцефалитиса. То су губитак апетита, депресија, грозница која није увек обавезна, слабост или парализа екстремитета, грчење мишића вилице, немогућност гутања, губитак координације, бесциљно лутање, хиперестезија и кома (8). Ови симптоми се јављају и код других нервних обољења: беснила, источног, западног и венецуеланског енцефаломијелитиса, као и код протозоарног мијелоенцефалитиса.

Борна болест

Борна болест је прогресивно, најчешће фатално инфективно обољење коња вирусне етиологије, изазвано борнавирусом. Поред коња могу да оболе овце, говеда, козе, кунићи, мачке и човек. Вирус и сама болест добили су име по месту Борна у Немачкој (Саксонија) где је болест први пут описана. Више синонима се користи приликом описивања ове болести: заразно запаљење мозга, субакутни менингоенцефалитис, хиперсомнија коња и сл.

Узрочник ове болести је RNK вирус из фамилије *Bornaviridae*, род *Bornavirus*. Болест је до скора описана само у Немачкој, Швајцарској, Лихтенштајну и Аустрији, премда су серопозитивни коњи налажени и у многим другим земљама Европе, Азије, Америке и Аустралије (15). Недавно су откривени први случајеви борна болести у две ергеле на Исланду (16). Разлог што болест није описана у другим земљама највероватније се састоји у релативно тешкој потврди дијагнозе и сличности ове болести са другим енцефаломијелитисима (8,15). Код нас Борна болест није потврђена.

Беснило

Ова опасна зооноза је описана широм света. Иако коњи на нашим просторима нису посебно угрожени, у земљама где се држе на паши беснило коња није ретка болест. Болест се обично преноси на коња преко ране од уједа неке инфициране дивље животиње. Нешто ређе коњи могу бити заражени од угриза домаћих инфицираних животиња, као што су пас или мачка. Улазне ране се код коња по правилу ретко утврђују.

Узрочник беснила је *Rhabdovirus*, неуротропни вирус који из уједних рана путем периферних нервних влакана центрипетално доспева до централног нервног система, одакле се центрифугално шири до високо инервисаних телесних регија. Тачан период инкубације код коња није познат, али се генерално сматра да је између две недеље и неколико месеци. Клинички ток болести зависи од броја вирусних честица доспелих у рану, места инокулације и патогености самог вируса. Иако је ток болести бржи када у организам доспе више вирусних јединица, нарочито преко ране која је ближа глави, код коња је свака природна инфекција фатална, без изузетка (8). У последње време смо регистровали само један случај беснила код коња и то у околини Београда.

Херпесвирусни мијелоенцефалитис коња

Херпесвирусни мијелоенцефалитис је вероватно најважније вирусно обољење мозга и кичмене мождине код коња у Европи, где се најчешће јавља као пропратна појава уз клинички важније поремећаје у репродукцији - побачаје ждребних кобила и неонатална обољења изазвана интраутерином или раном пе-ринаталном (екстраутерином) инфекцијом, првенствено у већим запатима енглеског пунокрвњака.

Узрочник је херпесвирус тип 1 (EHV 1), који је пре свега познат као узрочник респираторних инфекција горњих дисајних путева и абортуса ждребних кобила. Инфекција је аерогена, чешће обољевају млађе категорије коња или пак коњи под стресом, респираторни симптоми при томе могу да претходе абортусима или нервним симптомима, мада се ови облици могу јавити и без претходно манифестних респираторних симптома. Појава нервних облика је чешћа у повременим „олујама" абортуса и неонаталних угинућа, нарочито у запатима где је херпесвирус био латентно присутан (8).

Херпесвирусни мијелоенцефалитис (доминирају симптоми обољења кичмене мождине - атаксија, пареза и парализа) у неколико случајева је описана у Србији, мада је број случајева абортуса већи. Занимљиво је, при томе, да у време најинтензивнијих проблема изазваних херпесвирусом, осамдесетих година прошлог века, нису описани нервни облици код кобила.

Бактеријски менингоенцефалитис

Бактеријски менингоенцефалитис представља гнојну упалу можданих овојница и мозга. Иако се сматра ретком појавом код еквида, апсцеси у мозгу одраслих коња који су прележали ждребећак нису тако ретка појава. Најчешћи узрочници гнојних запаљења мозга код одраслих коња су *Streptococcus equi* или *Streptococcus zooepidemicus*. Бактеријски менингоенцефалитис код новорођене ждребади је углавном изазван грам-негативним ентеробактеријама (*Escherichia coli*, *Enterobacter spp., Salmonella spp.)*, ређе другим бактеријама (*Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Actinobacillus equulli, Klebsiella sp., Listeria monocytogenes* и *Pasteurella spp*.). Нису при томе ретки ни случајеви мешовитих инфекција.

Рани симптоми менингитиса нису карактеристични и најчешће укључују грозницу, анорексију и депресију. У типичним случајевима уочава се укоченост врата и хиперестезија. Пасивна манипулација главе и врата изазива болан одговор. Са напредовањем болести развија се још озбиљнија депресија или кома, хиперрефлексија екстремитета, слабост и неретко тетраплегија. У неким случајевима се запажа опистотонус, пролапсус трећег очног капка, затим конвулзивни напади. Диференцијално-дијагностички важно је искључити тетанус, хепатоенцефалопатију, протозоарни мијелитис, вирусни енцефалитис, а код ждребади синдром поремећене адаптације, затим метаболичке поремећаје као што су дисбаланси гликемије, електролита и ацидобазне равнотеже.

Са симптомима поремећаја централног нервног система се манифестују и две много чешће болести - тетанус и ботулизам, које нећемо посебно да истичемо због другачијег механизма и карактера оштећења нервног система за која су одговорни егзотоксини *Clostridim tetani* и *Clostridium botulinum*. Тицерову болест (*Clostridium piliformis*), на крају, такође прате нервни симтпоми, који су највероватније последица хепатичке енцефалопатије, с обзиром на примарна оштећења јетре (8).

Протозоарни мијелоенцефалитис коња

Протозоарни мијелоенцефалитис коња (енгл. *equine protozoal myeloencephalitis*) је тешко инфективно обољење мозга и кичмене мождине коња још увек недовољно рашчишћене етиологије. Најчешће се виђа код коња у Северној или Јужној Америци, односно коња који су допутовали са америчког континента, док је код домаћих коња у Европи редак.

Узрочник је протозоа *Sarcocystis neurona*. Многи детаљи везани за животни циклус овог паразита и начин инфекције, при томе, још увек нису разјашњени. У Сједињеним Америчким Државама више од 50% коња је позитивно на *Sarcocystis neurona*, мада је број оболелих далеко мањи. Не постоји расна ни полна предиспозиција. Обољевају коњи свих узраста, при чему се најчешће запажа код коња старих између једне и шест година. Протозоарни мијелоенцефалитис није примећен код магараца ни мула. Већина случајева се јавља током пролећних и летњих месеци и то нарочито међу тркачким и такмичарским коњима. Коњи се по свему судећи инфицирају уношењем хране и воде контаминиране спороцистама, које у перинеуралним ткивима подлежу асексуалној мултипликацији после чега доспевају у нервно ткиво. Како се код коња не развијају инфективне саркоцисте, коњи нису ни на који начин инфективни за друге животиње. Основни резервоар за *Sarcocystis nerurona* су највероватније опосуми, који се инфицирају ингестијом меса прелазних домаћина у коме се налазе саркоцисте, при чему у цревима опосума долази до њиховог развића и брзог излучивања спороциста у спољашњу средину путем фецеса.

Симптоми протозоарног мијелоенцефалитиса коња су неспецифични. Код већине оболелих коња може се запазити атаксија, слабост и атрофија мишића (најчешће асиметрично), неретко уз промене у понашању. Како болест напредује све је очигледнији сензорни дефицит, депресија, локално знојење, хромост, дисфункција кранијалних нерава (парализа фарингеалних или фацијалних нерава), моноплегија и губитак рефлекса. Неуролошки симптоми су прогресивни, уз могућност стабилизације и задржавања асиметричне атрофије мишића (8).

Хепатичка енцефалопатија

Хепатичка енцефалопатија се дефинише као неуропсихијатријски синдром који се карактерише смањењем интелектуалних способности, поремећајем свести и других нервних функција код пацијената са узнапредовалим обољењима јетре. У ветеринарској литератури се овом синдрому већа пажња поклања тек последњих деценија и то најчешће у вези са урођеним аномалијама јетре, знатно ређе у вези са обољењима јетре. Енцефалопатија, уствари, настаје услед немогућности јетре да преузме и неутралише токсичне продукте из портне крви. До тога може да дође код тешких оштећења јетриног паренхима када хепатоцити нису у стању да неутралишу преузете токсине, или код порто-кавалних шантова, када портна крв са токсинима апсорбованим у цревима заобилази јетру (8).

Леукоенцефаломалација

Леукоенцефаломалација коња (*Equine leukoencephalomalacia - ELEM*) је добро документовано обољење изазвано микотоксином фумонисин Б пореклом из *Fusarium verticilloides* (раније *Fusarium moniliforme)*, гљивице која се налази у зрневљу житарица. Обољење се по правилу испољава после вишедневног храњења оваквом храном - пре свега плеснивим кукурузом (због чега се описује и као *moldy corn poisoning*). Чешће се запажа код млађих категорија коња - омади у доброј кондицији и карактерише високом стопом морталитета - после појаве првих клиничких симптома за 48 до 72 часа најчешће долази до угинућа. Узрок угинућа су иреверзибилне промене на мозгу за које су првенствено одговорни фумонизин Б1 и Б2 (19). Дијагноза се, сходно

томе, потврђује постмортем, налазом специфичних промена на мозгу и, наравно, доказивањем токсина и храни. Леукоенцефаломалација је била узрок више случајева угинућа коња у Војводини крајем прошле године.

Дегенеративна мијелоенцефалопатија коња

Дегенеративна мијелоенцефалопатија коња *(*енгл. *equine degenerative myelopathy)* је болест младих коња свих раса, премда са расно-фамилијарном предиспозицијом код неких линија апалуза, америчких касача и вероватно моргана. Сматра се да је болест повезана са дефицитом витамина Е, који се, опет, доводи у везу са дефицитном исхраном - мањком зелених хранива или са храњењем брикетима обрађеним високом температуром. Не могу се искључити ни токсични фактори - запажено је, рецимо, да се болест са већом учесталошћу јавља код коња држаних у дрвеним објектима у којима су дрвени елементи третирани инсектицидима. У основи се ради о прогресивној неуроаксоналној дистрофији и дегенерацији мозга и кичмене мождине, која првенствено доводи до абнормалности у кретању. Сматра се да је дегенеративна мијелоенцефалопатија у преко 20% случајева узрок атаксије код млађих коња (8).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Seino KK, 2007, Central nervous system infections. In. Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases, Saunders/Elsevier, St. Louis, 46-57. 2. Gibbs EPJ, Long MT, 2007, Equine alphaviruses. In. Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases, Saunders/Elsevier, St. Louis, 191-7. 3. Hinchcliff KW, 2007, Miscellaneous viral diseaseses. In. Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases, Saunders/Elsevier, St. Louis, 233-5. 4. Long MT, 2007, Flavivirus infections. In. Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases, Saunders/Elsevier, St. Louis, 198-206. 5. Long MT, 2007, Miscelaneous parasitic infections. In. Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases, Saunders/Elsevier, St. Louis, 57-8. 6. Đuričić B, Vasić A, Rogožarski D, Vojinović D, Elezović Radovanović M, Manić M, Prokić N, Ilić Ž, Novotny N, Gligić A, 2013, Seroepizootiological-epidemiological investigation and maping of West Nile infectionin the Repyblic of Serbia, Acta Veterinaria (Beograd), 63, 5-6, 569-79. 7. Gligić A, Đuričić B, 2011, Arbovirusi kod nas i u svetu, Medical Data, 3(4): 379-81. 8. Trailović D, 2011, Bolesti kopitara, Naučna KMD, Beograd, 9. Petrujkić T, Trailović D, Vuković D, Krstić V, Jordanović B, 1992, Present status and problems in reproduction in pure breed mares in Serbia in the ten last years, Proceedings of the first european simposium on horse reproduction, Bad Harzburg. 10. Trailović D, Rogan D, Todorović D, Jermolenko G, Milošević S, 1989, Ispitivanje etiopatogeneze i profilakse virusnog abortusa kobila na nekim ergelama engleskog punokrvnjaka Vet. glasnik, 43, 10, 839-46. 11. Trailović D, Petrujkić T, Jermolenko G, Trailović R, Sinovec Z, 1992, Neonatal mortality of Thoroughbred foals in Serbia from 1981 to 1991, Proceedings of first european simposium on horse reproduction, Bad Harzburg. 12. Petrović T, Blazqyez AB, Lypylović D, Lazić G, Escribano-Romero E, Fabijan D, Kapetanov M, Lazić S, Saiz JC, Monitoring West Nile virys (WNV) infection in wild birds in Serbia dyring 2012: first isolation and characterisation of WNV strains from Serbia, www.eyrosyrveillance.org. 13. Popović N, Milošević B, Urošević A, Polyga J, Lavadinović L, Nedeljković J, Jevtović Đ, Dylović O, Oytbreak of West Nile virys infection among hymans in Serbia, Aygyst to October 2012, www.eyrosyrveillance.org. 14. Epidemiological ypdate: End of West Nile virys transmission season in Eyrope. Eyropean centre for disease prevention and control, November 2013, http://www.ecdc.eyropa.ey/en/healthtopics/west_nile_fever/west-nile-fever_maps/index.aspx. 15. Richt JA, Grobner A, Herzog S, Garten W, Herden C, Borna disease. In. Sellon DC, Long MT, Eqyine infectioys diseases, Saynders/Elsevier, St. Loyis, 2007, 207-13. 16. Björnsdóttir S, Agustsdóttir E,

Blomström AL, Oström IL, Berndtsson LT, Svansson V, Wensman JJ, 2013, Serological markers of Bornavirus infection found in horses in Iceland, Acta Vet. Scand., published online Nov 1;55(1):77. doi: 10.1186/1751-0147-55-77. 17. Van Eeden C, Williams JH, Gerdes TGH, van Wilpe E, Viljoen A, Swanepoel, Venter M, Shuni virus as cause of neurologic disease in horses, Emerging Infectious Diseases, www.cdc.gov/eid, vol. 18, no. 2, Febryary 2012, 318-321. 18. Nowotny N, Bakonyi T, Weissenböck H, Seidel B, Kolodziejek J, Sekylin K, Lyssy H, 2013, West Nile virus infections in Europe - General features, Medical Sciences, 39, 123-4. 19. Domijan AA, Fumonisin B1, 2012, A neurotoxic mycotoxin, Arh. Hig. Rada. Toksikol., 63:531-44.

ХЕРПЕСВИРУСНИ МИЈЕЛОЕНЦЕФАЛИТИС КОЊА

Стефан Ђоковић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Херпесвирусни мијелоенцефалитис је вероватно најважније вирусно обољење мозга и кичмене мождине код коња у Европи. Најчешће се јавља као пропратна појава клинички важнијих поремећаја у репродукцији и респираторних форми. Херпесвирусне инфекције су раширене широм света, при чему су случајеви респираторних обољења, абортуса, неонаталних угинућа и неуоролошких поремећаја углавном описивани у већим запатима. Одређени значај има узраст: респираторне болести су карактеристичне за омад и млађа спортска грла, а нервни за ждребад и ждребне кобиле. Профилакса је најважнији облик борбе против херпесвирусних инфекција, па је тако неопходно карантинирати новопридошле коње и вршити редовну вакцинацију против херпесвирусних инфекција.

Кључне речи: коњ, херпесвирус, мијелоенцефалитис, ждребне кобиле

EQUINE HERPESVIRUS MYELOENCEPHALITIS

Stefan Đoković

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Equine herpesvirus myeloencephalopathy (EHM) is probably most important viral desease of brain and spinal cord in European horses. It apears usualy as sequel to clinically more important forms of herpes virus infections - reproductive, and respiratory forms. Herpes virus infections are world spread, and cases of respiratory symptoms, abortions and neurological signs are usually seen in larger groups horses. To some extent the age of the horses play some role: younger animals usually develop respiratory symptoms and neurological form is characteristic for foals and pregnant mares. Prophylaxis is most imprtant in control of herpes infections. Newcomers to a stable should be put in quorantine, and rest of horses should be regularily vaccinated.

Key words: horse, herpesvirus, myeloencephalitis, pregnant mares

Херпесвирусни мијелоенцефалитис је вероватно најважније вирусно обољење мозга и кичмене мождине код коња у Европи. Најчешће се јавља као пропратна појава, клинички важнијих поремећаја у репродукцији - побачаја ждребних кобила и неонаталних обољења изазваних интраутерином или раном перинаталном (екстраутерином) инфекцијом. Херпесвирусне инфекције су раширене широм света, при чему су случајеви респираторних обољења, абортуса, неонаталних угинућа

и неуоролошких болести углавном описивани у већим запатима, првенствено код енглеских пунокрвних коња. То међутим не значи да постоји било каква расна или полна предиспозиција. Одређени значај има узраст: респираторне болести су карактеристичне за омад и млађа спортска грла, а нервни за ждребад и ждребне кобиле.

Инфекција се преноси аерогено или директним контактом. Неки аутори чак тврде да је директан контакт значајнији начин преношења од аерогеног. Најчешће обољевају млађе категорије коња или пак коњи под стресом, док старији коњи обољевају са блажим симптомима. Респираторни симптоми при томе могу да претходе абортусима или нервним симптомима, мада се ови облици могу јавити и без претходно манифестних респираторних симптома. Појава нервних облика је чешћа у повременим „олујама" абортуса и неонаталних угинућа, нарочито у запатима где је херпесвирус био латентно присутан.

Узрочник херпесвирусног мијелоенцефалитиса је херпесвирус 1 (EHV 1), који је пре свега познат као узочник респираторних инфекција горњих дисајних путева и абортуса ждребних кобила. Према класификацији светског комитета за таксономију вируса (ICTV) постоји укупно 9 типова вируса, при чему су коњски херпесвирус тип 1 и тип 4 (EHV-1 и EHV-4) два веома слична патогена свих животиња из рода копитара (*perisodactyla*), као што су зебре, магарци и коњи. На основу њихове блиске генетске и антигене повезаности, вируси EHV-1 и EHV-4 су сврстани у род *Varicellovirus*, субфамилија *Alphaherpesvirinae*, фамилија *Herpesviridae*.

Све до 1980. године вируси EHV-1 и EHV-4 су се сматрали истим вирусом - узрочником ринопнеумонитиса коња, све док Whalez и сар. 1981. године нису утврдили да су то уствари два вируса, при чему је вирус EHV-1 првенствено одговоран за абортусе ждребних кобила и енцефаломиелитисе, док је вирус EHV-4 првенствено одговоран за изазивање респираторних обољења, посебно код млађих животиња.

Врата инфекције за оба вируса су респираторни органи, кроз које вирус улази у организам и долази у контакт са тропним ткивима. Прве литичке репликације се управо одигравају у респираторном епителу. Након примарне репликације у назалној мукози вирус EHV-1 (али не и EHV-4) је способан да инфицира леукоците присутне у помоћном лимфоидном ткиву, који су одговорни за настанак виремије (*leukocyte-associated viremia*). На тај начин се вирус EHV-1 шири по организму и може да стигне до најмањих крвних судова репродуктивних органа кобиле или централног нервног система, првенствено кичмене мождине. Вирус може да прође плацентално баријеру и да инфицира плод, у ком случају доводи до последичног абортуса. Утврђено је да је могуће да дође до абортуса чак и када плод остане неинфициран.

Лезије на централном нервном систему су последица инфекције ендотелијалних ћелија и последичне инфламаторне реакције, која доводи до исхемичне тромбозе и малнутриције нервног ткива, што доводи до отока аксона и успореног везикуларног транспорта. У принципу реверзибилна оштећења неурофизиолошких процеса у кичменој мождини доводе до читавог низа клиничких манифестација, почев од благе атаксије до потпуне параплегије.

Пошто вирус EHV-1 изазива мултифокалне лезије на централном нервном систему, долази до значајног варирања у клиничким симптомима. Из тог разлога, диференцијално дијагностички у обзир долази велики број обољења као што су, на пример, протозоални мијелоенцефалитис, трауматске повреде централном нервном систему, *wobbler*-синдром, миграције паразита, неуритис *cauda-equina*, тогавирусни енцефалитис, беснило, дегенеративна мијелопатија, ботулизам и читав низ тровања.

Клиничари морају да посумњају на инфекцију херпес вирусима у случају изненадних појава неуролошких симптома код коња. Клинички симптоми који се јављају код оболелих коња укључују атаксију, парезу, инконтиненцију урина. Такође, у анамнези може да се утврди скора појава температуре, побачаја или респираторних болести у штали.

Мијелоенцефалитис изазван херпесвирусом јавља се у акутном облику, уз видно прогресивно погоршавање током 36 до 48 часова и постепено испољавање карактеристичних симптома који најчешће указују на дисфункцију кичмене мождине, ређе кранијалних нерава и мозга. У почетку болести може се запазити повишење телесне температуре, неретко до 41°C. Каснији симптоми варирају од лаганих поремећаја у ходу до изражене атаксије и падања на задњи део тела (псећи став), које напредује ка лежању наузнак. Са развојем парализе све већи проблем представља инконтиненција урина - због немогућности уринирања долази до дистензије бешике. Тонус репа се постепено смањује, уз смањење осетљивости у перинеалној регији и констипацију, која представља следећу компликацију. Церебрални симптоми (депресија, поремећај функције кранијалних нерава, или вестибуларни знаци) јављају се знатно ређе. Оболели коњи имају добар апетит. У каснијем току може доћи до стабилизације клиничке слике или напредовања, због лежања наузнак развија се бронхопнеумонија, декубитуси итд.

