

**СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО  
SERBIAN VETERINARY ASSOCIATION**



# **ЗБОРНИК РАДОВА И КРАТКИХ САДРЖАЈА**

## **30. САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**



**Хотел "Палисад" - Златибор  
12-15. септембра 2019. године**

**ИЗДАВАЧ**  
**СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО**

**ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК**  
**Проф. др Милорад Мириловић**

**ТЕХНИЧКИ УРЕДНИК**  
**др вет. мед Катарина Вуловић**

**РЕЦЕНЗЕНТ**  
**Проф. др Владимир Нешић**

**ШТАМПА**  
**Научна КМД, Београд**

**ТИРАЖ**  
**500 примерака**

**Београд, септембар 2019. године**

**ОРГАНИЗАТОР / ORGANIZER:**  
СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО

**СУОРГАНИЗАТОР / CO-ORGANIZER:**  
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ, БЕОГРАД  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД,  
ДЕПАРТМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ

**ПОКРОВИТЕЉ / PATRON:**  
МИНИСТАРСТВО ПОЉОПРИВРЕДЕ,  
ШУМАРСТВА И ВОДОПРИВРЕДЕ  
УПРАВА ЗА ВЕТЕРИНУ  
ВЕТЕРИНАРСКА КОМОРА СРБИЈЕ

**АДРЕСА ОРГАНИЗАТОРА / ADDRESS:**  
Српско ветеринарско друштво  
Булевар ослобођења бр. 18, Београд  
тел/фах: 011/2685-187  
[www.svd.rs](http://www.svd.rs)  
[svd1890@gmail.com](mailto:svd1890@gmail.com)

**Председник СВД-а / President of SVA:**  
Проф. др Милорад Мириловић

**ОРГАНИЗАЦИОНИ ОДБОР / ORGANIZATIONAL BOARD:**

**Председник / President:** Милорад Мириловић  
**Потпредседници / Vice-presidents:** Владимир Нешић и  
Миодраг Рајковић  
**Технички секретар / Technical secretary:** Катарина Вуловић  
**Маркетинг менаџер / Marketing manager:** Небојша Алексић

**ПРОГРАМСКИ ОДБОР / PROGRAMME COMMITTEE:**

**Радмила Марковић (председник),** Владо Теодоровић, Данијела Кировски, Соња Радојичић, Сања Алексић-Ковачевић, Бојан Тохол, Слободанка Вакањац, Неђељко Карабасил, Милан Малетић, Зоран Станимировић, Владимир Магаш.

**ПОЧАСНИ ОДБОР / HONORARY COMMITTEE:**

Бранислав Недимовић, Емина Милакара, Недељко Тица, Иван Бошњак, Марко Цинцовић, Мишо Коларевић, Саша Бошковић, Ненад Будимовић, Ратко Ралевић.

**СЕКРЕТАРИЈАТ / SECRETARIAT:**

Слободан Станојевић, Сава Лазић, Иван Милош, Миодраг Бошковић, Станко Бобош, Милутин Симоновић, Зоран Рашић, Милан Ђорђевић, Предраг Масловарић, Зоран Јевтић, Војислав Арсенијевић, Љубинко Штерић, Драгутин Смољановић, Бојан Блонд, Весна Ђорђевић, Добрила Јакић-Димић, Бранислава Белић, Милица Лазић, Ласло Матковић, Дарко Бошњак, Петар Миловић, Миодраг Николић, Никола Милутиновић, Владан Ђурковић, Милош Петровић, Драго Недић, Гордана Жугић, Јасна Стевановић, Жељко Сладојевић.



## САДРЖАЈ

	Страна
<b>ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ I</b>	
ЗНАЧАЈ КОНТИНУИРАНЕ ЕДУКАЦИЈЕ ВЕТЕРИНАРСКИХ КАДРОВА У ПОБОЉШАЊУ КВАЛИТЕТА ВЕТЕРИНАРСКЕ ДЕЛАТНОСТИ	
<b>Данијела Кировски, Будимир Плавшић:</b> КОНЦЕПТ ЈЕДНОГ ЗДРАВЉА У ВЕТЕРИНАРСКОМ ОБРАЗОВАЊУ	7
<b>Laguens Rafael:</b> КОНТИНУИРАНА ЕДУКАЦИЈА ВЕТЕРИНАРА У ЕВРОПИ	12
<b>Милан Ж. Балтић, Радмила Марковић, Јелена Јањић, Милорад Мириловић:</b> НАШ ЈУБИЛЕЈ - 30. САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ	14
<b>ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ II</b>	
АКТУЕЛНА ЕПИЗООТИОЛОШКА СИТУАЦИЈА	
<b>Управа за ветерину:</b> АКТУЕЛНА ЕПИЗООТИОЛОШКА СИТУАЦИЈА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ	29
<b>Милена Живојиновић, Славонка Стокић Николић, Милица Лазић, Оливер Савић, Весна Милићевић, Владимир Полачек, Гордана Стефановић, Славица Глишић, Гордана Стојадиновић, Дејан Велисављевић, Оливера Вукелић, Зоран Ивановић, Емина Милакара:</b> ПРИКАЗ ПРВОГ ДИЈАГНОСТИКОВАНОГ СЛУЧАЈА АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА И МЕРА ПРЕДУЗЕТИХ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ДАЉЕГ ШИРЕЊА НА ТЕРИТОРИЈИ ЕПИЗООТИОЛОШКОГ ПОДРУЧЈА ВСИ ПОЖАРЕВАЦ	30
<b>Весна Милићевић, Соња Радојичић, Мирослав Валчић, Наташа Стевић:</b> ПРРС – ОД СУМЊЕ ДО ДИЈАГНОЗЕ	32
<b>Сања Алексић-Ковачевић, Ивана Вучићевић, Илија Јовановић, Јасна Проданов-Радуловић:</b> ЕПИЗООТИОЛОШКИ И МОРФОЛОШКИ КАРАКТЕР АКТУЕЛНИХ РЕСПИРАТОРНИХ ИНФЕКЦИЈА СВИЊА У СРБИЈИ	37
<b>Никола Васковић, Зоран Дебељак, Тимофеи Севских, Владимир Михаиловић, Михаил Власов, Александар Томић, Дејан Видановић, Миланко Шеклер:</b> ПАТОМОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ КОД ПРАСАДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ИНФИЦИРАНИХ ВИРУСОМ АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА	49
<b>ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ III</b>	
ЗДРАВСТВЕНА ЗАШТИТА И РЕПРОДУКЦИЈА ФАРМСКИХ ЖИВОТИЊА	
<b>Ožbalt Podrečan, Dominika Štabuc-Starčević, Mateja Stvarnik, Janko Mrkun:</b> HOW TO IMPROVE FERTILITY PARAMETERS IN INSEMINATED COWS – SLOVENIAN EXPERIENCE	53
<b>Миодраг Лазаревић, Саша Млинар, Александар Миловановић:</b> ФИЗИОЛОШКИ ЗНАЧАЈ Ц ВИТАМИНА КОД ПРЕЖИВАРА	60
<b>Божидар Савић, Весна Милићевић, Оливер Радановић, Немања Здравковић, Огњен Стеванчевић, Бранислав Курељушић, Марко Цинцовић, Иван Вујанац:</b> <i>PORCINE CIRCOVIRUS 3:</i> НОВИ ВИРУС СА ЈОШ НЕДОВОЉНО ПОЗНАТИМ УТИЦАЈЕМ НА ЗДРАВЉЕ СВИЊА	73
<b>Petra Zrimšek, Janko Mrkun, Ožbalt Podrečan, Romana Turk:</b> INFLUENCE OF SEASONAL THERMAL STRESS ON LIPID MOBILISATION AND OXIDATIVE STRESS RESULTS IN DIMINISHED REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN DAIRY COWS	87
<b>Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Ивана Лакић, Радојица Ђоковић, Милош Петровић:</b> РЕФЕРЕНТНЕ ВРЕДНОСТИ МЕТАБОЛИЧКИХ ПАРАМЕТАРА КОД ЈУНИЦА СТАРОСТИ 6- 12 МЕСЕЦИ	93
<b>Марко Цинцовић, Бранислава Белић, Ивана Лакић, Мира Мајкић, Радојица Ђоковић, Милош Петровић:</b> ЗНАЧАЈ КОРТИЗОЛА И ЕВАЛУАЦИЈА ЊЕГОВОГ ОДРЕЂИВАЊА ПОМОЋУ ИМУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЕ МЕТОДЕ У СЕРУМУ ГОВЕДА	98

<b>Здравко Томић, Владан Миљковић, Татјана Дамјановић, Марко Пајић, Далибор Тодоровић, Ненад Стојанац, Огњен Стеванчевић: УПОТРЕБА СОМВАТ ЗА КВАНТИФИКАЦИЈУ РИЗИЧНИХ ФАКТОРА БИОСИГУРНОСТИ НА КОМЕРЦИЈАЛНИМ ФАРМАМА СВИЊА У СРБИЈИ</b>	102
<b>Јован Станојевић, Миодраг Радиновић, Марко Цинцовић, Бранислава Белић: КЛИНИЧКЕ ПРОМЕНЕ И НАЧИН ДИЈАГНОСТИКЕ СИНДРОМА МАСНЕ ЈЕТРЕ КОД ВИСОКО МЛЕЧНИХ КРАВА</b>	109
<b>Мира Мајкић, Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Нада Плавша, Ивана Лакић: УТИЦАЈ ТОПЛОТНОГ СТРЕСА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ TNF-А И ПРОДУКЦИЈУ МЛЕКА КОД КРАВА</b>	113
<b>Мира Мајкић, Марко Цинцовић, Бранислава Белић, Нада Плавша: ПОВЕЗАНОСТ ИНСОЛАЦИЈЕ СА АМБИЈЕНТАЛНИМ ПОКАЗАТЕЉИМА ТОПЛОТНОГ СТРЕСА КОД КРАВА</b>	117
<b>Данијела Кировски, Љубомир Јовановић, Радиша Продановић, Сретен Недић, Жељко Сладојевић, Иван Вујанац, Миодраг Лазаревић: УТИЦАЈ ПЕРОРАЛНЕ АПЛИКАЦИЈЕ ИНСУЛИНА И ГЛУКОЗЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ ИМУНОГЛОБУЛИНА Г КЛАСЕ У КРВНОМ СЕРУМУ НОВОРОЂЕНЕ ТЕЛАДИ</b>	121
<b>Иван Вујанац, Радиша Продановић, Сретен Недић, Света Арсић, Љубомир Јовановић, Данијела Кировски: УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ СЕЗОНА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ ИНСУЛИНУ СЛИЧНОГ ФАКТОРА РАСТА 1 У КРВИ КРАВА ТОКОМ ЛАКТАЦИЈЕ</b>	125
<b>Жељко Сладојевић, Марко Кировски, Љубомир Јовановић, Сретен Недић, Радиша Продановић, Иван Вујанац, Данијела Кировски: КОНЦЕНТРАЦИЈА ИМУНОГЛОБУЛИНА Г КЛАСЕ У КОЛОСТРУМУ КРМАЧА ДРЖАНИХ У РАЗЛИЧИТИМ АМБИЈЕНТАЛНИМ УСЛОВИМА</b>	130

#### ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ IV

##### НОВООТКРИВЕНЕ МОГУЋНОСТИ КОМПЛЕКСНОГ СВЕТА УГЉЕНИХ ХИДРАТА У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА

<b>Радмила Марковић, Стамен Радуловић, Дејан Перић, Драган Шефер: УЛОГА ОЛИГОСАХАРИДА ДОДАТИХ У ХРАНУ У КОНТРОЛИ ЕУБИОТИЧКИХ ОДНОСА У ДИГЕСТИВНОМ ТРАКТУ НЕПРЕЖИВАРА</b>	135
<b>Драган Шефер, Лазар Макивић, Стамен Радуловић, Дејан Перић, Цвијан Меквић, Радмила Марковић: УТИЦАЈ ПРЕЧИШЋЕНЕ ЛИГНОЦЕЛУЛОЗЕ НА ВЛАЖНОСТ ПРОСТИРКЕ И ПРОИЗВОДНЕ РЕЗУЛТАТЕ БРОЈЛЕРА У ТОВУ</b>	145
<b>Стамен Радуловић, Радмила Марковић, Драган Шефер: СИРОВА ЦЕЛУЛОЗА ИЛИ ВЛАКНА У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА – ПРАКТИЧАН ПРИСТУП</b>	157
<b>Аида Кавазовић: ХРАНА ЗА ЖИВОТИЊЕ КАО ИЗВОР ЗООНОТСКИХ ПАТОГЕНА</b>	166
<b>Миодраг Радиновић, Ивана Давидов, Зорана Ковачевић, Аннамарија Галфи, Марија Пајић, Михајло Ерделјан, Милица Црногорац, Јован Станојевић: ИСХРАНА КОЛОСТРУМОМ И МОГУЋИ РИЗИЦИ ПО ЗДРАВЉЕ ТЕЛАДИ</b>	174
<b>Драган Шефер, Дејан Перић, Радмила Марковић, Стамен Радуловић, Мирослав Павловић: ЗНАЧАЈ КОРИШЋЕЊА АМИЛАЗЕ У ИСХРАНИ БРОЈЛЕРА</b>	177
<b>Светлана Грдовић, Радмила Марковић, Драган Шефер: ЗНАЧАЈ УГЉЕНИХ ХИДРАТА У БИЉНОЈ ЊЕЛИЈИ</b>	179

#### ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ V

##### ХИГИЈЕНА И ТЕХНОЛОГИЈА НАМИРНИЦА АНИМАЛНОГ ПОРЕКЛА

<b>Силвана Стајковић, Драган Василев, Владо Теодоровић, Неђељко Карабасил: рН ВРЕДНОСТ МЕСА: ПРОЦЕНА ПРЕМОРТАЛНИХ ПОСТУПАКА И КВАЛИТЕТА МЕСА СВИЊА</b>	183
<b>Радослава Савић-Радовановић: ЗНАЧАЈ СПОСОБНОСТИ СТВАРАЊА БИОФИЛМА КОД СТАФИЛОКОКА</b>	184
<b>Владо Теодоровић, Мирјана Димитријевић, Невена Грковић, Данијела Кировски: СТЕРОИДИ У НАМИРНИЦАМА АНИМАЛНОГ ПОРЕКЛА</b>	191
<b>Драган Василев, Силвана Стајковић, Неђељко Карабасил, Мирјана Димитријевић, Владо Теодоровић: МОГУЋНОСТИ ОЧУВАЊА ХРАНЉИВЕ ВРЕДНОСТИ ПРОИЗВОДА ОД МЕСА У ТОКУ ПРОЦЕСА ПЕРЕРАДЕ</b>	198
<b>Снежана Булајић, Тијана Ледина, Јасна Ђорђевић: ТРЖИШТЕ ФУНКЦИОНАЛНЕ ХРАНЕ У СРБИЈИ КРОЗ ПРИЗМУ НОВИХ ПРОПИСА</b>	204

<b>Николина Новаков, Драгана Љубојевић Пелић, Милош Пелић, Ненад Стојанац, Ивана Давидов, Душан Лазич, Мирослав Ћирковић: КОНТРОЛА ЗООНОТСКИХ ПАРАЗИТА КОД СЛАТКОВОДНИХ РИБА</b>	211
<b>Симоновић Мирјана, Пајић Марија, Симоновић Душан, Рашић Зоран, Радиновић Миодраг: СASTAV МЛЕКА И САДРЖАЈ УРЕЈЕ У ПОЈЕДИНАЧНИМ УЗОРЦИМА ОВЧИЈЕГ МЛЕКА</b>	216
<b>Драгана Љубојевић Пелић, Сузана Видаковић Кнежевић, Милош Пелић, Јелена Вранешевић, Никола Пувача, Сандра Јакшић, Јасна Курељушић, Милица Живков-Балаш: УТВРЂИВАЊЕ ПРИСУСТВА РЕЗИДУА АНТИБИОТИКА У МЛЕКУ</b>	220

**ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VI**  
КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И ЗАЗИМЉАВАЊЕ ПЧЕЛА

<b>Зоран Станимировић, Марко Ристанић, Урош Главинић, Немања Јовановић, Елмин Тарић, Милан Рајковић, Јевросима Стевановић: КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И ЗАЗИМЉАВАЊЕ ПЧЕЛА</b>	227
<b>Јевросима Стевановић, Немања Јовановић, Бранислав Вејновић, Елмин Тарић, Урош Главинић, Невенка Алексић, Зоран Станимировић: МОНИТОРИНГ ЗИМСКИХ ГУБИТАКА ПЧЕЛИЊИХ ЗАЈЕДНИЦА У СРБИЈИ ПУТЕМ СОЛОС АНКЕТЕ</b>	239
<b>Урош Главинић, Марко Ристанић, Немања Јовановић, Јевросима Стевановић, Милан Рајковић, Зоран Станимировић: УЗОРКОВАЊЕ ПЧЕЛА И МОЛЕКУЛАРНОГЕНЕТИЧКА ДИЈАГНОСТИКА ПЧЕЛИЊИХ БОЛЕСТИ</b>	243
<b>Драган Башић, Соња Обреновић, Марко Стоиљковић: КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И МЕТОДЕ ТЕРЕНСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ АМЕРИЧКЕ И ЕВРОПСКЕ КУГЕ ПЧЕЛИЊЕГ ЛЕГЛА</b>	250
<b>Марко Ристанић, Урош Главинић, Јевросима Стевановић, Невенка Алексић, Игор Крњачић, Милан Рајковић, Зоран Станимировић: ВИРУСНЕ ИНФЕКЦИЈЕ ПЧЕЛА У ДРУШТВИМА РАЗЛИЧИТИХ ЈАЧИНА</b>	251
<b>Бранислав Вејновић, Јевросима Стевановић, Урош Главинић, Невенка Алексић, Милорад Мирлиновић, Споменка Ђурић, Зоран Станимировић: ДИНАМИКА КОИНФЕКЦИЈЕ ЕНДОПАРАЗИТИМА <i>Lotmaria passim</i> И <i>Nosema ceranae</i> У ПЧЕЛИЊИМ ДРУШТВИМА</b>	257
<b>Елмин Тарић, Урош Главинић, Јевросима Стевановић, Бранислав Вејновић, Невенка Алексић, Владимир Димитријевић, Зоран Станимировић: УТИЦАЈ АПИТЕХНИКЕ И ТИПА ПЧЕЛАРЕЊА НА ЗАСТУПЉЕНОСТ ПЧЕЛИЊИХ ПАТОГЕНА КОД МЕДОНОСНЕ ПЧЕЛЕ</b>	266
<b>Немања Јовановић, Урош Главинић, Јевросима Стевановић, Бранислав Вејновић, Марко Ристанић, Владо Млађан, Зоран Станимировић: ЗНАЧАЈ ДИЈЕТЕТСКИХ СУПЛЕМЕНАТА У ЗАЗИМЉАВАЊУ ПЧЕЛА</b>	273
<b>Невенка Алексић, Јевросима Стевановић, Елмин Тарић, Марко Ристанић, Урош Главинић, Зоран Станимировић: ПЧЕЛАРСТВО И ЗАКОНСКА РЕГУЛАТИВА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ</b>	280

РАДИОНИЦЕ

<b>РАДИОНИЦА I</b>	289
<b>Зоран Станимировић, Марко Ристанић, Урош Главинић, Немања Јовановић, Елмин Тарић, Милан Рајковић, Јевросима Стевановић: КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И ЗАЗИМЉАВАЊЕ ПЧЕЛА</b>	291
<b>РАДИОНИЦА II</b>	291
<b>Неђељко Карабасил, Марина Штукел, Маја Андријашевић, Миролуб Марјановић: ОЦЕНА УСЛОВА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА И КВАЛИТЕТ МЕСА</b>	293
<b>РАДИОНИЦА III</b>	293
<b>Милан Малетић, Милоје Ђурић: ПРАКТИЧНА ПРИМЕНА ХОРМОНСКИХ ПРОТОКОЛА У РЕПРОДУКЦИЈИ МЛЕЧНИХ КРАВА</b>	294
<b>РАДИОНИЦА IV</b>	294
<b>Владимир Магаш, Љубодраг Станишић, Светлана Недић, Слободанка Вакањац: ПРЕПУБЕРАЛНА ГОНАДЕКТОМИЈА КОД ПАСА И МАЧАКА</b>	

**ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VII**  
ЗДРАВСТВЕНА ЗАШТИТА И РЕПРОДУКЦИЈА КУЊНИХ ЉУБИМАЦА

<b>Милан Хаџи Милић, Богомир Болка Прокић, Ивана Хаџи Милић: ХИРУРГИЈА КАПАКА КОД ПАСА</b>	299
<b>Марко Пећин, Бојан Тохол: НЕТРАУМАТСКА ОБОЉЕЊА КОЛЕНОГ ЗГЛОБА КОД ПАСА</b>	309
<b>Бојан Тохол: СКРИНИНГ ПРОГРАМИ ДИЈАГНОСТИКЕ ДИСПЛАЗИЈЕ КУКОВА И ЛАКТОВА КОД ПАСА</b>	316

Озрен Смолец: ОСТЕОАРТРИТИС У ПАСА-ЕТИОПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕЊЕ	324
Вук Врачар, Александар Поткоњак, Љубица Спасојевић Косић, Весна Лалошевић, Драган Роган, Сара Савић, Гордана Козодеровић, Владимир Петровић: ПРИМЕНА ИМУНОЕНЗИМСКОГ ТЕСТА ELISA У ДИЈАГНОСТИЦИ STES КОД ПАСА	333
Ивана Лакић, Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Александар Поткоњак: АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ФАКТОРА НЕКРОЗЕ ТУМОРА (TNF-А) КОД ПАСА РАЗЛИЧИТОГ ЗДРАВСТВЕНОГ СТАТУСА	337
Тијана Кукурић, Николина Новаков: МИКРОЧИПОВАЊЕ ЕГЗОТИЧНИХ ЖИВОТИЊА	341
Сандра Николић, Ивана Давидов, Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Ивана Лакић: МОРФОМЕТРИЈА ЕРИТРОЦИТА ПАСА БОЈЕНИХ <i>DIFF-QUICK</i> И <i>GIEMSA</i> БОЈЕЊЕМ	345
Иван Галић, Иван Станчић, Јован Спасојевић, Бојан Тохол, Марко Цинцовић, Тијана Кукурић: ПРИМЕНА ВИНКРИСТИНА У ЛЕЧЕЊУ ТРАНСМИСИВНОГ ВЕНЕРИЧНОГ ТУМОРА КОД ПСА – ПРИКАЗ СЛУЧАЈА	349

#### ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VIII СЛОБОДНЕ ТЕМЕ

Ненад Будимовић: СТОЧАРСТВО – АКТУЕЛНО СТАЊЕ И ПЕРСПЕКТИВА	355
Josheski M., Velichkovska M: WORKING TOGETHER WITHIN THE CONCEPT ONE HEALTH IN THE BATTLE AGAINST THE GLOBAL THREAT OF THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE – THE EXPERIENCE IN THE REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA	358
Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Ивана Лакић: УНАПРЕЂЕЊЕ НАСТАВНИХ МЕТОДА НА ПРЕДМЕТИМА ИЗ ОБЛАСТИ ПАТОЛОШКЕ ФИЗИОЛОГИЈЕ НА ДЕПАРТМАНУ ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ У НОВОМ САДУ – ПРЕДСТАВЉАЊЕ ПРОЈЕКТА “ПАФИЛАБ”	360
Михајло Ерделјан, Ивана Давидов, Миодраг Радиновић, Зорана Ковачевић, Анна Марија Галфи Вукомановић, Тијана Кукурић: ИНФЛУЕНЦА КОПИТАРА, ДА ЛИ СМО ПРЕД НОВОМ ЕПИДЕМИЈОМ?	365
Нада Плавша, Иван Павловић, Мира Мајкић, Сава Леђанац, Борислав Брборић, Наталија Јаковљев, Никола Плавша: УТИЦАЈ ПЕСТИЦИДА НА ПЧЕЛЕ И ТРОВАЊА ПЧЕЛА У СРБИЈИ	369
Вук Врачар, Бојана Видовић, Весна Лалошевић, Гордана Козодеровић, Александар Поткоњак, Станислав Симић, Тамаш Шили: НАЈЛАЗ <i>Blastocystis</i> sp. КОД ПТИЦА У МИНИ ЗОО ВРТУ У СРБИЈИ	375
Зоран Ружић, Зденко Каначки, Слободан Кнежевић, Сузана Видаковић Кнежевић: СТРАТЕГИЈЕ СА ЦИЉЕМ СМАЊЕЊА НЕГАТИВНИХ ЕФЕКТА ТОПЛОТНОГ СТРЕСА У ИНТЕЗИВНОМ УЗГОЈУ ТОВНИХ ПИЛИЋА	379
Филип Штрбац, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић: ИСПИТИВАЊЕ ЕФИКАСНОСТИ <i>Fluralanera</i> ПРОТИВ ЦРВЕНЕ КОКОШИЈЕ ГРИЊЕ <i>Dermanyssus gallinae</i>	385
Марко Пајић, Слободан Кнежевић, Далибор Тодоровић, Биљана Ђурђевић, Милена Самојловић, Сузана Видаковић Кнежевић, Милош Пелић, Душан Лазић, Владимир Полачек: ПАРАЛИЗА НОГУ КОД КОКА НОСИЉА У ПЕРИОДУ ОДГОЈА	389
Сузана Видаковић Кнежевић, Милош Пелић, Јелена Вранешевић, Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Љубојевић Драгана Пелић, Сандра Јакшић, Бранкица Карталовић, Милица Живков-Балаш: ИСПИТИВАЊЕ АНТИБИОТСКИХ РЕЗИДУА У КОНЗУМНИМ ЈАЈИМА СА ПИЈАЦА НА ПОДРУЧЈУ НОВОГ САДА	390
Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Сузана Видаковић Кнежевић, Сениша Грубач, Душан Лазић, Ненад Попов, Далибор Тодоровић, Дубравка Миланов, Милица Живков-Балаш: ЗНАЧАЈ ПРОСТИРКЕ У БРОЈЛЕРСКОЈ ПРОИЗВОДЊИ	392
Милена Самојловић, Тамаш Петровић, Владимир Полачек, Диана Лупуловић, Госпава Лазић, Марко Пајић, Биљана Ђурђевић, Драган Роган, Сава Лазић: ИСПИТИВАЊЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ И ОСЕТЉИВОСТИ ELISA ТЕСТА ЗА ДЕТЕКЦИЈУ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА БОЛЕСТИ КВРГАВЕ КОЖЕ	393
Милош Пелић, Драгана Љубојевић Пелић, Душан Лазић, Милена Самојловић, Сузана Видаковић Кнежевић, Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Јелена Вранешевић, Мирослав Ђирковић: КОНТРОЛА ПАРАЗИТСКИХ БОЛЕСТИ КОД ШАРАНА ( <i>CYPRINUS CARPIO</i> ) ГАЈЕНОГ У РИБЊАЦИМА	394



<b>Душан Лазић, Николина Новаков, Милена Самојловић, Диана Лупуловић, Милош Пелић, Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Мирослав Ћирковић: ЛАБОРАТОРИЈСКА ДИЈАГНОСТИКА И ЕПИЗООТИОЛОШКА АНАЛИЗА ПРОЛЕЋНЕ ВИРЕМИЈЕ ШАРАНА НА ПОЈЕДИНИМ РИБЊАЦИМА АП ВОЈВОДИНЕ</b>	<b>395</b>
<b>Ненад Попов, Жељко Михаљев, Сандра Јакшић, Бранкица Карталовић, Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Милица Живков Балаш: САДРЖАЈ ВОДЕ И ЕЛЕКТРИЧНА ПРОВОДЉИВОСТ КАО ИНДИКАТОРИ КВАЛИТЕТА МЕДА ПОРЕКЛОМ ИЗ РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ</b>	<b>396</b>
<b>Владимир Терзин: <i>COMPASSION FATIGUE</i> - ЗАМОР ИЗАЗВАН САОСЕЋАЈНОШЋУ - ОСНОВНА ИНФОРМАЦИЈА</b>	<b>397</b>



---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ I***  
***THEMATIC SESSION I***

**Значај континуиране едукације  
ветеринарских кадрова у  
побољшању квалитета  
ветеринарске делатности**

***The importance of continuous  
veterinary education in improving the  
quality of veterinary activities***

---



КОНЦЕПТ ЈЕДНОГ ЗДРАВЉА У ВЕТЕРИНАРСКОМ ОБРАЗОВАЊУ

*THE "ONE HEALTH" CONCEPT IN VETERINARY EDUCATION*

*Данијела Кировски<sup>1</sup>, Будимир Плавшић<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду,

<sup>2</sup>World Organization of Animal Health, Regional Representation in Moscow

**Кратак садржај**

Једно здравље обухвата здравље људи и животиња али и животне средине која нас окружује јер се у управо у њој налазе узрочници многих болести који су заједнички за људе и животиње. У ширем смислу, концепт једног здравља подразумева стварање и увођење различитих програма и правилника, као и спровођење научних истраживања у којима различити сектори међусобно комуницирају и раде да би побољшали јавно здравље.

Један од највећих изазова ветеринарске професије у будућности, а посебно у делу образовање доктора ветеринарске медицине, је позиционирање ветеринарске медицине као лидерске струке у оквиру концепта једног здравља. Неопходно је променити постојеће курикулуме у смислу увођења концепта једног здравља у додипломске и постдипломске студије ветеринарске медицине, као и у програме континуиране едукације доктора ветеринарске медицине. У успостављању овог концепта неопходан је интердисциплинарни приступ и добра комуникација између субјеката укључених у лечење људи и животиња, као и заштиту животне средине. Светска организација за здравље животиња (OIE) је један од глобалних лидера који је препознао значај увођења концепта једног здравља у образовање ветеринара. образовање ветеринара у Србији у скорој будућности мора да укључи овај сегмент у све нивое студија, као и у континуирану едукацију.

**Кључне речи:** едукација, једно здравље, ветеринарска медицина,

**Summary**

The "One health" concept includes idea that human health and animal health are interdependent and bound to the health of ecosystem in which they exist, since most of the causes of diseases that are common to human and animals, exist in our environment. In the wider sense, the "One health" concept means creation and implementation of different curricula and role books, as well as designing research programs in which different sectors communicate in order to improve the "One health" concept.

One of the greatest challenges for veterinary profession in future, especially in the veterinary education field, will be positioning of veterinary profession as leader in the "One health" concept. It is necessary to change current curricula in a way that the "One health" concept should be included in undergraduate and postgraduate studies of veterinary medicine, as well as in the programs of continual education of doctors of veterinary medicines. During the establishment of this concept, interdisciplinary approach and good communication among subjects included in animal, human and ecosystem health is essential. World organization for Animal Health (OIE) is one of the global leaders who recognized the importance of introducing the "One health" concept in veterinary education. In the near future, veterinary education in Serbia must include this segment in all study levels, including continual education.

**Key words:** education, one health, veterinary medicine

#### УВОД

У оквиру ветеринарске медицине, једно здравље не представља издвојену, самосталну, научну дисциплину већ је саставни део више области које се изучавају током образовања ветеринара. Посматрано шире, концепт једног здравља повезује ветеринарску са хуманом медицином, епидемиологијом, биомедицином и другим наукама у оквиру којих се изучавају појаве које могу да имају утицај на здравље људи и животиња. Још шире, за разлику од јавног здравља, све области које могу да утичу на здравље и добробит људи и животиња и ширење болести, као што су социологија, економија, изучавање биодиверзитета, животне средине, коришћења земљишта, климатских промена, пољопривреда и агроиндустрија, део су концепта јавног здравља. Из тог разлога, концепт једног здравља захтева интердисциплинарни приступ и партнерство између стручњака из области ветеринарске, хумане медицине и сродних научних поља.

Узимајући у обзир значај концепта једног здравља у будућности и шансу која се пружа младим ветеринарима да заузму одговарајуће позиције у друштву, концепт једног здравља треба да преузме једно од водећих места у ветеринарској едукацији, поготово узимајући у обзир да се готово сви сегменти овог концепта већ изучавају у ветеринарским едукативним установама, али је неопходно адекватно препознавање појмова и интердисциплинарност у учењу.

#### ИСТОРИЈА КОНЦЕПТА ЈЕДНОГ ЗДРАВЉА

Здравље и добробит људи је одувек било повезано са здрављем животиња, пре свега због заједничког коришћења истих услова живота на нашој планети. Међузависност живота људи и животиња и адекватно коришћење земљишта и воде је у основи био услов опстанка свих цивилизација. Због тога је концепт једног здравља, који обухвата све наведне појмове и међузависности, изучаван још од давнина. Појам једног здравља се може наћи у записима Хипократа (460-367 пне), а пре свега у делу под називом „О врстама ваздуха, воде и места“, у којима он препознаје међузависност здравља и животне средине. Он је увео постулате који су и данас применљиви у оквиру концепта једног здравља, а то су „Primum Non Nocere“ („Изнад свега, не штети“) и „Medicus curat, natura sanat“ („Природа оздрављује, лекар лечи“) (Wear, 2008). Aristotle (384-322 пне) почиње са изучавањем компаративне медицине, а посебно заједничке особине људи и других врста, пре свега сисара, а што описује кроз приказивање различитих болести у књигама из серије под називом „Historia Animalium“. Giovanni Maria Lancisi (1654-1720), лекар и ветеринар, један од оснивача епидемиологије, је истицао важност животне средине у ширењу болести људи и животиња. Посебно је изучавао кугу говеда и маларију људи (Lancini, 1964). Claude Bourgelat (1712-1779) је у оквиру првооснованог ветеринарског факултета у Лиону, увео формално образовање које се бавило здрављем животиња, али и интеракцијом са здрављем људи. Louis-René Villermé (1782-1863) и Alexandre Parent-Duchatelet (1790-1835) су, такође у Француској, увели јавну хигијену, као област у ветеринарској медицини. Rudolf Virchow (1821-1902), немачки лекар и патолог, успоставио је термин зооноза и рекао да „Између ветеринарске и хумане медицине не постоји јасна граница. Објекат јесте различит, али стечено искуство треба да допринесе целокупној медицини“. (Natterson-Horowitz and Bowers, 2012). Такође је препознао да су фактори спољашње средине кључни за исход болести (Virchow, 1985). William Osler (1849-1919), који је био студент Virchow-а је, даље промовисао концепт компаративне медицине, а био је изабран као предавач на Ветеринарском факултету у Монреалу и Медицинском факултету Универзитета McGill. James Steele (1913-2013) је основао Ветеринарску јединицу за јавно здравље, која је касније прерасла у Центар за контролу и превенцију болести у Сједињеним Америчким Државама. Његова залагање у овој области је довело до успостављања Јединице за ветеринарско јавно здравље у оквиру Светске здравствене организације (WHO). Calvin Schwabe (1927-2006) из Сједињених Америчких Држава је установио пионирски програм у ветеринарској превентивној медицини у School of Veterinary Medicine at the University of California, Davis. Он је 1964. године објавио уџбеник под називом „Ветеринарска медицина и здравље људи“, у којој указује на неопходност интегрисања знања о здрављу животиња и људи, уз поштовање животне средине, у решавању проблема везаних за ветеринарско и јавно здравље. У овој књизи је он нагласио значај „једног здравља“ и рекао да „је основна потреба људи да победе болест, обезбеде довољно хране,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

одговарајући квалитет животне средине и друштво у коме преовлађују вредности које је сам човек успоставио“. Најновији концепт једног здравља који се развија у 21. веку даје приоритет факторима животне средине као кључним за здравље људи и животиња. Данас се све више наглашава потреба да се отклони изразита подела на научна поља, која је постојала у периоду од 17. до 19. века. Истиче се неопходност конвергенције, а пре свега узимајући у обзир теорију о еволуцији коју је успоставио Charles Darwin, као и појм селекције као кључног фактора настанка живих бића, укључујући и људе. Термин „екологија“ је, 1866. године, у науку увео Haeckel (1834–1919), немачки филозоф, лекар, биолог, уметник и професор, а касније је екологија је постала окосница концепта једног здравља. Научници који су имали утицај на развој ове науке а тиме и савременог концепта једног здравља су: Charles Elton (1900–1991) из Енглеске; Alfred Lotka (1880–1949) из САД и Vito Volterra (1860–1940) из Италије, Aldo Leopold (1887–1948) из САД, Robert MacArthur (1932–1972), такође из САД, Robert May и Roy Anderson.

Најсавременије молекуларне технике су омогућиле идентификацију многих узрочника заразних болести код људи, који потичу од животиња. Ти узрочници су се значајно мењали због промена у животној средини. На пример, утврђено је да је узрочник рубеола људи, а који је био леталан пре увођења вакцинације, потекао од вируса куге говеда који је превазишао баријере између врста и постао аутономни хумани вирус у 11. веку. Вероватни разлог је што су људи стално били изложени, тада раширеном, вирусу куге говеда које су биле доместиковане пуно година раније. Настанку рубеола је додатно допринела урбанизација великих размера. Наиме, вирус рубеола не може опстати у хуманој популацији мањој од око 500 000 људи који су у контакту (Furuse и сар., 2010). Сличан сценарио је постојао при појави хуманих имунодефицијентних вируса (HIV 1 и 2) и пандемије AIDSa током 20. века. Ови вируси, који су најпре настали у урбаном делу Африке током раних деведесетих година, су еволуирали из вируса имунодефицијенције мајмуна (Hahn и сар., 2000).

Концепт једног здравља у 21. веку мора да узме у обзир драматичне промене у животној средини и експоненцијални раст у броју људске популације. Наиме, број људи на земљи, интензитет наших активности и степен промена животне средине никад није био тако изражен (McNeil, 2000). Требало је 100 000 до 200 000 година да се достигне број од милијарду људи на планети, а што је постигнуто око 1800. године. До 1925. године, број људи је порастао на две милијарде, а данас, 90 година касније, број људи на планети је седам. Промене које су се десиле у животној средини су превазишле могућност адаптације на њих, како од стране људи, тако и животиња. Све више се организују конференције које на једном месту укључују предаваче из различитих области истраживања, чиме су омогућене дискусије о могућем кретању болести између различитих врста животиња и људи. WHO, OIE (World Organisation for Animal Health) и FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), као лидерске организације у промовисању концепта једног здравља, су уз подршку United Nations Children's Fund и United Nations System Influenza Coordination, потписали споразум о сарадњи а везан за међузависност здравља људи, животиња и екосистема (FAO, OIE and WHO, 2010).

#### **КЉУЧНА ПОДРУЧЈА ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ КОЈА СУ ДЕО КОНЦЕПТА ЈЕДНОГ ЗДРАВЉА**

Један од основних циљева образовања ветеринара јесте да школује интелектуално мотивисане ветеринари који ће бити лидери у оквиру концепта једног здравља 21. века. То би требао да буде, пре свега, изазов за предаваче који треба да се сами образују у том правцу. Кључна подручја у којима концепт једног здравља налази примену у ветеринарској медицини су:

##### **Етиологија инфективних обољења, нарочито зооноза**

Приближно две трећине инфективних болести домаћих животиња су зоонозе. Већина тих болести води порекло из популације дивљих животиња (Jones и сар., 2008). Инфективне болести представљају озбиљну претњу јавном здрављу. Њихово брзо дијагностиковање, надзор, контрола и заустављање је кључно за процену ризика у даљем ширењу ових болести. Истраживања у области ветеринарске медицине су кључна за разумевање настанка и ширења инфективних болести из групе зооноза.

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

#### **Безбедност намирница које се користе у исхрани људи**

Контрола болести које се преносе храном подразумева не само познавање узрочника и механизма ширења болести, већ и познавање процеса производње, прераде и дистрибуције хране. Брзо транспортовање животиња и њихових производа из једног у други део света може проузроковати настајање проблема далеко од места узгоја животиња. Наиме, с обзиром да брзина транспорта анималних производа обично краће траје од периода инкубације болести, често се јављају прикривене епидемије (Gibbs, 2005).

#### **Основна биомедицинска истраживања**

Постоји велики број примера коришћења анималних модела за разумевање етиопатогенезе различитих болести код људи. Пошто се основна биомедицинска истраживања развијају изразито брзо, а животиње се користе као модели у њиховој примени, неходно је да ветеринари прате та достигнућа и ангажују се у данашњу научну револуцију, доприносећи на тај начин одржавању концепта једног здравља.

#### **Генетска истраживања**

Данас се све више испитује генетска основа различитих болести и прибегава се коришћењу молекуларних техника којима се може извршити манипулација генома како људи, тако и животиња. Током едукације ветеринара неходно је проширити знања студената везана за наследне болести (Ostrandeg и Wayne, 2005).

#### **Антибиотска резистенција**

Резистенција на антибиотике је све већи проблем у узгоју фармских животиња. Последица је све веће употребе антибиотика, а пример је појава резистентних сојева конвенционалних микроорганизама, као што су метацилин-ресистентне *Staphylococcus aureus* или MRSA код говеда. Озбиљна су претња здрављу људи, јер су прошле генетске промене које су им обезбедиле патогеност и за људе. Да би успешно учествовали у спречавању појаве антибиотске резистенције, ветеринарски стручњаци треба да унапреде знања из области молекуларне епидемиологије и микробне резистенције. Један од изазова је и препознавање улоге говеда као резервоара резистентних генотипова MRSA (Harrison и сар., 2013).

#### **Биодиверзитет**

Поремећаји баланса у екосистемима наше планете компромитовали су здравље људи и животиња. Одржавање биодиверзитета је задатак и ветеринара али у то морају бити укључене и државне институције.

#### **Употреба животиња у научним истраживањима**

Истраживања у којима се користе животиње су значајна, пре свега, за разумевање физиолошких процеса у живим бићима. Етичка питања везана за коришћење животиња у истраживањима је област у коме ветеринари треба да заузму лидерство.

#### **УЛОГА ВЕТЕРИНАРА У ЈЕДНОМ ЗДРАВЉУ**

Већина ветеринара практичара, како оних који се баве великом тако и малом праксом, својим радом свакодневно доприноси остваривању концепта једног здравља кроз дијагностиковање различитих болести животиња које могу да угрозе здравље власника животиње, њихових породица и људи из окружења. Извођењем рутинских клиничких прегледа, одржавањем програма вакцинације, редовном контролом паразитских инфестација, упозоравањем на ризик од контакта животиње са имунокомпромитивним јединкама, утицајем на свест о коришћењу службених паса и паса водича за људе са посебним потребама, и промовисањем везе између људи и животиња код старијих људи или оних који пате од посттрауматичног синдрома, ветеринари свакодневно промовишу концепт једног здравља. Поред ових директних активности, ветеринари спроводе и низ индиректних активности којима доприносе концепту јавног здравља, као што су извештавање регулаторних тела о појави одређених болести, сарадња са медицинским установама везано за појаву зооноза, саветодавна улога и слично. Додатно, многи ветеринари су запослени у државним органима утичући на доношење одлука значајних за концепт једног здравља. Ветеринари су активно укључени и у одржавању здравља лабораторијских животиња које се користе у истраживањима али и постављању дијагноза. Учешће ветеринара у Агенцијама које се



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

баве прометом лекова, вакцина и медицинских инструмената повећава њихову одговорност у односу на чување и коришћење ових средстава.

#### ЗАКЉУЧАК

Велики број области у којима ветеринари могу да преузму лидерску позицију када је у питању једно здравље, намеће потребу да се образују нове генерације ветеринара који имају мултидисциплинарни приступ у решавању проблема. Јавност треба да препозна улогу ветеринара у концепту једног здравља.

Ветерина као регулисана професија је препозната у свом друштвеном значају, а то је неопходно стално промовисати у јавности.

Треба посебно подржавати како теренска тако и лабораторијска истраживања која се баве успостављањем узрочне везе између болести животиња и људи, а у која би, поред ветеринара и лекара, били укључени и истраживачи из области молекуларне биологије, математичке теорије и експерименталне епидемиологије.

Неопходно је успоставити међународну сарадњу и референтне центре који ће бити преваходно усмерени на истраживања заразних болести и компаративну медицину.

Иако обука младих ветеринара и континуирана едукација ветеринара практичара углавном припада академским институцијама, сви ветеринари морају бити укључени и допринети подизању знања из концепта једног здравља унутар струке, али и шире, у преносу знања на ширу популацију.

Током образовања неопходно је укључити мултидисциплинарни приступ решавању проблема, повећањем сарадње између ветеринарских и медицинских школа, али и оних који се баве социолошким и основним наукама.

#### Литература

1. *Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Organisation for Animal Health (OIE) & World Health Organization (WHO)*, 2010, The FAO-OIE-WHO Collaboration. Sharing responsibilities and coordinating global activities to address health risks at the animal-humanecosystems interfaces. A Tripartite Concept Note.
2. *Furuse Y, Suzuki A, Oshitani H*, 2010, Origin of measles virus: divergence from rinderpest virus between the 11th and 12th centuries. *Virology*, 7, 52.
3. *Gibbs P*, 2005, No longer an island: the global threat of emerging disease, *Vet Rec*, 157, 462.
4. *Hahn BH, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM*, 2000, AIDS as a zoonosis: scientific and health implications, *Science*, 287, 607–614.
5. *Harrison EM, Paterson GK, Holden MT, Larsen J, Stegger M, Larsen AR, Petersen A, Skov RL, Christensen JM, Zeuthen A, Heltberg O, Harris SR, Zadoks RN, Parkhill P, Peacock SJ, Holmes M*, 2013, Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel mecA homologue mecC EMBO, *Molec Med*, 5, 1–7.
6. *Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P*, 2008, Global trends in emerging infectious diseases, *Nature*, 451, 990–993.
7. *Lancisi GM*, 1964, Giovanni Maria Lancisi: cardiologist, forensic physician, epidemiologist, *JAMA*, 189, 375–376.
8. *McNeill JR*, 2000, Something new under the sun: an environmental history of the twentieth century world. *W.W. Norton & Company*, New York.
9. *Natterson-Horowitz B, Bowers K*, 2012, Zoobiquity: what animals can teach us about health and the science of healing, *Doubleday Canada*, Toronto.
10. *Ostrander EA, Wayne RK*, 2005, The canine genome, *Genome Res*, 15, 1706–1716.
11. *Virchow R*, 1985, Collected essays on public health and epidemiology. *Science History Publications*, Canton, Massachusetts.
12. *Wear A*, 2008, Place, health, and disease: the airs, waters, places tradition in early modern England and North America, *J Mediev Early Mod Stud*, 38 (3), 443–465

VETERINARY CONTINUOUS EDUCATION IN EUROPE (VETCEE)

КОНТИНУИРАНА ЕДУКАЦИЈА ВЕТЕРИНАРА У ЕВРОПИ

*Rafael Laguens*

Federation of Veterinarians of Europe (FVE), Brussels, Belgium

**Summary**

Veterinary Continuous Education in Europe (VETCEE) is an international non-profit association that was established by some key European Veterinary organisations: EAEVE (The European Association of Establishments for Veterinary Education), EBVS (European Board of Veterinary Specialisation), FVE (Federation of Veterinarians of Europe), UEVP (Union of European Veterinary Practitioners).

The main VETCEE objectives are to promote structured continuing professional development and life-long learning; to accredit structured programmes that are achievable by veterinarians in full-time employment; to develop a system whereby practising veterinarians across Europe can gain recognition for attainment of structured postgraduate education; to recognise and embrace systems, which already exist in some European countries and provide the basis for their mutual recognition across Europe.

VETCEE accreditation requires that a programme leads to a qualification that is equivalent to a European Qualification Framework (EQF) level 7. It should meet the general requirements of this level under the three categories of knowledge, skills and competence.

The programs should be structured in modules. And the scope will include species-orientated and discipline-oriented programmes. VETCEE will roll out standards for programme types in response to the needs of the veterinary profession in Europe as represented through their affiliated veterinary organisations. Quality assurance of programmes and their qualifications is of utmost importance and must be re-evaluated at least every five years.

VETCEE has developed a standard for structured continuing professional development and mutual recognition across Europe that is complemented by a separate dossier of competences. VETCEE appoints independent panels of experts to evaluate programmes in the European countries according to the Standard and the respective Dossier of Competencies. So far 6 Dossiers of competences have been approved: Management of Veterinary Practice, Companion Animal Medicine, Porcine Health Management, Equine Practice, Bovine Health and Production and Laboratory Animal and Science.

The following countries have programs approved by VETCEE: Belgium, Denmark, Poland, Spain and UK.

**Key words:** continuing professional development, middle-tier specialisation, veterinary education, accreditation.

**Кратак садржај**

Континуирана едукација ветеринара у Европи (*VETCEE*) је међународно непрофитно удружење које су основале кључне европске ветеринарске организације: *EAEVE* (Европско удружење установа за образовање ветеринара), *EBVS* (Европски одбор за ветеринарску специјализацију), *FVE* (Федерација ветеринара Европе), *UEVP* (Савез европских ветеринара који се баве праксом).

Главни циљеви *VETCEE* су промовисање структурираног континуираног професионалног развоја и доживотног учења; акредитација структурираних програма које би могли да похађају и ветеринари са пуним радним временом; развити систем по коме ће ветеринари који се баве

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

праксом широм Европе стећи признање за стицање структурираног постдипломског образовања; препознавање и прихватање система који већ постоје у неким европским земљама и пружају основу за њихово међусобно признавање широм Европе.

Акредитација *VETCEE* захтева да програм доведе до квалификације која је еквивалентна нивоу Европског квалификационог оквира (*EQF*) ниво 7. Требало би да испуни опште захтеве овог нивоа у оквиру три категорије знања, вештина и способности.

Програми би требало да буду структурирани у модуле. А опсег ће обухватати програме оријентисане на врсте и дисциплину. *VETCEE* ће изградити стандарде за врсте програма у складу са потребама ветеринарске професије у Европи, представљено преко сродних ветеринарских организација. Осигурање квалитета програма и њихове квалификације су од највеће важности и морају се евалуирати најмање сваких пет година.

*VETCEE* је развио стандард за структурирано континуирани професионални развој и узајамно признавање широм Европе који је употпуњен посебним Досијеом надлежности. *VETCEE* ВЕТЦЕЕ именује независне експертске панеле за процену програма у европским земљама у складу са Стандардом и одговарајућим Досијеом надлежности. До сада је одобрено 6 досијеа о компетенцијама: Менаџмент ветеринарске праксе, Компаративна медицина животиња, Менаџмент здравља свиња, Пракса са коњима, Здравље говеда и продукција и Лабораторијске животиње и Наука.

Следеће земље имају програме које је одобрио *VETCEE*: Белгија, Данска, Пољска, Шпанија и Велика Британија.

**Кључне речи:** континуирано стручно усавршавање, усавршавање кадрова са средњом стручном спремом, ветеринарско образовање, акредитација.

НАШ ЈУБИЛЕЈ - 30 САВЕТОВАЊА СРПСКОГ ВЕТЕРИНАРСКОГ ДРУШТВА

*OUR JUBILEE - 30 CONFERENCES OF SERBIAN VETERINARY SOCIETY*

*Милан Ж. Балтић, Радмила Марковић, Јелена Јањић, Милорад Мириловић*

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

**Кратак садржај**

За мање од 30 година Српско ветеринарско друштво је успешно организовало 30 саветовања и два конгреса ветеринара Србије. Из хронологије саветовања се види да су организатори саветовања (организациони и програмски одбор) за саветовања припремали најактуелније теме из области ветеринарске медицине тога времена. Искуства из претходних саветовања била су увек таква да је свако наредно саветовање припремано са више амбиције и жеље да се рад саветовања унапреди, а нарочито да се приближи највећем броју учесника, односно докторима ветеринарске медицине из праксе. Саветовања су управо њима најкориснија и најпотребнија. Данас се до нових информација из сваке научне и стручне области, па и ветеринарске медицине може доћи на различите начине (нпр. преко интернета), али само саветовања омогућавају учесницима директну размену мишљења, директан дијалог, који нам је све више потребан у свим сферама живота.

**Кључне речи:** хронологија, јубилеј, саветовања, Српско ветеринарско друштво

**Summary**

For the past 30 years, the Serbian Veterinary Society successfully organized 30 conferences and two Congresses in Serbia. The conference chronology shows that the organizers of the conference (Organizational and Program Committee) for consultations prepared the most current topics in the field of veterinary medicine of that time. Previous counseling experiences have always been such that each subsequent counseling session is prepared with more ambition and desire to advance the counseling work, and especially to reach the largest number of participants, that is, veterinary medicine doctors in practice. The conference is the most useful and necessary for them. Today, new information from every scientific and professional field, including veterinary medicine, can be accessed in different ways (eg via the Internet), but the counseling itself allows participants to exchange views directly, a direct dialogue that is increasingly needed in all walks of life.

**Key words:** chronology, counseling, jubilee, Serbian Veterinary Society

**УВОД**

Почетак 19. века био је почетак борбе за поновно успостављање српске државе на Балкану која је престала да постоји након пада Смедерева када су га Турци освојили 1459. године. Први српски устанак под вођством војводе Карађорђа 1804. године и Други 1815. године под вођством Милоша Обреновића показали су да је жеља за осамостаљењем Србије могућа, што је коначно и дефинисано закључцима са Берлинског конгреса 1888. године, када је Србија постала суверена држава. Србија је и пре Берлинског конгреса имала елементе самосталне државе, кнежевине, под династијом Карађорђевића и Обреновића. Елементи државности (устав, војска, полиција, међународни односи итд.) омогућили су Србији напредак у свим облицима друштвеног деловања.

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

Уређена држава морала је да има и школован кадар у државној управи, војсци, пољопривреди и осталим областима рада. Због тога је Иван Југовић већ 1808. године основао Велику школу у Београду, која није била ни средња ни велика, а трајала је три године. Школа је престала да ради већ 1813. године. У Крагујевцу је 1838. године основан Лицеј (пресељен у Београд 1841. године), што је продужетак гимназијског школовања (виша школа), који је трајао две године и који је 1863. године прерастао у Велику школу са три факултета (филозофски, правни и технички), а затим 1905. године у Универзитет са иста три факултета. Повећање броја факултетски образованих људи, међу којима је било и доста странаца из Аустроугарске, углавном Срба, условило је и њихово окупљање у научна и стручна удружења. Тако је у Србији 1872. године основано Српско лекарско друштво, 1886. године Српско научно друштво (од 1888. године Српска краљевска академија). Исте године основано је Удружење правозаступника (претеча адвокатске коморе). Иако са не великим бројем ветеринара, 1890. године основано је Српско марвено друштво које је у Водени (Грчка) на Солунском фронту 1918. године на састанку ветеринара (23 војна и 23 цивилна ветеринара) између осталих одлука, променило и име удружења у „Удружење ветеринарских лекара Краљевине Србије“. Ово Удружење одржало је свој последњи састанак 1921. године када улази са одговарајућим друштвима са подручја бивше Аустроугарске у Југославенско ветеринарско удружење. Новоосновано удружење је своју активност организовало кроз годишње састанке, Зборове ветеринара и кроз регионална удружења (до 1922. године седам привредних области, од 1922. до 1929. године 33 области, а од 1929. године до 1939. године у девет бановина и у осам бановина од 1939. године до почетка Другог светског рата). На Зборовима Југославенског ветеринарског удружења углавном се говорило о организацији ветеринарске службе, бризи о издавању часописа Југословенски ветеринарски гласник, а било је и Зборовна на којима су одржана предавања из најзначајнијих области ветеринарске медицине у том тренутку. Југославенско ветеринарско удружење није радило за време Другог светског рата. Активирано је по његовом завршетку. Удружење ветеринара Србије основано је 1948. године и пролазило је кроз различите облике организовања и било члан Савеза ветеринара и ветеринарских техничара Југославије. Овај Савез је организовао саветовања ветеринара Југославије у Примоштену (Хрватска), а у организацији саветовања учествовало је и Удружење ветеринара Србије. У Примоштену је одржано 13 Саветовања ветеринара Југославије, да би 1990. године 14. и последње Саветовање ветеринара СФРЈ било одржано на Копаонику. Од оснивања Удружења ветеринара и ветеринарских техничара Републике Србије 1949. до 1991. године на месту председника Друштва променило се 27 руководилаца. Од 1991. године на месту председника променило се до данас шест (проф. др Милутин Петровић, академик проф. др Златибор Петровић, проф. др Милан Тешић, проф. др Босилка Ђуричић, проф. др Брана Раденковић-Дамњановић, проф. др Милорад Мириловић) руководилаца. Удружење ветеринара Србије од 1994. године носи ново име Српско ветеринарско друштво (СВД). СВД је од распада Југославије (1991. године) настојало да ово Удружење настави активно да ради, што се види из бројних начина организовања и рада кроз Извршни одбор, Изборне скупштине, Саборе. Највећи део активности СВД била је везана за законске прописе и организациона питања рада Друштва. Једна од активности СВД било је и одржавање саветовања ветеринара. Саветовања су, нема сумње, имала велики значај, пре свега за људе из праксе, али и научне раднике из различитих институција (факултети, институти) (Анон., 2000; Балтић, 2009; Радојевић и сар., 2011).

#### **ХРОНОЛОГИЈА САВЕТОВАЊА СРПСКОГ ВЕТЕРИНАРСКОГ ДРУШТВА**

Према подацима из Едиције „110 година Српског ветеринарског друштва“ из 2000. године прва три Саветовања ветеринара која су трајала само по један дан одржана су у периоду 1990-1991. године, и то прво Саветовање одржано је у Лепенском виру (председник организационог одбора Хранислав Илић, дипл. вет.), друго у Аранђеловцу (председник организационог одбора др Спасоје Јаћимовић) и треће у Врњачкој бањи (председник организационог одбора Петар Костић, вет. спец.).

Четврто Саветовање ветеринара Србије одржано је 5. и 6. септембра 1991. на Копаонику. Председник организационог одбора био је проф. др Бранислав Димитријевић. Првог дана Саветовања изложена су два реферата по позиву, а у поподневном делу одржан је округли сто ICN

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Галенике, генералног спонзора Саветовања. Другог дана Саветовања одржана су три предавања по позиву. Радови саопштени на Саветовању штампани су у часопису Ветеринарски гласник.