За постављање дијагнозе, анамнеза и клинички налаз могу послужити само као основа за сумњу на херпесвирусну инфекцију. Специфичних хематолошких и биохемијских промена које би указале на EHV-1 инфекцију нема. Анализом ликвора може се уочити ксантохромија са значајним повећањем концентрације укупних протеина (100 до 500 g/l). Дијагноза се потврђује изолацијом вируса из носа, транстрахеалног аспирата, цереброспиналног ликвора или ткива ендометријума. Изолација вируса генерално није једноставна, посебно из централног нервног система, што се може објаснити и везивањем вируса за антитела. Такође резултати изолације вируса могу да буду негативни као последица престанка ширења вируса у моменту када су се нервни симптоми појавили. Већа је вероватноћа изолације вируса од коња који су у контакту са оболелом животињом, а који се највероватније налазе у продромалној фебрилној фази пре него се нервни знаци развију. Такође се дешава да старије животиње буду носиоци вируса без изражених клиничких симптома.

Веома користан и у сваком случају једноставнији је серум-неутрализациони тест. Четвороструко или веће повећање титра антитела у парним серумима узетим у размаку од 10 до 14 дана готово са сигурношћу указује на инфекцију херпесвирусом. Диференцијално дијагностички треба искључити протозоарни мијелоенцефалитис, беснило, *wobbler* синдром, трауму, ненормалну миграцију паразита, дегенеративну мијелоенцефалопатију итд.

Специфична терапија за EHV-1 не постоји. Потпорна нега је од суштинског значаја. Дубока стеља, лаксативи, клизме, мануелно пражњење ректума, катетеризација мокраћне бешике и антимикробна терапија секундарних инфекција (бронхопнеумонија, циститис) су део обавезног протокола за лечење херпесвирусног енцефаломијелитиса. Употреба кортикостероида у акутној фази (дексаметазон, 0,1-0,25 mg/kg два пута дневно током три дана) је контроверзна, премда је највећи број клиничара оправдава у случају елиминисања сумње на бактеријске инфекције или уз истовремену контролу бактеријских инфекција применом антибиотика. Кортикостероиди такође имају депресиван ефекат на лимфоците, што може бити непожељно у вирусним инфекцијама попут херпесвирусних. Због сумње да су лезије централног нервног система имунолошки посредоване, опет, вакцинација коња са неуролошким симптомима би могла да погорша болест.

Флуниксин меглумин је индикован у третману васкулитиса централном нервном систему па се користи и у терапији херпесвирусног мијелоенцефалитиса. Диметил сулфоксид се такође користи код коња са траумом централног нервног система или инфламаторним обољењем централног нервног система, као што је херпес вирусни мијелоенцефалитис. Апликује се и.в. у количини од 0,5 g/kg као 10-20% раствор у физиолошком раствору, или 5% декстрози током 3 дана. Због великог ризика од цистититса и других секундарних бактеријских инфекција, а поготово код употреба

кортикостероида, препоручује се апликовање антибиотика широког спектра, као што су комбиновани (потенцирани) сулфонамиди или цефтиофур. Употреба ацикловира, синтетског аналога пуринских нуклеотида, са израженом инхибиторном активношћу против хуманих херпесвируса се однедавно користи у терапији и превенцији EHV-1 инфекције. Међутим, због слабе биолошке расположивости након пероралног узимања и високе цене прелази се на коришћење других лекова. Боље резултате даје валацикловир у дози 30 mg/kg два пута дневно због много боље биолошке расположивости (30-40%).

Независно од тежине болести, уз симптоматску и потпорну терапију оболеле животиње се најчешће опорављају у периоду од неколико дана до неколико месеци, са ретким резидуалним последицама. Комплетан опоравак животиња се, на крају, често користи као аргумент за потврду херпесвирусне инфекције.

Табела 1. Уобичајени лекови у третману херпесвирусног мијелоенцефалитиса коња

Лек (група)	Доза	Начин и дужина употребе
Антиинфламаторни лекови		
Флуниксин меглумин	1,1 mg/kg	2 x п.о., и.м. или и.в. 3-5 дана
Дексаметазон	0,05-0,25 mg/kg	Дневно и.м. или и.в. 3 дана
Преднисолон ацетат	1-2 mg/kg	Дневно п.о. 3 дана
Лекови који везују слободне радикале		
ДМСО	0,5-1 g/kg	Дневно, и.в. или п.о. 3 дана
Антимикробни лекови		
Триметоприм–сулфа	30 mg/kg	2 x дневно, п.о., 5–7 дана
Цефтиофур	2,2 mg/kg	1-2 x дневно, и.м. или и.в., 5-7 дана
Антивирусни лекови		
Ацикловир	10-20 mg/kg	3 до 5 x дневно, п.о., дана
Валацикловир	30-40 mg/kg	2 до 3 x дневно, п.о., дана

Имунопрофилакса - вакцинација против херпесвирусних инфекција и карантинирање новопридошлих животиња су мере које се препоручују у сузбијању ове болести. Постојеће вакцине, међутим, имају слабију профилактичку вредност у односу на друге вакцине и не дају квалитетан имунолошки одговор. Искуства са терена говоре да је вакцинација ефикаснија у сузбијању респираторних обољења и у превентиви абортуса, него у сузбијању мијелоенцефалитиса. У неким радовима се чак наводи да вакцинација представља фактор ризика за настајање EHM. За вакцинацију се углавном препоручује инактивисана вакцина (обично садржи и EHV-1 и EHV-4), при чему се ждребад вакцинише свака три месеца, одрасла грла два пута годишње, а ждребне кобиле три пута за време гравидитета: у 5, 7. и 9. месецу. Стрес (транспорт, одбијање од сисе, кастрација, ждребљење) и егзогена администрација кортикостероида могу потенцирати репликацију латентно присутног вируса, због чега се посебна пажња поклања избегавању стресних фактора.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bresgen C, Laemmerb M, Wagner B, Osterrieder N, Damiani AM, 2012, Serological responses and clinical outcome after vaccination of mares and foals with equine herpesvirus type 1 and 4 (EHV-1 and EHV-4) vaccines, Veterinary microbiology, 8. 2. Pusterlo N, Wilson D, Madigan J, Ferraro G, 2009, Equine herpesvirus-1 myeloencephalopathy: A review of recent developments, The Veterinary Journal, 180, 279-89. 3. Траиловић Д, 2011, Болести копитара, Научна КМД, Београд.

ЛЕУКОЕНЦЕФАЛОМАЛАЦИЈА КОЊА: ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

Зоран Петеј[1], Драгиша Траиловић[2]

[1]Ветеринарска амбуланта „Попов - Ветерина“, Ковиљ - Нови Сад; [2]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

У децембру 2013. године у једној ергели липицанера близу Новог Сада регистрован је већи број случајева обољења и угинућа коња, праћених нервним симптомима. Болест је углавном регистрована код млађих категорија у изванредној кондицији. Све оболеле и угинуле животиње су потицале из истог крда које је држано у истом испусту. Обдукцијом једног од угинулих грла потврђена је леукоенцефаломалација, у узорцима хране је потврђено присуство фумонизина, при чему је након промене хране дошло до прекида угинућа.

Кључне речи: коњи, леукоенцефаломалација, микотоксикозе, фумонизин

EQUINE LEUKOENCEPHALOMALACIA: A CASE REPORT

Zoran Petej[1], Dragiša Trailović[2]

[1]Veterinary ambulance „Popov - Veterina“, Kovilj - Novi Sad; [2]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

In December 2013 an outbreak of neurological disease and sudden death in Lippizaner horses occurred in a farm located near the Novi Sad in Vojvodina. The disease is usually registered in the younger horses in excellent condition. All diseased and dead animals were originated from the same herd that were held on the same pasture. Leukoencephalomalacia was confirmed by autopsy of one dead horse and in food samples was confirmed the presence of fumonisin. After changing the food was no more deaths.

Key words: horses, leukoencephalomalacia, mycotoxicosis, fumonisin

УВОД

Леукоенцефаломалација коња (енгл. *equine leukoencephalomalacia* или *moldy corn poisoning*) је обољење централног нервног система копитара - коња, магараца и мула, изазвано фумонизином - микотоксином који примарно продукују гљивице *Fusarium verticilloides* (раније *Fusarium moniliforme*) и *Fusarium proliferatum*. Јавља се као последица уношења плесниве хране, као што је кукуруз, обично током неколико недеља (1). *Fusarium verticilloides* лучи три токсина из групе фумонизина: фумонизин B_1, B_2 и B_3. Прва два имају сличну токсичност, док је трећи (FB_3) практично нетоксичан (1,2). Клинички знаци интоксикације коња укључују апатију и типичне неуролошке симптоме: сомноленцију, надирање на препреке, мањежно кретање, слепило и

парализа. У случају оштећења јетре може се видети иктерус. Смрт може да наступи за неколико часова, до 1-2 дана, од појаве првих симптома. На обдукцији се могу видети карактеристичне лезије на мозгу - углавном унилатерална коликвациона некроза беле масе мозга, премда се у појединим случајевима може видети и асиметрична билатерална некроза. Некроза јетре се запажа код неких коња и она је слична афлатоксикози (1).

ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

У једној ергели липицанера је половином децембра 2013. године нагло избила необична болест праћена нервним симптомима. Према изјави власника приликом првог позива, једно грло је угинуло са "симптомима колике", да би после два дана приметио исте симптоме код другог коња. Радило се о омици старој три године која је непомично стајала уз ограду испуста, далеко од осталих коња, са главом спуштеном надоле, да би се приликом покушаја да јој се приђе нагло узнемирила и почела да заноси задњи део тела. У моменту прегледа је била афебрилна, пулс је био нормалан, уста су била пуна густе пљувачке измешане са остацима хране. Након пуштања покушала је да се удаљи уз видну атаксију, да би убрзо пала. Предузета је симптоматска терапија (инфузија 5% раствора глукозе, флуниксин меглумин и пеницилин), да би упркос томе за два сата угинула.

Наредних дана су регистровани нови случајеви, у свим случајевима се радило о младим грлима (2-3 године), у изванредној кондицији. Клинички симптоми су у већини случајева били карактеристични: оболела грла су налажена изван крда - издвојено, стајала су спуштене главе као да дремају, приликом приласка се стицао утисак да не виде (чини се само на једно око), при чему је сваки покушај манипулације (хватање и преглед) провоцирао узнемиреност - отимање или бежање са атаксијама и некоординисаним кретањем, налетањем на препреке, кретањем у круг, понекад са шкргутањем зубима и појавом пене на устима. У случају пада животиње по правилу нису биле у стању поново да устану. Овакво стање је трајало кратко, животиње су угињавале са симтомима шока. У атипичним случајевима је регистрована само сомноленција.

Сва грла су била афебрилна, нека су угињавала у року од сат времена од појаве (уочавања) првих симптома, пре клиничког прегледа и евентуалног предузимања терапије, а нека 1-2 дана касније. Терапија је, иначе, била потпорна (интравенска инфузија раствора глукозе и електролита, високе дозе прокаин-бензил пеницилина, нестероидна антиинфламаторна средства). У два случаја је предузето пуштање крви што је у кратком року довело до побољшања - ублажавања нервних симптома. Ова два грла су преживела, при чему је до повратка нервних функција протекло око два месеца. Апетит је сво време био очуван.

У немогућности да се уради комплетан клинички преглед (узорци крви за лабораторијска испитивања узети су само од једног коња (угинуо наредног дана), при чему је само у једном случају урађена обдукција, затражена је стручна помоћ од Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Како је истог дана још једно грло испољило типичне симптоме болести, у договору са Катедром за болести копитара, меосоједа, живине и дивљачи, Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду, одмах су узети узорци крви за лабораторијска испитивања, који су заједно са главом (грло је угинуло убрзо након узимања крви) и узорцима хране послани на факултет. Због сумње у тровање храном (коњи су уз ливадско сено као концентровани додатак добијали мешавину млинског отпада: кукурузне прекрупе, пшеничних мекиња и глутена са сунцокретовом сачмом), наложено је да се одмах избаци из оброка концентровани део и да се до завршетка анализа коњи хране само сеном. Подаци о важнијим запажањима код неких од опсервираних коња, клиничким манифестацијама, терапији и исходу болести, приказани су у табели 1.

Табела 1. Клиничка слика, терапија и исход обољења неких од опсервираних коња

Подаци о грлу	Клиничка слика	Терапија	Исход болести
Омица, 3 године	Типична	Глукоза 5%, пеницилин и флуниксин меглумин	Угинула после 2 сата од почетка терапије
Оме, 2,5 година	Типична	Рингеров раствор и глукоза 5%	Инфузија испровоцирала угинуће
Оме, 2,5 година	Типична	Рингерово раствор и глукоза 5%	Инфузија испровоцирала угинуће
Оме, 2 године*	Типична	-	Угинуо приликом покушаја прегледа
Омица, 2 године	Типична	-	Угинула приликом покушаја прегледа
Омица, 3 године	Типична	Испуштено 5 l крви + флуниксин и пеницилин	Преживела
Омица, 3 године	Типична	Испуштено 5 l крви + флуниксин и пеницилин	Преживела
Оме, 3 године**	Типична	-	Угинуо за време прегледа
Кобила	Атипична (сомноленција)	Дексаметазон, пенцилин, витамин Б1, НСАИЛ…	Преживела
Кобила	Атипична (сомноленција)	Дексаметазон, пенцилин, витамин Б1, НСАИЛ…	Преживела

*Коњ 1 - узорак крви анализиран у Новом Саду; **Коњ 2 - узорак крви и глава послати на ФВМ у Београду

После повлачења концентрованог додатка хране престала су угинућа - регистровано је још неколико случајева са атипичном клиничком сликом - сомноленцијом, при чему су сви преживели, уз већ описану терапију (дексаметазон, пеницилин, витамин Б1 и флуниксин). Укупно је према речима власника угинуло 13 коња у старости од 2-3 године. Могуће је да је број атипичних случајева био већи - власник описује известан број случајева „атипичних колика“ код којих је доминирала поспаност и заношење у ходу.

Од два грла су узети узорци крви за лабораторијски преглед - први узорак је анализиран у Научном институту за ветеринарство у Новом Саду (коњ 1), а други на Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду (коњ 2). Налази указују на одсуство значајнијих промена у крвној слици, повећање концентрације укупних протеина и глобулина, укупног билирубина, затим на повећање серумске активности LDH и CK. У оба случаја је добијен позитиван налаз на West Nile вирус.

Табела 2. Резултати лабораторијских испитивања узорака крви

Параметар	Коњ 1	Коњ 2
Еритроцити (10^{12}/l)	9,74	8,86
Хемоглобин (g/l)	157	140
Хематокрит (%)	36,45	37,99
Леукоцити (10^9/l)	10,35	9,91
Лимфоцити (10^9/l)	-	0,47
Гранулоцити (10^9/l)	-	8,92
У. протеини (g/l)	-	75
Албумини (g/l)	32	27
Глобулини (g/l))	-	49
Билирубин (μmol/l)	44	40
Глукоза (mmol/l)	-	8,30
Уреа (mmol/l)	-	6,1
Креатинин (μmol/l)	-	188
Холестерол (mmol/l)	-	3,18
ALP (U/l)	-	258
AST (U/l)	-	385
CK (U/l)	-	>350
LDH (U/l)	-	>2000
Калцијум (mmol/l)	1,45	2,81
Фосфор (mmol/l)	1,17	1,26
West Nile вирус (ELISA)	Позитиван	Позитиван

Патохистолошким прегледом главе једног од угинулих коња утврђена је изражена леукоенцефаломалација, при чему је узорцима хране потврђено присуство фумонизина B_1 и B_2. Млински отпад у коме је откривено присуство фумонизина су, према речима власника, коњи добијали од почетка септембра - што значи да је до првих случајева угинућа прошло нешто више од 3 месеца. Како је наведени млински отпад током ова три месеца набављан у више наврата, није познато да ли је фумонизин био присутан у свој набављеној количини.

ДИСКУСИЈА

Леукоенцефаломалација коња изазвана фумонизином описана је у више земаља света, првенствено у вези са ингестијом плеснивог кукуруза или производа од кукуруза, ређе других житарица (3-9). До сада је, иначе, изолован и описан велики број фумонизина, од којих су најважнији FB_1, FB_2 и FB_3. Фумонизин B_1 и B_2 се, при томе, најчешће доводе у везу са обољењима коња (1-3,10).

Фумонизин је одговоран за појаву тешке коликвационе некрозе субкортикоалног дела беле масе мозга код коња, најчешће са смртним исходом, при чему се код свиња доводи у везу са едемом плућа, а код људи са канцером једњака. Светска здравствена организација је, иначе, још 2002. године ставила фумонизин на листу потенцијалних карциногена за човека, на основу карциногених ефеката уочених код лабораторијских глодара, пре него што је доведен везу са езофагијалним канцером код људи (1,10).

Патогенеза леукоенцефаломалације коња није у потпуности разјашњена. Фумонизин највероватније доводи до инхибиције ензима сфингозин-N-ацилтрансферазе, који учествује у синтези сфинголипида - сама оштећења мозга су последица акумулације сфингозина и ацил-CoA који представљају супстрат за сфингозин-N-ацилтрансферазу (1,7).

Коњи су изгледа најосетљивији на фумонизин, интоксикација фумонизином B_1 је дозно зависна, при чему се случајеви тровања обично јављају када је концентрација FB_1 већа од 10.000 μg/kg. Клинички симптоми су описани након различитог периода узимања контаминиране хране: од 7 до 180 дана, при чему су у многим случајевима описани случајеви изненадних угинућа без претходних симптома или чак након сасвим благих симптома оштећења централног нервног система (3-9). Код коња који су испољили клиничке симптоме и преживели, најчешће су касније видљиве последице (1).

Wilkins и сарадници (9) описују два случаја потпуног опоравка коња са типичном клиничком сликом леукоенцефаломалације, истичући значај потпорне терапије - пре свега антиупалних медикамената и лекова за контролу едема мозга. Они су 6 коња лечили применом диметилсулфоксида, дексаметазона, флуниксин меглумина и тиамина. На едем мозга код коња са леукоенцефаломалацијом указују и други аутори (1), због чега је примена дексаметазона и других лекова за контролу едема апсолутно логична. Позитивни ефекти пуштања крви код две кобиле такође потврђују значај контроле едема мозга у патогенези леукоенцефаломалације. Нагло погоршање и угинуће на-кон интравенске инфузије течности, при томе, може такође да се припише едему мозга.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Giannitti F, Sain Diab S, Pacin AM, Barrandeguy M, Larrere C, Ortega J, Alejandro Uzal F, 2011, Equine leukoencephalomalacia (ELEM) due to fumonisins B1 and B2 in Argentina, Pesq. Vet Bras, 31, 5 (Rio de Janeiro, http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000500007). 2. Domijan AA, 2012, Fumonisin B1: A neurotoxic mycotoxin, Arh Hig Rada Toksikol; 63:531-44. 3. Yiannikouris A, Jouany J, 2002, Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review, Animal Res, 51, 2, 81-99. 4. Goel S, Schumacher J, Lenz SD, Kamppainen BW, 1996, Effects of Fusarium moniliforme isolates on tissue and serum sphingolipid concentrations in horses, Vet Hum Toxicol, 38, 4, 265-70. 5. Naranjo Cerillo G, Soler Rodriguez F, Gomez Gordo L, Hermoso de Mendoza Salcedo M, Roncero Cordero V, 1996, Clinical and pathological aspects of an outbreak of equine leukoencephalomalacia in Spain, Zentralbl Veterinarmed A, 43, 8, 467-72. 6. Rosiles MR, Bautista J, Fuentes VO, Ross F, 1998, An outbreak of equine leukoencephalomalacia at Oaxaca, Mexico, associated with Fumonisin B1, J Vet Med A, 45, 1-10, 299-302. 7. Ross PF, Ledet AE, Owens DL, Rice LG, Nelson HA, Osweiler GD, Wilson TM, 1993, Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatosis, and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisins, J Vet Diagn Invest, 5, 1, 69-74. 8. Trailović D, 2011, Bolesti kopitara, Naučna KMD, Beograd. 9. Wilkins PA, Vaala WE, Zivotofsky D, Twitchell ED, 1994, A herd outbreak of equine leukoencephalomalacia, Cornell Vet, 84, 1, 53-9. 10. Fumonisin B1, http:// en.wikipedia.org/ wiki/Fumonisin_B1.

СЕРОПРЕВАЛЕНЦА ИНФЛУЕНЦЕ КОД КОЊА НА ТЕРИТОРИЈИ ВОЈВОДИНЕ

Михајло Ердељан, Ивана Давидов, Зорана Ковачевић, Младен Ињушки

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Инфлуенца је код копитара забележена у литератури још јако давно. Ово обољење изазивају два субтипа инфлуенца А вируса, H7N7 и H3N8. Последња потврђена епидемија субтипа H7N7 је била 1979. године, и овај субтип се сада сматра или искорењеним или циркулишућим на ниском нивоу. H3N8 субтип је уобичајени узрочник инфекције инфлуенцом код копитара. Коњи се од инфлуенце обично брзо опораве у некомпликованим случајевима. Клинички знаци су карактеристични за респираторни синдром и најчешће су манифестни у виду пирексије, диспное, кашља, серозног исцетка из носа, анорексије, депресије и инапетенце. Често се, ипак, дешава да услед компликације са секундарном бактеријском инфекцијом даљи ток болести води ка пнеумонији, па чак и смрти. Као последица инфлуенце може се развити и неко од хроничних респираторних обољења, као што су RAO, тешко дисање, IAD или COPD.

Циљ овог истраживања је покушај да се процени серопреваленца вируса инфлуенце копитара (H3N8 и H7N7) код коња на територији Војводине. У огледу је коришћено 50 одраслих јединки старости од 2 до 22 године са територије Војводине. Тестом инхибиције хемаглутинације код коња је откривено да код девет јединки, односно 18%, постоји четвороструко или веће повећање титра антитела против H3N8 а такође код седам јединки постоји четвороструко повећање титра антитела против H7N7 односно 14%, с тим да се код четири јединке, односно 8%, добија позитиван налаз повећања титра антитела и за H3N8 и за H7N7.

Кључне речи: инфлуенца коња, HI тест, H7N7, H3N8

SEROPREVALENCE OF INFLUENZA IN HORSES IN VOJVODINA

Mihajlo Erdeljan, Ivana Davidov, Zorana Kovačević, Mladen Iđuški

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

Equine influenza is recorded in the literature a long time ago. This disease is caused by two subtypes of influenza A viruses, H7N7 and H3N8. The last confirmed outbreak of H7N7 subtype was in 1979, and this subtype is now considered to be either eradicated or circulating at a low level. H3N8 subtype is a common cause of infection with equine influenza. Horses of influenza usually recovers quickly in uncomplicated cases. The clinical signs are characteristic of the respiratory syndrome and are usually manifested in the form of pyrexia, dispnoe, cough, serous nasal discharge, anorexia, depression, and inappetence. Often, however, it happens that due to complications of secondary bacterial infection with the further course of the disease lead to pneumonia and even to death. As a consequence of the influence can be developed and from chronic respiratory diseases such as radioactive, wheezing, IAD or COPD.

The aim of this study is an attempt to assess the seroprevalence equine influenza virus (H3N8 and H7N7) in horses in Vojvodina. The experiment used 50 adult individuals aged 2 to 22 years in Vojvodina. Haemagglutination inhibition test in horses discovered that nine horses, or 18%, have fourfold or greater increase in antibody titer against H3N8 and also in seven horses there is a fourfold increase in titer of antibody against the H7N7 and 14% with the proviso that when the four specimens and 8% receives a positive result of increasing antibody titers against H3N8 and H7N7.

Keywords: horses influenza, HI test, H7N7, H3N8

УВОД

Инфлуенца је код копитара забележена у литератури још јако давно, вероватно још у Античкој Грчкој. Поуздани записи потичу из 1874. године (1).

То је озбиљно, акутно респираторно обољење са карактеристичном клиничком сликом.

Ово обољење изазивају два субтипа инфлуенца А вируса (EIV - еквини инфлуенца вирус) - H7N7 (раније познат као тип 1) и H3N8 (раније познат као тип 2) из фамилије *Orthomyxoviridae*, са назнаком да H7N7 вирус није изолован код копитара већ дуже време (2). H7N7 субтип је први пут изолован код коња у Чехословачкој 1956. године (Prague/56), а H3N8 субтип је први пут изолован код коња у Мајамију 1963 године.

Последња потврђена епидемија субтипа H7N7 је била 1979. године, и овај субтип се сада сматра или искорењеним или циркулишућим на ниском нивоу у малом броју географских области (3). H3N8 субтип је уобичајени узрочник инфекције инфлуенцом код копитара широм света, посебно у областима где се вакцинација рутински не изводи (4).

Инфлуенца А вирус је високо инфективни респираторни патоген за копитаре (5,6) и најчешће се брзо шири у запатима имуно некомпетентних копитара. Морбидитет износи 10-100%, а морталитет 0,5-10% (7).

Клинички знаци су карактеристични за респираторни синдром и најчешће су манифестни у виду пирексије, диспное, кашља, серозног исцедка из носа, анорексије, депресије и инапетенце. Здрави коњи се од инфлуенце обично опораве, у некомпликованим случајевима, у року од 10 дана, а једини симптом који може да траје дуже је кашаљ. Често се, ипак, дешава да услед компликације са секундарном бактеријском инфекцијом даљи ток болести води ка пнеумонији, па чак и смрти. Као последица инфлуенце може се развити и неко од хроничних респираторних обољења, као што су RAO, тешко дисање, IAD или COPD.

Због већег морбидитета и морталитета упутно је примењивати ефикасну вакцинацију против инфлуенце, а приликом лечења користи и третман против плућних влашаца, уз терапију антибиотицима у циљу сузбијања секундарне бактеријске бронхопнеумоније (8). Ово обољење је веома контагиозно и преноси се најчешће у директном контакту. Код коња обично пролази без значајних последица али може довести до губитка радне способности, па чак и до угинућа.

Вирус инфленце је инфективан и за друге копитаре. Показало се да магарци оболе са тежом клиничком сликом. Неки аутори наводе да постоји и релативно висока стопа смртности код магараца (9).

Брза и поуздана дијагностика, односно изолација сумњивих јединки, представљају прву линију одбране против епидемија инфлуенце копитара. Препознавање клиничких знакова (грозница, депресија, оштар кашаљ и секрет из носа), уз познавање епизотиолошких података, даје основ за рано откривање инфекције. У неким случајевима кашаљ и брзо ширење симптома кашља у групи коња, који су или невакцинисани против вируса инфлуенце или нису били у контакту са вирусом инфлуенце, могу јасно указати на инфлуенцу (10).

Инфекција са вирусом инфлуенце може се открити серолошким тестовима на упареним серумима и праћењем пораста титра специфичних антитела. Први од два упарена узорка серума узима се већ у току болести (акутне фаза) и то што раније могуће, а други узорак серума се узима након 2 недеље (рековалесцентна фаза).

Титар антитела може се мерити коришћењем неколико тестова и то тестом инхибиције хемаглутинације (HI), вирус неутрализујућим тестом (VN), или радијалном хемолизом (SRH). Према упутствима OIE постоје две једноставне методе, а то су тест инхибиције хемаглутинације (HI) и сингл радијална хемолиза (SRH), сваки једнако ефикасан и у широкој употреби, али се може користити и тест фиксације комплемента (CF) који није у општој употреби (11).

Постоји већи број истраживања серопреваленце код копитара уопште. У новије време у оваква истраживања укључују се и друге врсте копитара осим коња, као што су магарци, муле и пони коњи. Тако серопреваленца код копитара у Пакистану износи 12% (12), односно 9,4% у Турској (13). У нашој земљи главни акценат је остао углавном на коњима, мада постоје и подаци везани за магарце. Једно од таквих истраживања је спроведено током епидемије из 2004. године, када је забележено обољевање великог броја коња (380) од инфлуенце са два угинула коња и са великим бројем коња који су повучени из тренинга (14). Каснија истраживања која су укључивала и магарце долазе до позитивног налаза специфичних антитела у 17 од 64 узорка (26,5%) испитиваних крвних серума магараца са локалитета Засавица, и то на серотипове H5N1 и H7N2 вируса авијарне инфлуенце (15).

Према OIE, код тестирања парних узорака свако четвороструко и веће повећање титра антитела се сматра позитивним налазом (11). С друге стране као гранична вредност позитивног HI теста може се узети вредност титра ≥10 (16).

Циљ овог истраживања је покушај да се процени серопреваленца вируса инфлуенце копитара (H3N8 и H7N7) код коња на територији Војводине.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У огледу је коришћено 50 одраслих јединки старости од 2 до 22 године са територије Војводине. Радило се о грлима различитог порекла, кондиције и намене. Узорци су узимани од животиња које се држе у различитим условима тј. у индивидуалном држању са 1-4 животиње, на мини ергели од 6 грла и у коњичком клубу са 13 грла, са напоменом да од укупног броја коња, 9 грла иде редовно током периода вегетације на испашу у рит, где је у контакту са великим бројем других животиња, како копитара, тако и птица, свиња и говеда. Све животиње су у могућем контакту са птицама јер се држе у отвореним или полуотвореним објектима.

Пре узорковања, животиње су подвргнуте клиничком прегледу са акцентом на респираторни тракт. Клинички преглед је укључивао адспекцију, аускултацију и мерење телесне температуре.

Узорци крви за серолошке претраге узимани су вене пункцијом *v. jugularis* у вакутајнере од 10 ml у којима је крв остављена да спонтано коагулише. Потом је коагулисана крв центрифугирана, на 3000 обртаја у минути током 10 минута, како би се издвојио серум. Серуми су микропипетом пребачени у епендорф епрувете од 1,5 ml и замрзавани до лабораторијских анализа.

Тест инхибиције хемаглутинације рађен је према упутствима *OIE Terrestrial Manual* 2012. У тесту су коришћени специфични анти H3N8 и H7N7 серуми. Пошто се радило о парним узорцима серума, позитивним резултатом се сматрало четвороструко или веће повећање титра антитела, односно грла са титром ≥10.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Клиничке симптоме, од оних који се могу довести у везу са инфлуенцом, приликом првог прегледа, показало је 6 грла и то пре свега серозан исцедак из носа. Такође, по речима власника, још 6 грла је показивало клиничке симптоме који се могу довести у везу са инфлуенцом у ранијем периоду и то углавном у виду кашља. Приликом другог прегледа ови симптоми су или нестали или су били смањени.

Тестом инхибиције хемаглутинације код коња, откривено је да код девет јединки, односно 18%, постоји четвороструко или веће повећање титра антитела против H3N8, а такође код седам јединки постоји четвороструко повећање титра антитела против H7N7, односно 14%, с тим да се код четири јединке, односно 8%, добија позитиван налаз повећања титра антитела и за H3N8 и за H7N7.

Од тога, само код једног грла са серозним исцетком постоји позитиван налаз парног HI теста на H3N8. Остала серолошки позитивна грла су била клинички негативна.

Ако се као гранична вредност титра узме титар антитела ≥10, позитивно је 48 грла односно 95% грла на H7N7, а 40 грла односно 80% грла на H3N8, уз напомену да је 36 грла било са позитивним налазом титра на оба вируса.

ДИСКУСИЈА И ЗАКЉУЧАК

Добијени резултати показују да су субтипови H7N7 и H3N8 вируса инфлуенце А присутни на територији Војводине. Њихова серопреваленца износи 14-18%, што је у складу са серопреваленцом у свету (12,13). Ако се као гранична вредност узме титар ≥10 долази се до податка да је велики број животиња - 80, односно 95%, било у претходно периоду у контакту са вирусом.

Код појединих грла могу се уочити клинички симптоми који се могу повезати са инфлуенцом, а постоји и грло које има и позитиван HI тест. Код свих грла клинички симптоми пролазе у врло благој форми или практично без ње.

Вируси инфлуенце циркулишу кроз наше запате копитара и захтевају сталан надзор ради превенирања будућих епидемија. Даља истраживања треба да обухвате и друге субтипове, друге врсте животиња и ширу територију, како би се пријемчиве популације заштитиле од евентуалних епидемија.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Thiemann A.K., Bell N.J., 2001, The peculiarities of donkey respiratory disease, equine respiratory diseases, P. Lekeux (Ed.), Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. 2. Ataseven VS., Daly JM., 2007, Seroepidemiology of Equine Influenza Virus Infection in Turkey, Turk. J. Vet. Anim. Sci., 31(3):199-202. 3. Van Maanen C., Cullinane A., 2002, Equine influenza virus infections: an update, Veterinary Quarterly', 24, 79-94. 4. Paillot R., Hannant D., Kydd JH., Daly JM., 2006, Vaccination against equine influenza: quid novi?, Vaccine, 24, 4047-61. 5. Hannant D, Mumford JA, 1996, Equine influenza, In: Virus Infections of Equines. Eds Studdert MJ, Horzinek MC, Elsevier Science, 285-93. 6. Palese P, Shaw ML, 2007, Orthomyxoviridae: the virus and their replication, In: Fields Virology, Eds Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Lippincott-Raven, 1647-89. 7. Trailović DR, 2000, Respiratorne bolesti konja,Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu. 8. Caerdwell J, Newton R, Wood J, et al., 2000, Equine Influenza in donkeys in the New Forest, Vet Rec, 147, 10. 9. Daly JM, Mumford JA, 2001, Influenza infections, In: Lekeux P(*ed*), Equine Respiratory Diseases, International Veterinary Information Service: Ithaca, NY, <www.ivis.org>, last updated: 13-Nov-2001. 10. Kobluk CN., Ames TR., Geor RJ., 1995, The horse: Diseases and clinical management. W.B. Saunders, London. 11. OIE Terrestrial Manual, 2012, Chapter 2.5.7. 12. Sajid M, Ahmad MD, Khan MA, Anjum MA, Mushtaq MH, 2012, Investigation of equine influenza virus in two geographical regions of Pakistan, Trop Anim Health Prod, 45(2), 693-4. 13. Ataseven VS, Daly JM, 2008, Seroepidemiology of equine influenza virus infection in Turkey, Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association, Moscow, Russia, 603. 14. Čilerdžić M, Marković M, Petrović N, Stančetić S, Tikvicki G, Trailović DR, 2005, Influenca konja u Srbiji 2004. godine: uzroci i posledice, Stočarstvo, veterinarstvo i agroekonomija u tranzicionim procesima, Herceg Novi. 15. Đuričić B, Samokovlija A, Ilić Ž, Bacić D, Radojičić S, Gligić A, 2010, Seroepizootiološka ispitivanja životinja sa lokalteta Obedska bara na prisustvo virusa influence ptica, Vet. Glasnik, 64(5-6), 307-17. 16. Meijer A, Bosman A, van de Kamp et al., 2006, Mesasurent of antibodies to avian influenza virus A (H7N7) in humans by hemagglutination inhibition test, Journal of Virological Methods, 132(1-2), 113-20.

КАСТРАЦИЈА ПАСТУВА КОМПЛЕТНОГ АБДОМИНАЛНОГ КРИПТОРХИДА МЕТОДОМ ПАРАИНГВИНАЛНЕ ЛАПАРАТОМИЈЕ - ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

Бојан Тохољ, Велибор Кујача, Миленко Стеванчевић, Јован Спасојевић, Александар Ачански

Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Кратак садржај

Приказан је случај кастрације пастува потпуног абдоминалног крипторхида и то параингвиналном лапаратомијом. Операција је изведена у теренским условима у општој анестезији користећи комбинацију кетамина, ксилазина и мидазолама за премедикацију, увод и одржавање опште анестезије. Локализација тестиса је била неуобичајена, будући да се тестис налазио на латералном трбушном зиду.

Кључне речи: пастув, крипторхид, кастрација

CASTRATION OF SATALION A COMPLETE ABDOMINAL CRYPTORHID USING A PARAINGUINAL APPROACH - CASE REPORT

Bojan Toholj, Velibor Kujača, Milenko Stevančević, Jovan Spasojević, Aleksandar Ačanski

Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad

Abstract

These case describing a surgical removal of abdominal testis at stallion using a parainguinal approach. The surgery has been conucted on field and using a total intravenous anesthesia ketamin/xylazine/midazolam combination for premedication, induction and maintance of general anesthesia. The testis location were unusual and it was found at lateral abdominal wall.

Key words: stallion, cryptorhid, castration

УВОД

Појам крипторхид (скривени тестис) се користи да означи стање када се тестис не налази у скротуму. Крипторхизам се описује као ингвинални и абдоминални, у зависности од тога где се налази тестис (1). Такође, може бити унилатерални и билатерални. Код нормално развијеног ждребета или одраслог пастува тестиси се налазе у скротуму. Перитонеални процесус (вагинални процесус, *tunica vaginalis*) пролази кроз ингвинални канал и обавија крвне судове и нерве који васкуларишу и инервишу тестис, као и тестис и епидидимис и *ductus deferens*. Ингвинални канал код коња је релативно дужи него код других врста животиња и протеже се између унутрашњег и спољашњег ингвиналног прстена. Спољашњи ингвинални прстен је

већи него унутрашњи и палпира се у пределу препоне, што је нарочито лако код коња који лежи на леђима. Унутрашњи ингвинални прстен је мањи и не може се палпирати споља, једино ректално. Вагинални прстен је део перитонеума (*tunica vaginalis*) који облаже ингвинални канал. Вагинални процесус је конусна избочина перитонеума која се веже за реп епидидимиса преко лигамента и постаје туника вагиналис када тестис изађе из трбушне дупље у скротум. Леви и десни тестис се у ембрионалном животу развијају ретроперитонеално на дорзалном трбушном зиду од ембрионалних *Wolfovih* канала. Почетак диференцијације је негде око 40 дана. У овом периоду део мезенхима се диференцира у губернакулум и позиционира на каудални пол тестиса и повезује се са местом где ће настати ингвинални прстен. Губернакулум се диференцира у лигамент репа епидидимиса. Ова структура је веома важна код тракције тестиса код кастрације крипторхида. Између 5-8 месеци интраутериног развоја тестиси се позиционирају у пределу вагиналног прстена који је у развоју. У ово време је тестис величине тестиса одраслог пастува. Пре рођења тестиси почињу да се спуштају кроз унутрашњи ингвинални прстен у ингвинални канал. Током овог процеса тестиси су још увек мекани и могу лако да се "провуку" кроз ингвинални отвор. У нормалним околностима тестис клизи у ингвинални канал кратко време након порођаја. Управо у то време ингвинални канал је још увек широк. Уколико се током овог периода тестис не спусти кроз ингвинални канал, шансе да се то деси су све мање и мање како време одмиче. Уколико тестис није ни започео спуштање и прошао бар кроз унутрашњи ингвинални отвор, сматра се да је тестис заостао у абдомену и не може се више спустити. Међутим, уколико тестис уђе у ингвинални канал, онда се може очекивати да ће се спустити до краја тј. у скротум. У највећем броју случајева ингвинално заостао тестис се спусти у скротум до прве године живота или касније. Уколико тестис не уђе у ингвинални канал (заостане у абдомену) најчешће се налази у близини унутрашњег ингвиналног отвора. Реп епидидимиса понекад улази у ингвинални канал (некомплетни крипторхид). У веома ретким случајевима тестис може да остане на дорзалном трбушном зиду или каудално. Дијагностика крипторхизма се заснива на клиничком налазу. Међутим, због преварних радњи често се прибегава и лабораторијским анализама, пре свега одређивању концентрације одговарајућих хормона, антитела на ткиво тестиса и др. (2). Крипторхидни пастуви су често и непредвидивог темперамента, нарочито уколико је тестис застао у ингвиналном каналу, па услед раста и притиска долази до бола. Уклањање тестиса је неопходно и због тога што се често код крипторхидних тестиса јављају и тумори Лејдигових ћелија (3).

Анамнеза и клинички преглед

Пацијент је пастув тежине 500 kg. Неколико дана пре хируршког захвата извршен је општи клинички преглед, ректални преглед и преглед ингвиналне регије. Десни тестис је био нормалне величине и нормопониран, док леви тестис није био присутан у скроталној врећи, као ни у палпацији доступном делу ингвиналног канала. Извршен је и ултразвучни преглед ингвиналне регије али на ултразвучном снимку нису се могле идентификовати структуре тестиса у ингвиналном каналу. Постављена је дијагноза: *cryptorchismus unilateralis abdominalis in obs.*

Анестезија

Операција је изведена у општој интравенској анестезији. Премедикација опште анестезије је извршена применом ксилазина 1 mg/kg/iv (*Xylapan®, Vetoquinol, UK*) и мидазолама 0,06 mg/kg/iv (*Dormicum®, Roche, CH*). Индукција опште анестезтезије је извршена i.v. применом кетамина 2,2 mg/kg/iv (*Ketamidor®, Richter pharma, AU*), и мидазолама 0,1 mg/kg/iv. Након индукције извршено је обарање и фиксирање пастува у дорзални лежни положај, на претходно припремљену операциону

струњачу. Одржавање опште анестезије је вршено континуираним интравенским дрипом комбинације: мидазолама (0.002 mg/kg/min), кетамина (0.03 mg/kg/min), и ксилазина (0.016 mg/kg/min). Медикаменти за одржавање опште анестезије су додати у инфузиону боцу 0,9% NaCl (Хемофарм™, СРБ) додавајући: 1350 mg кетамина (13,5 ml 10% Кетамидор®), 720 mg ксилазина (36 ml 2% *Xylapan*®) и 90 mg мидазолама (6 ампула *Dormicum*®, 1амп =3ml=15mg). Брзина инфузије је подешена на 6 ml/минути (120 капи/минути у стандардном инфузионом сету). Додаван је и болус кетамина (0,03 mg/kg) и мидазолама 0,03 mg/kg/iv уколико би у току операције били забележени покрети главе или трзаји ногу.

Табела 1. Комбинација анесететика и седатива коришћених за анестезију

Премедикација mg/kg/iv	**Индукција mg/kg/iv**	**Одржавање mg/kg/min/iv**
ксилазин 1,0 мидазолам 0,06	кетамин 2,2 мидазолам 0,06	мидазолам 0,002 кетамин 0,03 ксилазин 0,016

Током анестезије праћени су кардиопулмонални параметри (пулс, дисање, време пуњења капилара, боја слузокоже) и рефлекси (палпебрални и корнеални) (Табела 2).

Табела 2. Кардиопулмонални параметри и рефлекси

	Време (мин)																	
Параметри	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90
Пулс	28	34	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
Квалитет пулса	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	3	3
Дисање/мин	8	10	8	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Тип дисања	ц	ц	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д	д
ВПК/сец	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Палп. рефлекс	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Корн. рефлекс	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Нистагмус	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Болус кетамин мидазолам	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Тип дисања: ц-костално; д-дијафрагмално; Квалитет пулса: 0=одсутан, 1=тешко палпабилан, 2=лако палпабилан, 3=пун пулс)

Хируршки приступ и операција

Крипторхидни тестис се готово увек једним својим делом налази у унутрашњем ингвиналном отвору. Због тога се у највећем броју случајева заостали тестис може извући кроз ингвинални канал. Међутим, у нашем случају, тестис, као ни остале структуре (вагинални процесус, епидидимис), нису могле бити индентификоване палпаторно, а ни ултразвучно, у пределу ингвиналног канала. Због тога је одлучено да се операција изведе пласирањем параингвиналног реза, инспекцијом ингвиналног прстена и канала, а потом и параингвиналном лапаратомијом, те мануелном експлоарацијом и орхиектомијом.