И следеће, пето Саветовање ветеринара одржано је од 2. до 5. септембра 1992. године на Копанику, а председник организационог одбора био је поново проф. др Бранислав Димитријевић. Саветовање је имало седам пленарних заседања и један округли сто. Поред генералног спонзора (ICN Галеника), ово Саветовања помогле су и друге организације. Прво пленарно заседање односило се на „Савремене тенденције развоја ветеринарске праксе као изазов за ветеринарство Србије“ (модератор проф. др Милан Тешић), друго на „Савремене аспекте здравствених проблема у говедарству“ (модератор проф. др Хореа Шаманц), треће на „Медицинске и организационе проблеме у лечењу малих животиња“ (модератор доцент др Никола Поповић), четврто на „Рационални приступ медикацији у савременој ветеринарској медицини“ (модератор проф. др Драгољуб Живанов), пето на „Говедарство, свињарство, паразитологија“ (модератор доц. др Петар Милосављевић), шесто на „Заштиту здравља и репродукцију свиња“ (модератор др Младен Гагрчин) и седмо на „Живинарство, микробиологију, зоохигијену, радијациону хигијену“ (модератор доц. др Милијан Јовановић). Одржан је и округли сто под називом „Задаци и улога ветеринарске инспекције у спровођењу закона и развоју ветеринарства“ (модератор Живорад Костић, дипл. вет.). На Саветовању су саопштена укупно 264 рада који су штампани у Зборнику радова и кратких садржаја.

Наредно шесто Саветовање ветеринара Србије одржано је од 15-18. септембра 1993. године по први пут на Златибору. Председник Организационог одбора био је др Радољуб Тадић. Рад Саветовања се одвијао у четири пленарна заседања у оквиру постер секције и једног округлог стола. Прво пленарно заседање „Задаци и улога ветеринарске службе у савременим условима привређивања“ модерирао је Живорад Костић, дипл. вет. Друго пленарно заседање „Актуелне заразне болести домаћих животиња-стања и проблеми“ модерирао је проф. др Ђорђе Пањевић, треће „Здравствена и квалитативна исправност сировина и производа анималног порекла-мере и поступци“ модерирао је проф. др Сава Бунчић и четврто „Актуелни задаци ветеринарске инспекције“ модерирао је Живорад Костић, дипл. вет. Постер заседање било је организовано по одређеним областима (сточарство, исхрана, репродукција, хигијена и технологија намирница итд.). Генерални спонзор ICN Галеника организовао је округли сто на коме је презентовао део свог производног програма под насловом „Примена Тиамулигал програма у решавању здравствене проблематике свиња и живине“. Аутори овог програма били су др Ђорђе Авакумовић, др Младен Гагрчин и др Душан Орлић. У Зборнику шестог Саветовања штампана су 163 рада.

Од 13. до 16. септембра 1994. године на Златибору је одржано седмо Саветовање ветеринара, а председник организационог одбора био је др Радољуб Тадић. Генерални спонзор био је, као и на претходном Саветовању, ICN Галеника. На отварању Саветовања проф. др Милутин Петровић имао је реферат „Положај ветеринарске професије у актуелним условима привређивања“. На Саветовању су радови изложени у три пленарна заседања, два округла стола и у постер заседањима. Прво пленарно заседање било је „Епизотиолошка ситуација и савремени принципи дијагностике бактеријских и вирусних болести“ (модератор проф. др. Божидар Марковић), друго пленарно заседање било је „Биотехнологије у сточарству“ (модератор проф. др Слободан Јовановић), а треће „Систем квалитета према ЈУС ИСО 9000, примена рачунара у ветеринарству“ (модератор др Лазар Турубатовић, научни саветник). Округли сто генералног спонзора односило се на „Принципи добре произвођачке праксе примењени у производњи премикса и утицај дефицита витамина и минерала у исхрани на здравствено стање животиња“. Постер заседања су као и на претходном, шестом Саветовању, била организована по тематским областима. У Зборнику Саветовања штампано је 129 радова.

На Златибору је од 19-23. септембра 1995. године одржано осмо Саветовање ветеринара, а председник организационог одбора поново је био др Радољуб Тадић. Генерални спонзор био је ХЕМОВЕТ из Вршца. Програмски део Саветовања реализован је у шест пленарних заседања и постер заседањима. Прво пленарно заседање односило се на „Стање и задатке ветеринарске службе у Србији“ које је изложио проф. др Георгије Трбојевић. Друго пленарно заседање било је „Стање и актуелни проблеми организације у ветеринарству Србије“ (модератор проф. др Милан Тешић), треће „Актуелна епизотиолошка ситуација“ (модератор проф. др Мирослава Лолин),

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

четврто „Савремени приступ етиологији, патогенези, профилакси и терапији пуерпералне парезе кржава“ (модератор проф. др. Хореа Шаманц), пето „Актуелни проблеми у производњи, контроли и промету ветеринарских, биолошких и хемофармацеутских производа“ (модератори Живко Давидовић, дипл. вет. и проф. др Драгољуб Живанов) и шесто „Ветеринарска контрола намирница животињског порекла“ (модератор проф. др Милан Ж. Балтић и др Јован Панин). Постер заседање било је подељено у шест целина. У Зборнику Саветовања одштампано је 136 радова.

Од 10. до 14. децембра 1996. године на Златибору одржано је девето Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог одбора био је проф. др Милан Тешић, програмски одбор није имао председника, а председник редакционог одбора био је проф. др Милијан Јовановић. Генерални спонзор Саветовања био је Ветеринарски завод Суботица. Саветовању је присуствовао и тадашњи министар за пољопривреду Србије проф. др Тихомир Вребалов. Рад Саветовања одвијао се кроз три пленарна заседања, два округла стола, као и кроз постер заседање. Прво пленарно заседање било је посвећено теми „Актуелна епизотиолошка ситуација у свету, Европи и нашој земљи“ (модератор Живко Давидовић, дипл. вет.), друго је одржано под насловом „Прописи ЕУ за заштиту животињу и контролу њихових сировина и производа“ (модератор др Радољуб Тадић), а треће је било под насловом „Репродукција“ (модератор проф. др Гојко Мрвош). Модератор округлог стола под називом „Трихинелоза - стање и предлог мера за сузбијање“ био је академик проф. др Златибор Петровић, а округлог стола „Стање и преглед мера за искорењивање класичне куге свиња“ проф. др Ђорђе Добрић. Постер заседања односила су се на три области ветеринарске медицине. У Зборнику радова штампана су 93 рада.

На Златибору је поново од 16. до 20. септембра 1997. године одржано десето јубиларно Саветовање ветеринара, са међународним учешћем. Наиме, први пут на Саветовању били су учесници из иностранства (Канада, Мађарска, Сенегал, Македонија, Румунија, Бугарска). Председник организационог одбора био је проф. др Милан Тешић, програмски одбор није имао председника, а председник редакционог одбора била је проф. др Милијана Кнежевић. Генерални спонзор Саветовања био је ХЕМОВЕТ из Вршца. Рад Саветовања одвијао се у оквиру три пленарна заседања, пет округлих столова и у оквиру постер заседања. Наслов првог пленарног заседања био је „Епизотиологија заразних и паразитских болести и зооноза“ (модератор проф. др Босиљка Ђуричић), другог „Системи контроле хигијенске исправности и квалитета намирница животињског порекла“ (модератор проф. др Оливера Бунчић), а треће „Утицај поремећаја промета минералних материја и витамина на репродуктивну функцију и здравствено стање говеда“ (модератор проф. др Иван Иванов). Округли столови имали су наслове „Нове технологије у производњи биолошких препарата“ (модератор доц. др Драган Роган), „Актуелни проблеми организације ветеринарске службе“ (модератор проф. др Милан Тешић), „Стратегија и унапређење система квалитета у ветеринарској медицини“ (модератор проф. др Ранко Кљајић), „Новине у ветеринарској фармакотерапији“ (модератор проф. др Миланка Јездимировић) и „Рибарство“ (модератор проф. др Мирослав Ђирковић). У Зборнику радова штампано је 107 радова. По први пут кратки садржаји радова штампани су на српском и енглеском језику (Anon., 2000).

Због одржавања Седмог конгреса ветеринара Србије 1998. године није организовано Саветовање СВД.

На Златибору је од 31. августа до 4. септембра 1999. године одржано 11. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог одбора био је др Зоран Машић, научни саветник, а програмски и редакциони одбор нису имали председника. На овом Саветовању није било генералног спонзора, али су због тога била четири спонзора и више донатора Саветовања. Рад Саветовања одвијао се у три пленарна заседања, три округла стола и постер заседање. Прво пленарно заседање било је „Актуелни проблеми заштите здравља животиња у рату и послетатном периоду (модератор др Радован Милић), друго „Актуелни проблеми у репродукцији“ (модератор проф. др Војислав Павловић) и треће „Могуће дуготрајне последице ратних дејстава на сточни фонд и животну средину“ (модератор проф. др Лазар Стојановић). Један од округлих столова био је под називом „Легислатива у области производње, промета и регистрације лекова“ (модератор проф. др Зоран Алексић), други „Законске регулативе и епизотиологија заразних болести“ (модератор проф. др Босиљка Ђуричић) и трећи „Актуелни проблеми приватне праксе (модератор

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

проф. др Југослав Васић). У оквиру постер заседања приказана су 24 рада, а у Зборнику реферата и кратких садржаја штампана 42 рада (Anon., 2000).

После вишегодишњих саветовања на Златибору, 12. Саветовање ветеринара са међународним учешћем одржано је од 10. до 15. септембра 2000. године у Врњачкој бањи. Те године у исто време одржан је и Пети сабор ветеринара Србије у поводу 110 година постојања и рада Српског ветеринарског друштва. Златни спонзор Саветовања била је Галеника а.д. из Земуна, а поред тога било је шест спонзора и више донатора. Председник организационог одбора био је др Зоран Машић, научни саветник, програмског одбора проф. др Лазар Стојановић, а редакционог одбора проф. др Зоран Алексић. Саветовању су присуствовали и научни радници из Енглеске, Бугарске, Италије и Канаде, а рад Саветовања одвијао се кроз шест пленарних заседања и кроз постер заседање. Прво пленарно заседање имало је наслов „Специјална патологија и терапија домаћих животиња“ (модератори проф. др Драгиша Траиловић и проф. др Југослав Васић), друго „Здравствена заштита и технологија у рибарству“ (модератори проф. др Мирослав Ћирковић и др Жарко Перић), треће „Микотоксикозе код животиња“ (модератор др Зоран Машић, научни саветник и проф. др Марија Шкрињар), четврто „Епизотиологија и профилакса заразних и паразитских болести“ (модератори проф. др Босилка Ђуричић и доц. др Драган Роган), пето „Организација и економика“ (модератори проф. др Милан Тешић и Слободан Илић, вет. спец.), шесто „Хигијена и технологија намирница“ (модератори проф. др Лазар Стојановић и проф. др Сава Бунчић) и седмо „Микробиологија и имунологија у ветеринарској медицини“ (модератори проф. др Ружица Ашанин и др Жељко Плавшић). У оквиру „Постер заседања“ приказано је 78 радова. У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 119 радова (Anon, 2000).

Следеће 13. Саветовање ветеринара Србије поново је одржано на Златибору од 11. до 14. септембра 2001. године. Председник организационог одбора била је проф. др Вера Катић, а програмског одбора др Зоран Машић, научни саветник, а редакционог одбора проф. др Сандра Димитријевић. Саветовање је одржано у осам тематских целина и то: „Епизотиологија заразних и паразитских болести у светлу појаве нових зооноза“, „Специјална патологија и терапија говеда“, „Хигијена и технологија намирница анималног порекла «од њиве до трпезе»“, „Проблеми здравствене исправности сточне хране и њеног утицаја на здравље животиња“, „Актуелни проблеми мале праксе“, „Хармонизација прописа и својинска трансформација“, „Обележавање животиња и примена информационог система“, „Слободне теме“. На Саветовању је одржано 19 предавања по позиву, а сви радови (60) су штампани у Зборнику као цели радови или као кратки садржаји (Anon., 2001).

Четрнаесто Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем одржано је од 10. до 14. септембра 2002. године на Златибору. Као и на претходном Саветовању, председник организационог одбора била је проф. др Вера Катић, а програмског одбора др Зоран Машић, научни саветник. Генерални спонзор били су Научни институт за ветеринарство Србије из Београда и Марлофарма из Београда. Саветовању су помогли још три спонзора и више донатора. И ово Саветовање имало је осам тематских целина: „Производња селекција и превентива у свињарству“, „Дијагностика, патологија и терапија у свињарству“, „Образовање у области ветеринарске медицине“, Хигијена и технологија намирница анималног порекла“, „Актуелни проблеми мале праксе“, „Законски прописи, организација и менаџмент у ветеринарству“, „Здравствена заштита у неконвенционалној анималној производњи“, а осмо пленарно заседање биле су „Слободне теме“. Одржана су два округла стола, од којих је један био посвећен класичној куги свиња, а други приватизацији у ветеринарству. У оквиру сваког пленарног заседања презентирани су уводни реферати, док је део радова презентован у оквиру постер секција. Радови из Слободних тема презентирани су само постерима. У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 86 радова (Anon., 2002).

На Златибору је од 9. до 13. септембра 2003. године одржано 15. Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем. Као и на претходним саветовањима, и на овом Саветовању председник организационог одбора била је проф. др Вера Катић, а председник научног одбора др Зоран Машић, научни саветник. Генерални спонзор Саветовања била је компанија ХЕМОФАРМ сопсет а.д., Вршац-ХЕМОВЕТ & ЗОРКА Pharma. Поред тога Саветовање су помогла два спонзора и више донатора. За ово Саветовање програмски одбор одабрао је седам тематских целина, и то:



### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

„Здравствена заштита живине, стање и перспективе у живинарству Србије“, „Превентива, дијагностика и терапија код животиња намењених за производњу хране“, „Хигијена и технологија намирница анималног порекла“, „Актуелни проблеми мале праксе“, „Микотоксикозе животиња“, „Здравствена заштита у неконвенционалној анималној производњи“ и „Слободне теме“. Радови су презентирани као уводна предавања у свакој од секција изузев у секцији Слободне теме, а део радова је приказан постерима. У оквиру округлог стола разговарано је о начину организације приватне ветеринарске праксе у Француској. У Зборнику радова и кратких садржаја је штампано 96 радова (Аноп., 2003).

Шеснаесто Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем одржано је од 8. до 10. септембра 2004. године на Златибору. Председник организационог одбора био је проф. др Милан Ж. Балтић, а програмског одбора проф. др Милијан Јовановић. Генерални спонзори били су „Лек“ Љубљана, „Сто посто“, Београд и „Sano“, Нови Сад. Саветовање је одржано по програму који је обухватао осам тематских целина, и то: „Епизотиологија“, „Хигијена намирница“, „Исхрана и тровање храном“, „Патологија и терапија животиња“, „Актуелни проблеми у клиничкој пракси малих животиња“, „Актуелни проблеми у рибарству и пчеларству“ и „Слободне теме“. Те године је обележено 100 година од изласка првог броја Ветеринарског гласника, па је у Зборнику дат кратак коментар на тај јубилеј. Уводни реферати, односно реферати по позиву штампани су у Ветеринарском гласнику, а у Зборнику са Саветовања дати су само кратки садржаји. Укупно је штампан 81 кратак садржај (Аноп., 2004).

На Златибору је од 7. до 10. септембра 2005. године одржано 17. Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем. Председник организационог одбора био је проф. др Драган Роган, а програмског одбора проф. др Владо Теодоровић. Генерални спонзори били су Беоветерина Београд и Фармаанима Београд. Поред тога била су још два спонзора и више донатора. Саветовање је организовано кроз четири програмске целине и то: „Епизотиологија (модератори проф. др Босилка Ђуричић, проф. др Драган Роган, др Бранка Видић, научни саветник)“, „Хигијена намирница анималног порекла (модератори проф. др Милан Ж. Балтић, проф. др Вера Катић и др Драго Неђић)“, „Патологија и терапија домаћих животиња (модератори проф. др Биљана Радојчић, проф. др Бого Фугур и проф. др Сандра Димитријевић)“. Радовима презентираним у „Слободним темама“ модерирани су проф. др Владо Теодоровић, проф. др Верица Мрвић и доц. др Мирјана Мачукановић. Округлим столом „Улога и место Ветеринарске коморе у светлу новог Закона о ветеринарству“ модерирани су проф. др Дејан Крњић, проф. др Ранко Кљајић и дипл. вет. Хранислав Илић. Другим округлим столом који се односио на приватизацију у ветеринарству модерирани су проф. др Милан Тешић, проф. др Зоран Алексић, Славољуб Станојевић, ДВМ и проф. др Ранко Кљајић. У Зборнику радова и кратких садржаја штампана су 64 рада. Сви радови и кратки садржаји штампани су, поред српског, и на енглеском језику (Аноп., 2005).

Осамнаесто Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем одржано је на Златибору од 21. до 24. септембра 2006. године. Председник организационог одбора била је проф. др Бранка Видић, а програмског одбора проф. др Владо Теодоровић. Генерални спонзор био је Simbiofarm, а била су још два спонзора и више донатора. Ово Саветовање одвијало се кроз четири тематске целине и два округла стола. Прва тематска целина била је посвећена „Безбедности намирница“, друга „Епизотиологији“, трећа „Приватизацији у ветеринарству Србије“, док је четврта била „Слободне теме“. Један од округлих столова био је везан за „Регистрацију и промет ветеринарских лекова у Србији“, а други се односио на „Авијарну инфлуенцу“. Радови су штампани у целости са кратким садржајем на српском и енглеском језику, а један део радова је штампан као кратак садржај, такође двојезично. Укупно је у Зборнику штампано 56 радова (Аноп., 2006).

Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем, 19. по реду, одржано је у Врњачкој бањи од 26. до 29. септембра 2007. године. Председник организационог одбора била је проф. др Босилка Ђуричић, а програмског одбора проф. др Владо Теодоровић. Генерални спонзор Саветовања била је фирма „Сто посто“ из Београда, а Саветовање су помогла још два спонзора и више донатора. Прво тематско заседање односило се на „Епизотиологију“, друго на „Хигијену намирница“, треће на „Поремећаје у репродукцији“, четврто на „Приватизацију у ветеринарству

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

Србије“, а пето су биле „Слободне теме“. У оквиру Саветовања одржан је и округли сто који се односио на „Осигурање животиња“. Радови су штампани у целисти са кратким садржајем на српском и енглеском језику или само као кратки садржаји, такође двојезично. У оквиру Саветовања компанија Ingenasa имала је презентацију која се односила на „Биотехнологију примењену на здравље животиња: случај Ingenasa (Мадрид, Шпанија)“. У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 56 радова (Anon., 2007).

Двадесето јубиларно Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем одржано је на Златибору од 24. до 27. септембра 2008. године. Председник организационог одбора била је проф. др Босилка Ђурчић, а програмском одбора проф. др Зора Мијачевић. Генерални спонзор Саветовања био је Ветеринарски завод из Земунa, а поред тога била су још два спонзора и више донатора који су материјално помогли одржавање Саветовања. Уводни реферат на Саветовању односио се на „Ветеринарство у систему квалитета“, а рад Саветовања се даље одвијао кроз пет тематских заседања: „Хигијена намирница“, „Епизоотиологија“, „Респираторна обољења преживара“, „Патоморфологија у дијагностици обољења животиња“ и „Слободне теме“. Један од округлих стола био је везан за „Добробит кућних љубимаца, законска регулатива, осигурање и pet therapy“, а други на „Ветеринарско-медицински отпад као здравствено економски ризик“. У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 89 радова са кратким садржајима на српском и енглеском језику, а радови који су презентирани у постер заседањима штампани су у кратким садржајима, такође двојезично (Anon., 2008).

Осми конгрес ветеринара Србије одржан је 2009. године и те године није одржано Саветовање СВД.

На Златибору је од 15. до 18. септембра 2010. одржано 21. Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем. Те године обележено је 120 година постојања Српског ветеринарског друштва. Председник организационог одбора била је проф. др Зора Мијачевић, а програмског одбора проф. др Брана Раденковић-Дамњановић. Генерални спонзор Саветовања био је Fish corp 2000 д.о.о. Београд, а било је још 15 спонзора. Пре секцијских заседања, одржана су два предавања, од којих се једно односило на „Реформу система безбедности хране и ветеринарску политику“, а друго на „Приватизацију и њене ефекте на ветеринарску службу Србије“. Рад Саветовања одвијао се кроз шест секција и то: „Нове технологије и технопатије у интензивном узгоју животиња“, „Здравствена заштита животиња“, „Безбедност и квалитет намирница“, „Фармакологија и токсикологија“ и „Мала пракса“. Округли сто односио се на добробит животиња. У Зборнику реферата и кратких садржаја као и ранијих година (кратки садржаји на српском и енглеском језику) штампана су укупно 93 рада (Anon., 2010).

Двадесет друго Саветовање ветеринара Србије са међународним учешћем поново је одржано на Златибору од 14. до 17. септембра 2011. године. Председник организационог одбора био је проф. др Слободан Јовановић, а програмског одбора проф. др Босилка Ђурчић. Саветовању је помогло 13 спонзора. Рад Саветовања одвијао се кроз шест тематских целина (заседања). Прво тематско заседање било је „Бол и добробит животиња“, друго „Безбедност и квалитет хране анималног порекла“, треће „Одрживи системи гајења, исхране и репродукције“, четврто „Екологија и улога дивљачи у појави заразних болести“, пето „Здравствена заштита фармских животиња“, шесто „Здравствена заштита социјалних животиња“. На скупу је саопштено 68 радова, при чему се мора истаћи да је највећи број радова овог заседања штампан у целисти, са апстрактном на српском и енглеском језику (Anon., 2011).

Двадесет треће Саветовање ветеринара Србије одржано је на Златибору од 13. до 16. септембра 2012. године. Председник организационог одбора била је проф. др Брана Раденковић-Дамњановић, а програмског одбора проф. др Радмила Ресановић. Генерални спонзор била је Беоветерина из Београда, а Саветовању је помогло више спонзора и донатора. У односу на претходна Саветовања, ово Саветовање је организовано тако да се прво заседање односило на „Реформу националне ветеринарске службе као јавног добра и подршке заштити здравља и добробити људи и животиња, заштити животне средине и безбедности хране“. Радови из другог пленарног заседања саопштени су у оквиру секције „Шта подразумева стратегија контролисане примене антибиотика у ветеринарској медицини и да ли је оваква стратегија потребна Србији?“. Треће пленарно заседање односило се на „Маститисе“. У оквиру овог Саветовања организовано је

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

и седам радионица које се по први пут појављују у програму Саветовања. Једна од радионица односила се на „Алергене у храни анималног порекла као битан фактор у безбедности намирница“ (модератор др Весна Матекало Сверак, научни саветник), друга радионица односила се на „Лапаротомске методе код говеда“ (модератор проф. др Петар Милосављевић). „Улога и задатак ветеринара на фарми живине“ разматрана је у трећој радионици (модератори др Данка Маслић-Стрижак, научни сарадник, др Љиљана Спалевић, научни сарадник и проф. др Радмила Ресановић). О „Респираторним проблемима на једној фарми свиња у Аустрији („Ко су учесници?“)“ говорено је у оквиру четврте радионице (модератор Владан Миљковић, ДВМ). Пета радионица односила се на „Принципе исхране на мини фармама говеда“ (модератори доц. др Бранко Петрујић и др Милован Јовичин, научни саветник). Модератори шесте радионице „Векторске болести паса и мачака - буве, крпељи и комарци - шта нам се дешава и шта нам је чинити?“ били су проф. др Никола Поповић и доц. др Милан Јовановић. Последња седма радионица односила се на „Сузбијање маститиса крава“, а модератори су били доц. др Владимир Магаш и проф. др Слободанка Вакањац. У оквиру Постер секције приказано је осам радова, а у оквиру Студентске секције, која се први пут појављује на Заседању, било је приказано шест радова. Одржана су и два округла стола, од којих први „Ви питате ми одговарамо“, а други „Лиценца: ко, коме и зашто?“. У Зборнику радова штампана су 33 рада у целости (Анон., 2012).

На Златибору је од 12. до 15. септембра 2013. године организовано 24. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог одбора била је проф. др Брана Раденковић-Дамњановић, а програмског одбора проф. др Данијела Кировски. Генерални спонзор Саветовања била је Agrimatco Group Dіркот из Новог Сада, а Саветовање су традиционално подржали и други спонзори и донатори. Специфичност овог Саветовања је у чињеници да су одржана четири пленарна предавања за све учеснике Саветовања. Организована су и два пленарна заседања са по два предавања, затим Студентска постер секција са осам радова, затим Постер секција и укупно девет радионица из различитих области ветеринарске медицине. Штампано је укупно у Зборнику 45 радова у целости (Анон., 2013).

Српско ветеринарско друштво је од 11. до 14. септембра 2014. године на Златибору организовало 25. Саветовање ветеринара Србије. Као и на претходном Саветовању, председник организационог одбора била је проф. др Брана Раденковић-Дамњановић, а програмског одбора проф. др Данијела Кировски. Генерални спонзор био је Ветеринарски завод из Суботице, а Саветовање је подржало још осам спонзора и донатора. На отварању Саветовања саопштена су три пленарна предавања, а затим се рад Саветовања одвијао кроз десет тематских заседања („Биотехнолошка решења у сточарској производњи“, „Заразне болести животиња, ветеринарска инфектологија и епизотиологија“, „Актуелна здравствена проблематика код домаћих папкара“, „Ретроспектива и перспектива добробити животиња у Србији“, „Матичне ћелије“, „Слободне теме“, „Безбедност хране“, „Мала пракса у ветеринарској медицини“, „Актуелна патологија обољења коња“ и „Живинарство“). У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 70 радова, са кратким садржајима на српском и енглеском језику. У Зборнику су штампани и Закључци са 23. Саветовања ветеринара (Анон., 2014).

Од 10. до 13. септембра 2015. године на Златибору је одржано 26. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог и програмског одбора била је проф. др Брана Раденковић-Дамњановић. Генерални спонзор био је Boehringer Ingelheim Serbia д.о.о. из Београда са још пет спонзора и донатора. Ово Саветовање организовано је кроз седам тематских заседања („Инфективне и паразитске болести животиња и епизотиологија“, „Ванредне ситуације, место и улога ветеринарске струке и научена искуства“, „Здравствена заштита папкара“, „Спречавање ширења полно преносивих зараза код коња“, „Алтернативни извори протеина у исхрани животиња - могућност или потреба“, „Ефикасност и безбедност лекова у ветеринарској клиничкој пракси“, „Могућност и границе у контроли ПРРС вируса“, „Безбедност хране“ и „Слободне теме-постер секција“). У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 57 радова (Анон., 2015).

У организацији Српског ветеринарског друштва на Златибору је од 8. до 11. септембра 2016. године одржано 27. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог одбора био је проф. др Милорад Мириловић, а програмског одбора проф. др Вера Катић. Генерални спонзор био је NCP FM Phаг,т из Суботице, а Саветовање су помогли још четири спонзора, односно

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

донатора. Радови су саопштени кроз 25 пленарних реферата. Организоване су и две радионице, од којих се једна односила на „Лапаротомију говеда у теренским условима“ (модератори проф. др Петар Милосављевић и Горана Поповић, ДВМ), а друго се односило на „Хируршку санацију пролапсуса вагине куја“ којом су модерирали проф. др Владимир Магаш, проф. др Милош Павловић, др Милоје Ђурић, Љубомир Станишић, ДВМ, Светлана Недић, ДВМ. У оквиру Саветовања организована су и три округла стола, од којих су сва три била везана за образовање (средњошколско, додипломско и последипломско). Део радова на Саветовању приказан је у Постер секцији (кратка саопштења). У Зборнику радова и кратких садржаја штампано је 48 радова (Анон., 2016).

На Златибору је од 7. до 10. септембра 2017. године одржано 28. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог, односно програмског одбора као и на претходном Саветовању били су проф. др Милорад Мириловић, односно проф. др Вера Катић. Генерални спонзор био је NCP FM Pharm из Суботице, а Саветовање су помогли још седам спонзора, односно донатора. Радови првог тематског заседања „Стање и перспективе ветеринарске службе Србије“ саопштени су на отварању Саветовања. Друго тематско заседање било је посвећено „Актуелној епизоотиолошкој ситуацији у Републици Србији“, треће „Здравственој заштити и репродукцији фармских животиња“, четврто „Актуелним трендовима у производњи и промету хране за животиње у Републици Србији“, а пето је било посвећено „Слободним темама и прилозима из праксе“. У оквиру Саветовања организована су и четири радионице („Кастрација пастува“, „Вештачко осемењавање куја“, „Улога ветеринара у управљању репродуктивним и здравственим статусом на фарми млечних крава“ и „Мониторинг хране животињског порекла“). Округли сто односио се на средњошколско образовање. У Зборнику радова и кратких садржаја штампана су 52 рада (Анон., 2017).

На Златибору је од 13. до 16. септембра 2018. године одржано 29. Саветовање ветеринара Србије. Председник организационог одбора био је проф. др Милорад Мириловић, а програмског одбора проф. др Радмила Марковић. Генерални спонзор био је NCP FM Pharm из Суботице, а Саветовање су помогли и други спонзори и донатори. Прво тематско заседање односило се на „Стање и перспективе ветеринарске службе Србије“, а модератор овог заседања био је проф. др Милорад Мириловић. Модератор другог тематског заседања, односно „Актуелне епизоотиолошке ситуације у Републици Србији“ био је др Тамаш Петровић, научни саветник. Треће тематско заседање „Фармакологија“ модерирао је проф. др Саша Траиловић. Модератори четвртог тематског заседања били су проф. др Радмила Марковић, проф. др Цвијан Мекић и доц. др Стамен Радуловић, а ово заседање односило се на „Нутритивне изазове у одржавању оптималног здравља, побољшању перформанси и повећању профита“. Проф. др Данијела Кировски била је модератор петог тематског заседања „Репродукција и здравствена заштита фармских животиња“. Шесто тематско заседање „Здравствена заштита кућних љубимаца“ модерирао је доц. др Бојан Тохол. Посебно заседање односило се на „Прилоге из праксе и слободне теме“, а модератор овог заседања био је проф. др Владимир Нешић. У оквиру заседања на овом Саветовању организовано је и пет радионица. Прву радионицу „Практична примена ултразвука у репродукцији млечних крава“ модерирао је доц. др Милан Малетић, а другу радионицу „Техника обдукције животиња“ проф. др Дарко Маринковић. Иван Јефтић, спец. др вет. модерирао је трећу радионицу која се односила на „Цистоскопију код паса“. Проф. др Неђељко Карабасил био је модератор четврте радионице „Безбедност и квалитет традиционалних производа од меса“. Пета радионица се односила на „Отпорност на антибиотике, опште аспекте, праћење и одговорност ветеринара“, а модератори ове радионице били су проф. др Душан Мишић, Dupuu Catherine, Samira Sarter. У Зборнику Саветовања штампана су 34 рада (Анон., 2018).

Овогодишње 30. Саветовање ветеринара Србије је јубиларно, а одржава се на Златибору од 12. до 15. септембра 2019. године. Као и на претходном Саветовању председник организационог одбора је проф. др Милорад Мириловић, а програмског одбора проф. др Радмила Марковић. Генерални спонзор је поново NCP FM Pharm из Суботице. Модератори првог тематског заседања „Значај континуиране едукације ветеринарских кадрова у побољшању квалитета ветеринарске делатности“ су проф. др Милорад Мириловић и проф. др Данијела Кировски. Друго тематско заседање односи се на „Актуелну епизоотиолошку ситуацију“, а модератори су проф. др Сања

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Алексић, проф. др Соња Радојчић и проф. др Михајло Ердељан. Трећим тематским заседањем „Здравствена заштита и репродукција фармских животиња“ модерирају проф. др Иван Вујанац и проф. др Марко Цинцовић. Четврто тематско заседање има наслов „Новооткривене могућности комплексног света угљених хидрата у исхрани животиња“. Модератори овог заседања су проф. др Радмила Марковић, проф. др Цвијан Мекић, доц. др Стамен Радуловић и проф. др Миодраг Радиновић. Проф. др Драган Василев и проф. др Николина Новаков су модератори петог тематског заседања „Хигијена и технологија намирница анималног порекла“. Шесто тематско заседање је „Клинички преглед и заимљавање пчела“, а модератори су проф. др Зоран Станимировић и проф. др Мирослав Валчић. Проф. др Бојан Тохол и проф. др Вања Крстић су модератори седмог тематског заседања које се односи на „Здравствену заштиту и репродукцију кућних љубимаца“. У осмо тематско заседање сврстане су „Слободне теме“, а модератори овог заседања су проф. др Владимир Нешић и проф. др Бранислава Белић. У ово Саветовање укључене су и четири радионице. Првом радионицом „Клинички преглед и заимљавање пчела“ модерирају проф. др Зоран Станимировић и Урош Главинић, ДВМ. Друга радионица односи се на „Оцену услова добробити животиња и квалитета меса“, а модератор ове радионице је проф. др Неђељко Карабасил. Модератор треће радионице „Практична примена хормонских протокола у репродукцији млечних крава“ је доц. др Милан Малетић, а четврте „Препуберална гонадектомија код паса и мачака“ је проф. др Владимир Магаш. У Зборнику радова штампано је преко 40 радова (Анон., 2019).

#### ОПШТЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ САВЕТОВАЊА

Сва саветовања карактеришу неки заједнички елементи. Главни организатор свих саветовања је СВД. Као суорганизатори различитих година појављују се Факултет ветеринарске медицине, Ветеринарска комора Србије, Управа за ветерину Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде, Департман за ветеринарску медицину Пољопривредног факултета у Новом Саду. Покровитељ саветовања традиционално је Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде Владе Републике Србије. Покровитељ материјалним средствима помаже организацију саветовања. Како су за организацију саветовања неопходна материјална средства, то се она делом прикупљају од котизација коју плаћају учесници (не сви), фирми које имају своје рекламне штандове (простор), спонзоре и донаторе. У већини случајева Саветовање има једног генералног (златног) спонзора (који има и највећи рекламни простор), спонзора и донатора. Спонзори и донатори су најчешће фирме које заступају неке стране произвођаче лекова, додатака храни за животиње, произвођаче опреме и лабораторијског материјала или су то српске фирме које се баве овим пословима. Међу спонзорима и донаторима налазимо и институте, ветеринарске специјалистичке институте, ветеринарске станице и амбуланте, ветеринарске апотеке, фарме итд.

За одржавање сваког саветовања по устаљеној пракси и динамици СВД именује чланове Организационог одбора и председника одбора (најчешће председника СВД), чланове Програмског одбора и његовог председника, уредника и техничког уредника Зборника, рецензента радова и кратких садржаја (не увек). За поједина саветовања именован је и Редакциони одбор и председник овог одбора, затим Почасни одбор и Секретаријат. Од укупно тридесет саветовања, 23 су одржана на Златибору (22 пута у септембру и само једном у децембру). Прва три саветовања нису одржана као класична саветовања, будући да су то били једнодневни састанци Извршног одбора СВД на којима није било предавања, па отуда ни објављивање Зборника радова. Ова саветовања (састанци) били су посвећени организацији рада СВД, односно ветеринарске службе. То је било време распада СФРЈ, време великих промена у држави и друштву, што је утицало и на рад, не само СВД, него и целе ветеринарске струке. О снази СВД и ветеринарске струке говори чињеница да је већ у септембру 1991. године одржане Четврто саветовање ветеринара Србије на Копаонику (радови штампани у Ветеринарском гласнику) и да се после тога одржавање саветовања ветеринара Србије наставило. Саветовања ветеринара Србије нису одржана само у годинама одржавања Конгреса ветеринара Србије (1998. и 2009. године).

За свако саветовање Програмски одбор је припремао тематске области (заседања), обавештавао ветеринарску јавност о томе, давао упутства о припреми радова, кратких садржаја, постера. За сваку тематску област именован је један или више модератора заседања. Тематске

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

области биле су у сагласности са најактуелнијим питањима, односно интересовањима у ветеринарској медицини тога времена. Број тематских области био је од четири (на 7., 9., 10., 11., 17., 18., саветовању) до једанаест (25. саветовање). Радови који нису могли по својој тематици да буду сврстани ни у једну тематску област саопштавани су у оквиру тематске области „Слободне теме“ и углавном су приказивани постерима. На два саветовања (23. и 24., 2013, односно 2014. године) у оквиру саветовања биле су организоване и студентске секције где су презентовани радови студената припремљени са у сарадњи са наставницима и сарадницима Факултета ветеринарске медицине, Универзитета у Београду. Рад Саветовања одвијао се и кроз округле столове који нису били заступљени на свим саветовањима, а на 10. саветовању било их је чак пет. Округли столови били су углавном посвећени организацији и раду ветеринарске службе, приватизација у ветеринарству (10. саветовање 2002. године) и законодавству (Закон о ветеринарству, 17. саветовање 2005. године, Легислатива у области производње, промета и регистрације лекова, 11. саветовање 1999. године) или њеним појединим, у том моменту, најактуелнијим питањем, као што је то било на 18. саветовању када је један округли сто био посвећен авијарној инфлуенци.

На 23. саветовању 2012. године у програму саветовања ветеринара Србије по први пут се појављује „радионица“ (седам радионица, да би их 2013. године на 24. саветовању било девет. Следећа два саветовања су била без радионица, а од 26. саветовања па до овогодишњег саветовања радионице су увек део програма саветовања. Радионице су специфичан облик едукације, посвећен само једном питању (нпр. „Кастрација пастува“). Подразумева се да радионице имају интерактивни приступ између модератора и учесника у радионици, као и између самих учесника у радионици. Оне имају и практичну подршку која доприноси објашњењу питања, односно проблема коме је радионица посвећена. Овакав начин рада ограничава број присутних на радионици и свакако су успешније ако је број учесника на њима мањи, односно оптималан, што зависи опет од проблема коме је радионица посвећена.

Поред учесника из Србије, на саветовањима су присуствовали и учесници из иностранства, прво из Републике Српске пре 1997. године, а касније и из других земаља (Канада, Мађарска, Румунија, Сенегал, Бугарска, Македонија, Хрватска, Словенија, Црна Гора, Аустрија итд.).

Заједничка карактеристика свих саветовања ветеринара је и објављивање радова. Прва три саветовања, као што је већ речено, нису имала форму класичних саветовања, па није било ни писаних радова, а поједини радови са 4., 5. и 16. Саветовања штампани су у Ветеринарском гласнику, док су у осталим случајевима радови штампани у Зборницима радова и кратких садржаја. Од 17. Саветовања радови у зборницима имали су кратке садржаје на српском и енглеском језику, уколико се радило о радовима у целисти, а радови који су приказани као кратки садржаји су штампани двојезично.

#### ЗАКЉУЧАК

Приказ 30 саветовања ветеринара Србије у организацији СВД говори о томе да су она корисна, оправдана и неопходна. Ови скупови су тако организовани да су својим тематским заседањима, округлим столовима, радионицама покривали тако широку научну и стручну област као што је то ветеринарска медицина. Саветовања су окупљала докторе ветеринарске медицине различитих ужих интересовања, што је пружало могућност размене мишљења, стицања нових искустава. Из публикованих радова се уочава да је заступљеност академских (теоријских) излагања мања од оних истраживачких, што је посебна одлика ових саветовања. Познато је да научна истраживања треба да служе пракси, да за праксу буду корисна и да се у њој могу реализовати. Наука, уопште, па и ветеринарска медицина напредује много брже него раније, а пракса треба да је прати. То се најједноставније остварује преко саветовања. Зато саветовања доктора ветеринарске медицине у организацији СВД, као што имају своју прошлост, овогодишње и своју садашњост, имају и своју будућност.

**Захвалница:** Овај рад је финансиран средствима Министарства просвете науке и технолошког развоја Републике Србије у оквиру пројекта „Одабране биолошке опасности за

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

безбедност/квалитет хране анималног порекла и контролне мере од фарме до потрошача“, 2011-2019, бр. пројекта ТР 31034.

#### **Литература**

1. *Апоп*, 2000, 110 година Српског ветеринарског друштва, *Српско ветеринарско друштво*, Београд, 97-124. 2. *Апоп*, 2001-2008, Зборник радова и кратких садржаја саветовања ветеринара Србије, 13-20 Саветовање ветеринара Србије, *Српско ветеринарско друштво*, Београд. 3. *Апоп*, 2010-2018, Зборник радова и кратких садржаја саветовања ветеринара Србије, 14-29 Саветовање ветеринара Србије, *Српско ветеринарско друштво*, Београд. 4. *Апоп*, 2019, Програм 30 Саветовања ветеринара Србије, *Српско ветеринарско друштво*, Београд. 5. *Балтић Ж.М.*, 2009, Историјски осврт на школовање ветеринарских кадрова у Србији, 8. конгрес ветеринара Србије, *Српско ветеринарско друштво*, 15-19 септембар, 2009, 443-53. 6. *Радојевић М, Живковић Т, Шујица М*, 2011, Кратка историја Срба, *Младинска књига*, Београд, 1-157.





---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ II***  
***THEMATIC SESSION II***

**Актуелна епизоотиолошка ситуација**

***Current epizootiological situation***

---



**АКТУЕЛА ЕПИЗООТИОЛОШКА СИТУАЦИЈА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ**  
***CURRENT EPIZOOTIOLOGICAL SITUATION IN THE REPUBLIC OF SERBIA***

Управа за ветерину

ПРИКАЗ ПРВОГ ДИЈАГНОСТИКОВАНОГ СЛУЧАЈА АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА  
И МЕРА ПРЕДУЗЕТИХ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ДАЉЕГ ШИРЕЊА НА ТЕРИТОРИЈИ  
ЕПИЗООТИОЛОШКОГ ПОДРУЧЈА ВСИ ПОЖАРЕВАЦ

*REPORT OF FIRST DIAGNOSTIC CASE OF AFRICAN SWINE FEVER  
AND APPLIED PROTECTION MEASURES FOR PREVENTION OF  
SPREADING AT EPIZOOTIOLOGICAL AREA OF VSI POZAREVAC*

*Живојиновић Милена<sup>1\*</sup>, Стокић Николић Славонка<sup>1</sup>, Лазић Милица<sup>1</sup>, Савић Оливер<sup>1</sup>,  
Милићевић Весна<sup>2</sup>, Полачек Владимир<sup>3</sup>, Стефановић Гордана<sup>4</sup>, Глишић Славица<sup>4</sup>,  
Стојадиновић Гордана<sup>4</sup>, Велисављевић Дејан<sup>4</sup>, Вукелић Оливера<sup>5</sup>,  
Ивановић Зоран<sup>5</sup>, Милакара Емина<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> Ветеринарски специјалистички институт Пожаревац, Пожаревац, Србија

<sup>2</sup> Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, Србија

<sup>3</sup> Научни институт за ветеринарство Нови Сад, Србија

<sup>4</sup> Министарство пољопривреде, водопривреде и шумарства Р. Србије, Републичка ветеринарска инспекција Подунавског округа

<sup>5</sup> Министарство пољопривреде, водопривреде и шумарства Р. Србије, Управа за ветерину

**Кратак садржај**

Афричка куга свиња (АКС) је вирусна болест која се јавља код домаћих и дивљих свиња. Не представља опасност за друге врсте животиња и људе, али изазива велике економске губитке јер не постоји могућност лечења нити превентивна вакцинација. Услед интезивног кретања људи и робе (укључујући промет животиња и хране животињског порекла) на глобалном нивоу, економске кризе, коришћења контаминираних помија у исхрани свиња АКС се, осим у Африци, поново појавила у Европи 2007. године. Од тада се ширила на европском континенту, а од 2017. године присутна је у земљама у окружењу (Румунија, Мађарска, Бугарска). Због неповољне епизоотиолошке ситуације у окружењу, подручје Републике Србије у односу на удаљеност од територија држава у којима је утврђено присуство АКС је подељено на територије високог, средњег и ниског ризика за могућност уноса вируса АКС. Формирани су Национални и Регионални кризни центри, који су били активни у току последње две године. Међутим, АКС се по први пут појављује у зони ниског ризика на територији Подунавског округа. У нашем раду описан је први дијагностикован, лабораторијски потврђен случај афричке куге свиња на епизоотиолошком подручју ВСИ Пожаревац, на газдинству са лошим биосигурносним мерама, које није било под сталним надзором стручних служби. У срадњи са републичким ветеринарским инспекторима, епизоотиолошка служба ВСИ Пожаревац је на основу анамнестичких података, клиничког прегледа и патоанатомског налаза поставила сумњу на појаву АКС. Након извршених лабораторијских испитивања од стране НИВС Београд Националне референтне лабораторије за АКС, одржан је радни састанак у Управи за ветерину и донета Решења о даљем поступању. Уз координацију Управе за ветерину, формиране су екипе које су се састојале од представника надлежне ветеринарске станице, ВСИ Пожаревац и ветеринарских инспектора Подунавског округа. Задатак је био да се обиђу сва контактна газдинства, док се у зараженом газдинству спроводило уклањање затечених пријемчивих животиња од стране НИВ Нови Сад и све остале Законом предвиђене мере у циљу спречавања даљег ширења АКС (нешкодљиво уклањање и дезинфекција). Захваљујући брзом реаговању, доброј координацији и сарадњи свих релевантних ветеринарских служби, за сада нису утврђени нови случајеви у контактним газдинствима.

**Кључне речи:** АКС, свиње, дијагностика, биосигурност, Подунавље, Србија

**Summary**

African swine fever (ASF) is an infection disease of domestic and wild pigs. It is not a zoonosis, but it causes large economic losses, since there is no vaccine and possible therapy. Due to intense movement of people and goods (including animals and food of animal origin), economic crisis, use of a contaminated hogwash as feed for pigs, ASF occurred in Africa, but it is also present in Europe from year 2007. Since then ASF has been spreading through Europe and from year 2017 it is present in the region countries too (Hungary, Romania, Bulgaria). Because of that way territory of Republic of Serbia has been divided in high, middle and low risk area for an importing of virus ASF. It has been established National and Regional crisis centers and they've been active for two years. However, ASF has been diagnostic for the first time in low risk area at Podunavlje district. In our paper we described that case, at backyard with a poor biosecurity, which is not under a surveillance program and without an implemented legislative. In collaboration with veterinary inspectors, epizootiological department VSI Pozarevac, after collecting anamnestic data, clinical examination and pathological examination, suspected on ASF in that backyard. After NIV Serbia Belgrade (National reference laboratory) performed diagnostic, in Veterinary Directorate official decisions for further actions has been provided. By coordination of Veterinary Directorate, teams consist of field veterinarians, experts from VSI Pozarevac and veterinary inspectors from Podunavlje district carried out prospecting and active surveillance at all contact yards. In the same time in infected backyard had been conducted stamping out and safety disposal of carcasses with disinfection by NIV Novi Sad. Thanks to fast reaction, good coordination from Veterinary directorate and collaboration of all veterinary services, we didn't find new cases in contact backyards.

**Key words:** AFS, swine, diagnostic, biosecurity, Podunavlje, Serbia

ПРРС – ОД СУМЊЕ ДО ДИЈАГНОЗЕ

*PRRS – FROM SUSPICION TO DIAGNOSIS*

*Весна Милићевић<sup>1</sup>, Соња Радојичић<sup>2</sup>, Мирослав Валчић<sup>2</sup>, Наташа Стевић<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Научни институт за ветеринарство Србије, Београд;

<sup>2</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Репродуктивни и респираторни синдром свиња (ПРРС) је вирусно обољење свиња које се карактерише репродуктивним поремећајима код приплодних животиња и респираторним симптомима код свих категорија. Ретроспективним испитивањем је утврђено да се болест појавила 1979. године у Канади. У Србији је први случај ПРРС-а откривен 2001. године након илегалног увоза семена нерастова. ПРРС се данас сматра економски најзначајнијом болешћу свиња услед великих директних и индиректних губитака.

Програми контроле ПРРС-а углавном подразумевају природну или вештачку имунизацију приплодних крмача како би се потиснули клинички симптоми инфекције и на тај начин смањили економски губици.

Лабораторијска дијагностика ПРРС-а је заснована на примени серолошких метода којима се доказују специфична антитела против вируса као и на примени вирусолошких и молекуларних техника за доказивање самог вируса или његових саставних делова. Иако су савремене дијагностичке технике веома моћне, изузетна разноликост сојева овог вируса је често препрека ка постављању поуздане дијагнозе. Поред тога, атенуиране вакцине које се данас примарно користе за смањење губитака, додатно отежавају и поскупљују дијагностику.

Треба нагласити да не постоји потпуно поуздан тест којим се могу доказати сви сојеви вируса због чега је често потребно комбиновати више тестова или метода.

Тачна дијагноза ПРРС-а не мора бити веома захтевна уколико се, поред лабораторијске, дијагностика ослања на анамнестичке и епизоотиолошке податке, као и на клиничку слику и патоморфолошке промене. Имајући у виду да је афричка куга свиња у Србији потврђена у Националној референтној лабораторији НИВ Србија а затим и у лабораторији у Мадриду, свака клиничка сумња на ПРРС мора бити потврђена лабораторијском дијагностиком.

**Кључне речи:** ПРРС, лабораторијска дијагностика, контрола

**Summary**

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) is a viral disease of swine characterized by reproductive failure of breeding animals and respiratory disorders in all categories. It has been found by retrospective surveys that the disease occurred for the first time in Canada 1979. The first PRRS case in Serbia was recorded in 2001 after illegal import of boar semen. Today, PRRS is economically the most important disease due to the significant direct and indirect losses.

Control programs of PRRS basically mean natural or artificial immunization of breeding sows in order to minimize both clinical symptoms and economic losses.

The laboratory diagnosis includes serological methods for the specific antibodies detection as well as the virological and molecular techniques for the virus and viral structural parts detection.

Although modern diagnostic techniques are very robust, exceptional diversity of the viral strains is often the obstacle to the establishment of the accurate diagnosis. Usage of attenuated vaccines to minimize the losses additionally make diagnostics complicated and more costly.

Until today, there is no absolutely accurate test enabling detection of all circulating strains. Therefore, often it is needed that several tests are combined.

An accurate diagnosis should include apart from the laboratory, anamnestic and epizootiological data, as well as clinical signs and pathomorphological alterations. Since African swine fever has appeared in Serbia, which has been confirmed by the results from a National reference laboratory NIV Serbia and then laboratory in Madrid Spain, any probable case of PRRS must be verified in laboratory.

**Key words:** PRRS, laboratory diagnosis, control

#### УВОД

Репродуктивни и респираторни синдром свиња (ППРС) је вирусно обољење свиња које се карактерише репродуктивним поремећајима код приплодних животиња и респираторним симптомима код свих категорија. Ретроспективним испитивањем је утврђено да се болест појавила 1979. године у Канади (Dewey, 2000). У Србији је први случај ППРС-а откривен 2001. године након илегалног увоза семена нерастова (Novosel и сар., 2016). ППРС се данас сматра економски најзначајнијом болешћу свиња услед великих директних и индиректних губитака.

Узрочник је РНК вирус из фамилије *Arteriviridae* и реда *Nidovirales* (Cavanaugh, 1997). Постоје два генотипа овог вируса, генотип 1 раније познат као европски и генотип 2 односно северноамерички тип вируса (Nelson и сар., 1993). У мају 2006, у Кини се појавио високопатогени сој вируса ППРС-а, генотипа 2, који је довео до угинућа више од 2 милиона свиња (Tian и сар., 2007). Геном вируса ППРС-а није сегментисан, позитивног је поларитета и величине око 15 kb (Renson и сар., 2017). На геному се разликује 8 отворених оквира читања (*ORF-open reading frame*) за кодирање структурних и неструктурних протеина вируса. Карактеристика генома вируса ППРС-а, као других РНК вируса, је висока стопа мутације која износи од  $1.4 \times 10^{-2}$  до  $7.7 \pm 2.1 \times 10^{-2}$  замене нуклеотида по бази на годишњем нивоу што доводи до дивергенције вируса од 0,5% годишње (<https://www.prrs.com/en/prrs/virus/>). На пример, ORF7 је високо конзервиран део генома на нивоу генотипа, али је сличност генотипова у овом делу само 57-59% (Meng и сар., 1995). ORF 6 је скоро 100% конзервиран код генотипа 2, док је сличност са генотипом 1 на нивоу 78-81% (Meng и сар., 1995).

Инфекција свиња вирусом ППРС-а је веома раширена у свету. Вирус се примарно репликује у ћелијама моноцитно-макрофагног система након чега настаје виремија и дисеминација вируса у друге органе. Болест се манифестује репродуктивним поремећајима код gravidних крмача и респираторним симптомима код свих категорија. Најважнији епизоотиолошки фактор у погледу овог вирусног обољења је перзистентна инфекција која омогућава излучивање вируса чак до 157 дана.

ППРС се данас сматра болешћу од највећег утицаја на производњу свиња. Савремена контрола болести, која је веома комплексна услед самих карактеристика вируса, углавном подразумева примену вакцинације. Такође, и даље се примењује стратегија „load-close-expose“, која се састоји од затварања крда и излагања свиња вирусу.

Међутим, поред индивидуалних, постоје и регионални приступи искорењивања (Corzo и сар., 2010), али и на националном нивоу као што је учињено у Чилеу (Niera и сар., 2017).

Економски утицај на индивидуалном нивоу у ензоотској фази болести је тешко прецизно израчунати, али углавном настаје као последица лоших репродуктивних перформанси, морбидитета и морталитета, ниске конверзије хране, цене коштања лечења итд. С обзиром на то да ензоотско присуство ППРС не мора бити очигледно, честа дилема међу власницима и ветеринарима је да ли ерадикација или вакцинација могу имати позитиван утицај на економску профитабилност. Међутим, многе студије и математички модели о економској исплативости контролних програма, указују на њихову недвосмислену потребу.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Дијагностика ПРРС-а се заснива на утврђивању присуства самог вируса, његовог генома или антигена, односно на утврђивању имунолошког одговора на насталу инфекцију. С обзиром на то да постоји значајан степен генетске и антигенске разноликости теренских изолата, лабораторијска дијагностика ове болести је веома комплексна. Са друге стране, познавање филогенетских карактеристика вируса је неопходно ради утврђивања вируленције, перзистенције и нарочито дијагностике. Ланчана реакција полимеразе (PCR-polimerase chain reaction) је најчешће коришћена метода за дијагностику ПРРС-а. Ова метода је позната по изузетно високој аналитичкој осетљивости и специфичности. Међутим, имајући у виду наведене генетске карактеристике вируса ПРРС-а и честе мутације, дијагностичка осетљивост и специфичност тестова неретко нису задовољавајућег нивоа. Стога, избор дијагностичких метода мора бити заснован на дијагностичким карактеристикама теста које су утврђене испитивањем локалних изолата.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

За испитивање је коришћено 20 узорак органа свиња код којих је на основу клиничких симптома постављена сумња на ПРРС. Ткиво плућа и припадајућих лимфних чворова је припремљено као 10% суспензија у фосфатном сланом пуферу (PBS). Након центрифугирања на 2000 обртаја током 10 минута, супернатант је коришћен за изолацију РНК, према упутству произвођача комерцијалног кита (Viral RNA+DNA Preparation kit, Jena Bioscience).

За утврђивање присуства генома вируса ПРРС-а је коришћено 7 различитих протокола, 5 за класичан (OneStep RT-PCR Kit, Qiagen) и 2 за real time RT-PCR (Verso I Step qRT-PCR ROX Kit, Thermo Scientific), следећи упутства произвођача комерцијалних китова.

#### РЕЗУЛТАТИ

Испитивањем 20 узорак органа, геном вируса ПРРС-а је доказан у од 5 до 70% узорак (табела 1) у зависности од коришћеног протокола.

		ТИП ПРОТОКОЛА	ДЕО ГЕНОМА КОЈИ СЕ УМНОЖАВА	ГЕНОТИП	РЕЗУЛТАТ	
ПРОТОКОЛ	А	Класичан RT-PCR (Donadeu и сар., 1999)	ORF7	PRRS1 PRRS2	позитивно	3
					негативно	17
					% позитивних	15
	Б	Класичан RT-PCR (Gilbert и сар., 1997)	ORF1	PRRS1 PRRS2	позитивно	5
					негативно	15
					% позитивних	25
	В	Класичан RT-PCR (Stadejek и сар., 2002)	ORF7	PRRS1	позитивно	2
					негативно	18
					% позитивних	10
	Г	Класичан RT-PCR (Stadejek и сар., 2002)	ORF5	PRRS1	позитивно	7
					негативно	13
					% позитивних	35
	Д	Класичан RT-PCR (Madsen и сар., 1998)	ORF2+3	PRRS1 PRRS2	позитивно	1
					негативно	19
					% позитивних	5
	Ђ	Real time RT-PCR (Kleiboecker и сар., 2005)	ORF7	PRRS1	позитивно	2
					негативно	18
					% позитивних	10
Е	Real time RT-PCR (Opriessnig и сар., 2006)	ORF7	PRRS1	позитивно	14	
				негативно	6	
				% позитивних	70	



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Геном вируса ПРРС-а у 4 узорка није доказан ни једним протоколом. Ни у једном од преосталих 16 узорка, геном вируса није доказан употребом свих 7 протокола, већ највише 4.