Пастува је након увођења у анестезију потребно фиксирати у дорзални лећни положај и олабавити ногу са оне стране на којој се налази крипторхидни тестис. Ако су задње ноге испружене и јако затегнуте, тада је тешко наћи ингвинални прстен. Предње ноге је потребно фиксирати и извући, а превртање коња спречити постављањем потпоре под грудни кош.

Задње ноге и копита су обамотана фолијом како би се спречило упадање нечистоће у операционо поље. Припрема операционог поља је обављена рутинским поступком прања, наношења повидон јода и постављањем компресе. Рез је начињен директно изнад ингвиналног канала и паралелно са ингвиналним каналом. Рез треба да је 1,5 пута дужи од дужине ингвиналног отвора (процепа) и не треба га продубљивати даље од дермиса, јер се даље врши тупо пепарисање са прстима или маказама. Оштећење већих крвних судова у овој регији ће значајно отежати визуелизацију. Након што се испрепарише кожа и доспе до ингвиналнног отвора, потребно је да помоћник рашири кожу прстима или ретрактором. Након визуелизације спољашњег фиброзног ингвиналног отвора, у њему, као ни у ингвиналном каналу дигиталном експлоарацијом, нити визуелно, није могао да се идентификује процесус вагиналис, па је закључено да се ради о комплетном абдоминалном крипторхиду. Због тога је одлучено да се начини параингвинална лапаратомија. Овај рез је пласиран медијално од ингвиналног отвора кроз исти кожни рез. Да би се то постигло помоћник већ постојећи рез гура кранијално и медијално. У овом пределу је *m. obliqus externus* танак, али јак и фиброзан. Рез је био удаљен 6-7 cm од ингвиналног отвора и паралелан је са ингвиналним отвором. Мануелном експлорацијом трбушне шупљине тестис је пронађен са латералне стране зида трбушне дупље на око 50 cm од ингвиналног отвора. Тестис је извучен кроз параингвинални рез, и уклоњен након подвезивања фуникулуса.

Параингвиналнални рез је затворен појединачним чворастим шавовима, док је кожни рез остао отворен. Међутим, будући да је услед мануелне експлорације била нарушена структура ингвиналног отвора, у пределу ингвиналног канала је постављен стерилни пешкир који је провизорно зашивен, због претеће евисцерације. Овај пешкир је уклоњен након два дана, а за то време ткиво је едемизирало и на тај начин је онемогућена евисцерација. Кожни рез је остављен да секундарно зараста. Након завршетка операције пацијенту је апликован антитетанусни серум у профилактичкој дози, а обезбеђена је и постоперативна аналгезија, антибиотска заштитам, као и интравенска рехидрација.

Дискусија

Крипторхизам је чест развојни поремећај који се дефинише као изостанак спуштања једног или оба тестиса у скроталну врећу. Преваленца левог и десног крипторхизма је скоро једнака, међутим код левог крипторхизма је у нешто већем броју случајева примећено заостајање тестиса у абдомен, него што је то случај код десног крипторхизма (4). Код млађих пастува са мањим тестисима, кремастер може повући тестис дорзално, при чему се тестис увлачи у ингвинални канал. Због овог разлога препоручује се причекати са кастрацијом до навршених годину дана. Код оваквих пастува тестис не можеући назад у трбушну дупљу и често под дејством седације/анестезије долази до попуштања и испадања тестиса из ингвиналног канала у скротум. Ингвинални крипторхизам је најчешћа презентација крипторхизма и кастрација се не разликују много од обичне кастрације. Тестис се тада обично може напипати у ингвиналном каналу кроз спољашњи ингвинални отвор. Када гурнемо прсте у ингвинални отвор тестис се палпира као полулопта која се може гурнути дорзално. При томе је потребно да је пастув у лежећем положају на леђима или на боку. У стојећем ставу иначе је тешко напипати и увући прст у ингвинални отвор. Ингвинални отвор се палпира у препонском подручју као 6-9 cm дугачак прорез

између абдомена и бутне мускулатуре. Понекад се тестис налази испод коже између ингвиналног канала и скротума. За разлику од ингвиналног лимфног чвора, тестис је покретан и гладак. Уколико се тестис може истиснути из ингвиналног канала онда се он мануелно позиционира до скротума где се онда преко њега направи рез. Међутим, уколико се тестис не може истиснути из ингвиналног канала, рез се прави изнад ингвиналног канала. Даље је поступак емаскулације идентичан као код кастрације нормалног тестиса. Традиционални хируршки третман кастрације абдоминалног крипторхида подразумева ингвинални, параингвинални и парамедијални приступ абдомену, док се у последње време све чешће користи и лапараскопско уклањање тестиса (5). Код извођења операције уклањања абдоминалног тестиса неопходан је одговарајући анестезиолошки протокол који ће обезбедити квалитетну и безбедну анестезију, нарочито ако је реч о извођењу операције у теренским условима (6,7).

ЗАКЉУЧАК

Кастрација абдоминалног крипторхида се може извести параингвиналним резом. Потребно је припремити одговарајући анестезиолошки протокол и испланирати начин фиксације, обарања и сл. Скалпел користити само за иницијални рез, а даље вршити тупо препарисање у пределу ингвиналног канала. Ингвинални отвор не проширивати због могуће евисцерације.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Simić V., Janković Ž., 1995, Anatomija domaćih životinja sisara: Splanchnologia. 2. Anthony C., Barry AB., Cynthia J., 2014, Anti-Müllerian Hormone as a Diagnostic Marker for Equine Cryptorchidism in Three Cases with Equivocal Testosterone Concentrations, Journal of Equine Veterinary Science, 34, 3, 442-5. 3. Tnibar A., Boulouha L., Ribot X., 2006, Ultrasonograhic and histopathological features of atypical interstitial (Leydig) cell tumors in two cryptorchid horses, Journal of Equine Veterinary Science, 26, 8, 370-5. 4. Rodgerson DH., Hanson RR., 1997, Cryptorchidism in horses. Part I. Anatomy, causes, and diagnosis Comp Cont Educ Pract Vet, 19, 1280-8. 5. JoLynn J., 2008, Clinical Techniques - A Review of Laparoscopic Cryptorchidectomy, Department of Clinical Sciences, James L Voss Veterinary Teaching Hospital, Colorado State University, Fort Collins, CO. 6. Caulkett N, 2007, Equine field anesthesia. Veterinary rounds, 7,9:112-7. 7. Hubbell JA., Aarnes TK., Lerche P., Bednarski RM., 2012, Evaluation of a midazolam-ketamine-xylazine infusion for total intravenous anesthesia in horses. Am J Vet Res. 73,4:470-5.

АРТРИТИС - РЕШИВ ИЛИ НЕРЕШИВ ПРОБЛЕМ

Слободан Стеванов[1], Сара Савић[2]

[1]Ветеринарска амбуланта "Пан Вет", Суботица; [2] Научни институт за ветеринарство „Нови Сад", Нови Сад

Кратак садржај

Артритис је једна од најчешћих болести углавном код старијих животиња, коју је некада тешко дијагностиковати. Артритис је дегенеративно обољење једног, или више зглобова. Остеохондроза, дисплазија кука, и луксација пателе коленог зглоба су најчешће манифестације артритиса. Неки случајеви су повезани и са имунолошким болестима, или инфекцијом зглоба. Обољење се може јавити и код млађих животиња. Животиње које су оболеле шепају, или усиљено ходају, уочљива је промена расположења, мањак апетита, болност зглоба на додир, атрофија мускулатуре. Дијагноза се обично потврђује посматрањем животиње, рендгенским снимком, CT и MR дијагностиком, која показује стање околних лигамената зглоба, зглобну капсулу и стање самих костију зглоба. Дегенеративна обољења зглобова су обично неизлечива, али правилним третманом и терапијом може се побољшати стање зглоба и квалитет живота животиње. Лечење подразумева регулацију телесне тежине, употребу аналгетика и кортикостероида ради смањења бола и побољшање функције, употребу хондропротективних лекова и суплемената (нпр. хијалуронска киселина), у сврху бржег зарастања хрскавице и превенције даљих оштећења. Код озбиљних случајева, хируршка интервенција на зглобу је једини начин да се олакшају болни симптоми и поврати покретљивост зглоба.

Кључне речи: остеохондроза, дисплазија кука, луксација пателе

ARTHRITIS - SOLVABLE OR UNSOLVABLE PROBLEM

Slobodan Stevanov[1], Sara Savić[2]

[1]Veterinary ambulance "Pan Vet", Subotica; [2]Scienfitic veterinary institute, Novi Sad

Abstract

Arthritis is one of the most common diseases seen in middle-aged or older animals, and yet it can be difficult to recognize. Arthritis is a degenerative condition that affects one or more joints. Most cases occur in pets with an inherited orthopedic disease such as osteochondrosis or hip dysplasia, or those with a joint injury. Some cases of arthritis are related to an immune-mediated joint disease or a joint infection. The problem can pper in younger animals, too. Hip dysplasia, ruptured cruciate ligaments, patella luxation, joint trauma, and other joint conditions can cause degenerative arthritis, even in young individuals. Animals with degenerative arthritis experience varying degrees of lameness, stiffness, joint pain, changes in personality, and reduced appetite. The diagnosis is usually made by visual observation and joint X-rays, CT or MR, that show bone spurs at points where the ligaments

and the joint capsule attach to the bone. Degenerative joint disease is incurable, but treatment can substantially improve animals life. Treatment involves physical therapy and weight control, the use of analgesics and corticosteroids to relieve the pain and improve function, and the use of chondroprotective agents and supplements (e.g. hyaluronic acid) to repair joint cartilage and prevent further damage. In severe cases, surgical intervention on painful joints, relieves pain and restores limb movement.

Key words: osteochondrosis, hip dysplasia, joint injury

Увод

Артритис је једна од најчешћих болести углавном код старијих животиња, коју је некада тешко дијагностиковати. Артритис је дегенеративно обољење једног, или више зглобова. Остеохондроза, дисплазија кука, и луксација пателе коленог зглоба су најчешће манифестације артритиса. Неки случајеви су повезани и са имунолошким болестима, или инфекцијом зглоба.

Анатомске карактеристике зглоба и подела зглобова

Зглоб је скуп елемената, спој између две, или више костију. Према броју костију, зглобови се деле на *articulatio simplex* - прости зглобови састављени од две кости и *articulacio composita* - сложени зглобови састављени од три, или више кости.

Према покретљивости, зглобови се деле на непокретне - *synarthroses* (кости лобање) и покретне - *diarthroses art synoviales*.

Непокретни зглобови (*synarthroses*) могу бити према врсти везивног споја:

Art. fibrosa - *Syndesmosis* (чврсте везивне фиброзне опне)
- *Membranacea* (сутуре/шавови)
- *Gomphosis* (клинасти спојеви)

Art. cartilaginea - *Synhondrosis* (хијалинска хрскавица)
- *Symphysis* (фиброзна хрскавица)

Покретни зглобови (*diarthroses*) су сложене грађе и састоје се од више елемената:

1. *facies articularis*
2. *cartilago articularis*
3. *capsula articularis* са две мембране:
   - *Fibrosa* (спољашња мембрана)
   - *Synovialis* (унутрашња мембарана)
4. *cavitas articularis* (простор испуњен синовијалном течношћу).

Споредни елементи зглоба су лигаменти и везивно ткивне плоче (*Discus, Meniscus, Labrum*).

Зглобна хрскавица се састоји од мањег броја хондроцита и обиља међућелијског материјала, колагених влакана и протеогликана. Протеогликани се састоје од гликозаминогликана и хондроитин сулфата. Зглобна хрскавица не поседује крвне и лимфне судове и инервацију, а исхрана се врши од зглобне течности, матрикса, а мањим делом од субхондралне кости, преко крвних судова кости. У зглобу је присутно више цитокина који стимулишу синтезу хондоцита, као што је IGF 1.

Болести зглобова

Болести зглобова смо поделили у две групе обољења (5):

А) Неинфективни упални процеси зглобова:

• Дегенеративна обољења зглобова (остеоартритис и остеоартроза)

• Пост-трауматска обољења зглобова (веома често заступљена)

• Неопластична обољења зглобова (остеосарком, карцином и меланом).

Ове промене су мање заступљене на самим зглобовима колико на костима и то најчешће на прелазу епи- у диафизни део кости.

Б) Инфективни и други неинфективни упални процеси зглобова имунолошког порекла:

• Инфективне упале зглобова (пост-трауматске и нетрауматске инфективне упале)

• Имунолошки артритиси (ерозивног и неерозивног карактера).

Неинфективни упални процеси зглобова

Под дегенеративним обољењима зглобова подразумевамо остеоартритис и остеоартрозу. Ова обољења могу да буду примарна или секундарна, као и урођена или стечена.

Примарна обољења настају директно, старењем организма и трошењем зглобних структура, а секундрана као последица примарних обољења (у последње време врло пристуна лајмска болест). Од њих лако настају обољења зглобова и оштећења зглобних структура.

Најчешће промене које карактеришу остеоартритисе, и последично томе остеоартрозе, настају на хрскавичавим структурама зглоба, као и на синовијалној мембрани зглоба, у виду хроничног процеса, праћеног болним стањима и крајњим остеоартрозама. Као последица оштећења хрскавице тј. хрскавичавих ћелија, настају и медијатори упале - ензими, који продубљују упални процес, те смањују количину синовијалне течности у зглобу. На синовијалним мембаранама почињу остеофитотична бујања, површина постаје неравна, а на субхондралним коштаним деловима зглоба настају цистична и склеротична оштећења. Клинички знаци остеоартритиса и остеоартроза су: континуиран бол, отежано ослањање на екстремитет, врло болне флексорне радње екстремитета, атрофија мускулатуре, крепитације при палпацији и пробним флексорно-екстензорним покретима зглоба. Животиња постаје невољна, слабо се креће, претежно лежи, врло тешко устаје и седа, због бола и слабијег апетита изглед је често кахектичан, а у тешким случајевима, због јаког хроничног бола, исход може да буде и фаталан. У почетном стадијуму обољења, зглоб после активности буде мање болан, али ово стање врло кратко траје, и касније, како болест напредује, зглоб постаје болан у свим фазама кретања, после мировања, као и после оптерећења.

Дијагностика

Анамнеза - битне податке као што су старост животиње, испољавање симптома, када се први симптоми појављују, да ли је сличних симптома било и код родитеља јединке, да ли се храмљање појављује и после фазе мировања, или животиња храмље у свакој ситуацији, да ли се десила нека повреда и сл, можемо добити управо од власника.

Клиничка слика - Клиничким прегледом животиње се добијају важне информације о клиничкој слици - посматрањем животиње у покрету, мануелним испитивањем екстремитета флексијом и екстензијом зглобова, блокадом нерава, или самог зглоба, "*check test*" (код коња), посматрањем мускулатуре (атрофија мускулатуре), неправилан ход, шантање, неослањање на ногу. Најчешће добијамо повратну информацију од власника, или тренера, да животиња у раду храмље, или трчи неправилно, криви главу у току рада обично на супротну страну од оболелог зглоба, или покушава да бежи на супротну страну од оболелог зглоба (4,8,9).

РТГ дијагностика са, или без контраста, нам показује праву слику статуса оштећења зглоба. Помоћу ње се могу видети, већа, или мања оштећења зглобних

површина, коштано хрскавичави мишеви слободни у зглобу, остеофитозе настале на дегенеративној синовијалној мембрани, као и евентуалне ефузије у зглобу, које врло често настају усиљеним коришћењем зглоба, без лечења.

ЦТ, МР и сцинтиграфија су најсавременије методе дијагностике обољења зглобова, где сем коштано-скелетног система постоји могућност процене статуса помоћних делова зглобова, лигамената, тетива, као и вишедимензионалног представљања стања зглоба.

Санације, или лечења остеоартритиса, остеохондроза

Конзервативне методе лечења: Обухватају све мере за ублажавање остеоартротичних промена, ублажавање бола и, колико је то могуће, заустављање дегенеративних процеса на зглобним деловима. У медикаментозној терапији се обавезно користе групе нестероидних антиинфламаторних (NSAID) лекова - који ублажавају симптоме упале, бола, смањују дегенеративне промене, а има тврдњи да дужа употреба истих и зауставља промене у зглобу (2,10). У конзервативне методе лечења спадају такође и режими физикалне терапије, кретања, или мировања, поготово хидротерапије, као и употреба ултразвучних, ласер терапија, галванских струја, "*treadmill*" терапије. Врло често се користе и суплементи у системској апликацији перорално, као и у виду локалних инјекционих препатрата, а ту спадају: глукозамини, полисулфат глукозамингликани, хондроитин-сулфати и хијалуронска киселина (11).

Медикаметозна терапија: У зависности од самог степена остеодистрофичног процеса, зглоб може да се одржава медикаментозно у дужем периоду, па и да животиња доживи свој пун животни век, ако се процес открије на време. Код младих животиња, пре сваког оперативног захвата, потребно је успоставити медикаментозну терапију и мировање, а понекад, код великих зглобова, мировање захтева потпуно одсуство оптерећења зглоба у периоду и до 8 недеља.

Од нестероидних антиинфламаторних лекова (NSAID) најчешће се код зглобова користе препарати мелоксикама (3), при чему у сирупима припремљеним за псе и коње могу потпуно безбедно да се користе у дужем временском периоду, али ако терапија траје више од 7 до 10 дана, није на одмет укључити протекцију желуца - ранитидином, или неким инхибитором протонске пумпе (максимално до месец дана). Ранитидин је безбедан за давање и у периоду од пар месеци, по потреби. Један од доста примењиваних препарата је такође и *Carprofen*, иако је његово дејство више аналгетско, него антифлоготско. Ту су и препарати који се дају перорално, а имају депо дејство (*mavacoxib*). Препарати фенилбутазона, флуниксин меглумина, ацетилсалицилне киселине у интравенској изведби давања, имају врло продуктиван ефекат излечења акутних артритиса (1).

У лечењу дегенеративних промена зглобних површина такође се користе и стероидни препарати, у виду локалних инјекционих препарата или системских, код којих су нуспојаве много чешће. Најчешће коришћени препарати за локална давања су: метилпреднизолон, дексаметазон, триамцинолон и бетаметазон. У зависности од потребе, бира се стероидни препарат са дужим, или јачим дејством. Препарати кортикостероида, инхибицијом фосфолипазе и ослобађањем простагландина смањују инфламаторну упалу зглоба, али само за време трајања дејства самог лека. Негативна дејства кортикостероидних препарата су повећана дегенерација хијалине хрскавице, такође вишеструко понављање стероидних препарта смањује концентрацију протеогликана, па се зато апликација врши једнократно, или понавља после дужег периода не давања истог лека (2).

Суплементарна терапија: Хијалуронска киселина је несулфатни глукозаминогликан, супстанца природно присутна у живом организму, а највише

у оку и зглобовима (где представља састав матрикса зглобне течности), везивним ткивима, епителу, али и у неуронском ткиву. Користи се, готово као обавезна, инјекција интраартикуларне апликације, за лечење акутних, али и за третман хроничних упалних процеса неинфективног карактера зглобова. Препарати који садрже хијалуронску киселину значајно учествују у ћелијској пролиферацији, па се сматра да је њено лековито дејство управо репарација оштећеног дела зглоба. Постоји велики број препарата на тржишту који садрже хијалуронате различите молекуларне вредности, а самим тим и квалитета дејства, који су нашли огромну примену у лечењу дегенеративних промена у зглобовима (1). Паковања су најчешће од 20 mg у 2 ml до 60 mg у 4 ml, стерилни у стакленим шприцевима, за једнократно давање. Доказано је да хијалуронидаза има најбоље дејсво, ако се давање инјекционог препарата понавља артикуларно у размацима од 5 до 7 дана. Једини проблем ових препарата може бити њихова висока цена.

Код коња, на пример, због величине зглоба, могуће је, у једној апликацији у зглоб, дати и до 150 mg хијалуронске киселине недељно, у све делове зглобне шупљине.

Код паса је могуће одржавања зглоба на функционалном нивоу дужи временски период, чак и код већих остеоартротичних дефеката, периодичним давањем интраартикуларне инјекције у зависности од степена дистрофије и бола. Иницијална терапија је једна инјекција недељно, у дози од 5-20 mg хијалуронске киселине, 3 до 5 недеља. Ради доброг ефекта лечења, терапија се може понављати у циклусима докле год је то потребно (3,6).

Код мањих остеоартротичних промена, као и код посттрауматских промена на зглобу, терапија од 3 до 5 инјекција (1 инј. недељно) је довољна за дужи животни период, без понављања терапије, уз евентуално перорално давање истих препарата.

Хијалуронска киселина има своју успешну примену код системских, неинфективних и неаутоимуних обољења зглобова и у виду инјекционог, интравенског давања, у размацима од 7 дана, до 5 циклуса, као и *polisulfat glycosaminoglycan* - препарат за интрамускуларну апликацију, који такође постоји и у варијанти инјекција за интраартикуларну апликацију. Последња генерација хијалуронских препарата садржи двокомпонентну супстанцу микро- и макромолекулског типа. Микро- са брзим деловањем, и макромолекула која обезбеђује квалитетније и дуже деловање микромолекуларне компоненте (1,7).

IRAP техника: Представља новију технологију - насталу кроз сазнања о могућности да се елементима из сопствене крви животиње делује на њене остеоартротичне, као и остеодистрофичне промене, а у терапији под називом IRAP технологија (1), или комбинованој терапији IRAP + хијалуронска киселина, интраартикуларно. Ова метода лечења се код малих животиња назива ORTHOKINE (3). Крв оболеле животиње се вади у посебно припремљење шприцеве, или мање контејнере за акумулацију крви у којима је већ присутна супстанца која стимулише, у крви тј. серуму, продукцију протеин антагонист интерлеукина 1, који је присутан као продукт упале у зглобу и продубљује процесе код остеодистрофије и остеохондрозе зглоба. Након вађења, крв се инкубира на 37°C, 24 сата, а затим, у посебним центрифугама 10 минута центрифугира на 3.700 обртаја, где се врши сепарација и статификација серума из крви. Након центрифуге, серум се другим шприцем извлачи, преко стерилног филтера и тако је припремљен за локално давање у зглоб. У зависности од величине зглоба, апликација може да буде од 0,3 ml код најмањих паса, па до 8 ml код великих зглобова коња. Статистика говори, да од 200 коња, којима монотерапија хијалуронском киселином интраартикуларно није помогла, IRAP, или комбинација IRAP са хијалуронидазом је помогла код 180 таквих коња, што је изузетно висок проценат делимичне репарације оштећеног зглоба (1).

PFG метода: "*Platelet growth factors*" је технологија, где се из аутологне крви пацијента, издваја фактор раста који учествује у репарацији оштећеног дела зглоба.

Крв се вади у епрувете са натријум-цитратом, центрифугира на 460 обртаја, 8 минута, половина добијеног супернатанта се апликује интраартикуларно, заједно са 5%, или 10% калцијум хлоридом. Код већих зглобова коња апликује се цео супернатант. Овај метод се препоручује и пре било које сумње на OCD зглобова, тј. артроскопске хируршке интервенције, поготово код најмањих пацијената, где артроскопија због величине зглоба некада није ни могућа (3).

Матичне ћелије: Такође једна од метода и могућности лечења остеодистрофичних и остеохондротичних промена зглобова, где се умножене мезенхијалне коштане матичне ћелије у лабораторијама, апликују у оболео зглоб, или се директно помоћу артроскопа апликују на место где је оштећење присутно у зглобу. Техника је врло софистицираног карактера, скупа и врло су половична мишљења о успеху излечења овом методом.

Закључак

Оболео зглоб захтева у принципу доживотни третман, одржавање истог, поготово ако су прохтеви од оболеле животиње велики - као што је случај са спортским коњима и радним псима. Добром дијагностиком, санацијом, избором адекватне методе лечења, медикаментом, суплементом, контролом телесне тежине животиње и одржавањем зглоба, могуће је избећи било какву потребу за драстичном - хируршком интервенцијом на зглобу, која је крајња опција, али некада неопходна да би се отклонила болност зглоба и омогућио животињи бољи квалитет живота и покретљивост.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Stashak Ted S, 1996, Practical Guide to Lameness in Horses, 4th edition, John Wiley & Sons, USA. 2. Denny H, Butterworth S, 2000, A Guide to Canine and Feline Orthopaedic Surgery, 4th edition, Wiley-Blackwell Inc., USA, 17-29. 3. Bloomberg M, Lewis D, Parker R, 2003, Small Animal Orthopaedics, Manson publishing, USA, 91-112. 4. Kerr MG, 2002, Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology, ed 2, Blackwell. 5. Lewis D, Parker R, Bloomberg M, 2009, Small animal orthopedics, 4th impression, Manson publishing. 6. Bonagura J, Twedt D, 2008, Kirk's current veterinary therapy XIV, Elsevier. 7. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, 1999, Guidelines for prevention of surgical site infection. Infection control and hospital epidemiology 20, 337-82. 8. Baines S, Lipscomb V, Hutchinson T, 2012, Surgical principles, BSAVA. 9. Sharp N, Wheeler S, 2005, Small animal spinal disorders, Elsevier. 10. Piermattei D, Flo G, DeCamp C, 2006, Brinker, Piermattei, and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair, Elsevier. 11. Stevanov S., Šipoš M., Šefer E., Torbica M., 2014, Artritis – ćešča bolest nego što možemo očekivati, Zbornik radova Clinica veterinaria, Kopaonik.

Пленарни радови

---

11. ЗАСЕДАЊЕ

1. КЛИНИЧКИ АСПЕКТИ ИМУНОСУПРЕСИЈЕ ЖИВИНЕ

2. ИНФЕКТИВНИ БРОНХИТИС ЖИВИНЕ

3. ТЕХНОПАТИЈЕ ТЕШКИХ ЛИНИЈСКИХ ХИБРИДА ЖИВИНЕ

4. СТАТУС КОКЦИДИОСТАТИКА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ И ЕВРОПСКОЈ УНИЈИ

КЛИНИЧКИ АСПЕКТИ ИМУНОСУПРЕСИЈЕ ЖИВИНЕ[1]

Радмила Ресановић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Имунолошки одговор представља способност јединке да одговори на инфективни изазов. Имуносупресија представља стање организма где је хуморални и/или целуларни имунолошки одговор супримиран. Имуносупресија може бити узрокована инфективним агенсом, неодговарајућом и неизбалнсираном исхраном, лошим биосигурносним мерама, недостацима у менаџменту и стресом. Сваки од ових фактора понаособ или у комбинацији, могу довести до појаве имуносупресије. Фактори околине су означени као мултифакторијални узрок настанка различитих степена имуносупресије живине. Субклинички карактер многих болести и различите конкурентне инфекције отежавају откривање основног узрока настале имуносупресије. С друге стране, рана дијагностика и идентификација фактора који су довели до имуносупресије су веома важни за спречавање њеног настанка и даљи развој имуносупресије. Комбинација биосигурносних мера, оптимизација фактора околине, редукција стреса и адекватан вакцинални програм су неопходни у контроли имуносупресије живине у комерцијалним условима гајења.

Кључне речи: имунолошки одговор, инфективне болести, отпорност, имуномодулација, живина

CLINICAL ASPECTS OF IMMUNOSUPPRESSION IN POULTRY

Radmila Resanović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Immunity is ability to stop an infection. Immunosupression is a status wher the immunity is redused. Humoral (antibodies) and/or cell immunity may be depressed. Immunosupression can be due to infectious agents, to improper feeding balance (deficiencies), to a lac of biosecurity, to management failures, stress or to a combination on them. Each of these possible causes must be seriously worked out to prevent the consequences of immunosupression on profitability. Enviromental factor and numerous infectious pathogen have been discrebed to induce immunosupression often in a multi-factorial scenario. The mainly subclinical character and coinfections make the diagnosis of immunosuppressive agents in the field difficult. On the other hand, early diagnosis and identification of contributing factors are important to develop strategies to successfully fight immunosupression in birds. A combination of biosecurity measures, optimized housing condition and stress reduction together with appropriate vaccination strategies is needed for the successful control of immunosupression in commercial poultry.

Key words: immune response, infectious diseases, resistance, immunomodulation, poultry

[1]Рад ће у целости бити објављен у часопису „Ветеринарски гласник“

ИНФЕКТИВНИ БРОНХИТИС ЖИВИНЕ

Милош Вучићевић, Радмила Ресановић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Инфективни бронхитис је вирусно, изузетно контагиозно респираторно обољење живине, које изазива антигено високо варијабилни *Coronavirus*. Вирус поседује афинитет и ка органима урогениталног и гастроинтестиналног тракта живине. Од симптома се запажају кашаљ, кијање и глад за ваздухом код младих пилића, губитак апетита, влажна простирка и пад производње јаја код носиља. Код пилића млађих од три недеље морталитет се може кретати од 30-40%, док тај број код јединки старијих од три недеље није значајан.

За повратак носивости близу технолошких вредности потребно је четири недеље, а поједина јата никада поново не остваре економски исплативу носивост јаја. Промењен је и квалитет јаја која постају мања, меке љуске и неправилног облика.

Симптоми код инфективног бронхитиса нису специфични, тако да је неопходно урадити лабораторијске тестове како би се дошло до поуздане дијагнозе. Специфична терапија не постоји. Атенуисане и инактивисане вакцине су доступне у циљу превенирања болести.

Кључне речи: живина; инфективни бронхитис, дијагностика, превенирање

INFECTIOUS BRONCHITIS IN POULTRY

Miloš Vučićević, Radmila Resanović

Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Infectious bronchitis is a highly contagious viral respiratory infection of chickens caused by a Coronavirus that is antigenically highly variable. However the virus also can infect the urogenital and gastrointestinal tracts of chickens. Symptoms include coughing, sneezing and gasping in young birds, loss of appetite, wet litter and a drop in egg production in layers. In chickens under three weeks of age mortality may be up to thirty or forty percent but in birds over five weeks of age the disease does not cause a significant mortality.

Four weeks or more may be required before the flock returns to production. Some flocks never regain an economical rate of lay. The quality of eggs is also changed, the eggs are small, soft-shelled and irregular-shaped.

The symptoms of infectious bronchitis are non-specific and so laboratory tests are required to confirm diagnosis. There is no specific treatment. Live and inactivated vaccine are available for Infectious Bronchitis prevention.

Key words: poultry, infectious bronchitis, diagnostic, prevention

УВОД

Инфективни бронхитис је вирусно, веома контагиозно обољење респираторног, уринарног и гениталног тракта живине узроковано *Coronavirusom*. Болест је карактеристична за интензивни начин живинарске производње а први пут је установљена 1930. године у САД и од тада је регистрована у свим земљама света. Првобитно је описана као обољење пилића, а касније је установљена и код одраслих јединки, нарочито код кока носиља. Преваленца и значај економских губитака услед појаве ове болести у јату резултирали су стварањем вакцине 1941. године.

Симптоми укључују кашаљ, кијање, губитак апетита и пад производње јаја код носиља. Јаја су неправилног облика, а љуска је мека. Неки сојеви вируса могу узроковати оштећење бубрега и довести до великог процента угинућа. Код пилића млађих од три недеље смртност може бити 30-40%. Код птица старијих од пет недеља болест не доводи до значајног степена угињавања. Да би се производња јаја вратила на ниво пре почетка болести, потребно је да протекне четири или више недеља. Нека јата се чак никад не врате на претходни ниво производње. Из наведених разлога, инфективни бронхитис је веома битно обољење живине са становишта економских губитака које проузрокује. Висок степен преношења болести међу јединкама, као и постојање великог броја серотипова вируса узрочника инфективног бронхитиса, значајно утичу на трошкове превентиве ове болести, путем имунизације.

Поред кокошака, болест је установљена и код фазана и ћурака.

Инфективни бронхитис живине је распрострањен широм света у земљама са интензивном живинарском производњом.

ЕТИОЛОГИЈА

Узрочник инфективног бронхитиса живине је једноланчани РНК вирус из фамилије *Coronaviridae*. С обзиром да геном вируса чини једноланчана РНК, вирус поседује изузетан потенцијал промене генома, а те промене могу бити спонтане мутације или рекомбинације. Уколико се оне десе на нивоу хипервариjабилног региона вируса настаће нови сој вируса. Вирус непрестано еволуира и то путем тачкастих мутација, инсерција, делеција и рекомбинација генома. Највећи број новонасталих сојева нема способност опстанка и репликације, али мали број оних који опстану могу направити изузетан проблем јер је питање да ли ће вакцинални програм који се примењује на одређеном подручју омогућити заштиту и против њих. Вирус је откривен и у узорцима из 1940. године применом молекуларних метода и моноклонских антитела (1).

Вирион поседује четири структурна протеина - површински (у облику шиљка - „*spike*“), нуклеопротеин (N), интегрални мембрански (M) и мали мембрански протеин (E). С гликопротеин (*Spike glycoprotein*) је одговоран за припајање вируса за рецептор на површини ћелије домаћина, фузију ћелијских мембрана и отпуштање вирусног генома у ћелију. На основу гена који кодира синтезу S протеина врши се молекуларно генетичка детерминација генотипова вируса инфективног бронхитиса. Доказано је да промена свега неколико нуклеотида на нивоу тог гена води ка промени вирус - неутралишућег епитопа, тј. настајању потпуно новог соја вируса против ког антитела створена услед вакцинације другим генотиповима можда неће имати ефекта. N протеин (*Nucleocapsid protein*) интерагује са вирусном РНК (2).

Вирус има способност да се врло брзо мења у спољашњој средини. Велик број сојева је класификован у различите серотипове углавном на основу вирус неутрализујућег теста и молекуларно генетичких испитивања. Одређивање серотипа је врло важно, јер између различитих серотипова не мора постојати унакрсна заштита. Иако постоје сојеви присутни у већини земаља, верује се да свака територија поседује сопствени „уроћенички“ сој.

До 1970. године се сматрало да је за Европу једино значајан *Massachusetts* сој. Међутим, временом су се појавили нови сојеви против којих примењивана вакцинација против *Massachusetts* соја није пружала заштиту. Углавном су ти сојеви били „локалног" значаја, а често су брзо и нестајали. Са напретком дијагностичких техника непрестано се откривају нови генотипови, али то не значи да је сваки новооткривени и битан. Уз *Massachusetts*, међу најзначајније данас се убрајају *4/91, Italian - 02 i QX* (3,4).

Већина сојева присутних у САД је откривена током седамдесетих година XX века применом серолошких анализа. Међу њима постоји мали степен унакрсне заштите, а број сојева је доста велик (једно испитивање је показало присуство 82 различита соја у 1523 узорака) (5). Најбитнији сојеви за подручје САД данас су Arkansas, Massachusetts, Connecticus и Delaware. S1 протеин присутан код *Delaware* соја врло се разликује од S1 присутног код преостала три, али је врло сличан S1 протеину присутном код соја D1466 који је карактеристичан за Холандију (6). На територији Јужне Америке присутан је већи број генотипова (7), али до сада нису изведене обимније студије које би испитале унакрсну заштиту. Највише се користи вакцина против *Massachusetts* соја, али све већи значај има и *4/91* сој. Афрички континент је био дуго времена ефикасно заштићен вакцином против *Massachusetts* соја, али се последњих година користи и вакцина против *4/91* соја. Временом је откривен велики број сојева али су били без значаја. На Блиском Истоку, уз *Massachusetts* и *4/91* сој, од значаја је и *D274* сој (8). На азијском континенту највише је присутан *Massachusetts* сој, али од 1998. године све веће економске штете настају услед присуства *QX* соја (9). На територији Русије присутан је велики број значајних серотипова попут *Massachusetts*, *QX*, *D274*, *4/91, Italian 02* (10). У Аустралији и на Новом Зеланду су присутни потпуно другачији серотипови вируса узрочника инфективног бронхитиса живине, захваљујући њиховој географској изолованости (11).

Начини ширења вируса за сада нису довољно познати и јасни, *4/91* и *QX* сојеви су присутни у целом свету, осим у САД и Аустралији, Аркансас је присутан само у САД, а *D1466* само у Европи, иако се против њега врло тешко постиже заштита (12).

Сојеви се могу раздвојити у генотипове, серотипове и протектотипове. Које груписање ће се применити зависи од циља, опреме, искуства, стања на терену, материјалних могућности итд. За ту сврху примењују се функционални тестови (којима се испитује биолошка улогу вируса) и нефункционални тестови (за испитивање генома вируса). Применом функционалних тестова одређују се протектотипови и серотипови, док се нефункционалним тестовима дефинишу генотипови (13).

Протектотипови су најзначајнији за праксу јер директно дају одговор на то да ли је вакцина ефикасна у односу на одређени серотип. Таква испитивања су тешка и врло скупа јер захтевају коришћење SPF пилића и *challenge* тестове. Серотипови се одређују реакцијом између вируса узрочника и специфичних антитела. Сваки серотип захтева употребу посебног неутрализационог теста, а антисеруми се производе на SPF пилићима. Генотипови се одређују молекуларно-генетичким тестовима након изоловања нуклеинске киселине вируса и секвенционирања дела генома који кодира синтезу S1 протеина, јер управо он носи највећи број епитопа и главни је индуктор имунолошког одговора. Различити серотипови и генотипови поседују различите епитопе али поседују и идентичне, што је од значаја за унакрсни имунитет и ћелијски посредован имунолошки одговор. Та чињеница говори о непотребности примене генотипизације за потребе ветеринара на фарми (јер се испитује само део S гена). Међутим, могуће је испитивати степен хомологије, јер мањи степен хомологије смањује шансу за могућност унакрсне заштите. Највећи значај генотипизација има за епизоотиолошке студије (1).

Примарно место репликације вируса су епителне ћелије трахеје и ћелије које продукују мукус, одакле се вирус може изоловати само 3-5 дана након инфекције.

Након тога, вирус се репликује у епителним ћелијама респираторног, дигестивног и гениталног система (бубрег, јајовод, тестиси, једњак, желудац, дуоденум, бурза *Fabricii*, илеоцекалне тонзиле, ректум, клоака и др.). Затим се вирус шири на друге унутрашње органе, као што су плућа, слезина, јетра, бубрези, јајници, тестиси, црева и др. Испитивања су показала да се вирус репликује и у Хардеровој жлезди након интраокуларне апликације вируса. Највиши титар вируса је у ткиву трахеје и бубрега, између трећег и петог дана након инфекције, те су то предилекциона места за узимање узорка при изолацији вируса у акутном току болести (2).

Сојеви вируса инфективног бронхитиса разликују се по тропизму за епител различитих органа. Већина сојева, укључујући и *Massachusetts*, узрокују промене на респираторном тракту. Већина поменутих сојева не доводи до угинућа када делује самостално, али делују имуносупресивно. Патогеност сојева вируса инфективног бронхитиса за јајовод веома варира. Многи, али не и сви сојеви који се могу репликовати у епителу јајовода, узрокују патолошке промене и углавном доводе до пада носивости. Сојеви који се репликују у епителу респираторног тракта већином узрокују само незнатно смањење у производњи јаја, али утичу на боју љуске јајета (1).

Нефропатогени сојеви вируса инфективног бронхитиса су били доминантни у Аустралији, а спорадично су се изоловали у другим земљама. Међутим, током последње деценије, нефропатогени сојеви су се појавили у многим земљама, укључујући Италију, САД, Белгију, Француску, Кину и Јапан. У неким земљама Европе поменути сојеви су постали доминантни. Нефропатогени сојеви се знатно разликују по вирулентности, а могу изазвати смртност, нарочито код пилића старости десет недеља.

ЕПИЗООТИОЛОГИЈА И ПАТОГЕНЕЗА

Дуго времена се сматрало да је домаћа кокош (*Gallus gallus domesticus*) једини природни домаћин за вирус инфективног бронхитиса. Пријемчиве су јединке свих старосних и производних категорија, под претпоставком да раније нису излагане вирусу, с тим што је највећи проценат угинућа код пилића. Данас се фазани и ћурке наводе као преостали природни домаћин за вирус инфективног бронхитиса. Клинички, обољење се код фазана углавном испољава као интерстицијални нефритис, праћен смањеном производњом јаја и високим процентом угинућа. Антитела на вирус инфективног бронхитиса су откривена код ћурана, препелице и једне врсте пингвина (*Eudyptes chrysocomes*). Вирус узрочник инфективног бронхитиса се може размножавати код сасвим младих мишева након интрацеребралне инокулације. Млади кунићи и заморци су такође осетљиви на вирус након интрацеребралне инокулације.

Инфективни бронхитис живине се врло брзо преноси међу јединкама у јату. Основни начин преношења болести је контакт са зараженим јединкама. Вирус се у значајној концентрацији налази у измету и трахео-бронхијалном секрету живине. Вирус се шири хоризонтално путем аеросола или орално. Интензитет ширења заразе зависи од вирулентности вируса и имунског статуса јата (14).

Вирус је веома контагиозан и под природним условима респираторни симптоми код птица, које су биле у контакту са зараженим јединкама, јављају се у року од 36 часова. Фецес, као и храна и вода контаминирани фецесом су битни извори инфекције. Вирус може да преживи доста времена у фецесу, а сматра се и да је фецес значајан извор поновљених инфекција у јату током фазе опоравка од болести. Контаминирана простирка, обућа, одећа, посуде, опрема, као и само особље су потенцијални извори заразе, нарочито битни за преношење болести и на веће раздаљине.

Вертикално преношење инфективног бронхитиса није са сигурношћу потврђено.

У секрету заражених птица, током акутне фазе, вирус се налази у значајној концентрацији и то у периоду од првог до седмог дана након инфекције. Вирус се

такође може изоловати из клоакалног бриса у периоду од првог до двадесет четвртог дана након инфекције. Фецесом се вирус најдуже излучује (недељама и месецима) - током инфекције и током фазе опоравка.

У спољашњој средини вирус не преживљава више од једне недеље, најдуже 30 дана. У води за пиће преживи око 11 сати. Највећи број сојева вируса инактивише температура од 56°C током 15 минута или 45°C за 90 мин. На собној температури вирус остаје инфективан пар дана. Стабилнији је при ниским вредностима pH. На pH 3,0, вирус остаје стабилан 14 дана. Вирус је осетљив на дезинфицијенсе, као што су 70% алкохол, хлороформ, 6% формалин, фенол и 2% натријум хидроксид који га инактивишу за врло кратко време.

Период инкубације за инфективни бронхитис износи од 18 часова до 6 дана у зависности од соја, концентрације вируса и начина инфицирања. Због овако кратке инкубације могу оболети пилићи почев од другог дана живота. Болест се обично јавља од другог дана до треће недеље старости пилића, односно у првих 4-5 недеља живота. Уколико пилићи буду изложени аеросолу са неразређеним вирусом пореклом из инфективних јаја, проблеми са дисањем ће се јавити већ у року од 24 сата.

Пилићи могу бити и перзистентно инфицирани а поновно излучивање вируса обично почиње у време проношења.

Клиничка слика

Инфективни бронхитис је болест која погађа првенствено респираторне органе живине. Поред респираторне форме болести, могу се јавити и поремећаји репродуктивних органа и нефритис. Клиничка слика зависи од старости пилића, патогености соја вируса и имунског статуса. Иако се вирус умножава у епителним ћелијама дигестивног тракта, болест се никада клинички манифестује проблемима на нивоу тог система органа.

Код пилића болест почиње невеселошћу и сметањама у дисању при чему се чује крклјање. Често кашљу и отресају главу да би се ослободили слузи. Очи и носни отвори су им влажни а запажа се и оток синуса. Пилићи не једу, апатични су, слаби и обично се окупљају у гомиле око вештачке квочке.