#### ДИСКУСИЈА

Будући да се ради о економски веома значајној болести, многи аутори су испитивали дијагностичке перформансе лабораторијских метода за дијагностику ПРРС-а. Заједнички закључак већине је да је, пре одабира за рутинску дијагностику, неопходно извршити евалуацију дијагностичких перформанси методе коришћењем локалних изолата вируса ПРРС-а. Резултати овог ограниченог испитивања управо показују да често није могуће детектовати све сојеве вируса једним протоколом, већ је неопходно комбиновати два или више. Протоколом Е детектовано је 14 позитивних узорка (70%) што га сврстава у протоколе са највишом дијагностичком осетљивошћу (87,5%). Међутим, с обзиром на то да на овај начин у два узорка геном ПРРС вируса није доказан, комбиновањем са протоком Г дијагностичка осетљивост достиже 100% и обезбеђује да већина изолата буде детектована. Како геном вируса ПРРС-а у 4 узорка није доказан ни једним протоколом претпоставља се да су ови узорци били негативни на присуство вируса ПРРС-а, те да је манифестована клиничка слика била последица неке друге инфекције. Анализирајући резултате у односу на део генома који се умножава, није могуће установити део који је најспецифичнији за детекцију локалних изолата из Србије. Слични резултати се добијају и поређењем касичног и *real time* PCR-а, где није могуће установити правилност иако се *real time* PCR сматра изузетно осетљивом методом.

Ипак, протоколи којима се детектује само један генотип, показују вишу осетљивост. Како би се превазишли наведени недостаци, секвенцирање већег броја локалних изолата и конструкција прајмера и проба за најконзервиранији део генома могу представљати потенцијално решење. Међутим, оваквим приступом, ризик од лажно негативних резултата у случају увезених и новонасталих сојева остаје прилично висок.

На резултате PCR-а утицај имају и време узорковања и врста узорка. За активни надзор уобичајено се користе крвни серум, сперма, крв и орална течност (Gerber и сар., 2013). Геном вируса се у серуму, оралној течности и крви може детектовати чак након 24 до 48 сати од настанка инфекције (Gerber и сар., 2013). Међутим, изолати вируса ПРРС-а се такође разликују у односу на степен репликације и излучивања. Да би се елиминисали наведени фактори који могу утицати на резултате испитивања, у овом истраживању су коришћени узорци истог типа, од животиња са испољеном клиничком сликом, у приближно истој фази инфекције. Поред тога, за искључивање инхибиције реакције која може бити узрок лажно негативних резултата, вршена је интерна контрола амплификације. Међутим, да би се установио стварни разлог изузетно високе дискрепанце између коришћених протокола, потребно је секвенцирати локалне изолате и установити степен неслагања са секвенцама прајмера и проба.

Резултати овог испитивања, поред тога што показују да сви изолати ПРРС-а не могу бити детектовани једним протоком, предочавају да лабораторијски налази којима се не потврђује присуство генома вируса ПРРС-а, добијени на неколико случајних узорка, не подразумевају и одсуство инфекције на фарми. Стога је неопходно да надзор на фармама буде пажљиво испланиран у односу на време узорковања и врсту узорка. С обзиром на то да се од лабораторија очекују поуздани и тачни резултати, неопходно је стално ажурирање протокола за молекуларну детекцију генома вируса. За постизање овог циља најважнија је сарадња лабораторија и ветеринара клиничара од којих се очекује да указују на промене у испољавању клиничке слике и достављају узорке ради секвенцирања и праћења промена на геному вируса, односно правовременог прилагођавања протокола потребама на терену. У овом тренутку, треба нагласити значај диференцијалне дијагностике ПРРС-а и афричке куге свиња која је први пут дијагностикована у Републици Србији. На основу клиничких запажања првих случајева афричке куге свиња код нас један од најчешћих знакова је побачај, умерено повишена телесна температура и одсуство промена на кожи, што указује да је ову болест изузетно тешко разликовати од осталих инфекција и посебно ПРРС-а. Из тог разлога, код свког побачаја неопходно је искључити на првом месту афричку кугу свиња.

**Захвалница:** Рад је финансијски помогнут средствима пројекта Министарства посвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ТР31075 и ТР 31088)

#### **Литература**

1. Cavanaugh D.: Nidovirales a new order comprising Corona-viridae and Arteriviridae. *Arch Virol* (1997), 142: 629-633.
2. Corzo C.A., Mondaca E., Wayne S., Torremorell M., Dee S., Davies P., Morrison R.B.: Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, *Virus Res* (2010), 154: 185-192.
3. Dewey C.: PRRS in North America, Latin America, and Asia. *Vet. Res.* (2000), 84-85.
4. Donadeu M., Arias M., Gomez-Tejedor C., Agüero M., Romero L., Christianson T.W., Sánchez-Vizcaíno J.: Using polymerase chain reaction to obtain PRRSV-free piglets from endemically infected herds, *Swine Health Prod.* (1999), 7(6):255-261.
5. Gerber P.F., O'Neill K., Owolodun O., Wang C., Harmon K., Zhang J., Halbur P. G., Zhou L., Meng X-J., Opriessnig T.: Comparison of Commercial Real-Time Reverse Transcription-PCR Assays for Reliable, Early, and Rapid Detection of Heterologous Strains of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Experimentally Infected or Noninfected Boars by Use of Different Sample Types, *J Clin Microbiol* (2013), 51(2): 547-556.
6. Gilbert S. A., Laroche R., Magar R., Cho H. J., Deregt D.: Typing of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses by a multiplex PCR assay, *Journal of clinical microbiology*, (1997), 35(1), 264-267.
7. Kleiboeker S.B., Schommer S.K., Lee S.M., Watkins S., Chittick W., Polson D.: Simultaneous detection of North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome virus using real-time quantitative reverse transcriptase-PCR, *J Vet Diagn Invest.* (2005), 17:165-170.
8. Meng X.J., Paul P.S., Halbur P.G., Lum M.A.: Phylogenetic analyses of the putative M (ORF 6) and N (ORF 7) genes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): implication for the existence of two genotypes of PRRSV in the U.S.A. and Europe, *Arch Virol* (1995), 40(4):745-55.
9. Neira V., Brito B., Mena J., Culhane M., Apel M.I., Max V., Perez P., Moreno V., Mathieu C., Johow M., Badia C., Torremorell M., Medina R., Ortega R.: Epidemiological investigations of the introduction of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Chile, 2013-2015. *PLoS One* (2017), 12(7):e0181569.
10. Nelson E.A., Christopher-Hennings J., Drew T., Wensvoort G., Collins J.E., Benfield D.A.: Differentiation of U.S. and European isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by monoclonal antibodies, *J Clin Microbiol* (1993), 31: 3184-3189.
11. Novosel D., Petrović T., Acinger-Rogić Ž, Štukelj M.: Epidemiology and status of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in the Western Balkan region: challenges and prospects, *Slov Vet Res* (2016), 53: 185-93.
12. Opriessnig T., McKeown N. E., Harmon K. L., Meng X. J., Halbur P. G.: Porcine Circovirus Type 2 Infection Decreases the Efficacy of a Modified Live Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Vaccine, *Clinical and Vaccine Immunology* (2006), 13 (8): 923-929.
13. Renson P., Touzain F., Lebret A., Le Dimna M., Quenault H., Normand V., Claude J.B., Pez F., Rose N., Blanchard Y., Bourry O.: Complete Genome Sequence of a Recombinant Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Strain from Two Genotype 1 Modified Live Virus Vaccine Strains, *Genome Announc* (2017), 5(22): e00454-17.
14. Stadejek T., Stankevicius A., Storgaard T., Oleksiewicz M. B., Bela' k S., Drew T. W., Pejsak, Z.: Identification of radically different variants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Eastern Europe: towards a common ancestor for European and American viruses, *J Gen Virol* (2002), 83, 1861-1873.
15. Tian K., Yu X., Zhao T, Feng Y., Cao Z., Wang C., Hu Y., Chen X., Hu D., Tian X., Liu D., Zhang S., Deng X., Ding Y., Yang L., Zhang Y., Xiao H., Qiao M., Wang B., Hou L., Wang X., Yang X., Kang L., Sun M., Jin P., Wang S., Kitamura Y., Yan J., Gao G.F.: Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark, *PLoS One* (2007), 2:e526.

ЕПИЗООТИОЛОШКИ И МОРФОЛОШКИ КАРАКТЕР АКТУЕЛНИХ  
РЕСПИРАТОРНИХ ИНФЕКЦИЈА СВИЊА У СРБИЈИ

*CURRENT STATUS OF COMMON SWINE PNEUMONIA CASES  
IN SERBIA: MORPHOLOGICAL FEATURES*

Сања Алексић-Ковачевић<sup>1</sup>, Ивана Вучићевић<sup>1</sup>, Илија Јовановић<sup>2</sup>,  
Јасна Проданов-Радуловић<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;

<sup>2</sup>Ветеринарски специјалистички институт "Ниш",

<sup>3</sup>Наушни институт за ветеринарство "Нови Сад"

**Кратак садржај**

Контрола респираторних болести свиња у Републици Србији у последњих 15 година је значајно напредовала применом мера имунопрофилактике, као што је програм вакцинације свиња против цирковируса тип 2 (PCV2) и *Mycoplasma hyopneumoniae*, чиме су ове инфективне болести у значајној мери стављене под контролу. Вирусне болести свиња које су и даље присутне у популацији домаћих свиња, а које се манифестују променама на респираторним органима су: репродуктивни и респираторни синдром свиња, инфлуенца и Ајескијева болест. За разлику од домаћих, у популацији дивљих свиња доминирају бактеријске пнеумоније, при чему иницијалне лезије настају као последица паразитских инфестација (*Ascaris suum*, *Metastrongylus sp.*). Такође, честе су и респираторне болести свиња узроковане бактеријама: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis*. Међутим, треба имати у виду да је етиологија пнеумонија свиња најчешће мултифакторијалне природе, па и морфолошке манифестације пнеумонија често нису униформне. Карактер ових лезија одговара доминантно присутном етиолошком агенсу у моменту обдукције. Генерално, вирусне пнеумоније одликују се у почетку акутном интерстицијалном пнеумонијом, у оквиру које пнеумотропни вируси (инфлуенца вирус) доводе до дегенерације и десквamacије пнеумоцита типа I и њихове замене пнеумоцитима типа II, што је праћено фетализацијом плућа. Секундарне бактеријске инфекције, мењају временом морфолошки карактер плућних лезија у правцу гнојне, у неким случајевима апостематозне (*Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pyogenes*) или фибринозне бронхопнеумоније, често повезане са плеуропнеумонијом (*Actynobacillus pleuropneumoniae*). Ендотелиотропни вируси (ККС) и бактеријски токсини (клостридије) оштећују примарно ендотелне ћелије, доводећи до крвављења, поред осталог и на сеозама и слузницама у респираторном систему. У респираторној патологији свиња треба имати у виду и пнеумоније емболичног (црвени ветар), грануломатозног (микобактерије, гљивице) и верминозног карактера (*Metastrongylus*). Веома је важно за диференцијалну дијагнозу извршити и преглед ретрофарингеалних и трахеобронхалних лимфних чворова. Такође, у оквиру контроле здравља свиња, веома је значајна контрола респираторних инфекција на фармама, имајући у виду резултате новијих истраживања који указују на значајно компромитовање квалитета меса на линији клања, уколико свиње потичу са фарми са наглашеном историјом респираторних инфекција.

**Кључне речи:** епизоотиологија, морфологија, респираторне инфекције, свиње

#### Summary

In spite of immunoprophylaxis, many swine respiratory diseases caused primarily by viruses are still present in domestic swine population in Serbia. Currently, the most common diseases are: Porcine reproductive and Respiratory syndrome, Swine influenza, as well as Aujeszky's disease in pigs. However, in wild swine population, bacterial pneumonias are predominant respiratory lesion which are usually presenting secondary complication of initial verminous pneumonia (*Ascaris suum*, *Metastrongylus sp.*). In addition, bacterial respiratory diseases of swine caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis* are common. Morphological features of pneumonia in which pathogenesis several agents are involved, depending on the predominant etiological agent. The aim of this paper is to remind veterinarians on the morphological manifestation of the most common pneumonia at our epizootiologic area. The main feature of viral pneumonia at initial phase is acute interstitial pneumonia characterized by degeneration and desquamation of pneumocytes type I (caused by influenza virus mostly) followed by their replacement with type II pneumocytes. Bacterial infections could change the morphological manifestation of this pneumonia to purulent bronchopneumonia (*Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pyogenes*) or even fibrinous pleuropneumonia (*Actinobacillus pleuropneumoniae*). Some viruses with endothelial tropism, (CSF) as well as Clostridial infections are involved in hemorrhagic changes in the respiratory system. In swine embolic (*Erysipelothrix*) and granulomatous (mycotic) pneumonia could be found as well.

**Key words:** epizootiology, morphology, swine, respiratory infection

#### УВОД

Обољења респираторног тракта свиња су један од најважнијих здравствених проблема савремене производње у свињарству, како у свету тако и у Републици Србији. Респираторна обољења свиња наносе велике економске штете свињарској производњи, како због већег процента угинућа и принудног клања, тако и због смањеног дневног прираста, већег утрошка хране за килограм прираста, продуженог това, високог процента "лаких" свиња на кланици и трошкова лечења оболелих јединки (Došen и сар., 2014а). На појаву болести респираторног тракта свиња у Републици Србији утиче већи број фактора (начин држања, исхрана, генетика, зоохигијенски услови, здравствени статус запата итд). Међутим, веома је честа појава да се узрочници болести (вируси, бактерије) унесу у запат куповином латентно инфицираних свиња или семена за вештачку оплодњу са друге фарме (Došen и сар., 2014б; Prodanov-Radulović и сар., 2015а; Prodanov-Radulović и сар., 2015б).

У оквиру здравствене заштите свиња у комерцијалној производњи, веома често је епизоотолошко и клиничко испитивање усмерено на проучавање проблема комплекса респираторних болести свиња, који настаје као последица интеракције више различитих патогена (вируси, микоплазме, бактерије). Истраживање, поред клиничких промена које настају као последица респираторних болести на фармама свиња индустријског типа, обухвата и сложена лабораторијска испитивања (бактериолошка дијагностика, молекуларна испитивања, серолошка дијагностика) (Macedo и сар., 2015; Prodanov-Radulović и сар., 2016). Имајући у виду постигнуте резултате испитивања из претходног периода, може се рећи да су са етиолошког аспекта, респираторне болести свиња најчешће комплексне мултифакторијалне природе, при чему је и неколико патогена укључено у развој лезија на респираторним органима (Prodanov-Radulović и сар., 2015а; Prodanov-Radulović и сар., 2015с). Управо због наведеног, познавање кључних патогена који су укључени у настанак респираторних обољења свиња, као и последице, ефекти њихове међусобне интеракције на ток, морфолошку израженост и исход обољења су од значаја за примену одговарајуће контролне стратегије на фармама свиња (Došen и сар., 2014а; Došen и сар., 2014б).

Управо је комплексна етиологија респираторних инфекција условила и развој савремених мера имунопрофилактике против бројних узрочника респираторних обољења. Контрола респираторних болести свиња у Републици Србији, у последњих 15 година је значајно напредовала применом мера имунопрофилактике. Као пример за наведено нам може бити програм

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

вакцинације свиња против *Circovirus* тип 2 (*Porcine Circovirus type 2 - PCV2*, eng.) као и *Mycoplasma hyopneumoniae*, при чему су наведене инфективне болести у значајној мери стављене под контролу савременим мерама имунопрофилактике (Prodanov-Radulović и сар., 2016). Вирусне болести свиња које су и даље присутне у популацији домаћих свиња на територији Републике Србије, у оквиру којих се патолошке промене манифестују на респираторним органима (плућима) су: вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња (*Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus – PRRSV*, eng), инфлуенца вирус, као и вирус Ајескијеве болести (Balka и сар., 2018; Prodanov-Radulović и сар., 2015). При томе, треба нагласити да је последњих пет година значајно порастао проценат комерцијалних фарми које су укључиле активну примену програма имунопрофилактике против PRRSV. Са друге стране, контрола Ајескијеве болести је вишегодишње актуелно питање у нашој држави, при чему су представљени и комплексни програми са циљем ерадикације вируса из популације свиња на територији Републике Србије. За разлику од наведеног, питање присуства и патогеног деловања вируса инфлуенце свиња није идејно актуелизовало нове програме контроле и сузбијања, иако је, како серолошка, тако и молекуларна дијагностика са потврдом вируса инфлуенце извршена у бројним производним погонима (Prodanov-Radulović и сар., 2015a).

Треба имати у виду да вирусне инфекције респираторног тракта често омогућавају егзацербацију бројних супклинички присутних бактеријских патогена, као што је *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronhiseptica*, *Haemophilus parasuis* (Došen и сар., 2014a; Macedo и сар., 2015). За разлику од вирусних инфекција, имунопрофилактика против бактеријских патогена као што је на пример *Actinobacillus pleuropneumoniae*, који има потенцијал да проузрокује огромне економске штете, није заступљена или се само спородично примењује, у оквиру малог броја погона за производњу свиња (Prodanov-Radulović и сар., 2015c). Бактеријски патогени значајно компликују примарни процес проузрокован вирусима и последично се увећава примена антибиотика који остају као једина конкретна мера у контроли бактеријских пнеумонија (Došen и сар., 2014b; Prodanov-Radulović и сар., 2016). Међутим, треба имати у виду да је етиологија пнеумонија свиња најчешће мултифакторијалне природе и у контроли и дијагностици неопходно је сагледати све потенцијалне факторе (инфективни, амбијентални, фактори организма домаћина, менаџмент на фарми) (Došen и сар., 2014a; Prodanov-Radulović и сар., 2015a, Jovanović, 2019). Имајући у виду искуства нашег региона са проблемом присуства микотоксина, неопходна је стална контрола квалитета компоненти које улазе у састав комплетних смеша за исхрану свиња (Prodanov-Radulović и сар., 2017).

За разлику од домаћих, у популацији дивљих свиња доминирају бактеријске пнеумоније при чему иницијалне лезије настају као последица паразитских инфестација (*Ascaris suum*, *Metastrongylus sp.*). Иако је у оквиру ловних организација које се баве узгојем дивљих свиња у оградјеним ловиштима на снази програм контроле који обухвата хватање и дехелминтизацију младих јединки, и даље се патоморфолошки констатује код угуинулих јединки инвазија плућним влашцима са компликацијом у виду бактеријске пнеумоније (*Pasteurella multocida*, *Klebsiella sp.*). Последњих година су у оквиру програма здравствене заштите дивљих свиња примењене мере имунопрофилактике респираторних патогена. Наиме, постојање система који подразумева узгој домаћих свиња из сеоских домаћинстава на отвореном (у шуми) омогућио је директну интеракцију и преношење патогена између две популације (Prodanov-Radulović и сар., 2015d).

Систем органа за дисање код свиња, непрекидно је изложен деловању различитих штетних нокси, а као морфолошки и функционално сложена целина коју чине проводни, прелазни и респираторни сегменти, механизми одбране у појединим деловима респираторног система имају и специфичан тип одговора на присуство штетне ноксе. Делови проводног респираторног система обложени су вишередним цилиндричним трепаљастим епителом, који управља мукоцилијарним транспортом ноксе, док прелазну зону између проводног и респираторног сегмента чине бронхиоле у којима се трепаљасте епител постепено губи, а уместо пехарастих ћелија у бронхиолама се налазе *Clara* ћелије које имају улогу у детоксикацији. Код свиња нису присутне респираторне бронхиоле, за разлику од карнивова, мајмуна, коња и људи (Aleksić-Kovačević, 2019). У респираторном делу, алвеоле су обложене пнеумоцитима типа I (мембранозни, сквамозни пнеумоцити) који имају улогу у размени гасова и пнеумоцитима типа II (грануларни пнеумоцити,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

округле или коцкасте ћелије) проминирају у лумен алвеола, који производе сурфактант. Важну улогу у локалној одбрани респираторног система имају и стромални елементи плућа: крвни судови, лимфни судови и нерви, као и имунски систем плућа: алвеоларни и интраваскуларни макрофаги, слободни луминални лимфоцити у алвеолама и малим бронхиолама, интраепителни лимфоцити у бронхусима и бронхиолама, изоловани лимфоцити у *lamina propria mucosae*, поља густо збијених лимфоцита повремено присутних у малим интрапулмоналним бронхусима, затим локално лимфатично ткиво бронхуса (*bronchial associated lymphoid tissue* – BALT, eng.), локално лимфатично ткиво бронхиола (*bronchiolar associated lymphoid tissue* – BRALT, eng.) и лимфни чворови представљени бронхалним лимфним центром. У плућном паренхиму свиња присутни су субепителни и слободни мастоцити, који као одговор на стимулацију специфичним антигеном, ослобађају хистамин, хепарин, метаболите арахидонске киселине, фактор активације тромбоцита и хемотактичке факторе (Aleksić-Kovačević, 2019).

Механизми деловања појединих штетних нокси у систему органа за дисање, значајно се разликују. Вируси (вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња), инфлуенца вирус, као и донекле вирус Ајескијеве болести, цирковирус тип 2 утичу на фагоцитну функцију макрофага неколико дана после инфекције, инхалирани анестетици супримирају мотилитет трепљи на епителу (има их око 250 по ћелији), токсини (углавном бактерија *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronhiseptica*, *Haemophilus parasuis*) смањују производњу сурфактанта, а већина ових нокси испољава имуносупресивни утицај (Heinen и сар., 2000; Larsen и сар., 2000; Vecskei и сар., 2010). Већину бактерија које доспеју у плућа врло брзо униште активисани алвеоларни макрофаги чији животни век износи свега неколико дана. Плућни интраваскуларни макрофаги задужени су за уклањање узрочника доспелих хематогеним путем и посебно су ефикасни у крви свиња, преживара, мачака и коња. Трепљаст епител који облаже бронхиоле, изузетно је осетљив на вирусе и токсичне материје, лако дегенерише и после десквамације оставља за собом огољену базалну мембрану. Пролиферација перибронхиоларних лимфоцита – BRALT честа је код хроничног бронхиолитиса. Алвеоле су веома осетљиве на ноксе различите етиологије. Оштећење пнеумоцита типа I у почетку доводи до њиховог едема и вакуоларне дегенерације, а уколико деловање ноксе траје дуже, долази до некрозе и десквамације пнеумоцита типа II, односно до огољавања (денудације) базалне мемbrane. Обично се већ након три дана умножавају пнеумоцити типа II на месту одлупљених пнеумоцита типа I и на тај начин настаје епителизација односно „фетализација плућа“, што је присутно у већини случајева вирусних пнеумонија прасади. Оштећењем крвно-ваздушне баријере долази до ексудације плазме, односно фибрина у лумен алвеола. Под утицајем леукотријена IL-1 и TNF, али и цитокина, IL-6, TGF $\beta$  из леукоцита и макрофага, одвија се уклањање ексудата из алвеола. Понекад се протеини плазме мешају са сурфактантом формирајући микроскопски видљиву, танку еозинofilну мембрану, познату под називом „хијалина мембрана“ (Aleksić-Kovačević, 2019). У току хроничног и иреверзибилног алвеоларног оштећења лезије напредују у правцу развоја фиброзе плућа.

У току запаљења плућа, одвија се интензивна сарадња између ћелија плућа (пнеумоцити типа I и II, Clara ћелије, ендотелне ћелије и стромалне ћелије интерстицијума) и ћелија из крви (лимфоцити, мастоцити, моноцити и гранулоцити). Комуникацију између плућних и крвних ћелија омогућавају цитокини (интерлеукини, хемокини), али и инфламаторни медијатори из плазме као што су компоненте комплемента (C3a, C3b, C5a), фактори коагулације (фактор V и VII), метаболити арахидонске киселине (леукотријени и простагландини), адхезивни молекули (ICAM, VCAM), ензими и инхибитори ензима (еластазе и антитрипсин), антиоксиданси (глутатион), затим метаболити кисеоника и NO. Главни посредници при промету ћелија инфламације у плућима су плућни макрофаги. Циљ удруженог деловања ћелија и сигналних молекула је решавање инфламаторног процеса без проузроковања додатног оштећења плућа. У неким случајевима, инфламаторни одговор може ући у фазу изван контроле и изазвати тешка оштећења плућа. Астма, плућна фиброза и алергијски алвеолитис су само неке од болести које настају због неконтролисаних продукције и отпуштања цитокина. Фибронектини и трансформишући фактор раста којег производе макрофаги и друге мононуклеарне ћелије, на месту хроничног запаљења регулишу долазак фибробласта, који стварањем компоненти екстрацелуларног матрикса подстичу развој фиброзе плућа (Aleksić-Kovačević, 2019).

Диференцијална дијагноза лезија представља посебан изазов и тежак задатак за обдуцента који при обдукацији на терену, односно фарми, треба адекватно да узоркује ткивне исечке за даља патохистолошка, имунохистохемијска, молекуларна, микробиолошка, токсиколошка и друга испитивања. Ово уједно представља и разлог за подсећање на морфолошке манифестације најчешћих вирусних и бактеријских пнеумонија на нашим епизоотиолошким подручјима (Aleksić-Kovačević, 2019; Jovanović, 2019).

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Контрола респираторних патогена је изузетно сложен процес и на фармама свиња у Србији обухвата неколико фаза. Пре свега, епизоотиолошка контрола на фармама са комерцијалном производњом свиња, које обухватају технологију узгоја од прашења до това, обухвата анализу анамнестичких података у смислу: против којих се респираторних патогена спроводи имунопрофилактика, у ком узрасту се врши апликација вакцине, који се антимикробни препарати примењују у датим условима и како се коригују услови менаџмента у склопу контроле респираторних инфекција.

Поред клиничког прегледа по категоријама, дијагностички процес обавезно треба да обухвата и макрпатолошки преглед угинулих јединки и узорковање биолошког материјала за даља лабораторијска испитивања. За етиолошку дијагностику обољења респираторног тракта, узорковани су делови промењеног плућног ткива, припадајући лимфни чворови и тонзиле. Поред макроскопске, урађена је микроскопска и имунохистохемијска дијагностика.

У претходној години 2018/2019, извршена је детаљна макроскопска, микроскопска и имунохистохемијска анализа промена на органима респираторног система (плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима) 37 прасади пореклом са фарме свиња у епизоотиолошком подручју Ветеринарског специјалистичког института Ниш. У наведеном периоду са епизоотиолошког подручја Научног института за ветеринарство “Нови Сад” у оквиру рутинског дијагностичког поступка, обављене су како епизоотиолошке и клиничке опсервације, тако и патоморфолошки преглед угинулих јединки различитих категорија свиња (укупно 85 јединки). Од наведеног броја у оквиру 15 случајева са манифестним клиничким респираторним поремећајима, на узорцима органа угинулих јединки пореклом из комерцијалних фармских објеката поред етиолошких дијагностичких лабораторијских испитивања, извршене су детаљне макроскопске, микроскопске и имунохистохемијске анализе.

У току ових испитивања, спроведена је и контрола органа грудне дупље пореклом од свиња на линији клања. Прегледом су обухваћена плућа 79 прасади са линије клања, старости шест месеци и просечне телесне масе у моменту клања од 115,3 кг, пореклом из објеката са познатом историјом респираторних инфекција.

Такође, у циљу етиолошке дијагностике како у узорцима јединки које су угинуле на фарми тако и у узорцима пореклом од свиња са линије клање, у оквиру лабораторијске дијагностике примењене су молекуларне методе испитивања (PCR и *real time* PCR) за утврђивање присуства генома одређених вируса: цирковирус, инфлуенца вирус, *M. hyopneumoniae*. Методама серолошке дијагностике (имуноензимски тестови) у серумима узоркованих од одређеног броја свиња на линији клања, вршено је утврђивање присуства антитела за одређени број узрочника вирусних и бактеријских обољења: цирковирус тип 2, PRRS вирус, инфлуенца вирус, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

У оквиру мофолошких испитивања урађена је обдукација и детаљан преглед органа, као и узорковање ткива (плућа и трахеобронхални лимфни чворови) за хистопатолошка и имунохистохемијска испитивања. Ткиво је фиксирано у 10% пуферисаном формалину и процесовано у аутоматском ткивном процесору. Депарафинисани исечци бојени су хематоксилин-еозин, *toluidine blue*, *Pas* и *Grocott* методом, а одабрани узорци обрађени су имунохистохемијском методом. Микроскопирање је урађено на микроскопу (BX51, Olympus Optical, Japan) и фотграфисано је камером Olympus Color View III.

#### РЕЗУЛТАТИ

У оквиру епизоотиолошке анализе производних погона, утврђено је да је имунопрофилактика против *M. hyopneumoniae* и PCV2 заступљена готово на свим фармама комерцијалног типа у региону Војводине. Без обзира за који тип, односно врсту вакцине се определио произвођач/фармер, резултати су видљиви како клинички, тако и патоморфолошки (преглед уинулих јединки), као и прегледом трупова и органа грудне дупље на линији клања. Такође, може се констатовати да је у периоду од 2017. године па до данас у порасту примена имунопрофилактике и када је у питању PRRSV.

Патоморфолошким прегледом уинулих јединки утврђено је присуство промена на органима респираторног тракта, доминантно у форми плеуритиса различитог интензитета, некротичне плеуропнеумоније и хепатизације плућног ткива. Хепатизација плућног ткива свакако указује да је и даље присутна активна инфекција и патогено деловање *M. hyopneumoniae*, али у далеко мањем степену него претходних година (Prodanov-Radulović и сар., 2016b). Међутим, и даље доминира налаз интестицијалне пнеумоније, што указује на доминантну улогу вирусних инфекција (PRRS, инфлуенца).