Уколико се болест не искомпликује секундарним бактеријским инфекцијама (*Escherichia coli, Mycoplasma galisepticum, Ornithobacterium rhinotracheale*) углавном пролази за мање од 7 дана. У случају компликација може се развити хронична респираторна болест у трајању од неколико недеља, са морталитетом од 5-20% (2).

Код пилића старијих од 6 недеља и код одраслих јединки симптоми су слични оним код пилића, с тим што неретко изостаје појава исцетка из носа и болест може проћи неопажено. Често се симптоми могу запазити једино ослушкивањем дисања кокошака ноћу када је тишина. Код одраслих кокошака болест може да настане пре и после проношења, што је у оба случаја неповољно. У првом случају, проношење касни, а у другом, долази до наглог пада носивости који траје око 4 недеље. Пад производње јаја варира зависно од стадијума носивости и соја вируса. Обично је смањење носивости између 3-10%. У неким јатима, пад производње јаја може бити једини симптом болести (15).

У многим јатима пад производње јаја (и до 50%) је праћен појавом малих јаја, промене љуске и унутарашњег квалитета јаја. Љуска таквих јаја је обезбојена, танка, мека, рапава а срећемо и јаја без љуске. Беланце је водњикаво (због смањеног броја Хугових јединица), зрнасте структуре, халазе су покидане, а жуманце плива. Некад је потребно по више месеци да се носивост врати на нормалу. Често се као последица обољења појављују тзв. лажне носиље - на изглед здраве кокошке али које не носе јаја.

Нефритична форма инфективног бронхитиса се карактерише благим и пролазним знацима обољења респираторног тракта који су праћени депресијом,

повећаним уносом воде, накострешеним перјем, губитком телесне масе, дијарејом и влажном простирком. Угинућа се јављају 4-5 дана након инфекције, а престају око дванаест дана након инфекције. Вирус инфективног бронхитиса углавном напада бубреге пилића старих 3-6 недеља (16).

ПАТОМОРФОЛОШКИ НАЛАЗ

Патоморфолошке промене нису патогномоничне за инфективни бронхитис живине и често су маскиране неким другим, секундарним обољењем. Најизразитије промене налазе се на органима респираторног тракта. Бронхије су испуњене серозним, слузавим, а понекад и казеозним ексудатом, који се може наћи и у трахеји. Ваздушне кесе су замућене и у њима се налази жути казеозни ексудат који може да доведе до запушења њихових лумена. Плућа могу бити конгестирана. Понекад се јавља и серофибринозни перикардитис.

Ако се пилићи инфицирају у првих 18 дана живота, настају трајне промене на органима за репродукцију. Појединачни јајни фоликули су атрофични са јако иницираним крвним судовима, па чак и крварењима. Понекад јајни фоликули отпадну и налазе се слободни у трбушној дупљи. Сматра се да су аномалије на јајоводу утолико веће уколико је инфекција раније уследила. Код лажних носиља јајник је функционално способан али је јајовод закржљао.

Нефропатогени сојеви вируса доводе до појаве отечених и бледих бубрега са тубулима и уретерима често проширених уратима. Промене на бубрезима одговарају променама које се срећу код интерстицијалног нефритиса (2).

Хистолошким прегледом епитела респираторних путева, поред губитка цилијарног епитела, хиперемије, едема и мононуклеарних инфилтрата могуће је установити еозинофилне интрануклеарне инклузије. У јајоводу се запажа редукција епитела уз појаву лимфоцитних инфилтрата. Опоравак ткива настаје тек за 10-14 дана.

ДИЈАГНОЗА

Епизоотолошка ситуација која влада на терену уз веома исцрпну анамнезу је први корак ка доказивању присуства инфективног бронхитиса на некој фарми. Клиничка слика сама за себе није од велике помоћи, узимајући у обзир шареноликост испољавања клиничких симптома, али уз патоморфолошки налаз може бити од користи.

Постојање великог броја серотипова вируса инфективног бронхитиса је постало главни проблем за дијагностиковање и контролу инфективног бронхитиса живине. Лабораторијска дијагностика инфективног бронхитиса се може заснивати на детекцији вирусног антигена или самог вируса или са друге стране на детекцији антитела (17). Бројни су фактори који могу утицати на успех дијагностичке процедуре, а међу њима су најзначајнији:

- Време које је протекло између почетка инфекције и узорковања. Улазна врата за вирус представљају горњи делови респираторног тракта и током првих три до пет дана од инфекције вирус може бити изолован из трахеје. Након тога следи виремија и дисеминација вируса по унутрашњим органима а титар титар вируса у респираторном тракту нагло пада и након друге недеље је испод детектабилних граница. При хроничним инфекцијама већа је могућност детекције вируса у дигестивном тракту (илеоцекалне тонзиле, клоакални брис) него из трахеје.
- Имунолошки статус у тренутку инфекције. *Challenge* вируси се у много краћем времену и у много мањој количини детектују код вакцинисаних птица. Из трахеје инфицираних птица вирус се може изоловати свега пар дана после инфекције, док се код невакцинисаних јединки може изоловати пар недеља. Самим тим, јасно је да је узорковање материјала од вакцинисаних јединки пожељно што раније након инфекције, како би се добио релевантан узорак.

- Број, врста и квалитет узорка (органа). Када се узоркује материјал од невакцинисаног јата, при акутном току болести препорука је да се узоркује трахеја од пар птица. Када је у питању вакцинисано јато и хроничан ток болести, неопходно је узорковати много већи број птица (трахеје, клоакални брисеви, бубрези). Што је пре могуће узорак треба охладити на +4°C, а за чување дуже од једног дана неопходно је користити температуре замрзавања (-22 °C).

Изолација вируса је дуга, скупа и лабораторијски врло захтевна и заморна метода. Такође, захтева и употребу SPF пилића.

Детекција антигена се изводи помоћу антисерума или моноклонских антитела. Проблем је што су она специфична, те се могу добити лажно негативни резултати. У сврху детекције антигена сигурније је користити поликлонска антитела. Неке од метода које се користе јесу AGPT (*Agar Gel Precipitation Test*), IFA (*Indirect Fluorescent Antibody Test*), IPA (*Immunoperoxidase Test*), ELISA (*The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Детекција генома се заснива на молекуларно-генетичким анализама, односно PCR методи и секвенционирању жељеног дела генома.

Доказивање антитела се врши узорковањем парних серума, а бројни су фактори који могу утицати на успешност њихове детекције. Међу тим чиниоцима најбитнији су:

- Присуство антитела након вакцинације или инфекције води ка смањеној сензитивности теста.
- Унакрсне реакције између серотипова код сложених инфекција (или вакцинација) или код старијих птица услед вишекратне вакцинације. Обично воде ка немогућности тумачења резултата теста.
- Појава новог серотипа (који није део теста који се примењује).

Тестови који се користе могу бити групно специфични (AGPT, ELISA) када се користи антиген добијен од једног серотипа (најчешће *Massachusetts*) али он може реаговати и са антителима насталим услед присуства других серотипова. Друга врста тестова су серотип специфични тестови којима се могу раздвојити серотипови на основу детектованих антитела. Такви су вирус неутралишући тест, који је златни стандард за детекцију серотип специфичних антитела (иако је ипак могућа унакрсна реакција) и хеминхибишући тест (може се користити 1-2 недеље након инфекције). Антитела се најраније могу детектовати ELISA тестом, затим AGPT, па HI и на крају VNT тестом.

Присуство антитела против одређеног серотипа код вакцинисаних пилића није сигуран доказ да је инфекција изазвана управо тим серотипом. Серолошка испитивања је најпогодније користити за мониторинг присуства већ познатих серотипова и за проверу успешности вакцинације.

Терапија

Код инфективног бронхитиса терапија се не спроводи. Неопходно је водити рачуна о секундарним узрочницима па у складу с тим применити одговарајућу антибиотску терапију спектра и у храну додавати витамине уз стриктно придржавање зоохигијенских мера и технолошких норматива у процесу производње.

Ризик по здравље људи

За сада нема података да вирус инфективног бронхитиса живине може бити пренет са живине на човека, а затим са човека на човека. Постоје подаци да се код људи који раде у живинарским објектима или лабораторијама за испитивање вируса инфективног бронхитиса могу детектовати „*avian IBV - like virus*“ али се доказало да се не ради о коронавирусу који изазива инфективни бронхитис живине.

Профилакса

У свим земљама у којима постоји интензивна живинарска производња среће се и инфективни бронхитис живине. С обзиром на високо инфективну природу вируса, чак и најстроже мере превенције су понекад недовољне.

Генерални програм вакцинације не постоји, већ се они праве у зависности од ситуације на терену. Кључно је знати која се старосна категорија жели заштитити, који теренски сојеви су присутни у епизоотиолошком подручју и који су протектотипови и да ли постоји интерференција са другим живим вакцинама које се апликују. Код бројлера, циљ вакцинације је спречавање економских губитака који настају услед лоше конверзије и лошијег прираста, док је код носиља и родитеља потребно заштитити јајовод како бисмо избегли настајање лажних носиља, пад носивости, слабији квалитет јаја и мању изводљивост.

Идеалне вакцине би требало да буду генетички стабилне, да дају унифоран имунитет, да губитак вирулентности не утиче на имуногеност, да буду флексибилне, односно да је могућа модификација генома и да је могућа *in ovo* апликација (18).

У оквиру имунопрофилаксе користе се живе и инактивисане вакцине према предвиђеном програму заштите пилића од ове болести.

Живе вакцине су у широкој употреби и представљају сојеве који су прошли пасажу кроз пилеће ембрионе како би се постигло смањење вируленције за органе респираторног тракта. Живе вакцине против инфективног бронхитиса се могу апликовати у облику спреја, аеросола или кроз воду за пиће, зависно од вакцине која се користи и старосне категорије која се вакцинише. Након апликације живе вакцине, најпре се синтетишу ИгМ, а тек након потпуног пада титра IgM појављују се IgG (19).

Вакцинација *in ovo* се не примењује, али су вакцине за овакав тип вакцинације у развоју.

Инактивисане вакцине против инфективног бронхитиса су намењене за вакцинацију носиља и бројлера. Вакцинација се спроводи субкутано у старости од тринаесте до осамнаесте недеље старости, код јединки које су претходно вакцинисане живим атенуираним вакцинама. Након вакцинације инактивисаним вакцинама, титар антитела је униформнији, а имунолошки одговор траје дуже. Овако високе концентрације антитела су посебно корисне у пружању заштите унутрашњих органа спречавањем ширења вируса. Инактивисане вакцине пружају заштиту од пада производње јаја, што није увек случај када се вакцинација спроводи живим вакцинама (20).

Поједина истраживања су показала да чак 10% пилића у јату никада не развије имунитет након вакцинације. Данас све већи значај добијају векторске вакцине (21).

Препоруке OIE-а

Препоруке за увоз пилића

Надлежни ветеринарски орган земље увознице треба да захтева међународни ветеринарски сертификат којим се потврђује да птице:

1. Нису показивале клиничке знаке инфективног бронхитиса на дан испоруке;
2. Долазе из објеката који су слободни од инфективног бронхитиса, на основу резултата серолошких тестова;
3. Нису вакцинисане против инфективног бронхитиса или
4. Вакцинисане су против инфективног бронхитиса (врста вакцине и датум вакцинације морају бити наведени у сертификату).

Препоруке за увоз једнодневних пилића

Надлежни ветеринарски орган земље увознице треба да захтева међународни ветеринарски сертификат којим се потврђује да једнодневни пилићи:

1. Долазе из објеката који су редовно прегледани од стране надлежног ветеринара и из инкубатора који су у складу са прописаним стандардима (наведеним у поглављу 6.4. OIE);
2. Нису вакцинисани против инфективног бронхитиса или
3. Вакцинисани су против инфективног бронхитиса (врста вакцине и датум вакцинације морају бити наведени у сертификату);
4. Потомци су родитељских јата која:

a. долазе из објеката и инкубатора слободних од инфективног бронхитиса, на основу резултата серолошких испитивања;

b. долазе из објеката у којима се вакцинација против инфективног бронхитиса не примењује код родитељског јата, или

c. долазе из објеката у којима се вакцинација против инфективног бронхитиса примењује код родитељског јата;

5. Добијена су у чистим и некоришћеним пошиљкама.

Препоруке за увоз јаја за насад

Надлежни ветеринарски орган земље увознице треба за увоз јаја за насад да захтева међународни ветеринарски сертификат којим се потврђује:

1. Да су дезинфикована у складу са стандардима наведеним у поглављу 6.4.OIE;
2. Да долазе из објеката и/или инкубатора слободних од инфективног бронхитиса и из инкубатора који су у складу са прописаним стандардима (наведеним у поглављу 6.4. OIE);
3. Да су добијена у чистим и некоришћеним пошиљкама.

ЛИТЕРАТУРА:

1. De Wit JJ, Cook JKA, van der Heijden HMJF, 2011, Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures, Avian Pathology, 40, 3, 223-5; 2. Cavanagh D, 2007, Coronavirus avian infectious bronchitis virus, Vet Res, 38, 281-97; 3. Worthington KJ, Currie RJ, Jones RC 2008, A reverse transcriptase-polymerase chain reaction survey of infectious bronchitis virus genotypes in Western Europe from 2002 to 2006, Avian Pathology, 37, 247-57; 4. De Wit JJ, Van de Sande H, 2009, Efficacy of combined vaccines at day of hatch against a D388 challenge in SPF and commercial chickens. In U Heffels-Redmann, EF Kaleta (Eds.). Proceedings of the VIth International Symposium on Corona- and Pneumoviruses and Complicating Pathogens, 177-182, Rauischholzhausen, Germany; 5. Jackwood MW, Hilt DA, Lee CW, Kwon HM, Callison SA, Moore KM, Moscoso H, Sellers H, Thayer S, 2005, Data from 11 years of molecular typing infectious bronchitis virus field isolates, Avian Diseases, 49, 614-18; 6. Lee CW, Jackwood MW, 2001, Spike gene analysis of the DE072 strain of infectious bronchitis virus: origin and evolution, Virus Genes, 22, 85-91; 7. Villarreal LY, Sandri TL, Souza SP, Richtzenhain LJ, de Wit JJ, Brandao PE, 2010, Molecular epidemiology of avian infectious bronchitis in Brazil from 2007 to 2008 in breeders, broilers, and layers, Avian Diseases, 54, 894-8; 8. Ducatez MF, Martin AM, Owoade AA, Olatoye IO, Alkali BR, Maikano I, Snoeck CJ, Sausy A, Cordioli P, Muller CP, 2009, Characterization of a new genotype and serotype of infectious bronchitis virus in Western Africa, Journal of General Virology, 90, 2679-2685; 9. Zulperi ZM, Omar AR, Arshad SS, 2009, Sequence and phylogenetic analysis of S1, S2, M, and N genes of infectious bronchitis virus isolates from Malaysia, Virus Genes, 38, 383-91; 10. Bochkov YA,

Batchenko GV, Shcherbakova LO, Borisov AV, Drygin VV, 2006, Molecular epizootiology of avian infectious bronchitis in Russia, Avian Pathology, 35, 379-93; 11. Ignjatovic J, Gould G, Sapats S, 2006, Isolation of a variant infectious bronchitis virus in Australia that further illustrates diversity among emerging strains, Archives of Virology, 151, 1567-85; 12. Cook JKA, Orbell SJ, Woods MA, Huggins MB, 1999, Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes, Avian Pathology, 28, 477-85; 13. De Wit JJ, 2000, Detection of infectious bronchitis virus, Avian Pathology, 29, 71-93; 14. Cavanagh D, Gelb J, 2008, Infectious bronchitis, In YM Saif, AM Fadly, JR Glisson, LR McDougald, LK Nolan & DE Swayne (Eds.). Diseases of Poultry 12th ed, 117-135, Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional; 15. Dhinaker RG, Jones RC, 1997, Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken, Avian Pathol, 26, 677-706; 16. Cavanagh D, Naqi S, Infectious bronchitis, In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE (Eds.), 2003, Diseases of poultry, Iowa, 11th edition, Ames, Iowa State University Press, 101-19; 17. Cook JKA, Jackwood M, Jones RC, 2012, The long view: 40 years of infectious bronchitis research, Avian Pathology, 41, 3, 239-50; 18. De Wit JJ, Swart WAJM, Fabri THF, 2010, The efficacy of infectious bronchitis virus vaccinations in the field: association between the a-IBV IgM response, protection and vaccine application parameters, Avian Pathol, 39, 123-32; 19. Nix WA, Troeber DS, Kingham BF, Keeler CL Jr, Gelb J Jr, 2000, Emergence of subtype strains of the Arkansas serotype of infectious bronchitis virus in Delmarva broiler chickens, Avian Dis, 44, 568-81; 20. Cavanagh D, 2003, Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus, Avian Pathol, 32, 567-82; 21. Johnson MA, Pooley C, Ignjatovic J, Tyack SG, 2003, A recombinant fowl adenovirus expressing the S1 gene of infectious bronchitis virus protects against challenge with infectious bronchitis virus, Vaccine, 21, 2730-6.

ТЕХНОПАТИЈЕ ТЕШКИХ ЛИНИЈСКИХ ХИБРИДА ЖИВИНЕ

Данка Маслић-Стрижак[1], Љиљана Спалевић[1], Радмила Ресановић[2]

[1]Научни институт за ветеринарство Србије, Београд; [2]Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

Кратак садржај

Међу домаћим животињама највећи потенцијал за производњу меса има живина. Савремени хибриди тешких линија произведу 148-151 једнодневно пиле до узраста од 64 недеље. Товни пилићи расту до 2,2 kg за 42 дана дана това или чак до 4,1 kg за 56 дана това. Живина одлично искоришћава храну, производни циклуси су кратки, инвестициона улагања у производњу мања него код других домаћих животиња. Пилеће месо садржи високи удео беланчевина и низак удео масти у односу на меса других врста домаћих животиња. Не постоје верска ни културна ограничења у исхрани људи пилећим месом, те је производња и потрошња пилећег меса у сталном порасту.

Затворени живинарници су једини животни простор у којем живина остаје од пилета до краја експлоатације. У живинарницима је неопходно обезбедити све потребне услове за очување здравља, нормалан раст и производњу живине. Индустрализацијом живинарске производње током прошлог столећа успешно су сузбијене болести проузроковане бактеријама, вирусима, гљивицама, паразитима, али су различити фактори који утичу на раст и производњу живине утицали на могућности одржавања нормалних физиолошких функција, те су се зато појавили здравствени проблеми проузроковани грешкама у технолошком процесу производње, тзв. технопатије. У интензивној пољопривредној производњи појам технопатија се први пут јавља пре нешто више од четрдесет година и подразумева болести и телесне повреде у индустријским условима држања животиња. У живинарској производњи технопатије могу настати као последице конструкцијских грешака у изради објеката и опреме или функционалних поремећаја на било којем техничком систему коришћеном у процесу узгоја и експлоатације живине, од инкубације до производње расплодних јаја.

У раду су описане неке технопатије које се јављају код тешких производних категорија у генерацијама родитеља и бројлера и које наносе знатне економске губитке овој производњи. Болести као што су контактни дерматитис, прсна кврга, дегенеративна миопатија, синдром асцитес, проузроковане су грешкама и функционалним поремећајима у изради објеката и опреме, као и метаболичким поремећајима условљеним селекцијом живине на високу продуктивност.

Кључне речи: родитељи тешких линија, товни пилићи, технопатије

TECHNOPATHIES OF HEAVY POULTRY BREEDS

Danka Maslić-Strižak[1], Ljiljana Spalević[1], Radmila Resanović[2]

[1]Institute of veterinary medicine of Serbia, Belgrade; [2]Faculty of veterinary medicine, University of Belgrade

Abstract

Poultry has the biggest production potential among domestic animals. Modern heavy line hybrids produce 148 – 151 day old chickens up to the age of 64 weeks. Broilers grow up to 2,2 kg in 42 days of feeding, and even up to 4,1 kg in 56 days of feeding. Poultry exploits food excellently, production cycles are short, investing in production less then with other domestic animals. Chicken meat is rich in protein and has a low proportion of fat, comparing with other meat, and there are no religious or cultural limitations when it comes to feeding people with chicken meat. Therefore, production and consumption of poultry meat is constantly rising.

Closed chicken coops are the only living area, and poultry stays in them until the end of exploitation. It is neccessary to provide conditions required for preservation of health, normal growth and production of poultry.

Industrialization of poultry production during the last century has successfully supressed diseases caused by bacterias, viruses, fungi, parasites, but different factors concerning growth and production of poultry affected maintaining normal physiological functions, and health issues caused by mistakes in technological procces called technopathies have appeared.

In the intensive agricultural production term technopathy has appeared over more than 40 years ago, and it is used to describe diseases and body injuries caused in the industrial conditions of keeping animals. In poultry production technopathy may arise as a result of structural defects in the development of facilities or functional impairment in any technical system used in the cultivation and exploitation of poultry, from incubation to production of hatching eggs. This paper describes some of the technopathies that appear in heavy lines in generations of parents and broilers, and cause significant economic losses in this production.

Diseases such as contact dermatitis, breast lumps, degenerative myopathy, syndrome ascites are caused by errors and functional disorders in developing objects and equipment, as well as metabolic disorders induced by selecting the poultry for high productivity.