Бактериолошком изолацијом у највећем броју случајева када су утврђене промене на респираторним органима (адхезивни плеуритис, перикардитис) утврђено је присуство бактерије *Haemophilus parasuis*, затим *Pasteurella multocida*, *Mahnheimia haemolytica*. Поред наведених, у мањем броју испитаних узорка утврђено је присуство *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Staphylococcus sp.* Међутим, готово доминантно је потврђено присуство *Haemophilus parasuis*, бактерије која у значајној мери компликује примарне инфективне процесе на органима респираторног тракта. Молекуларним методама дијагностике, примењеним на одређеном броју узорка патолошки промењених респираторних органа, утврђено је присуство генома вируса репродуктивног и респираторног обољења свиња - европски сој и генома цирковируса тип 2, док је у најмањем броју утврђено присуство генома *Mycoplasma hyopneumoniae*. Методама серолошке дијагностике у испитаним узорцима крвних серума, највећи број позитивних налаза је утврђен контролом присуства антитела против вируса PRRS, затим IgG антитела против цирковируса и антитела против *Mycoplasma hyopneumoniae*. Мањи број позитивних серолошких налаза се бележи када је у питању *Actinobacillus pleuropneumoniae* и инфлуенца вирус.

#### Морфолошке промене у плућима свиња узоркованих у објектима за узгој

Вирусне болести свиња које су и даље присутне у популацији домаћих свиња на територији Републике Србије, у оквиру којих се патолошке промене манифестују на респираторним органима (плућима) су: вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња, инфлуенца вирус, као и вирус Ајескијеве болести. Такође, присутне су и респираторне болести свиња узроковане бактеријама: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* тип 1, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis*. У испитаном материјалу, била је присутна и *Mycoplasma hyopneumoniae* у комбинацији са другим узрочницима. Карактер морфолошких лезија одговарао је доминантно присутном етиолошком агенсу у моменту обдукције.

Морфолошки, вирусне пнеумоније одликовале су се у почетку акутном интерстицијалном пнеумонијом, у оквиру које пнеумотропни вируси (инфлуенца вирус) доводи до дегенерације и десквамације пнеумоцита типа I и њихове замене пнеумоцитима типа II, што је праћено фетализацијом плућа. Код акутне вирусне интерстицијалне пнеумоније уочене су и промене које одликује излазак протеина плазме у алвеоларне просторе. У неким исечцима запажа се мешање протеина плазме са сурфактантом и формирање танке еозинофилне мембране - „хијалина мембрана“. У узорцима плућа који су узорковани у узнапредовалом стадијуму вирусних пнеумонија, доминантно се уочава пролиферативна фаза болести, праћена хиперплазијом пнеумоцита типа II и њиховим умножавањем на месту десквамисаних пнеумоцита типа I.

У већини испитаних случајева, истовремено уз примарну вирусну инфекцију, присутна је и секундарна бактеријска инфекција. Присутне секундарне бактеријске инфекције, промениле су морфолошки изглед плућних лезија у правцу гнојне, а у неким случајевима апостематозне (*Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pyogenes*) или фибринозне бронхопнеумоније, често повезане са плеуропнеумонијом (*Actinobacillus pleuropneumoniae*). Гнојне бронхопнеумоније биле



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

су праћене накупљањем гнојног (пурулентног или мукопурулентног) ексудата у ваздушним путевима и имале су макроскопски лобуларну дистрибуцију. Макроскопски изглед плућа варирао је у зависности од старости процеса. У почетку болести (првих 12 сати), плућа су отечена и црвене боје због активне хиперемije и едема, који су присутни у раној фази инфламације. Након 48 сати паренхим плућа је консолидован са ексудацијом неутрофилних гранулоцита у алвеоле, бронхиоле и бронхусе. Плућа су сиворужичасте боје и тврђе конзистенције, а у старијем процесу (три до пет дана) макроскопски се уочава бледо сива боја плућа која су при стављању у формалин тонула на дно. Микроскопским прегледом, у алвеолама се уочава велики број неутрофилних гранулоцита, макрофага и десквamisаних ћелија, понекад са облитерацијом лумена бронхуса, бронхиола и алвеола. У узорцима који су потицали од прасади код којих је инфекција трајала дуже од 7 до 10 дана, уочава се хиперплазија пехарастих ћелија, повећана производња муцина, хиперплазија BALТ-а, затим бронхиектазије, а такође и фиброза плућа и плеуралне адхезије.

Бактериолошким испитивањима је утврђено присуство *Pasteurella multocida* у 26,83%, *Haemophilus parasuis* у 24,39%, *Escherichia coli* у 19,51%, *Trueperella pyogenes* у 14,63%, *Arcanobacterium haemolyticum* у 9,76%, *Streptococcus suis* type 1 и *Streptococcus dysgalactiae* у 2,44% испитаних, патолошки промењених плућа. Иако етиолошки није утврђено присуство *B. bronchiseptica*, налаз деформитета рила, како у клиничкој форми на фармама, тако и на линији клања јасно указује на присуство овог патогена који у синергији са токсичним сојем *P. multocida* испољава промене карактеристичне за атрофични рхинитис свиња (Došen и сар., 2014а). Такође, изолација *A. pleuropneumoniae* се показала као додатни изазов у микробиолошким лабораторијама. Наведно може бити свакако последица чињенице што се на фармама свиња најчешће спроводи подразумевани мединкаметозни третман у оквиру појединих фаза које се и препознају као критичне (нпр., превод у другу, старију категорију). Последице, иако су патоморфолошки промене након угнућа јасно видљиве, изостаје бактериолошка и етиолошка верификација јер је јединка претходно третирана антибиотицима. Међутим, акутни ток болести карактерише изненадна анорексија, депресија, фебра, диспноја, полипноја. Веома често се само констатује изненадно угнуће, без клиничких симптома болести. Сматра се да је узрочник присутан у супклиничкој форми у многим западима (у тонзиларним криптама), при чему примарна вирусна инфекција (PRSS, инфлуенца, Ајескијева болест) може представљати окидач за избијање клиничке форме (Prodanov-Radulović и сар., 2015с). Слично се може констатовати и за *H. pleuropneumoniae*, који се често бактериолошки дијагностикује у органима угнутих јединки. Обољење се карактерише полисерозитисом, познато и под називом *Glasserova* болест. Међутим, узрочник је присутан и у респираторном тракту здравих јединки. Сазнања о постојању већег броја серотипова су усмерила истраживања на поља вакцинологије и производње савремене вакцине (Macedo и сар., 2015). Међутим, наведена вакцина није присутна на тржишту и фармској производњи свиња у Србији (Prodanov-Radulović и сар., 2015а).

Када су у питању вирусне пнеумоније свиња, етиолошка је дијагностиска сасвим јасна: примарну улогу у нарушавању здравственог статуса свиња има PRRSV. Претпоставља се да се PRRS појавио у Србији током 2001. године. Прва сумња на PRRS је постављена на основу клиничких знакова – тешких респираторних поремећаја са високим морталитетом свиња на две велике индустријске фарме, лоциране на северу земље. Убрзо затим, присуство обољења на поменути фармама је и потврђено серолошким испитивањима. Током те и наредних година, респираторни синдром код свиња са високим морбидитетом и значајним морталитетом, који је клинички повезиван са PRRS-ом је утврђен на многим великим фармама свиња на подручју Војводине, а касније и централне Србије (Balka и сар., 2018). Када је у питању вакцина за ово обољење, веома је важно познавати сој(еве) вируса који су садржани у вакцини, али и који су присутни на фарми, односно ускладити генотип вакцине са генотипом вируса који циркулише у популацији свиња на фарми. Генерално, вакцинација свиња не спречава инфекцију PRRSV, али може утицати на умањење циркулације дивљег соја вируса и интензитета клиничке слике болести. Серолошким методама детекције, није могуће разликовати вакцинална антителиа (индукована вакцинацијом) од антителиа која су индукована дивљим сојем вируса (инфекција).

За разлику од пнеумоније изазване вирусом инфлуенце типа А коју карактерише присуство великог броја алвеоларних макрофага и хиперплазија бронхиоларног епитела, доминантан налаз

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

код вирусне пнеумоније у оквиру обољења респираторни и репродуктивни синдром свиња, одговара интерстицијалној пнеумонији, али без значајне хиперплазије пнеумоцита типа II. При макроскопском прегледу, након отварања грудног коша плућа не колабирају, а на плућној плеури се уочавају отисци ребара. Трахеобронхални и медијастинални лимфни чворови су повећани. У узорцима који су били позитивни на цирковирине (заразна кржљавост одбијене прасади - *Post-weaning multisystemic wasting syndrome* – PMWS, eng.) доминирала је интерстицијална пнеумонија, са микроскопски израженом хиперплазијом пнеумоцита типа II. Антигени PCV2 доказани су имунохистохемијски у плућним макрофагима.

Хемофилусна пнеумонија имала је у испитаним узорцима углавном морфолошке карактеристике гнојне пнеумоније. Празитске пнеумоније уочене код дивљих свиња макроскопски су се одликовале налазом сивих чворића обично на вентралним рубовима каудалних режњева плућа. Микроскопски налаз код верминозне пнеумоније одговарао је катаралној бронхопнеумонији са присуством пресека паразита (*Metastrongilus*) у бронхусима, често са еозинофилним гранулоцитима и подручјима ателектазе.

#### Морфолошке промене у плућима свиња узоркованих на линији клања

Прегледом плућа прасади старости шест месеци и просечне телесне масе у моменту клања од 115,30 кг, пореклом из објеката са познатом историјом респираторних инфекција, установљене су промене на плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима. Макроскопски, у неким случајевима плућа су била колабирана, док су се у другим случајевима оцртавали отисци ребара на површини плућног ткива. Трахеобронхални и медијастинални лимфни чворови су били повећани. Макроскопским прегледом плућа, код 53 свиње су уочене промене на плућном ткиву и повећање трахеобронхалних и медијастиналних лимфних чворова. Хистопатолошким прегледом је утврђено присуство мононуклеарног ћелијског инфилтрата у интерстицијуму, ексудат у бронхиолама и алвеолама, емфизем, хиперемија и едем и крвављења.

Промене на плућном ткиву су утврђене код 26,67% закраних свиња са знацима акутне интерстицијалне пнеумоније и састојале су се од хиперемије, едема и акумулације мононуклеарних ћелија у интерстицијуму. Такође, у лумену су биле присутне и хијалине мембране и десквамисани пнеумоцити типа I.

Хронична интерстицијална пнеумонија је утврђена у 33,33% прегледаних узорка плућа са линије клања. Међутим, скоро код 1/3 животиња са интерстицијалном пнеумонијом дијагностикована је и мукопурулентна бронхопнеумонија, највероватније као резултат секундарне бактеријске инфекције.

#### ДИСКУСИЈА

Најчешћи примарни узрочници респираторних болести свиња код нас (Prodanov-Radulović и сар, 2015а), а слично се наводи и у литератури (Gottschalk, 2015; Macedo 2015; Montaner-Tarbes и сар, 2019) су вирус респираторног и репродуктивног синдрома свиња, вирус инфлуенце свиња (*Swine Influenza Virus* – SIV, eng), цирковирине свиња тип 2, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actynobacillus pleuropneumoniae*, *Bordatella bronchioseptica*, а у неким случајевима и вирус Аујескијеве болести (*Pseudorabies Virus* – PRV, eng) и респираторни корона вирус (*Porcine Respiratory Coronavirus* – PRCV, eng). Од секундарних узрочника најзначајнији су *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Actinobacillus suis*, *Arcanobacterium pyogenes* и *Salmonella choleraesuis*.

У најзначајније респираторне болести свиња које се данас јављају у савременим условима интензивног узгоја спадају репродуктивно-респираторни синдром свиња, инфлуенца свиња и цирковирине инфекције, као и мање значајне, али не и занемарљиве, Аујескијева болест и респираторно обољење проузроковано корона вирусом. Поред инфективних агенаса, у контроли и дијагностици неопходно је сагледати и све остале потенцијалне релевантне факторе, као што су амбијентални фактори, фактори у вези са организмом самог домаћина и менаџмент производње. Осим тога, посебна пажња у разматрању настанка саме болести поклања се интеракцији између поменутих узрочника, с обзиром на то да они много чешће делују заједно, него појединачно. Из овог разлога и морфолошке манифестације мултифакторијално условљених респираторних

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

поремећаја нису униформне. Карактер лезија одговара доминатно пристном етиолошком агенсу у моменту обдукције (Aleksić-Kovačević, 2019).

Ендотелиотропни вируси (ККС) и бактеријски токсини (кlostридије) оштећују примарно ендотелне ћелије, доводећи до крвављења, поред осталог и на сеозама и слузницама у респираторном систему. У респираторној патологији свиња треба имати у виду и пнеумоније емболичног (црвени ветар), грануломатозног (микобактерије, гљивице) и верминозног карактера (*Metastrongylus*). Веома је важно за диференцијалну дијагнозу поред детаљног прегледа проводног, прелазног и система за размену гасова, извршити и преглед ретрофарингеалних и трахеобронхалних лимфних чворова (Agdestein и сар., 2011; Polaček и сар., 2014). Такође, у оквиру контроле здравља свиња у целини, веома је значајна контрола респираторних инфекција на фармама, имајући у виду резултате наших новијих истраживања који указују на значајно компромитовање квалитета меса на линији клања, уколико свиње потичу са фарми са наглашеном историјом респираторних инфекција (Karabasil и сар., 2017). Патогенеза интерстицијалне пнеумоније је комплексна с обзиром да овај морфолошки тип запаљења плућа може бити последица различитих видова оштећења ткива. Интерстицијална пнеумонија најчешће настаје као последица аерогеног оштећења алвеоларног епитела (токсични гасови, слободни радикали, пнеумотропни вируси, као што је вирус инфлуенце код свиња, али и хематогеног оштећења плућних капилара (септикемија, дисеминована интраваскуларна коагулопатија – DIC, микроемболуси, ларве паразита – *Ascaris suum*, ендотелиотропни вируси, односно вирус класичне куге свиња) или услед локалног ослобађања токсичних метаболита у плућима (тровање хербицидом *paraquat*) (Polaček и сар., 2014; Aleksić-Kovačević, 2019). На основу морфолошких карактеристика значајно се разликује налаз код акутног и хроничног тока интерстицијалне пнеумоније.

За разлику од бронхопнеумонија које се одликују лобуларном или лобарном дистрибуцијом и углавном краниоventралном консолидацијом плућа, код интерстицијалне пнеумоније захваћени су сви плућни лобуси, мада је у неким случајевима присутна дорзокаудална дистрибуција лезија. Плућа имају светлосиву боју, углавном због облитерације плућних капилара, а месната или гумаста конзистенција, без ексудата на пресеку у некомплицованим случајевима, потиче од ћелијске инфилтрације плућног интерстицијума. Плућа захваћена интерстицијалном пнеумонијом су гумаста, па не колабирају после отварања грудне дупље, а на површини пресека имају текстуру сировог меса (Aleksić-Kovačević, 2019).

Комбиновани тип пнеумоније, одликује се морфолошки истовремено сликом интерстицијалне пнеумоније и бронхопнеумоније која је последица секундарних бактеријских инфекција. Квалитет ексудата у овим компликованим случајевима, у великој мери зависи од врсте секундарног узрочника.

Етиолошки прогресивни атрофични ринитис (*Progressive atrophic rhinitis* – PAR, eng.) узрокују *Pasteurella multocida* и *Bordetella bronchiseptica*. Инфекција се дешава непосредно после рађања прасади, а према неким ауторима у другој недељи лактације. Фактори који доприносе развоју болести су: густо насељени објекти (прасилиште), лоши услови средине (слаба вентилација, влажност, висок амонијак, прашина у ваздуху итд.), присуство других болести (ензоотска пнеумонија, PRRS, *Haemophilus parasuis*, Аујескијева болест, цирковирална инфекција итд.). Извор узрочника болести су клицоноше, а шири се капљичном инфекцијом, јер је узрочник лоциран у дисајним путевима и крајницима. Код прасади може доћи до ринитиса, сузења, девијација носа. Код свиња долази до смањења конзумације хране, значајно се смањује пораст и прираст, а као последица тога конверзија расте. Узрочници ове болести стварају предиспозицију за развој других респираторних болести (Šamanc 2009; Aleksić-Kovačević, 2019).

Обољење код свиња названо мултисистемски синдром слабљења прасади после залучења дефинише обољење које се клинички карактерише слабљењем, бледилом коже и повремено, појавом жутице код прасади на сиси и у одгоју. Код оболелих јединке се такође могу установити и веома карактеристичне лезије у бројним органима (мултисистемски), углавном у лимфоидним ткивима. У оквиру хематолошких испитивања описана је и појава микроцитне и хипохромне анемије. Код такве прасади су установљени и улкуси желуца. Синдром се јавља код залучене прасади, старе 5 до 12 недеља. Главни клинички знаци су слабљење и диспноја, који су праћени у

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

неким случајевима анемијом и дијарејом. Уколико коегзистира овај вирус у истом организму са вирусом PRRS-а, оболеле свиње су више подложне различитим секундарним бактеријским инфекцијама. Стопа морталитета је обично 8-10% код скоро залучене прасади, али постоје искуства код неколико стада и са губицима до 50% у групама залучене прасади.

Комплекс респираторних обољења (*Porcine Respiratory Disease Complex – PRDC*, eng.) представља значајан здравствени проблем у комерцијалној производњи свиња. Карактерише се slabим порастом, умањеном конверзијом, летаргијом, анорексијом, повишеном телесном температуром, кашљем и диспнојом. Пнеумонија најчешће настаје услед комбинованог деловања вирусних и бактеријских агенаса као што су PCV2, PRRS, вирус инфлуенце, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Pasteurella multocida*. У оквиру комплекса респираторних обољења, упркос мерама имунопрофилактике, увек треба имати у виду и присуство PCV2 који увек укључује и интеракцију са другим респираторним патогенима. Резултати студије коеранских истраживача показују да је у преко 55% испитиваних случајева дијагностикованог PRDC, доказана конкурентна инфекција са PCV2 и вирусом PRRS. Ово је подржано и експерименталним доказима који указују да постоји синергизам између наведених вируса. Иако PCV2 не увећава оштрину лезија код инфекције вирусом PRRS, вирус PRRS потенцира деловање PCV2. Коинфекција PCV2 и вирусом PRRS-а индукује појаву израженијих респираторних знакова обољења и развој пулмоналних лезија (Balka и сар., 2018; Došen и сар. 2014a; Prodanov-Radulović и сар., 2015a).

У оквиру програма контроле здравственог статуса комерцијалних запата свиња испитиван је значај присуства вирусних инфекција (PRRS, цирковирус, инфлуенца свиња) на појаву болести респираторног тракта свиња. Утврђено је да се као последица инфекције цирковирусом и имунолошке супресије развијају секундарне бактеријске инфекције респираторног тракта свиња. Микробиолошки, из органа грудне дупље изоловане су доминатно *Pasteurella sp.*, *Streptococcus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasius*, *Klebsiella pneumoniae*. Морбидитет и морталитет је значајно повећан код коинфекција са једним или више патогена у односу на инфекције са једним узрочником. У коинфекцијама су укључени вишеструки механизми индуковане супресије одбрамбених механизма домаћина. Због тога, програм контроле треба да обухвата примену вакцинације против, како вирусних, тако и бактеријских инфекција.

Међутим, када је у питању контрола патогена али и потенцијални унос нових, других вируса и бактерија у запат свиња, мора се имати у виду промена одговарајућих биосигурносних мера у производњи. У оквиру технолошког програма биосигурности на фарми свиња, обухваћене су мере које треба да спрече уношења патогена у фарму свиња (спољашња биосигурност), као и спречавање ширења узрочника болести на неинфицирана грла када болест већ постоји на фарми (унутрашња биосигурност). Посебно место у примењеном програму биосигурности представља и изолација новонабављених животиња (карантин). Важно је да новонабављене животиње потичу из здравствено контролисаног запата и да прођу период карантина (изолације). Свиње које се увode у запат треба да имају сличан или виши здравствени статус у односу на запат примаоца, како би се спречио унос инфекције која није присутна у запату примаоца (Dosen и сар., 2014b; Prodanov-Radulović и сар., 2015a). Насупрот томе, ако су јединке наизглед „без знакова болести“, немају специфична антитела за болести које су присутне у запату примаоца, морају се заштити вакцинацијом и врши се њихова аклиматизација (прилогађавање) пре уласка у запат, смештајем у посебном објекту за изолацију, који при томе треба да је довољно далеко од објекта фарме (Prodanov-Radulović и сар., 2015b).

Са аспекта утицаја амбијенталних услова, најосетљивија категорија свиња је у прасилишту (прасад на сиси) и одгајивалишту (залучена прасад). Амбијентални услови подразумевају широк спектар фактора који утичу на свиње од којих су у испитиваним фармама истичу температура, квалитет ваздуха и сам смештајни простор (Došen и сар., 2014a; Došen и сар., 2014b).

Производна стратегија која се заснива само на профилакси и терапији без корекције амбијенталних фактора има за последицу прогресивно повећање трошкова уз смањење обима производње, настајање резистентних сојева микроорганизама, али и супресију развоја пожељне коменсалне микрофлоре у дигестивном и респираторном тракту (Došen и сар., 2014a; Prodanov-Radulović и сар., 2015a; Prodanov-Radulović и сар., 2016). Конзумација хранива контаминираних

микотоксинама може имати за последицу пробој активног имунитета и избијања обољења, иако је имунопрофилактика обављена на прописан начин (Prodanov-Radulović и сар., 2017).

У настајању респираторних болести свиња у интензивном узгоју учествује велики број етиолошких чинилаца, од којих инфективни агенси имају водећу улогу. Ови узрочници, у за њих погодним околностима, код пријемчивих јединки изазивају различите поремећаје у респираторном систему у оквиру такозваног комплекса респираторних болести свиња (Baker, 2005).

Репродуктивно респираторни синдром се у највећем броју случајева јавља у субклиничким облицима, док акутних форми болести углавном нема. Аујескијева болест је у многим земљама искорењена, или се тренутно налази у фази искорењивања, било на националном, регионалном или нивоу појединих фарми. Примена вакцина у контроли ове болести је углавном карактеристична за земље источне Европе. Цирковирска обољења се јављају у различитим облицима, иако се чини да доминира синдром мултисистемског слабљења прасади после залучења. Када је у питању ензоотска пнеумонија свиња, ниједан национални програм за ерадикацију ове болести до сада у Европи није успостављен, али су примењивани многи регионални програми, као на пример у Финској и Швајцарској.

Промене на органима респираторног система су присутне у високом проценту код клинички здравих товљеника, што утиче на велику варијабилност у телесној маси, меснатости као и квалитету трупа. У оквиру наших испитивања, етиолошки је утврђено присуство бројних узрочника болести који утичу на појаву респираторног синдрома свиња.

На основу постигнутих резултата испитивања, у циљу ефикасне контроле и сузбијања респираторних болести свиња које су последица интеракције више патогена, неопходно је конципирати такав програм имунопрофилактике и медијације који узима у обзир како вакцинацију најмлађих производних категорија (прасад), тако и правовремени профилактички и терапијски третман адултих јединки. Применом најсавременијих метода дијагностике се може очекивати утврђивање оптималног и економски оправданог програма имунопрофилактике (вакцинације) који ефикасно умањује инциденцу респираторних инфекција и доприноси побољшању производних резултата.

#### Литература

1. Agdestein A, Johansen TB, Polaček V, Lium B, Holstad G, Vidanović D, Aleksić-Kovačević Sanja, Jørgensen A, Žultauskas J, Nilsen SF and Dønne B, 2011, Investigation of an outbreak of mycobacteriosis in pigs, *BMC Veterinary Research*, 7, 63.
2. Aleksić-Kovačević S, 2019, Respiratorni sistem, U: Jovanović M, Aleksić-Kovačević S, Knežević M, 2012, *Specijalna veterinarska patologija*, Udruženje veterinarskih patologa Srbije, Beograd, Srbija, 145-84.
3. Balka G, Podgórska K, Singh Brar M, Bálint A, Cadar D, Celer V, Dénes L, Dirbakova Z, Jedryczko A, Márton L, Novosel D, Petrović T, Sirakov I, Szalay D, Toplak I, Chi-Ching Leung F, Stadejek T, 2018, Genetic diversity of PRRSV 1 in Central Eastern Europe in 1994–2014: origin and evolution of the virus in the region, *Scientific Reports*, 8, 7811.
4. Becskei Z, Aleksić-Kovacevic S, Rusvai M, Balka G, Jakab C, Petrovic T, Knezevic M, 2010, Distribution of porcine circovirus 2 cap antigen in the lymphoid tissue of pigs affected by postweaning multisystemic wasting syndrome, *Acta Veterinaria Hungarica*, 58, 4, 483-98.
5. Došen R, Prodanov-Radulović J, Stojanov I, Polaček V, Milanov D, Pušić I, 2014a, Control the respiratory diseases in a pig herd using data of the respiratory organs examination of fattening pigs at a slaughterhouse. *Proceedings of the International Symposium on Animal Science*, 23-25th September 2014a, Belgrade, Serbia, organizer Faculty of Agriculture, editor in chief Zoran Popović, Beograd, Faculty of Agriculture, 361-97.
6. Došen R, Prodanov-Radulović J, Pušić I, Ratajac R, Stojanov I, Grubač S, 2014b, The uncontrolled use of antibiotics in pig production - a threat to public health. *Proceedings, XVI International Congress Feed technology*, Novi Sad, 28-30.10.2014, Institute of food technology, 20-4.
7. Heinen PP, van Nieuwstadt AP, Pol JM, De Boer-Luijze EA., Van Oirschot JT, Bianchi AT, 2000, Systemic and mucosal isotype-specific antibody responses to pigs to experimental influenza virus infection, *Viral Immunol*, 13, 237–47.
8. Jovanović I, 2019, Morfološke karakteristike respiratornih bolesti svinja u intenzivnom uzgoju, *Specijalistički rad*, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
9. Karabasil N, Čobanović N, Vučićević I, Stajković S, Becskei Z, Forgach P, Aleksić – Kovačević S, 2017, Association of the severity of lung lesions with carcass and meat quality in slaughter pigs, *Acta Hungarica*, 65, 3, 354-

### 30. ЈУБИЛАРНО САБЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

65. 10. *Larsen DL, Karasin A, Zuckermann F, Olsen CW*, 2000, Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs, *Vet. Microbiol.*, 74, 117–31. 11. *Macedo N, Rovira A, Torremorell M*, 2015, Haemophilus parasuis: infection, immunity and enrofloxacin, *Veterinary Research*, 46, 128. 12. *Polacek V, Prodanov Radosvljevic J, Dosen R, Petrovic T, Beckei Z, Aleksic-Kovacevic S*, 2014, Expression of E2 (gp 55) Glycoprotein of Classical Swine Fever Virus in Lymphoid Tissue and Brain of Experimentally Infected Piglets with Different Immunological Status, *Acta Veterinaria*, Beograd, 64, 2, 213-25. 13. *Prodanov-Radulović J, Došen R, Stojanov I, Petrović T, Polaček V, Grgić Ž, Marčić D*, 2015a, Etiology and diagnostics of porcine respiratory syndrome on a pig farm in the Republic of Serbia, *7th European symposium of porcine health management, ESPHM 2015*, 22-24 april, Nantes, France. Proceedings, 147-47. 14. *Prodanov-Radulović J, Došen R, Pušić I, Petrović T, Apić J, Stojanov I, Polaček V*, 2015b, Emergence of pseudorabies virus (Morbus aujeszky) infection at large swine farms in AP Vojvodina (Serbia), *Contemporary agriculture*, 105-11. 15. *Prodanov-Radulović J, Došen R, Stojanov I, Grgić Ž, Savić S, Marčić D, Polaček V*, 2015c, Control and diagnostics of porcine respiratory disease caused by Actinobacillus pleuropneumoniae, *Proceedings, 4th International Congress New Perspectives and Challenges of Sustainable Livestock Production*, Belgrade, Serbia 7 - 9 October 2015, editor in chief Zdenka Skrbic, Beograd, Institute for Animal Husbandry, 670-76. 16. *Prodanov-Radulović J, Došen R, Stojanov I, Petrović T*, 2015d, The most common health disturbances detected in wild boars in enclosed hunting grounds in Vojvodina province, *Proceedings, First International Symposium of Veterinary Medicine 'One Health - New Challenges' (ISVM2015)*, Vrdnik, May 21-23, 2015, editor in chief Tamaš Petrović, Novi Sad, Scientific Veterinary Institute 'Novi Sad', 260-70. 17. *Prodanov-Radulović J, Petrović T, Stojanov I, Lupulović D, Marčić D, Petrović J, Bojkovski J*, 2016, Diagnostics and control of mycoplasmal pneumonia (mycoplasma hyopneumoniae) in farrow-to-finish swine herds. *Proceedings, The International Symposium on Animal Science (ISAS)2016*, 24-25th November, Belgrade, Serbia, [editor in chief Zoran Popović], Zemun, Faculty of Agriculture, 360-66. 18. *Prodanov-Radulović J, Živkov-Baloš M, Jakšić S, Grgić Ž, Stojanov I, Bojkovski J, Tassis PD*, 2017, Aflatoxin M1 levels in sow milk, *J Hellenic vet med soc*, 1792-2720, 68, 3, 341-46. 19. *Šamanc H*, 2009, Bolesti svinja, *Naučna KMD*, Beograd, Srbija.

ПАТОМОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ КОД ПРАСАДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО  
ИНФИЦИРАНИХ ВИРУСОМ АФРИЧКЕ КУГЕ СВИЊА

*PATHOMORPHOLOGICAL LESIONS IN PIGLETS EXPERIMENTALLY  
INFECTED WITH AFRICAN SWINE FEVER VIRUS*

*Никола Васковић<sup>1\*</sup>, Зоран Дебељак<sup>1</sup>, Тимофеи Севских<sup>2</sup>, Владимир Михаилович<sup>2</sup>,  
Михаил Власов<sup>2</sup>, Александар Томић<sup>1</sup>, Дејан Видановић<sup>1</sup>, Миланко Шеклер<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>) Ветеринарски специјалистички институт "Краљево", Србија

<sup>2</sup>) Федерални истраживачки центар за вирусологију и микробиологију, Покров, Русија

**Кратак садржај:**

Афричка куга свиња (АКС) као једна од економски најзначајнијих прекограничних болести представља озбиљну претњу свињарској производњи на светском нивоу. Неповољна епизоотиолошка ситуација у региону Западног Балкана резултирала је појавом болести и у Србији.

У оквиру припрема за рано откривање и дијагностику болести праћени су клинички симптоми и патоморфолошке промене код прасади која су експериментално инфицирана вирусом АКС. Експериментална инфекција, клиничка опсервација и патоанатомски преглед извршени су у Федералном истраживачком центру за вирусологију и микробиологију (ФИЦВиМ) у Покрову, који је референтна установа Руске Федерације за ову болест.

У клиничкој слици инфицираних прасади евидентирани су: невеселост, слабије узимање хране, повишена телесна температура, блага хиперемија коже ушних шкољки, обострани конјунктивитис, отежано устајање и кретање. Животиње су угинуле 7 до 9 дана након инфицирања.

Обдукцијом лешева прасади установљене су следеће патоморфолошке промене: слезина увећана и хеморагична; увећани и дифузно хеморагични гастрохепатични, мезентеријални и периректални лимфни чворови; асцитес; едем зида и крвављења у зиду и на слузници жучне бешике; тачкаста и мрљаста крвављења у бубрежној сржи и карлици; дискретна тачкаста крвављења на слузници мокраћне бешике.

У току обдукције узоркован је материјал (слезина и лимфни чворови) за лабораторијска испитивања (директна имунофлуоресценција и real-time PCR) којима је доказано присуство вируса АКС.

Познавање клиничког тока и патоморфолошких промена, уз разумевање свих аспеката и специфичности епизоотиологије АКС, има велики значај у раном откривању болести и правовременом предузимању мера њене контроле.

**Кључне речи:** афричка куга свиња, експериментална инфекција, клинички знаци, патоморфолошке промене

**Summary**

African swine fever (ASF) as one of the most economically significant transboundary diseases presents a serious threat to pig production worldwide. The adverse epizootiological situation in the Western Balkans region has resulted in the onset of the disease in Serbia as well.

During the preparation for the early detection and diagnosis of the disease, clinical symptoms and pathomorphological changes in piglets experimentally infected with ASF virus were monitored. Experimental infection, clinical observation and necropsy were performed at the Federal Research Center

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

for Virology and Microbiology (FICViM) in Pokrov, which is the reference institution of the Russian Federation for this disease.

Clinical signs in infected pigs were: lethargy, loss of appetite, fever, mild hyperemia of auricles, bilateral conjunctivitis, difficulty getting up and moving. Animals died 7 to 9 days after infection.

The following pathomorphological lesions were noticed at necropsy: enlarged and haemorrhagic spleen; enlarged and diffusely haemorrhagic gastrohepatic, mesenteric and perirectal lymph nodes; ascites; edema of the wall and haemorrhages in the wall and on the mucosa of the gall bladder; haemorrhages in the renal medulla and pelvis; discrete haemorrhages on bladder mucosa.

During the necropsy, spleen and lymph nodes were sampled for laboratory testing. The presence of AKS virus was demonstrated by direct immunofluorescence and real-time PCR.

Recognition of the clinical course and pathomorphological changes, with an understanding of all aspects and specifics of the epizootiology of ASF, is of great importance in the early detection and control of the disease.

**Key words:** african swine fever, experimental infection, clinical signs, pathomorphological lesions



---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ III***  
***THEMATIC SESSION III***

**Здравствена заштита и репродукција  
фармских животиња**

***Health care and reproduction of farm  
animals***

---



**HOW TO IMPROVE FERTILITY PARAMETERS IN  
INSEMINATED COWS - SLOVENIAN EXPERIENCE**

**КАКО ПОБОЉШАВАТИ ПАРАМЕТРЕ ФЕРТИЛНОСТИ  
ОСЕМЕЊЕНИХ КРАВА – ИСКУСТВО СЛОВЕНИЈЕ**

*Ožbalt Podpečan, Dominika Štabuc-Starčević, Mateja Stvarnik, Janko Mrkun*

Veterinarski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

**Summary**

Cattle production in Slovenia is becoming more and more intensive and this is influencing the reproduction capacity and causing impaired fertility in dams. In the present study all data regarding artificial inseminations (AI) of dams in Slovenia in the year 2010, 2016 and 2017 were included. The parameters that were analysed were: NR60 (percentage of cows that did not return for the insemination after 60 days), FI (fertility index) and IFL (interval between first and last insemination). Evaluation of climate, season, milk yield, negative energy balance and mycotoxins in food were also investigated.

In the year 2010 we carried out 155,639 first inseminations and 123,279 re-inseminations, in 2016 there were 144,276 first and 125,519 re-inseminations and in the year 2017 136,274 first and 119,538 re-inseminations were recorded.

The analysis showed a decrease in the insemination rates which point to the conclusion that the use of artificial insemination in cattle in Slovenia is in slight decline. From the analysis of the IFL, it was found that the distribution of repeated breeding by years and quarters is unstable and shows statistically significant deviations. The NR for cows, in the majority of cases, was significantly different between years and between quarters, while in the heifers, no such difference was noticed. A similar trend is also evident in the calculation of the FI. A climate and/or season, were identified as possible risk factors for impaired fertility.

**Key words:** artificial insemination, fertility parameters, fertility, cow

**Кратак садржај**

Продукција говеда у Словенији постаје све интензивнија што утиче на способност репродукције и узрокује смањену плодност женки. Овом студијом обухваћени су сви подаци о вештачкој осемењавању (АИ) женки у Словенији у 2010, 2016. и 2017. години. Анализирани параметри су: НР60 (процент крава које се нису вратиле на осемењавање после 60 дана), ФИ (индекс плодности) и ИФЛ (интервал између прве и последње инсеминације). Такође су испитивани: клима, годишња доба, приноси млека, негативна енергетска равнотежа и микотоксини у храни.

У 2010. години извршили смо 155.639 првих осемењавања и 123.279 поновних осемењавања, у 2016. години било је 144.276 првих и 125.519 поновних осемењавања, а у 2017. години регистровано је 136.274 првих и 119.538 поновних осемењавања.

Анализом ИФЛ утврђено је да је расподјела поновљеног узгоја по годинама и кварталима нестабилна и показује статистички значајна одступања. Анализа је показала смањење стопе поновних осемењавања што упућује на закључак да је употреба вештачке оплодне код говеда у Словенији у благом паду. ИФЛ анализа је показала смањење стопе узгоја што упућује на закључак да је употреба вештачке оплодне код говеда у Словенији у благом паду што показује статистичке девијације. НР параметар за краве у већини случајева био је значајно разликовао у

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

годинама и између квартала, док код јуница није примећена таква разлика. Сличан тренд је евидентиран и у прорачуну ФИ параметра. Клима и / или годишња доба, су идентификовани као могући фактори ризика за плодност.

**Кључне речи:** вештачко осемењавање, параметри фертилитета, плодност, крава

#### **Introduction**

A decline in reproduction performance in dairy cattle is present in many countries. Many studies can be found which show increasing number of days from calving to first service and decreasing pregnancy rates (Lucy MC, 2001; McDougall S, 2006; Garmo et al., 2008). As a result, the number of inseminations per inseminated cow, days from calving to conception and calving intervals have increased. During the last decades, the productivity of dairy cattle has increased considerably in many countries, not least because of progress due to genetic improvement. However, a serious breeding concern is that estimates from a number of studies present unfavourable genetic correlations, on average near 0.3, between various fertility measures and production (Philipsson. et al., 1994).

To describe the fertility trends, 60 days non-return rates and number of services per inseminated animal are used among others. As a measure of fertility, non-return rates have some disadvantages (Salisbury et al., 1978). When cows once inseminated, can be removed or bred naturally without recording, either on purpose or by accident. In the records are presented as non-returns to the original insemination. In addition, cows that come in heat even that they were already pregnant, were reinseminated and are expressed in the record as returns. Furthermore, foetal and embryonic deaths can cause some cows to return to later service even though they became pregnant at an earlier insemination. Using a large number of data, non-return rates are considered to be very useful for studying fertility trends. The registration system in Slovenia is also considered to be reliable as the inseminations are performed by technicians or by veterinarians. Both are registered and under the surveillance system of Veterinary authority and Veterinary chamber. Reports of inseminations performed by farmers may be somewhat incomplete even though it should be done routinely according to an agreement. However, since inseminations by farmers represent a very small part of the inseminations, the incomplete reports from this group would be not significant for this study. Substantially, there have been no changes in the AI reporting routines during the last decades.

#### **Material and methods**

The results obtained in the present study are based on insemination reports and herd recording files in Slovenia comprising of all the herds using the AI. AI-technicians and veterinarians report all inseminations into the AI-database. Technicians and veterinarians performed the main part of the inseminations. From year 2000, also farmers, increasing from 0.02% to 8% in 2017, performed a small part of the insemination. After attending an AI-course, the farmers have to sign an agreement to report inseminations to the AI-database.

Based on the computer data from system Reprowin we analysed: sixty days non-return rates after single inseminations (NR60), FI (fertility index), IFL (interval between first and last insemination), return rates 0–3 days post insemination (RR0-3), average number of inseminations per animal inseminated (NIA) and seasonality. These data are based on all inseminations performed in the country during the period, irrespective of membership in the milk recording system. Thus, these data are based on 155639 number of first inseminations in 2010, declining to 144276 in 2016 and to 136274 in 2017. The numbers of first inseminated cows were 120972 in year 2010, 112397 in 2016 and 107065 in year 2017. The numbers of first inseminated heifers were 34667 in year 2010, 31879 in 2016 and 29209 in year 2017.

Trends concerning the first insemination, average number of IFL, respectively, number of animals inseminated, post-partum period (PP) were observed. Every year calculations were complied with 15% of cows removed out of the reproduction. A fertility index was also calculated from the herd recording files for years 2010, 2016 and 2017 and its yearly quarters. FI was expressed by the formula:

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

$$FI = \frac{\left( \frac{NR60 + RR0 - 3}{IO} - (125 - PP) \right) * (No. of Insem. - No. of Culling.)}{No of insem.}$$

Comparisons of data between years or groups were performed using chi-square analysis and/or Z test.

#### Results and discussion

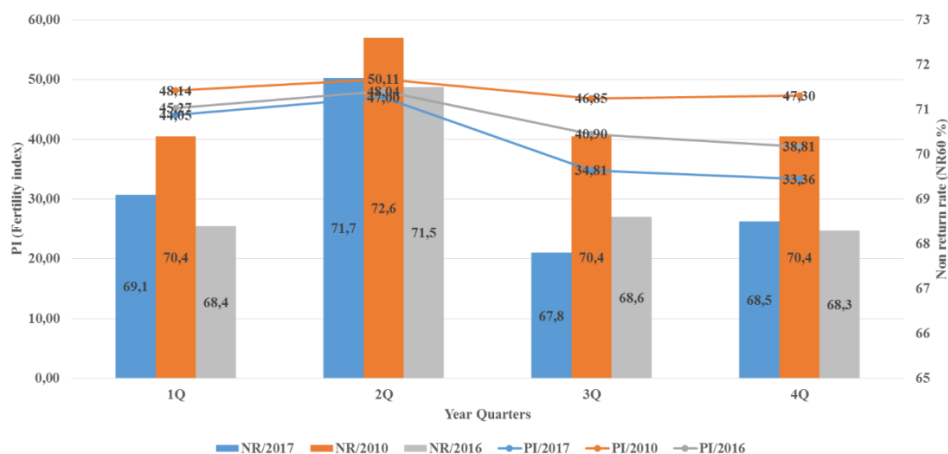


Figure 1: Cow Fertility index (FI) and non-return rate in quarters in Slovenia

Table 1: The proportion of heifers (non-return rate) that did not return to insemination after 60 days

NR 60	1st Q	2nd Q	3th Q	4th Q
2010/2016	0.76/0.75	0.78/0.78	0.77/0.76	0.75/0.75
2016/2017	0.75/0.75	0.78/0.78	0.76/0.77	0.75/0.76
2010/2017	0.76/0.75	0.78/0.78	0.77/0.77	0.75/0.76
<b>** 0.001</b>	<b>*0.05</b>			

In heifers, we did not acknowledge any significant difference in data comparison. Our data is comparable according to the literature data. Garmo et al., 2008 describes of 76.9% in small pool of animals.

Table 2: The proportion of cows (non-return rate) that did not return to insemination after 60 days

NR 60	1st Q	2nd Q	3th Q	4th Q
2010/2016	0.70/0.68**	0.73/0.72*	0.70/0.68**	0.70/0.68**
2016/2017	0.68/0.69*	0.72/0.71	0.68/0.67*	0.68/0.68
2010/2017	0.70/0.69*	0.73/0.71*	0.70/0.67**	0.70/0.68**
<b>** P&lt;0.001</b>	<b>*P&lt;0.05</b>			

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

In cows, significant differences were found between years 2010/2016 and 2010/2017 in all yearly quarters. The lowest NR was found in third quarter 2017, the highest in second 2010. In the third quarter in all observed years NR was always lower than in the second. The seasonal variation in NR60 is consistently lower in the summer than in the winter. Results show the opposite picture to the one described by Refsdal (2007). Similar results were seen in Yániz et al. (2008). Ovarian hypofunction has a clear seasonal distribution (Yániz et al., 2008). The difference appears due to different climate conditions (Norway, Spain). Reason for that kind of result can be a climate changes, since the difference of third quartiles are significantly lower in 2016 and 2017 comparing to the 2010. The level of NR 60 days depends on age and category of the animal (Gramo et al., 2008), season (Yániz et al., 2008), as well as breed (Alvarado et al., 2015). To interpret fertility of cattle NR data is not sufficient, since it does not include animals that were removed from the herd or bred naturally. An important data would be how many animals gave birth in relation to the date of their first insemination. In some populations, the difference between the share of NR60 and share of births is substantial (Garmo et al., 2008). In the Norwegian study overall, NRR60d overestimated the pregnancy incidence by approximately 9%. In heifers, the difference between NRR60d and pregnancy incidence was 6.9%, whereas the same estimate for >second-lactation cows was 11.3%. This demonstrates that the non-return rate was subjected to more bias in older cows than among heifers. But culling of older cows before 60 days after AI was not an important reason for the lower pregnancy incidence (Refsdal, 2007).

**Table 3:** The proportion of cows with interval between first and last insemination more than 70 days

<b>IFL &gt; 70 days</b>	<sup>st</sup> <b>1 Q</b>	<sup>nd</sup> <b>2 Q</b>	<sup>th</sup> <b>3 Q</b>	<sup>th</sup> <b>4 Q</b>
<b>2010/2016</b>	0.33/0.36 **	0.32/0.35**	0.31/0.35**	0.33/0.36**
<b>2016/2017</b>	0.36/0.35	0.35/0.35	0.35/0.35	0.36/0.34*
<b>2010/2017</b>	0.33/0.35*	0.32/0.35**	0.31/0.35**	0.33/0.34
<b>** 0.001</b>	<b>*0.05</b>			

We also analysed the number of animals that were re-inseminated more than 70 days after the first insemination. The share of those inseminations is rather high and constant throughout all periods. It rises only in third quarter of 2016. We can only speculate on the causes.

**Table 4:** The proportion of cows with regular interval between first and last insemination

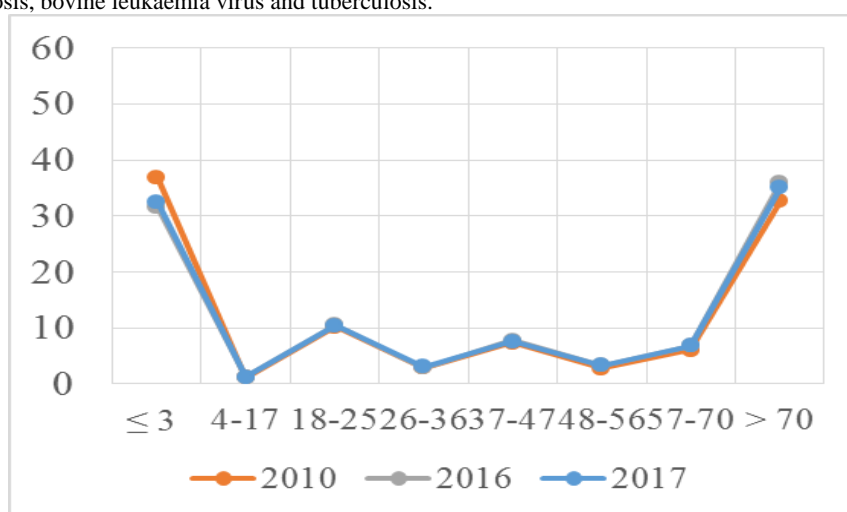
<b>IFL Regular</b>	<sup>st</sup> <b>1 Q</b>	<sup>nd</sup> <b>2 Q</b>	<sup>th</sup> <b>3 Q</b>	<sup>th</sup> <b>4 Q</b>
<b>2010/2016</b>	0.24/0.26 *	0.21/0.22	0.24/0.26*	0.24/0.26*
<b>2016/2017</b>	0.26/0.24*	0.22/0.21	0.26/0.27	0.26/0.25
<b>2010/2017</b>	0.24/0.24	0.21/0.21	0.24/0.27**	0.24/0.25
<b>** P&lt;0.001</b>	<b>*P&lt;0.05</b>			

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

**Table 5:** The proportion of cows with irregular interval between first and last insemination

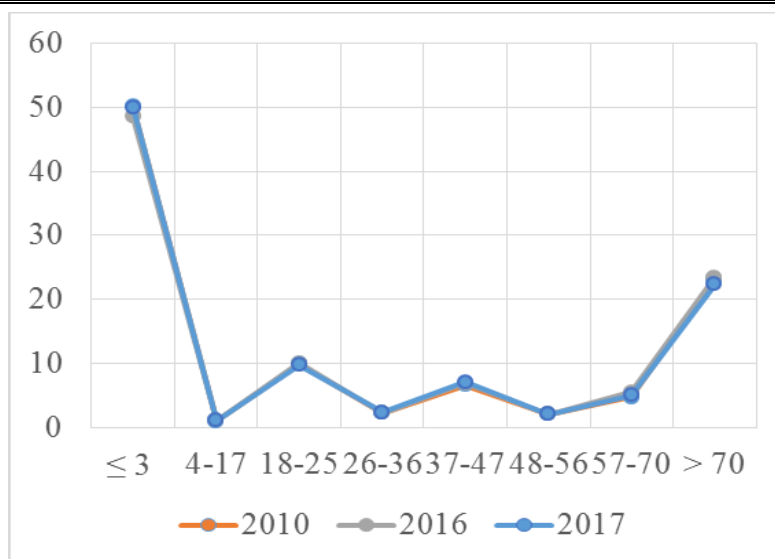
IFL Irregular	<sup>st</sup> 1 Q	<sup>nd</sup> 2 Q	<sup>th</sup> 3 Q	<sup>th</sup> 4 Q
2010/2016	0.08/0.08	0.06/0.06	0.06/0.07	0.06/0.07
2016/2017	0.08/0.07	0.06/0.06	0.07/0.07	0.07/0.07
2010/2017	0.08/0.07	0.06/0.06	0.06/0.07	0.06/0.07
<b>**P&lt;0.001</b>	<b>*P&lt;0.05</b>			

The share of irregular prolonged estruses (prolonged estrus between day 4-17, day 26-36 and day 48-56) is stable, both regarding years and quarters (6.8% to 7.7%). The country is declared free of brucellosis, bovine leukaemia virus and tuberculosis.



**Figure II:** Distribution of IFL (interval between first and last insemination) in cows

The share of cows that were subsequently inseminated 70 and more days after the first insemination was 32.6% in 2010, which is 2% lower than in 2016 and 2017. NR60 was 2% higher in 2010 than in 2016 and 2017. The number of involved cows were 85867 in 2010, 77957 in 2016 and 74040 in 2017.



**Figure III:** Distribution of IFL (interval between first and last insemination) in heifers

The share of heifers, which were subsequently inseminated 70 or more days after the first insemination remains almost constant throughout the years, differing in less than 1%. The number of involved heifers were 24667 in year 2010, 22445 in 2016 and 20619 in year 2017.

More regular prolonged estrus could be linked to heat stress and poorly expressed heat/estrus behaviour. The number of mountings activity in periods with significant weather stress were lower (Lucy, 2001), also pedometers did not show any intensified activity in animals (Yániz et al., 2008). Consequently, inseminations occur at non-optimal times. Prolonged effect of high summer temperatures could still be observed in autumn 2016 and 2017. Interestingly, the higher number of animals that were inseminated after day 70 IFL in fourth quarter could be management's decision in relation to market changes and is not necessarily linked to fertility.

Many factors contribute to the occurrence of fertility disorder, during June to September: ambient temperature, humidity, photoperiod. During the hot season, there is a decrease in feed intake that may compromise the energy balance of the cow and/or induce an imbalance of the hypothalamo-hypophyseal-ovarian axis. These factors reduce the reproductive performance of the cow compromising the quality of follicles, oocytes, embryos and consequently corpora lutea. The adverse effects of heat stress during the warm season are a reduction in the length and intensity of estrus (Hansen and Arechiga, 1999) and an increased incidence of anestrus and silent ovulation (Gwazdauskas et al., 1981). Heat stress in dairy cows alters the patterns of hormone secretion and has negative effects on follicular development. (De Rensis et al., 2017). The physiological cycles of reproduction and milk production determine dairying profitability. Thus making management decisions dynamic and time-dependent. Transition cows in particular face the challenge of negative energy balance and/or disproportional energy metabolism (fatty liver, ketosis, subacute, acute ruminal acidosis); disturbed mineral utilization (milk fever, sub-clinical hypocalcemia); and impaired immune function (retained placenta, metritis, mastitis) (Esposito et al., 2014). Diseases have also direct negative impact on net incomes of a dairy enterprise.

Climate change will bring massive changes to animal agriculture. The reports state that during the next 30 years there could be up to 3 times more days with THI above 70, summer temperatures are expected to rise (Gartner et al., 2017).

In Slovenia, the summer of 2016 had several short-term heat waves, highest average Temperature-Humidity Index (THI) was 73 in July, maximal THI was measured in June and August 75, and in July 78. In the summer of 2017, there were several heat waves as well as eleven stormy days.



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Throughout all three months, average THI was 73, while maximal THI was 77 in June and July and 78 in August. In August, there were five heat storms. During the whole summer, there were 18-49 hot days, depending on the region. (Source: Slovenian Environment Agency (ARSO) archive, 2018).

Inchaisria et al. (2010) used Monte Carlo stochastic dynamic simulation model to estimate the economic loss due to decreased reproductive performance. "Compared to the "good" reproductive performance scenario, the net economic loss per day of increase in calving interval was calculated and included the economic losses and benefits influenced by the increase in calving interval (the economic losses of milk production, selling calves, and the cost of calving management), given the average of economic losses of €0.57, and €0.70 per cow per day in "average" and "poor" reproductive performance scenarios."

**Acknowledgement:** The computer data system Reprowin is supported by Administration of the Republic of Slovenia for Food Safety, Veterinary Sector and Plant Protection.

#### References

1. Alvarado HT, Cecchinato A, Bittante G, 2017, Fertility traits of Holstein, Brown Swiss, Simmental, and alpine Grey cows are differently affected by herd productivity and milk yield of individual cows, *J Dairy Sci* 100, 8220-31.
2. De Rensis F, Lopez-Gatius F, García-Ispuerto I, Morini G, Scaramuzzi RJ, 2017, Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season, *Theriogenology*, Volume 91, Pages 145-53.
3. Esposito G, Irons PC, Webb EC, Chapwanya A, 2014, Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows, *Anim Reprod Sci*, 144, 60– 71.
4. Gantner V, Bobic T, Gantner R, Gregic M, Kuterovac K, Novakovic J, Potocnik K, 2017, Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows, *Int J Biometeorol*, Sep;61(9):1675-85.
5. Garmo RT, Refsdal AO, Karlberg K, Ropstad E, Waldmann A, Beckers JF, Reksen O, 2008, Pregnancy incidence in Norwegian red cows using nonreturn to estrus, rectal palpation, pregnancy-associated glycoproteins, and progesterone, *J Dairy Sci*, Aug;91(8):3025-33.
6. Gwazdauskas FC, Thatcher WW, Kiddy CA, Paape MJ, Wilcox CJ, 1981, Hormonal patterns during heat stress following PGF<sub>2</sub>alpha-tham salt induced luteal regression in heifers, *Theriogenology*, 16:271-85.
7. Hansen PJ, Arechiga CF, 1999, Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow, *J Animal Sci*, 77(Suppl 2).
8. Inchaisria C, Jorritsma R, Vosa PLAM, Van der Weijdena GC, Hogeveena H, 2010, Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle, *Theriogenology*, 74, 835–46.
9. Liao Y, Hu R, Wang Z, Peng Q, Dong X, Zhang X, Zou H, Pu Q, Xue B, Wang L, 2018, Metabolomics Profiling of Serum and Urine in Three Beef Cattle Breeds Revealed Different Levels of Tolerance to Heat Stress, *J Agric Food Chem*, Jul 5;66(26):6926-35.
10. Lucy MC, 2001, Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?, *J Dairy Sci*, 84, 1277-93.
11. McDougall S, 2006, Reproduction performance and management of dairy cattle, *J Reprod Dev* 52:185-194.
12. Philipsson J, Banos G, Arnason T, 1994, Present and future uses of selection index methodology in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 77:3252-61.
13. Refsdal AO, 2007, Reproductive performance of Norwegian cattle from 1985 to 2005: trends and seasonality, *Acta Vet Scand*, 49-5.
14. Salisbury GW, Lodge JR, Van De Mark NL, 1978, Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle 2nd edition, San Francisco, WH Freeman.
15. Source: ARSO Archive 2018: <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/>.
16. Yániz J, López-Gatius F, Bech-Sabat G, García-Ispuerto I, Serrano B, Santolaria P, 2008, Relationships between milk production, ovarian function and fertility in high-producing dairy herds in north-eastern Spain, *Reprod Domest Anim*, Oct ;43 Suppl 4:38-43.

**ФИЗИОЛОШКИ ЗНАЧАЈ Ц ВИТАМИНА КОД ПРЕЖИВАРА**  
**PHYSIOLOGICAL IMPORTANCE OF VITAMIN C IN RUMINANTS**

*Миодраг Лазаревић<sup>1\*</sup>, Саиша Млинар<sup>2</sup>, Александар Миловановић<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Универзитет у Београду - Факултет ветеринарске медицине, Београд, Србија

<sup>2</sup>"Fit Life Veterinary Clinic", Abu Dhabi, UAE

<sup>3</sup>Научни институт за ветеринарство, Нови Сад, Србија

**Кратак садржај**

У соматским ћелијама сисара и птица, аскорбинска киселина (витамин Ц) се синтетише од L-гулонске киселине и због тога се не уклапа у опште прихваћену дефиницију витамина. Изузетак су само примати и заморче, који ово једињење морају уносити пероралним путем. Тако се аскорбинска киселина не сматра значајном у суплементацији преживара и сматрало се да је једина њена практична оправдана употреба код телади млађе од 3 недеље, која је не синтетишу у довољној мери. Она учествује у хидроксилацији лизина и пролина при синтези проколагена и колагена и индукцији репаративних процеса у ткивима. У мозгу, Ц витамин инхибира деловање допамин - зависне аденилат циклазе и на тај начин посредно делује на пренос нервних сигнала. Потребан је и за претварање холестерола у жучне киселине, а због учешћа у метаболизму цитохрома P-450 у јетри, значајан је за процесе детоксикације неких лекова и полутаната. Витамин Ц превентивно делује спречавајући настанак атеросклеротичних наслага у крвним судовима. Такође има улогу у процесима антиоксидативне заштите и делује као антиинфламаторни агенс. Сматра се током стреса он може да ублажи штетно деловање хистамина, а доказано је да има велику улогу у метаболизму кортизола и АСТН. Поједини аутори доводе у везу фреквенцу појављивања малигну оболјења код људи са чињеницом да примати не синтетишу витамин Ц. Још један доказ за комплексну улогу овог једињења је и његов утицај на синтезу полних хормона и процесе репродукције. У новије време се у литератури срећу бројни докази да парентерална апликација витамина Ц има за последицу побољшање функција неутрофилних гранулоцита код већег броја испитиваних врста. Убедљиво је доказано да за обављање својих основних функција, као што су миграција, адхеренција и фагоцитоза неутрофилни гранулоцити имају већу потребу за аскорбинском киселином. На тај начин је несумњиво потврђена улога аскорбинске киселине у одбрани организма од инфективних агенаса и негативних ефеката стреса и код врста које га могу синтетисати.