Key words: broilers, technopathies, heavy breeds

Увод

Савремена производња живине је сложени процес који захтева стручну и научну обученост узгајивача, зоотехничке услове прилагођене генетском потенцијалу данашњих пасмина и хибрида живине, као и високе стандарде заштите околине. Последњих деценија се радило на производњи товних пилића који ће за краће време одгоја постићи већу тежину. Различити фактори доприносе популарности живинског меса. Пилеће месо садржи високи удео беланчевина и низак удео масти у односу на меса других врста домаћих животиња, што га чини дијететским производом У живинском месу је висок степен незасићених масних киселина, мало натријума и холестерола те се због свог повољног утицаја на здравље људи може сматрати

"функционалном храном". Повољан утицај на здравље људи се остварује због високог садржаја биоактивних материја, као што су коњугована линолна киселина, витамини, антиоксиданти и уравнотежен однос n-6 и n-3 полинезасићених масних киселина (1,2). Живина има висок биолошки потенцијал за производњу меса. Тешке хибридне линије кокоши имају потенцијал да произведу 148-151 једнодневно пиле до узраста од 64 недеље. Тов бројлерских пилића траје 5-6 недеља (35-42 дана) за које време се постиже жива тежина од 2,1-2,7 kg. Прилагођавајући се захтевима тржишта, селекција товне живине током низа протеклих деценија усмерена је на производњу широкопрсних брзорастућих пилића и ћурића. Код тако селекционисаних бројлерских пилића учешће прса (белог меса) у трупу порасло је на 32,43 до 37,90% (3). За максимално искоришћавање генетског потенцијала живине потребно је познавати грађу и функцију органских система, као и услове држања и смештаја живине.

Различити фактори који утичу на раст и производњу живине утичу на могућности одржавања нормалних физиолошких функција. Недовољно познавање или непоштовање захтева живине резултира здравственим проблемима проузрокованим грешкама у технолошком процесу производње, тзв. технопатијама. Појам технопатија у интензивној пољопривредној производњи јавља се први пут пре нешто више од четрдесет година и подразумева болести и/или телесне повреде у индустријским условима држања животиња. Према Закону о добробити животиња (Службени гласник РС, 41/2009) технопатија је поремећај здравственог стања проузрокован у процесу држања, односно репродукције животиња, а који се испољава као физикопатија (болести и повреде) и етопатија (поремећаји у понашању). Тешки линијски хибриди који се користе у савременој живинарској производњи су врло добре генетске основе, која омогућава врхунску производњу. У условима стајског држања, животиње примају квалитетно нове и другачије надражаје од оних које су добијале у природи. Организам живине је под непосредним деловањем различитих утицаја околине (простор, популација, температура, влага, штетни гасови, итд). Да би се обезбедило нормално одвијање физиолошких процеса и да би живина била у доброј здравственој и производној кондицији потребно је да се обезбеде што природнији и удобнији услови смештаја. (4) Брзи и рани раст пилића резултирао је великим променама у анатомији и физиологији пилића, што је довело до различитих проблема, као што су поремећаји ногу, метаболички поремећаји и др. Овако динамична селекција значи да се потребе пилића данас битно разликују у потребама од пре само 10 година.

Поремећаји настали услед неадекватне простирке

Тешки линијски хибриди, родитељска јата и товни пилићи углавном се узгајају на поду у дубокој простирци. Подови објеката су тврди, обично бетонски, а као простирка служе нус производи из пољопривреде (слама, кочанка, љуска од сунцокрета, љуска од риже, поздер и др.) и из дрвне индустрије (талашика, пиљевина). Простирка треба да има способност да упије влагу и да обезбеди удобан смештај живини. Наноси се у довољно дебелом слоју од 15-20 cm и више, у зависности од годишњег доба, категорије живине која се узгаја и врсте простирке (5). Грешке у одабиру простирке могу бити узрок различитих поремећаја, како на ногама, тако и на осталим деловима тела. Један од тих поремећаја је контактни дерматитис *(Contact Dermatitis, Hock Burn, Pododermatitisse)* који се сусреће код свих категорија живине, али најчешће код тешких родитеља и бројлерских пилића. Услед дуготрајног стајања на неквалитетној, влажној и тврдој простирци, настају промене на стопалима (меканим деловима стопала) које се шире на задње површине скочног зглоба. У екстремно лошим условима промене настају и на грудима.

Интензитет промена је различит, од промена на површини коже до дубоких улцерација, што је у директном односу са хигијенским условима у објекту. Од

интензитета промена зависи степен поремећаја. Иако је за појаву пододерматитиса најзначајнији утицај квалитета простирке, неки аутори појаву пододерматитиса повезују и са коришћењем хране са високим садржајем соје, јер таква јата имају измет промењеног pH, који је лепљив, тако да се стварају услови за развој пододерматитиса.

Први знак болести је поцрнела кожа на меким деловима стопала. Како процес напредује настају ерозије, а потом и фиброзе које се проширују на полеђину скочног зглоба, а понекад захватају и подручје груди. Те промене омогућавају улазак бактерија, које узрокују секундарне инфекције. Живина због изражених болова храмље. Дијагноза се поставља на основу клиничких и патоанатомских промена, а лечења нема. Превенција ових стања је остваривање добрих хигијенских услова у објекту. Слој простирке мора бити дебљине најмање 15-20 cm, простирка мора да је сува и растресита, а смањење влажења постиже се постављањем квалитетног система напајања, који се мора стално контролисати. И промена квалитета хране, односно смањење процента соје у храни, даје извесне резултате (6).

Пододерматитис може бити почетак већих проблема који се јављају услед лошег квалитета простирке, брзине раста товних ћурића и пилића и слабости ногу, јер живина много времена проводи лежећи, што може довести до повреде неоперјалих делова грудног коша из којих се развија прсна кврга или *breast blister* - грудни плик. Иако на инциденцу прсне кврге утиче много фактора, као што су старост, телесна тежина, пол, густина насељености, хибрид као и дужина и временски услови током транспорта (7), недовољна дебљина простирке и њен лош квалитет доводе до повреде неоперјалих делова груди. Те повреде резултирају прсном квргом. Промењена места омогућавају инфекцију бактеријама из рода *Staphilococcus* као и другим бактеријама, па се инфекција јавља као секундарни проблем. Морбидитет може достићи и до 50%, а обично оваква стања не узрокују угинућа. Клиничком опсервацијом таквих јата уочава се велики број животиња које се не крећу, а на грудима се налазе места са промењеном бојом, изражене модрице, а неретко и отоци. Патоанатомски се налази бурзитис дуж грудне кости, а могуће је наћи и формирано ожиљкасто ткиво. Дијагноза се поставља на основу присутних лезија. На кланицама приликом обраде трупова због насталих промена се одбацује и до 5% грудног мишића. Грудни плик није могуће лечити, превентива је у поправљању зоохигијенских услова у објекту.

Промене настале као последица селекције живине

Едукацијом потрошача о хранидбеној (нутритивној) вредности меса живине, релативно ниске цене у поређењу са другим врстама меса, непостојању верских и културних ограничења и одговарајућим рекламама, производња и потрошња пилећег меса је у сталном порасту. Код брзорастућих широкопрсних бројлера, учешће прса (белог меса) у трупу порасло је на 32,43- 37,90%. Грудни филети су економски најважнији мишићи перади, а код брзорастућих широкопрсних бројлера представљају једну четвртину живе тежине, односно једну трећину тежине трупа и једну половину укупног јестивог протеина (8). Такав напредак је брзорастућу живину изложио сталном стресу.

У истраживањима више група аутора је утврдило да брзорастући хибриди показују високу инциденцу ка спонтаним или идиопатским миопатијама (као што је болест дубоког грудног мишића) и повећану осетљивост ка стресним миопатијама, које могу имати утицај на квалитет меса и учесталост абнормалних стања, као што је бледило, мекоћа и воденост (PSE) (9).

Један од поремећаја који се бележи од 1968. године је и дегенеративна миопатија*, Deep Pectoral Myopathy (DPM), Green muscle disease* (дегенеративна миопатија; болест зеленог мишића), која се јавља код пилића и ћурака селекционисаних

на широке и велике груди ради производње што више грудног - белог меса. Промене се налазе и у генерацијама родитеља и њихових потомака. Дегенеративна пекторална миопатија (ДПМ) описана је прво код ћурака 1968. године и позната је као Орегон болест или болест зеленог мишића (8). Болест је изучавана у Орегону и иако је првобитно утврђена код одраслих ћурака нађена је и код брзорастућих пилића. ДПМ се јавља искључиво код птица које су селекционисане на брзи раст и широка прса. Исхемијска миопатија дубоког прсног мишића се јавља услед положаја дубоког прсног мишића који је окружен прсном кости и нееластичним појасом који не дозвољавају да маса мишића нормално набубри и одговори на физиолошке промене које се догађају код махања крилима. ДПМ се развија током поновљених контракција мишића, када је циркулација у мишићном ткиву значајно појачана ради снабдевања кисеоником и хранљивим материјама. Мишићи набубре услед повећања интрацелуларне течности и његова тежина се повећава за око 20-25%. Повећан мишић остаје укљештен, долази до затварања крвних судова што узрокује исхемију, а потом и некрозу. Промене су различите, пребојавање мишића може бити од ружичастог, жутог, смеђег до зеленог, понекад и са крвављењима, а јављају се једнострано или обострано. Овакво стање не нарушава здравље птица и открива се тек приликом расецања трупова живине на кланицама. Настале промене немају утицаја на здравље конзумената, али су естетски непожељне и захтевају одбацивање грудног меса (филеа) што умањује вредност производа и изазива економске штете. Са повећањем раста и величине мишића дошло је до повећања учесталости миопатија. У досадашњим истраживањима није утврђено да пол има значајан утицај на појаву ДМП. Разлике у вредностима инциденце зависе од различитих фактора и приписују се старости пилића, завршној тежини това, хибриду и многим другим факторима. Макроскопским и микроскопским истраживањима грудних мишића утврђене су промене код 0,06%-17% испитаних пилића приликом клања (11,12). Новија истраживања ДПМ показују да постоји генетска предиспозиција код брзорастућих широкопрсних товних пилића и повезују болест са неадекватним капацитетом крвних судова у грудним мишићима, што повећава осетљивост за појаву ДМП. Hee-Jong и сарадници (13) су радили истраживања са циљем да пронађу неинвазиван метод за препознавање пилића који имају склоност ка развоју ДМП и утврдили да пилићи код којих су индукована оштећења мишића имају знатно повећан ензим креатин киназу у крви, тако да би мерење креатин киназе могло послужити као неинвазиван метод у препознавању пилића са склоности за ДМП. Постојање ДМП изазива знатан губитак у живинарској индустрији и изналажење начина да се из репродукције искључе животиње које имају предиспозицију за ДМП и створе широкопрсни товни хибриди отпорни на овакве појаве донело би знатне уштеде у живинарству (13).

Технопатије условљене генетским променама брзорастућих широкопрсних хибрида

Асцитес (Синдром изненадне смрти)

Асцитес је метаболички поремећај и настаје као резултат утицаја различитих фактора, околних и унутрашњих (14). За почетак асцитеса може бити везан и низак ниво кисеоника у инкубатору током развоја ембриона. Брзи раст бројлера постиже се храњењем живине енергетски богатим хранивима како би се задовољили њихови прехрамбени захтеви. Брзорастући бројлери имају висок базални метаболизам како би користили високу енергију у исхрани, тако да се потреба за кисеоником мултиплицира. Повећан прираст код брзорастућих бројлера захтева већи метаболички напор и повећање минутног волумена што узрокује плућну хипертензију и асцитес. Неадекватна опскрбљеност кисеоником, слаба вентилација и физиологија (потрошња кисеоника која зависи од хибрида) доводе до дисбаланса у потребама и обезбеђењу кисеоника. Осетљивост према асцитесу често може настати у раним фазама ембриогенезе и

инкубације. Повишена температура инкубације од 7. дана па надаље условљава слабији квалитет излежених пилића и недовољан развој срца, што свакако повећава склоност за појаву асцитеса. Дијагностикује се током 2-5 недеље старости иако је некад могуће уочити знаке асцитеса и код дан старих пилића. Болест се манифестује код одраслих пилића као диспнеа и цијаноза. Морбидитет је обично од 5% до 25%, морталитет од 2% до 10%, а забележен је морталитет и до 25%. Смањен унос хранљивих материја може да смањи учесталост асцитеса у јату.

За асцитес нема специфичног лека и лечења. Превентивне мере које се спроводе у борби са овим проблемом заснивају се на обезбеђењу довољне количине кисеоника у свим фазама живота бројлера. Посебно је потребно да током инкубације мешавина гасова у инкубатору буде задовољавајућа и да се обезбеди правилан ембрионални развој, јер од концентрације кисеоника у ваздушној комори зависи правилан развој ембриона. Дужина и/или тежина пренаталне хипоксије може утицати на постналне карактеристике које су повезане са асцитесом. Давање витамина Е може помоћи у смањењу нивоа оксидативног стреса у крви плућа бројлера и помоћи очувању ендотела, јер пилићи код којих се развија асцитес имају низак ниво токоферола у јетри и плућима што указује да поремећен антиоксидативни статус учествује у појави плућне хипертензије. Уз витамин Е потребно је дати и витамин Ц. Он отпуштањем једног електрона, који се веже за антиоксиданс облик витамина Е, рециклира витамин Е радикал. Давање витамина Ц код ових пилића се препоручује и због смањења утицаја разних других стресова, али и као антиоксидант. Такође, витамин Ц има и метаболичку активност, смањује отпор протока крви кроз уске капиларе плућа (15).

Дужина светлосног дана код брзорастућих бројлера може имати утицај на појаву асцитеса (синдрома изненадне смрти). Према неким истраживањима, применом скраћеног светлосног дана у раном узрасту (3 до 4 дана) смањује се инциденца за појаву асцитеса за 30 до 60%. На тај начин се смањује брзина раста бројлера у првим данима живота, а продужавањем светла до 23 сата до 35. дана постижу се задовољавајући резултати това (16). Овај синдром се појављује код брзорастућих пилића који су селекционисани да једу велике количине енергетски богате хране, јер ограничење оброка у првим данима живота смањује проценат угинућа за 75%. За овакве пилиће боље је да је храна брашнаста и да се потребе у енергији задовоље из масних извора, него из глукозе.

Осим унутрашњих фактора, који резултирају склоности ка појави асцитеса, истраживања су показала да у појави асцитеса значајну улогу играју и спољашњи фактори смештаја и услова живота живине (17). Један од спољашњих фактора који може имати утицај на појаву синдрома изненадне смрти (асцитеса) је и густина насељености. Значај густине насељености у појави болести има утицај не само због немогућности обезбеђења довољне количине кисеоника, него и због стварања услова за лакше међусобно повређивање живине. Висока густина насељености товних пилића по метру кавадратном пода осим што је проблем за добробит животиња, условљава и слабији квалитет ваздуха и простирке у живинарницима што може резултирати и повећаним бројем угинућа узрокованих асцитесом (18).

Иако је болест могуће препознати већ у првим недељама живота пилића, угинућа која настају услед асцитеса се јављају у завршним фазама това, тако да већина оболелих пилића доспе у кланицу. Код пилића са асцитесом приспелих на кланицу уочава се растегнути трбух, респираторни дистрес и цијаноза. Приликом клања налазе се тамно пребојени грудни мишићи, трбух је изразито проширен. У трбушној шупљини је могуће наћи и до 300,ml бистре жуте течности са угрушцима фибрина. Десна страна срца је увећана, дилатирана и хипертрофична, а у срчаној овојници је присутна течност. Јетра је сива, повећана и заобљених рубова, а плућа едематозна. Такви пилићи су углавном заостали у расту. Трупови тих пилића се на кланицама одбацују као неупотребљиви.

Закључак

Повећани захтеви производње који се постављају како пред произвођача живине, тако и пред саму живину, захтевају да се обезбеде што природнији и удобнији услови смештаја и квалитетна храна, која је способна да у свакој фази раста, развоја и производње, живини омогући да се сви физиолошки процеси нормално одвијају и да се очува здравље животиња. Сви ти елементи треба да буду компоновани као најлепша мелодија писана за симфонијски оркестар.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Barroeta AC, 2006, Nutritive value of poultry meat: Relationship between vitamin E and PUFA, Worlds Poult. Sci. J. 63, 277-84. 2. Givens DI, 2009, Animal nutrition and lipids in animal products and their contribution to human intake and health. Nutrients. 1, 71-82. 3. Kralik I, Budimir K, Tolušić Z, 2011, Tržišna vrijednost trupova suvremenih hibrida pilića ,Market value of caracasses of modern broiler genotypes, Krmiva 53 (6), 226-31. 4. Palić T., Resanović R, Savremeni trendovi u uzgoju i zdravstvenoj zaštiti živine, Centar za obrazovanje u veterinarskoj medcini Beograd 5. Maslić - Strižak D, Spalević Lj, 2011, Tehnopatije u savremenoj živinarskoj proizvodnji, Živinarstvo (7/8) 2-17. 6. Berg C, 2004, Pododermatitis and hock burn in broiler chickens. In C. A. Weeks & A. Butterworth (Eds.), *Measuring and auditing broiler welfare* (pp. 37-49). Wallingford: CABIPublishing 7. Islam KN, Islam MS, Sultana R, Khaleduzzaman ABM, Gain P, Bulbul SM, 2004, The Effect of Transfer Battery Brooded Broilers on Conventional Rice Husk Littered Floor on Production Performance. Pakistan Journaof Biological Sciences, 7, 1410-3. 8. Lien RJ, Bilgili SF, Hess JB,Joiner KS, 2011, Finding answers to 'green muscle disease', Animal Science abroad, 2011-05. 9. Petracci M, Bianchi M, Cavani C, 2009, The European perspective on pale, soft, exudative conditions in poultry. Poult. Sci. 88,1518-23. 10. Dickinson EM, Stevens JO, Helfer DH, 1968, A Degenerative Myopathy in Turkeys, Proceedings of 17th Western Poultry Disease Conference, Davis, CA, USA, University of California, 6. 11. Bilgili SF, Hess JB, 2002, Green Muscle Disease in broilers increasin World Poultry - Elsevier,18,(4) 42-53. 12. Bianchi M, Petracci M, Franchini A, Cavani C, 2006, The occurrence of deep pectoral myopathy in roaster chickens. Poult. Sci, 85, 1843-6. 13. Hee-Jong S, Myung-Woo L, Kyeong-Sun R, Hyung-Kwan J, 2008, Degenerative myopathy of the supracoracoideus (DMS) in turkeys and broiler chickens (Review), Kor. J. Vet. Serv., 31, 161-6., 14. Julian RJ, 2005, Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry-a review Vet. J. 169, 350-69. 15. Decuypere E, Hassanzadeh M, Buyse J, Buys N, 2005, Further insights into in the susceptibility of ascites, Vet. J. 169, 319-20. 16. Decuypere E, Buyse J, Buys N, 2000, Asctes in broiler chickens: exogenous and endogenous structural ant functional causal factors. World's Poult. Sci. J. 56, 367-76. 17. Scheele CW, Van der Klis JD, Kwakernaak C, Dekker RA, Van Middelkoop JH, Buyse J, Decuypere E, 2005, Ascites and venous carbon dioxide tension in juvenile chickens of highly selected genotypes and native strain. World's Poult. Sci. Assoc. 61, 113-29. 18. Maslić-Strižak D, Spalević Lj, 2011, Uticaj gustine naseljenosti na pojavu sindroma iznenadne smrti kod tovnih pilića, Zbornik referata i kratkih sadržaja 22. Savetovanje veterinara Srbije (sa međunarodnim učešćem) 131-7.

СТАТУС КОКЦИДИОСТАТИКА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ И ЕВРОПСКОЈ УНИЈИ

Гордана Жугић, Јелена Анђелковић, Миљана Голубовић

Агенција за лекове и медицинска средства Србије

Кратак садржај

Кокцидиостатици су супстанце које уништавају протозое проузроковаче болести код животиња или успоравају њихово деловање. Промет кокцидиостатика у Републици Србији регулисан је Законом о лековима и медицинским средствима („Службени гласник РС“ бр. 30/2010 и 107/2012) и пратећим подзаконским актима. Кокцидиостатици се сматрају лековима у складу са чланом 14. овог закона. Сходно томе, услови за стављање кокцидиостатика у промет у Републици Србији идентични су условима које треба да задовоље лекови да би се нашли у промету. Иако је Закон о лековима и медицинским средствима у највећој мери усклађен са релевантним прописима Европске уније, првенствено Директивама 2001/82/ЕС и 2001/83/ЕС, услови за стављање кокцидиостатика у промет на територији ЕУ знатно се разликују. ЕУ препознаје кокцидиостатике као додатке храни за животиње, док је промет ових производа регулисан Уредбама 1831/2003 ЕС и 429/2008 ЕС, као и пратећим прописима. У раду је дат осврт на различите захтеве које је потребно испунити да би се кокцидиостатик нашао у промету у Републици Србији и Европској унији.

Кључне речи: кокцидиостатик, лек, регулатива, Република Србија, Европска унија

COCCIDIOSTATS STATUS IN THE REPUBLIC OF SERBIA AND EUROPEAN UNION

Gordana Žugić, Jelena Anđelković, Miljana Golubović

Medicines and Medical Devices Agency of Serbia

Abstract

Coccidiostats are substances that destroy or reduce effects of protozoa causing illnesses in animals. Marketing of coccidiostats in the Republic of Serbia is governed by the Law on Medicines and Medical Devices („RS Official Gazette“ No. 30/2010 and 107/2012) and accompanying regulations. Pursuant to Article 14 of this law, coccidiostats are medicines. Accordingly, conditions for placing coccidiostats on the market of the Republic of Serbia are identical to those prescribed for any other medicinal product. Although the Law on Medicines and Medical Devices is mostly harmonized with relevant legislation of European Union, primarily Directives 2001/82/EC and 2001/83/EC, conditions for placing coccidiostats on the EU market are very different. EU recognizes coccidiostats as feed additives and marketing of those products is governed by Regulation 1831/2003 EC and accompanying legislation, particularly Regulation 429/2008 EC. This paper provides a review of different requirements for placing coccidiostats on the market of the Republic of Serbia and European Union.

Key words: coccidiostat, medicinal product, legislation, Republic of Serbia, European Union

УВОД

Кокцидиоза је паразитско обољење птица и живине проузроковано протозоама из рода *Eimeria*, ређе и других родова. Кокцидиостатици су супстанце које уништавају протозое проузроковаче болести код животиња или успоравају њихово деловање. Супстанце које делују специфично против протозое *Histomonas meleagridis* називају се хистомоностатици. Кокцидиостатици су према ATCvet класификацији сврстани у групу QP51: Антипаразитски производи, инсектициди и репеленти; антипротозоици.

Закон о лековима и медицинским средствима („Службени гласник РС“ 30/2010 и 107/2012) у члану 14 даје дефиницију лека: Лек је производ који се ставља у промет у одређеној јачини, фармацеутском облику и паковању а који садржи супстанцу или комбинацију супстанци за коју се показало да има својство да лечи или спречава болести код људи, односно животиња, као и супстанцу или комбинацију супстанци која се може користити или примењивати на људима, односно животињама, било са намером да се поново успостави, побољша или измени физиолошка функција путем фармаколошког, имунолошког или метаболичког дејства или да се постави медицинска дијагноза. Овај Закон и пратећа подзаконска акта препознају кокцидиостатике као лекове. Сходно томе, захтеви у погледу документације за издавање дозволе за лек односе се и на кокцидиостатике, те је њихов промет у Републици Србији условљен издавањем дозволе за лек на период од пет година од стране Агенције за лекове и медицинска средства Србије.

Правилник о садржају захтева и документације, као и начину добијања дозволе за стављање лека у промет („Службени гласник РС“ 30/2012) прописује да се документација за ветеринарске лекове подноси у Европском досијеу. Документација у Европском досијеу за ветеринарске лекове састоји се из четири дела, и то:

Део 1 - Административна документација;

Део 2 - Документација о квалитету (фармацеутско-хемијско-биолошка документација);

Део 3 - Документација о безбедности и испитивању резидуа (фармаколошко-токсиколошка документација и документација о испитивању резидуа);

Део 4 - Документација о ефикасности (претклиничка и клиничка документација).

Структура административне документације прописана је члановима 43. до 47. овог правилника, а један од најважнијих докумената који се доставља је сертификат Добре произвођачке праксе (GMP сертификат) места производње лека који није старији од три године.

Структура документације о квалитету лека прописана је чланом 50. овог правилника. Квалитет лека је описан подацима о саставу лека, где су, поред квалитативног и квантитативног састава лека, наведени и подаци о формулацији за клиничка испитивања и развоју лека. Процес производње лека мора бити документован подацима о производној формули, производном процесу (са дијаграмом тока процеса и процесном контролом) и валидацији самог процеса. Подаци о контроли полазних супстанци и паковног материјала укључују и спецификације активне супстанце, ексципијенаса и материјала за паковање - контактне амбалаже. За активну супстанцу се достављају комплетни подаци у форми *Drug Master File*-а (DMF) или Сертификат о усклађености са монографијом европске фармакопеје (CEP сертификат). Процена квалитета активне супстанце за коју није достављен CEP сертификат, ексципијенаса и материјала за паковање врши се на основу поређења датих спецификација истих у досијеу са постојећим монографијама у европској фармакопеји или другим релевантним фармакопејама. Такође, неопходни су подаци о посебним мерама у циљу спречавања преношења трансмисивих спонгиформних енцефалопатија животиња

(TSE). Контрола међупроизвода и готовог производа се описује спецификацијом уз навођење рутинских тестова, као и описа аналитичких метода испитивања уз достављање података о валидацији истих. Процена квалитета готовог лека подразумева проверу обухваћености спецификацијом свих обавезних испитивања које прописују европска фармакопеја за дати фармацеутски облик лека, као и релевантне смернице Европске агенције за лекове и VICH смернице. У досијеу се приказују и подаци о анализи производних серија лека. Обавезан део документације о квалитету лека су и подаци о стабилности, који укључују тестове стабилности за активну супстанцу и готов производ, спроведене најмање у условима чувања и условима убрзаног старења. Подаци о стабилности подразумевају и навођење садржаја евентуалних нечистоћа у активној супстанци и готовом леку, које могу представљати деградациони производи или споредни продукти синтезе саме активне супстанце. У зависности од величине паковања и начина примене лека, достављају се и подаци о стабилности након првог отварања, стабилности након замешавања у храну и/или растварања/разблаживања у води за пиће. Достављају се и подаци о процени ризика по животну средину за лекове који садрже генетски модификоване организме (GMO).

Део 3.А документације у Европском досијеу односи се на фармаколошко-токсиколошку документацију, која садржи податке о безбедности лека. Подаци о фармаколошким испитивањима обухватају податке о фармакодинамици и фармакокинетици испитиваног лека. Подаци о токсиколошким испитивањима пружају нам значајне информације о токсичности препарата након примене једне дозе, као и о токсичности након примене поновљених доза. Ова испитивања спроводе се на лабораторијским животињама. Значајан део документације о леку представља подношљивост код циљних врста животиња, коју је потребно доказати за све категорије за које је лек намењен. Документација такође треба да садржи податке о репродуктивној токсичности и тератогености, мутагености и канцерогености. Испитивање осталих ефеката лека обухвата посебна испитивања (имунотоксичност, испитивања ендокриних функција, испитивања функционалности јетре и бубрега, утицај на ензиме, неуротоксичност, испитивања преосетљивости, иритације коже и ока, локалне подношљивости итд. према потреби), опажања на људима, микробиолошка испитивања (утицај на цревну флору људи и микроорганизме који се користе у процесима прераде хране), као и испитивања метаболита, потенцијално опасних нечистоћа, других супстанци и формулација. Процењују се и два веома значајна могућа утицаја лека, утицај лека на људе кроз поглавље Безбедност по корисника, и утицај лека на животну средину у делу Процена ризика по животну средину.

Документација о резидуама обрађена је у делу 3.Б документације Европског досијеа. Овај део садржи податке о фармакокинетици и елиминацији резидуа, максимално дозвољеним количинама резидуа (MRL) и каренци, а обавезно се наводе и аналитичке методе којима се ове резидуе одређују. Ниво максимално дозвољених количина резидуа за супстанце које се користе у производњи ветеринарских лекова прописује Министар надлежан за послове пољопривреде, а на основу MRL прописаних од стране Европске уније. Тренутно, приликом процене документације о леку, експерти Агенције за лекове руководе се MRL вредностима за кокцидиостатике и хистомонолитике прописаним Уредбом 124/2009/ЕС, допуњеном Уредбом 610/2012.

Документација о ефикасности лека садржи претклиничке и клиничке податке. У оквиру овог дела документације налазе се подаци о фармакокинетици и фармакодинамици лека, подношљивости лека код циљних врста животиња и резистенцији. Такође, овај део документације садржи податке о клиничкој ефикасности лека код циљних врста животиња, примењеног у складу са предложеним индикацијама и дозирањем.

Горе наведена испитивања спроводе се у складу са важећим VICH смерницама. Сва испитивања спроведена у циљу потврде квалитета, безбедности и ефикасности лека такође треба да буду спроведена у складу са Добром лабораторијском праксом и Добром клиничком праксом.

Обележавање лекова у Републици Србији прописано је Правилником о садржају и начину обележавања спољњег и унутрашњег паковања лека, додатном обележавању, као и садржају упутства за лек („Службени гласник РС“ бр. 41/2011). Обележавање додатака храни за животиње који се налазе у промету у ЕУ, прописано је чланом 16. Уредбе 1831/2003 ЕС. Подаци који се обавезно морају наћи на спољњем паковању лека у Републици Србији су бројнији од података на паковању додатака храни за животиње у ЕУ, а разлика је у навођењу INN-а лека, квалитативном и квантитативном саставу активне супстанце по јединици дозирања, фармацеутском облику лека, списку помоћних супстанци које имају потврђено дејство, начину примене, упозорењу да се мора чувати ван домашаја деце и другим посебним упозорењима, начину чувања, посебних предострожности код одлагања и уништавања лекова, начину издавања лека, начину коришћења лека чији је режим издавања без рецепта, ATCvet кода, каренце, натписа „Пре примене лека прочитати упутство за лек“ и других посебних упозорења од значаја за примену лека.

Након добијања дозволе за лек, предлагач је обавезан да Агенцији доставља Периодични извештај о безбедности лека у интервалима дефинисаним важећом регулативом.

Европска унија (ЕУ) препознаје кокцидиостатике као једну од пет различитих категорија додатака храни за животиње, а њихов промет у ЕУ условљен је издавањем дозволе за промет на период од десет година од стране Европске Комисије, а на основу процене документације и издатог позитивног закључка надлежне институције Европске агенције за безбедност хране (European Food Safety Authority - EFSA). Додаци храни за животиње уписују се у регистар.

Уредба 1831/2003 ЕС прописује услове за издавање дозволе за додатак храни за животиње. Додаци храни за животиње не смеју негативно утицати на здравље људи и животиња, а такође ни на животну средину. Обележавање производа не сме доводити корисника у заблуду. Такође, производ не сме штетити кориснику и животињама код којих се примењује. Ова уредба прописује да кокцидиостатици и хистомоностатици спадају у додатке храни за животиње. Документација која се прилаже уз захтев за издавање дозволе за додатак храни за животиње предаје се у форми техничког досијеа. Овако предата документација треба да омогући процену додатка храни на основу најновијих научних сазнања и да омогући верификацију усаглашености ових додатака храни са захтевима прописаним у важећој регулативи и то Уредбама 1831/2003 ЕС и 429/2008 ЕС. Обим и садржај испитивања која предлагач треба да приложи зависе од природе супстанце, циљних врста и услова примене.

Уредба 429/2008 ЕС прописује услове у погледу административне документације, идентификације, карактеризације, услова под којима се додаци храни за животиње употребљавају, метода испитивања, као и у погледу безбедности и ефикасности који морају бити задовољени.

Идентификација додатка храни за животиње подразумева навођење података о називу, припадности одређеној категорији додатака у складу са чланом 6. Уредбе 1831/2003 ЕС, квалитативном и квантитативном саставу, чистоћи и физичким каркатеристикама. Под чистоћом додатка храни за животиње подразумева се хемијска и микробиолошка чистоћа, присуство супстанци са токсичним или другим нежељеним карактеристикама које нису додате са намером и не доприносе активности самог додатка храни за животиње. Код производа ферментације мора бити доказано одсуство ферментујућих микроорганизама у додатку храни за животиње.

Активна супстанца у додатку храни за животиње може бити хемијска супстанца, микроорганизми или ензими или комбинација више активних супстанци или агенаса чији појединачни састав може бити квалитативно и квантитативно описан, као и комбинација у којој састојци не могу бити описани појединачном хемијском формулом. Из тог разлога, ЕУ регулатива прописује различите захтеве за поједине делове документације о додатку храни за животиње.

Карактеризација активне супстанце/агенса подразумева квалитативни опис са укљученим подацима о чистоћи, пореклу и другим релевантним карактеристикама у зависности од врсте саме активне супстанце или агенса.

У циљу дефинисања критичних тачки процеса које могу имати утицај на чистоћу активне супстанце/агенса или додатка храни за животиње, мора бити описан производни процес (нпр. хемијска синтеза, ферментација) и приказани подаци о безбедности хемијских супстанци коришћених у самом процесу.

Физичко-хемијске и технолошке карактеристике додатака храни за животиње дефинисане су подацима о стабилности, могућности хомогеног умешавања у премиксе, храну или воду, општим подацима као што су потенцијал за настанак прашине, електростатичке особине или дисперзибилност у течностима и подацима о инкопатибилијама или интеракцијама које се могу очекивати са храном, носачима, другим додацима храни за животиње или медицинским производима. Стабилност додатка храни за животиње процењује се праћењем садржаја активне супстанце/агенса или њене активности излагањем утицају различитих услова средине (светлост, температура, pH, влага, кисеоник, паковни материјал), а рок употребе мора бити поткрепљен подацима добијеним чувањем у најмање два модела услова (25°C, 60% релативна влажност и 40°C, 75% релативна влажност). Достављају се и подаци о стабилности додатака храни за животиње умешаних у премиксе или храну за животиње.

Методе испитивања додатака храни за животиње морају бити у складу са ISO стандардима и спроведене уз поштовање принципа Добре лабораторијске праксе. Проверу квалитета и процену самих метода испитивања врше референтне лабораторије (*Community Reference Laboratory* - CRL), које у Извештају процене наводе да ли су предложене методе погодне за испитивање датог додатка храни за животиње. Процена се односи на методе идентификације и одређивања активне супстанце у додатку храни за животиње, премиксима, храни за животиње или води, као и на методе за одређивање резидуа додатка храни за животиње или његових метаболита у храни. Такође, доставља се опис метода за идентификацију и карактеризацију додатака храни за животиње.

Процена безбедности примене додатка храни заснована је на испитивањима на циљним и лабораторијским врстама. Потребно је показати да је примена адитива безбедна по циљне врсте животиња у највишој предложеној дози, као и у вишеструко вишим дозама да би се утврдила граница безбедности примене производа. Такође, производ мора бити безбедан по потрошаче који у исхрани користе производе добијене од животиња којима је адитив дат у храни или води за пиће. У циљу заштите потрошача користе се максимални нивои резидуа (MRL) и каренца, засновани на прихватљивом дневном уносу (ADI) или горњој граници подношљивог уноса (UL). Максималан ниво резидуа прописан је Уредбом комисије 124/2009, допуњеном Уредбом 610/2012.

Поред наведеног, потребно је доказати и безбедност особа које су изложене додатку храни путем коже, слузокоже, ока или респираторног система док рукују производом, умешавају га у храну или воду, или пак дају такву храну или воду животињама. Резистенција на кокцидиостатике и хистомоностатике је од изузетног значаја, те је у оквиру досијеа потребно засебно обрадити и ову област. Процењују се ризици везани за селекцију и пренос резистенције на антимикробне лекове, као и пораст отпорности и преношење ентеропатогена.

На крају, потребно је доставити податке о утицају додатка храни, његових метаболита и производа добијених додавањем овог адитива на животну средину. Адитив може утицати на животну средину директно, али и путем екскрета животиња код којих је одређени додатак храни примењен.

Процена ефикасности додатка храни за животиње заснована је на испитивањима која треба да покажу ефикасност адитива током прописане примене. Уредба 429/2008 ЕС даје детаљне смернице у погледу најмањег броја циљних врста и категорија животиња у испитивању потребних да би се показала ефикасност одређеног кокцидиостатика, односно хистомоностатика. У случају да је адитив претходно одобрен код физиолошки сличних животињских врста, а уколико су ефекат и механизам дејства познати, доказано исти механизам дејства код мање заступљених животињских врста може бити прихваћен као доказ ефикасности.

Уредба 429/2008 ЕС прописује услове под којима се може прихватити екстраполација података на мање заступљене врсте животиња, у случају да се додатак храни примењује и код више заступљене врсте. Такође, прописује и која додатна испитивања је потребно спровести. У случају да се производ примењује само код мање заступљене врсте животиња, тада је потребно доставити потпун технички досије.

Уколико је потребно, предлагач доставља предлог пост-маркетиншког праћења одложених или непредвиђених ефеката на здравље људи и животиња или на окружење, а који су резултат примене додатка храни за животиње. То је обавезно за додатке храни за животиње које се састоје, садрже или су произведене од генетски модификованих организама (GMO). Када су кокцидиостатици и хистомоностатици у питању, неопходно је праћење резистенције *Eimeria* spp. и *Histomonas meleagridis* на терену.

ЗАКЉУЧАК

Захтеви које је потребно испунити да би се кокцидиостатик нашао у промету у Републици Србији и Европској унији су различити, али исто тако имају и заједничке појединости.

Структура и садржај документације за издавање дозволе за стављање у промет кокцидиостатика у Републици Србији мора бити у складу са Законом о лековима и медицинским средствима („Службени гласник РС“ 30/2010 и 107/2012) и Правилником о садржају захтева и документације, као и начину добијања дозволе за стављање лека у промет („Службени гласник РС“ 30/2012).

Кокцидиостатици, који у ЕУ имају статус додатка храни за животиње, у Републици Србији морају испунити захтеве за издавање дозволе за лек, с обзиром на то да имају статус лека. Иако се регулаторни захтеви у Републици Србији и Европској унији разликују, садржај досијеа је суштински сличан. Из тог разлога, за кокцидиостатике из ЕУ потребно је прилагодити структуру досијеа који се предаје уз захтев за издавање дозволе за стављање у промет истог у Републици Србији. Такође, неопходно је достављање додатне административне документације и документације о квалитету лека за коју постоје захтеви у регулативи Републике Србије. Очекује се да ће у наредном периоду, током даљег усклађивања законодавства Републике Србије са регулативом Европске уније, и статус кокцидиостатика бити измењен, те да ће бити донети нови прописи на основу којих ће ове супстанце бити дефинисане као додаци храни за животиње.

ЛИТЕРАТУРА:
1. Закон о лековима и медицинским средствима („Службени гласник РС“ 30/2010 и 107/2012); 2. Правилник о садржају захтева и документације, као и начину добијања дозволе за стављање лека у промет („Службени гласник РС“ 30/2012); 3. Правилник о садржају и начину обележавања спољњег и унутрашњег паковања лека, додатном обележавању, као и садржају упутства за лек („Службени гласник РС“ 41/2011); 4. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition (Official Journal of the European Union 18.10.2003); 5. Commission Regulation (EC) No 429/2008 of 25 April 2008 od detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council as regards the preparation and the presentation of applications and the assessment and the authorisation of feed additives (Official Journal of the European Union 22.5.2008).

ИНДЕКС АУТОРА

А
Ачански А.
Адамовић И.
Андријашевић М.
Анђелић-Бузаџић Г.
Анђелковић Ј.
Анђелковић, Р.
Аћимовић Б.

Б
Бацић Д.
Беговић-Лазаревић И.
Белић Б. x 3
Бечкеи Ж.
Благојевић З. x 2
Благојевић М. x 2
Бобош С. x 2
Богуновић Д.
Боровић Б.
Бугарски Д.
Буразеровић Е.
Бурсаћ А.

В
Валчић М. x 4
Васиљевић М.
Васић А.
Васковић Н. x 2
Велебит Б.
Вељовић Ђ.
Видановић Д. x 2
Видовић Б.
Виторовић Д.
Врачар В.
Вујанац И.
Вуковић В.
Вучинић М.
Вучићевић И.
Вучићевић М. x 3

Г
Гавриловић П.
Гајић Б.
Галфи А.
Главинић У.
Голубовић М.
Грдовић С. x 2

Д
Давидов И. x 2
Давитков Д.
Даниловић В. x 2
Дебељак З.
Димитријевић С.
Дошеновић М.
Дробњак Д.

Ђ
Ђерић З.
Ђоковић С.
Ђорђевић Милена x 2
Ђорђевић Милутин
Ђурђевић Д.
Ђуричић Б.

Е
Ердељан М.

Ж
Жарковић А.
Живојиновић М. x 2
Живуљ А.
Жугић Г.

З
Зорић З.

И
Ињушки М.
Илић В.
Илић С.
Илић Т.

Ј
Јаковац Стајн Б.
Јанаћковић Ђ.
Јанковић В.
Јанковић Љ.
Јевтић ДЗ.
Јовановић А.
Јовановић М.
Јовановић З.
Јовановић Н.
Јовић С.
Јусуф О.

К
Катић В.
Кировски Д.
Кисин Б.
Кишкароље Ф.
Ковач Д.
Ковачевић З. х 4
Ковачевић Филиповић М. х 4
Крстић В. х 3
Кујача В.
Кукоље В.

Л
Лазић И. х 2
Лазић М.
Лазић С.
Лакић И.
Лакићевић Б.
Лалошевић В.
Лупуловић Д.

Љ
Љубић Б.

М
Марковић Д. х 2
Марковић Р. х 2
Маслић Стрижак Д.
Масловарић П.
Матаругић Д.
Матекало-Сверак В.
Матовић К.
Мачкић С.
Миленковић М.
Милић С.
Милићевић Д.
Милошевић В.
Милошевић И.
Молнар Т.
Мохорко М.
Мрковачки Ј.

Н
Недељковић Траиловић Ј. х 2
Нешић В.
Нешић И. х 2
Нешић С.
Николовски Ј.
Новаков Н.

О
Обрадовић В.
Обреновић С. х 3
Опачић Г.

П
Павловић И. х 2
Пајић М.
Патковић Д.
Пенезић Ј.
Петеј З.
Петрић Д.
Петровић М.
Петровић Т. х 3
Петрујкић Б. х 2
Плавишић Б. х 4
Плавша Н.
Поткоњак А. х 2
Продановић Р.
Прокић Б.
Пустахија Т.

Р
Раденковић-Дамњановић Б.
Радивојевић С.
Радиновић М. х 2
Радисављевић К.
Радовановић А.
Радојичић С. х 4
Радуловић С. х 2
Рајковић М.
Ресановић Р. х 3
Ристановић Д.
Ристановић Е.
Роган Д.

С
Савић С. х 2
Слијепчевић Д.
Спасојевић Ј.
Спасојевић Љ.
Спалевић Љ.
Спирић Д.
Станимировић З.
Стеванчевић М. х 2
Стеванчевић О.
Стеванов С.
Стевановић Ј.
Стевић Н. х 2
Стојанац Н.

Стојанов И.
Стојановић Д. х 3
Стојановић Б.
Стојић П.
Стокић С.
Стошић О.

Т
Теодоровић Р.
Терзин В.
Томић А.
Тохољ Б. х 2
Траиловић Д. х 2
Трујановић Р.

У
Урошевић Милан
Урошевић Миливоје

Ф
Француски Ј. х 3

Х
Христозов Г.
Хрњаковић Цвјетковић И.

Ц
Цинцовић МР. х 3

Ч
Чеканац Р.
Чордаш Т.
Чордаш Ф.

Ш
Шегуљев З.
Шеклер М.
Шефер Д. х 27

F
Fodor L.

H
Hennig-Pauka I.

L
Lengyel B.

R
Ritzmann M.

S
Saiz JC.