**Кључне речи:** витамин Ц, неутрофилни гранулоцити, преживари, стрес

**Summary**

In the somatic cells of mammals and birds, ascorbic acid (vitamin C) is synthesized from L-gulonic acid and therefore does not fit in the generally accepted vitamin definition. Exceptions are primates and Guinea pig that have to take this substance by per oral route. Therefore, ascorbic acid is considered as not significant in ruminant supplementation and for a long time it was thought that its only practical usage is in calves that are younger than 3 weeks because they don't synthesize it in sufficient amounts. It takes part in hydroxylation of lysine and proline during collagen synthesis and induction of tissue reparations. In the brain, C vitamin inhibits activity of dopamine - dependent adenyl cyclase thus indirectly influencing transmission of the nerve signals. It is also involved in cholesterol transformation to bile salts and by acting in the cytochrome P-450 metabolism in the liver, it is involved in detoxification of some medicaments and pollutants. Vitamin C prevents formation of atherosclerotic deposits in the blood

vessels. Also, it has a role in the anti-oxidative defense and acts as anti-inflammatory agent. It is believed that during stress, it can ameliorate harmful histamine effects and it also plays a significant role in the cortisol and ACTH metabolism. There are scientists pointing connection between facts that humans can't synthesize vitamin C with higher frequency of malignancies. Another proof of the vitamin C complex role is its influence on the sexual hormones synthesis and reproduction. There are numerous data in the recent literature proving that parenteral vitamin C application leads to the improved neutrophil functions in different species. It is well known, that for fulfilling basic functions such as migration, adherence and phagocytosis neutrophils need more ascorbic acid. In this way, a role of ascorbic acid in the defense against microbial agents and in ameliorating negative stress effects is indubitably confirmed, even in species that are able to synthesize it.

**Key words:** neutrophils, ruminants, stress, vitamin C

#### Увод

Витамин Ц се у ћелијама већине сисара, укључујући и преживаре, синтетише у соматским ћелијама од L-гулонске киселине и према овом критеријуму заправо није сматран витамином за њих. Телад која су млађа од 3 недеље, не могу да синтетишу ово једињење у довољној количини тако да се његово додавање у замене за млеко сматрало оправданим. Осим тога, постоје докази да се суплементацијом говеда витамином Ц могу постићи веома повољни ефекти. Парентерална апликација витамина Ц биковима имала је за последицу стимулацију функција неутрофилних гранулоцита, а веће дозе су спречавале негативан утицај појединих супстанци на ове ћелије. Утврђено је и да неутрофилни гранулоцити имају повећану потрошњу аскорбинске киселине потребне за успешно обављање функција као што су миграција, адхеренција, фагоцитоза и цитолиза. Осим ове улоге, аскорбинска киселина учествује у хидроксилацији лизина и пролина током синтезе проколагена и колагена и у индукцији процеса репарације ткива. Он такође делује као антиоксиданс и антиинфламаторни агенс.

#### ВИТАМИН Ц (L-АСКОРБИНСКА КИСЕЛИНА)

За организме који га не могу синтетисати, витамин Ц је есенцијални нутријент, а код људи је потребан за правилан развој ткива, крвних судова и хрскавице. Неопходан је за стварање АТП-а, допамина, пептидних хормона и тирозина. Он учествује у синтези колагена и помаже функције обрмбеног система тако што подстиче активност леукоцита, повећава ниво интерферона, стимулише синтезу антитела и лучење хормона тимуса. Витамин Ц помаже ресорпцију гвозђа и синтезу хемоглобина, а од значаја је и чињеница да претвара фолну киселину у њен активни облик – фолинску. Делује као антихистаминик и на тај начин ублажава симптоме алергијских манифестација.

#### Биохемијски и биолошки значај витамина Ц

Витамин Ц (L-аскорбинска киселина, аскорбат) је хидросолубилни микронутријент потребан за мноштво биолошких функција и постоји у ткивима свих животиња и виших биљака. Људи, мајмуни, заморчад и рибе морају да га уносе храном, за разлику од већине других животиња и вероватно, свих биљака, који га синтетишу из глукозе. Лако се ресорбује у цревима, тако да се због тога дефицит овог нутријента приписује неадекватном уносу храном.

Ово једињење *in vitro* делује као антиоксиданс и на тај начин штити ћелије од негативних последица оксидативног стреса. Витамин Ц је донор електрона за већи број различитих ензима и као кофактор учествује у ензимским реакцијама, од којих су неке кључне за синтезу колагена. Ово у великој мери објашњава симптоме који су карактеристични за скорбут. При дефициту Ц витамина отежано је зарастање рана и настају капиларна крварења. У случајевима недостатка витамина Ц и рибе оболевају од скорбута, а најочљивији симптоми код њих су сколиоза и тамно пребојавање коже, крварења на перајима, поремећаји у формирању колагена и унутрашња крварења. Рибе које живе у морској води богатој алгама и фитопланктоном су мање подложне овим поремећајима.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

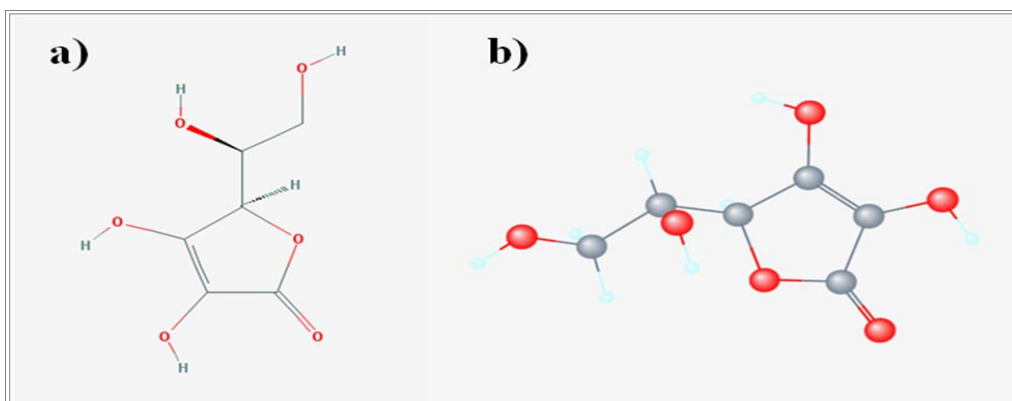
Витамин Ц има значајну улогу у стимулацији имунског система, пре свега због тога што подстиче производњу интерферона чиме доводи до активације макрофага и стимулише хемотаксу неутрофилних гранулоцита. Када су неутрофилни гранулоцити привучени хемотактичком супстанцама, они се релативно брзо дезактивирају и не одговарају на наредне сигнале уколико постоји дефицит витамина Ц. Ово смањује њихов број на месту запаљенске реакције и директно нарушава одбрамбене механизме јединке.

Од великог је значаја чињеница да витамин Ц повећава фагоцитну активност леукоцита и то линеарно са повећањем концентрације. Он стимулише бластогенезу лимфоцита и повећава продукцију антитела, нарочито IgG и Ig M, али и Ig A класе.

#### Синтеза, хемијски састав и физичке особине витамина Ц

У периоду између 1933. и 1934. године, Хирс и Хејворт су успешно синтетисали витамин Ц. Већу количину витамина Ц је синтетисао и пољски хемичар Тадеус Рајхштајн и овај поступак је био погодан за јефтину индустријску производњу у већим количинама. Због рада на синтези Ц витамина, Хејворт је награђен Нобеловом наградом за хемију 1937. године, док је Сент Ђорџи добио Нобелову награду за медицину исте године због открића витамина Ц и његових улога. Занимљиво је да се такозвани "Рајхштајнов процес", који представља комбинацију хемијских реакција и бактеријске ферментације још увек се користи у производњи. Компанија Хофман ла Рош, је откупила права на овај патент 1934. године и постала прва фармацевтска компанија која је масовно производила и продавала синтетички витамин Ц под именом Редоксон.

Према IUPAC номенклатури, аскорбинска киселина, односно витамин Ц, представља (R) - 3,4-дихидрокси - 5 - ((S) - 1,2-дихидроксиетил) фуран-2 (5N) и његова структурна формула приказана је на Слици 1. Молекуларна формула је:  $C_6H_8O_6$ .



Слика 1. Структурна формула витамина Ц: а) 2 D приказ б) 3 D приказ ([http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ascorbic\\_acid#section=Top](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ascorbic_acid#section=Top))

Витамин Ц је L-енантиомер аскорбинске киселине, док D-енантиомер нема физиолошки значај. L-аскорбат је јак редукујући агенс и када делује у том својству, конвертује се у оксидовани облик - L-дехидроаскорбат (Слика 1).

L-дехидроаскорбат се у организму може редуковати у активну L-аскорбатну форму уз учешће глутатиона. Током овог процеса се формира радикал семи-дехидроаскорбинске киселине. Слободни радикал аскорбата слабо реагује са кисеоником, тако да се не формира супероксид. Уместо тога, два радикала семи-дехидроаскорбата реагују и формирају један аскорбат и један дехидроаскорбат. Уз помоћ глутатиона, дехидроаскорбат се поново конвертује у аскорбат. Присуство глутатиона је овде есенцијално, јер он омогућава обнављање аскорбата и повећава антиоксидативни капацитет крви. Без њега не би било конверзије дехидроаскорбата у аскорбат.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Витамин Ц је безбојна, кристална супстанца, моларне масе 176 g/mol, густине 1,694 g/cm<sup>3</sup> и киселог укуса. Добро се раствара у води и метанолу, а знатно слабије у етанолу. Тачка топљења му је 190 °С, а тачка кључања 533 °С. Биолошку активност губи већ на 60 °С. Уништава се кувањем, оксидацијом и деловањем база, а отпоран је на замрзавање. У природи се може наћи само L -облик аскорбинске киселине, који је и биолошки активан. Аскорбинска киселина се релативно лако оксидише кисеоником из ваздуха, а посебно у присуству јона тешких метала (гвожђа или бакра). У одсуству кисеоника, аскорбинска киселина може издржати загревање и до 100 °С.

Водени раствор витамина Ц је киселкаст, а у телесним течностима, аскорбинска киселина је потпуно дисосована на аскорбатни јон и јон водоника. Водоников јон реагује са базним групама протеина или бикарбонатним јоном (HCO<sub>3</sub>). Све физиолошке функције витамина Ц везане су за аскорбатни јон, а натријумове и калијумове соли аскорбинске киселине су такође активне. У оксидо-редукционим процесима аскорбат се оксидише у дехидроаскорбинску киселину, при чему оксидујућим агенсима предаје два атома водоника из хидроксилних група, које се налазе на петочланом прстену. Ова реакција је реверзибилна и уколико дехидро-аскорбинска киселина прими два атома водоника она прелази у аскорбинску киселину и тада делује као оксиданс.

#### Извори витамина Ц

##### *Природни извори*

Биљке су, генерално, добри извори витамина Ц, а његова количина у храни биљног порекла зависи највише од биљне врсте, земљишта, климе, дужине временског периода од брања до употребе, услова складиштења и метода припреме. Најважнији извори су: плод шипка, першунов лист, свежа паприка, црна рибизла, рен, кел, мирођија, карфиол, јагоде, лимун, келараба и поморанце (Nutrient Data Laboratory, 2010).

Неки животињски производи се такође могу користити као извори витамина Ц. Он је најзаступљенији у телећој и говећој јетри, остригама, бакалару и свињској јетри, а најмање га има у мишићима. Како мишићи представљају највећи део меса у исхрани, животињски производи генерално нису добар извор витамина Ц. Он се такође налази у млеку жена, док је у сировом крављем млеку његова количина значајно мања. Сва сувишна количина витамина Ц се из организма излучује преко бубрега ([http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_C#cite\\_note-124](http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C#cite_note-124))

##### *Суплементи*

Аскорбинска киселина је комерцијално доступна у форми чистог кристалног витамина Ц и обложених производа, као што је 97,5% етилцелулоза. Најстабилнији облик витамина Ц, који се користи у индустрији сточне хране је L-аскорбил-монофосфат. Стабилност током складиштења, прераде хране и разлагања је примарно својство по коме се постојећи облици витамина Ц међусобно разликују.

Витамин Ц је у продаји (у хуманим апотекама) доступан у облику капсула, таблета, мулти-витаминских и мулти-антиоксидативних формулација као и у облику кристалног праха. Таблете и капсуле могу бити од 25 до 1500 mg. Кристали витамина Ц (у виду аскорбинске киселине) су обично доступни у боцама у количини од 300 g до 1 kg праха. Боце треба да буду херметички затворене и смеђе или мат обојене како би се спречила оксидација витамина Ц када он губи своја корисна својства а може бити и штетан.

У горе наведеном тексту су примарно коришћени следећи литературни наводи: Itze 1984, McDowel 2000, Hurley и Doane Доане 1989, Mlinar 2016 и Weiss 2017. Потпуни списак референци се може добити од првог аутора на лични захтев.

#### Улоге и значај витамина Ц у организму и исхрани домаћих животиња

Истраживања значаја витамина Ц су текла у следећим правцима:

1. Процена потреба организма за витамином Ц
2. Процена узрока и последица недостатка витамина Ц у организму и
3. Процена потенцијалне токсичности витамина

**Потребе организма за витамином Ц**

Максимална количина витамина Ц у телу је одређена бубрежним прагом реасорпције. Многа ткива одржавају концентрацију аскорбинске киселине на знатно вишем нивоу у односу на могући ниво у крви. У хипофизи и тимусу, аскорбинска киселина се може акумулирати и у сто пута већој концентрацији у односу на крвну плазму. Органи са 10 до 50 пута већом концентрацијом витамина Ц су: плућа, тестиси, мозак, јетра, штитаста жлезда, бубрези, панкреас и плувачне жлезде.

Аскорбинска киселина се у јетри већине сисара и у биљним ћелијама синтетише од глукозе и галактозе. Домаће животиње, укључујући и преживаре, имају способност да синтетишу витамин Ц, али је познато је да организам младунаца преживара све до узраста од четири месеца не може да произведе потребну количину овог једињења (NRC, 2001). Код преживара, количина аскорбинске киселине у организму у потпуности зависи од њене синтезе у соматским ћелијама, будући да перорално унети Ц витамин микроорганизми бурага разлажу веома брзо.

**Табела 1.** Концентрација аскорбинске киселине (mg/L) у крвној плазми здравих преживара (према различитим изворима)

Животињска врста	Концентрација (mg/L)	Референца
Говеда	2,85-4,81	Ataman и сар. (2010)
	2,97-3,63	Padilla и сар. (2006)
	5,42-5,99	Mohamed и сар. (2004)
	5,70-6,20	Chanda (1958)
Бизони	5,30-5,50	Chanda (1958)
Овце	4,67-4,77	Mohamed и сар. (2004)
	4,00-8,00	Mac-Pherson (1983)
Козе	1,75-1,92	Sivakumar и сар. (2010)

Глукоза је једини прекурсор аскорбинске киселине у животињском телу, али треба имати у виду да су потребе за њом повећане у лактацији крава због велике продукције лактозе у вимену. Управо због великих потреба за глукозом, посебно у раном периоду лактације, поједини аутори указују на смањену синтезу аскорбинске киселине код високо-млечних крава, али неки истраживачи наводе да фаза лактације не утиче на њену концентрацију у крвној плазми крава у лактацији. Они сматрају да је организам крава у стању да синтетише довољне количине аскорбинске киселине, која задовољава њихове потребе.

У једном огледу је испитиван утицај прекомерне суплементације витамином Ц на вредности хематолошких параметара и биохемијске параметре у серуму и прираст новорођене телад Холштајн расе. Том приликом је доказано да је број лимфоцита (14. дана) и моноцита (30. дана) био значајно нижи при прекомерној апликацији аскорбинске киселине. Третирана телад је имала значајно нижу концентрацију фибриногена 30. дана након рођења, а значајно повећану концентрацију албумина 60. дана. Нису утврђене значајне разлике у концентрацији бета и гамаглобулина и вредностима албуминско-глобулинског количника. Укупан прираст третиране и нетретиране телад није значајно варирао, али је код женске телад, био значајно већи у поређењу са контролном групом.

Телад долази на свет са високим садржајем аскорбинске киселине у крвној плазми, која се значајно смањује у постнаталном периоду. У једној студији је анализирано варирање концентрација аскорбинске киселине у узорцима крвне плазме и млека б крава, као и крвне плазме њихове телад у периоду од телења до 28 дана живота. Утврђена је двоструко већа концентрација испитиваног параметра у колоструму него у млеку 2 дана након телења, а концентрација аскорбинске киселине у крвној плазми крава је првобитно била нижа него код њиховог потомства и достигла је исти ниво 28. дана након порођаја.

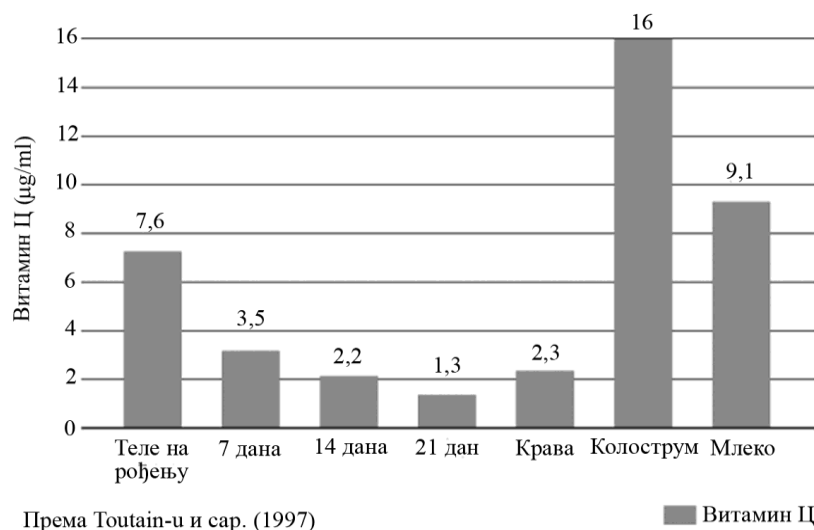
### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Одавно је познато да се у јетри свиња синтететише аскорбинска киселина и сматрало се да укључивање витамина Ц у виду суплемента у исхрану свиња није потребно. Међутим, постоје докази да код високо-продуктивних раса свиња степен ове синтезе није довољан за задовољење потребе током периода неповољних еколошких услова, болести или других стресних ситуација. Поједини аутори указују на побољшања у расту и квалитету меса када се исхрана свиња допуни витамином Ц.

Као хидросолубилни витамин, витамин Ц се може лако доzirати кроз воду за пиће у кратком временском периоду, као и у неким критичним стресним периодима као што је то пре клања. Међутим, он се брзо излучује урином када његова концентрација у плазми пређе бубрежни праг тако да је отворено питање колико овај поступак може утицати на квалитет меса. Концентрације аскорбинске киселине у крвној плазми су ниже код телаци, телаци на млечној исхрани и јунади уколико се узгајају у стресним условима (клизав под, хладноћа) него код животиња смештених у бољим условима (NRC, 2001). Због тога је дата препорука да се исхрана телаци на млечној исхрани али у стресним условима, дневно допуни са 200 до 2000 mg витамина Ц. Дневне потребе животиња које се налазе у задовољавајућим условима се крећу од 50 до 250 mg/kg хранива.

Проучавањем утицаја исхране допуњене различитим дозама витамина Ц на његову концентрацију у крвној плазми и млеку 32 краве расе Холштајн у средини лактације, утврђено је да суплементација витамином Ц није утицала на састав и принос млека, као и ни на повећање концентрације аскорбинске киселине у њему. Код клинички здравих јапанских црних говеда (укључујући 135 телета, 238 товне јунице, 524 товне јунади, 127 јуница и крава које нису у лактацији) ниво аскорбинске киселине у крвној плазми се смањивао током това, али пол и старост јединки нису имале утицаја на вредности овог параметра.

Ниво витамина Ц у плазми млечне телаци има тенденцију смањења током прве три недеље живота до концентрација које су ниже од оних установљених код крава. Колострум се сматра добрим извором аскорбинске киселине, док су њене концентрације у млеку ограничене (слика 2).

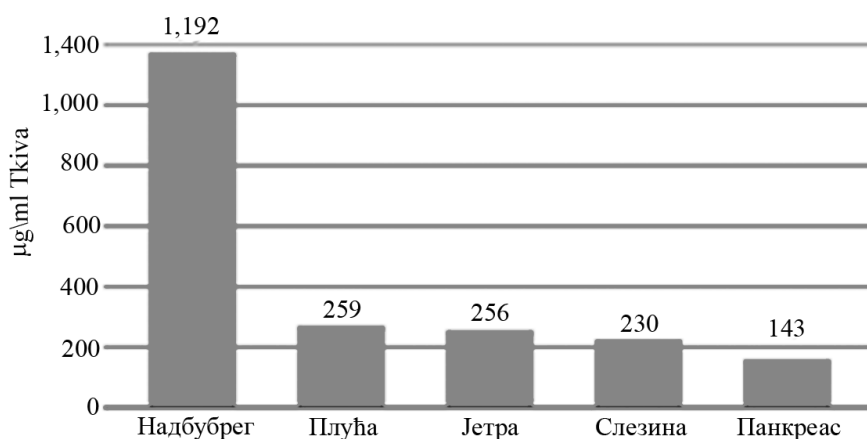


Слика 2. Концентрације витамина Ц у крвној плазми млечне телаци и крава као и у колоструму и млеку (Toutain и сар., 1997)

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Toutain и сар., 1997 наводе да се аскорбинска киселина може депоновати у извесној мери у појединим ткивима тако да велике дозе витамина Ц код телади немају ефекта и неће бити искоришћене од стране организма.

Усвајање и разлагање витамина Ц, који се у виду суплемената додаје у храну за домаће животиње, зависи од облика препарата у којима се он налази. Тако је доказано да је аскорбил-2-полифосфат у исхрани преживара стабилнији од кристалног витамина Ц и ефикаснији у повећању концентрације аскорбинске киселине у крвној плазми млечних крава. Постоје и наводи да су краве којима је перорално давано 40 g/дан витамина Ц обложеног етилцелулозом имале виши ниво витамина Ц у крвној плазми него када је коришћен кристални витамин Ц. Није утврђена велика разлика у нивоу аскорбинске киселине у крвној плазми оваца суплементираних кристалним витамином Ц, етил-целулозом-обложеним витамином Ц, аскорбил-2-полифосфатом и натријум аскорбатом. Ови резултати нису у сагласности са истраживањима чију резултати указују на израженије разлагање витамина Ц у кристалном облику, у бурагу преживара.



Према Toutain-у и сар. (1997)

■ Витамин Ц

Слика 3. Концентрација витамина Ц у појединим органима телади на млечној исхрани (Toutain и сар., 1997)

Доказано је да интрамускуларна апликација витамина Ц има за последицу виши ниво аскорбинске киселине у крвној плазми у односу на интравенску примену (Black and Hidioglou, 1996)

#### Недостатак витамина Ц у организму

Обољење које настаје услед недостатка витамина Ц се назива скорбут. Како преживари синтетишу аскорбинску киселину, они су мање подложни настанку ове болести чак и у неонаталном периоду, пре него што синтеза аскорбинске киселине достигне свој пун капацитет. Ипак се у литератури наводи да код телади услед недостатка витамина Ц могу настати лезије у усној дупљи и на кожи, низак ниво аскорбата у крвној плазми, повећана осетљивост на инфекције, болови у мишићима и поткожна крварења. Недостатак витамина Ц доводи до нарушавања процеса хемотаксије неутрофилних гранулоцита и макрофага, као и механизма одбране Т-лимфоцита од узрочника респираторних обољења (Nemila и Douglas, 1999).

Краве и телад који угину од скорбута имају карактеристичне промене на слузокожи усне дупље, њушкама и кожи, велики губитак телесне масе и општу изнемоглост. Дерматоза, праћена



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

опадањем длаке и задебљањем коже, забележена је код телаци која се хране недовољном количином млека.

Концентрација глукозе у крвној плазми кетозних крава је била нижа него код здравих јединки, али нису доказане разлике у концентрацији витамина Ц у крвној плазми у током ране лактације. Чини се да организам кетозних крава има способност да синтетише ону количину витамина Ц која је довољна да задовољи њихове потребе и у условима смањене концентрације глукозе. Установљено је такође да суплементација витамином Ц спречава појаву дијареје код телаци.

Стрес, који је изазван пресељењем, болестима, временским променама, транспортом или неким другим факторима, је највероватније узрок мањег недостатка витамина Ц код преживара. Међутим, до сада у бројним студијама нису одређене јасне границе за ниво витамина Ц, који је потребан за оптимално здравствено стање и развој телаци, јагњаци или јаради. Због тога се допуна замене за млеко, витамином Ц у исхрани домаћих животиња до нивоа сличних оним у пуномасном млеку може сматрати препоручљивом.

Топлотни стрес повећава производњу слободних радикала кисеоника који могу имати различите штетне ефекте, укључујући појаву и учесталост појединих обољења и репродуктивне проблеме код млечних крава. De-Rodas и сар. (1998) и Sahin и сар., (2003) наводе да суплементација витамином Ц може утицати на опоравак живине и залучене прасаци, изложене топлотном стресу.

Концентрација витамина Ц у крвној плазми млечних крава је била смањена за 50% у условима високих температура у односу на оптималне амбијенталне услове. Поред тога, утврђено је и да је концентрација витамина Ц у плазми крава у лактацији била значајно нижа током лета него у јесен (Padilla и сар., 2006, Tanaka и сар., 2008). Резултати истраживања на биковима указују на смањен ниво витамина Ц у крви, који је настао као последица стреса у условима велике хладноће (Hidoroglou и сар., 1977), а утврђен је и знатно нижи садржај Ц витамина у крвној плазми телаци са бронхопнеумонијом него код здравих животиња. Проучавајући однос између концентрације аскорбинске киселине и телесне тежине телаци у великим комерцијалним објектима, доказана је негативна корелацију између ова два параметра код телаци у узрасту од 2 до 22 недеље. Утврђена је и корелација између недостатка витамина Ц са једне стране и бола у скелетним мишићима и поткожног крварења код телаци, са друге стране.

Промене у садржају аскорбинске киселине у крвној плазми телаци углавном варирају у зависности од узраста, а код једнојачане близаначке телаци концентрације су скоро исте што указује да је процес синтезе Ц витамина генетски условљен. Сматра се да телад у узрасту до четири месеца може да има недостатак витамина Ц и што може да утиче на смањену отпорност у раним фазама живота због тога што у овом периоду бактеријска синтеза витамина Ц у цревима не обезбеђује његове довољне количине (Miller и Kornegay, 1983).

Телад из стада, које се карактерише лошим здравственим стањем, углавном има смањен ниво аскорбинске киселине током критичног периода живота - од рођења до две недеље старости. Palludan и Wegger (1984) и Hemingway (1991) сматрају да додавање витамина Ц у количини од 1250 до 2500 mg дневно утиче на смањење стопе појаве обољења респираторних органа у овом узрасту.

Palludan и Wegger (1984) су утврдили низак садржај аскорбинске киселине у крвној плазми телаци старости од 10 недеља, али и постепено повећање њене концентрације у току каснијег периода. Они указују на недовољну синтезу аскорбинске киселине у јетри телаци и неопходност суплементације витамином Ц.

Kolb (1984) је издвојио следеће најзначајније факторе стреса, који утичу на повећање потреба за витамином Ц у циљу очувања оптималног здравственог стања и телесног развоја телаци: а. неадекватна исхрана или неадекватно конзумирање колострума; б. гастро-интестиналне и респираторне болести; в. кастрација и вакцинација; г. залучење и премештај из индивидуалног у групни смештај; д. стрес због транспорта; ђ. паразитске инфекције и е. нагле и екстремне промене временских услова.

Под овим условима, суплементација са 1 до 2 g витамина Ц дневно се сматра корисном. Код младе телаци, којој је у исхрани додаван витамин Ц, примећено је побољшано здравствено

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

стање, које се огледало у смањењу учесталости појаве дисајних инфекција, перитонитиса, пнеумоније, ентеритиса и смањењу морталитета.

На основу резултата ових истраживања, може се закључити да су млади преживари осетљиви на недостатак витамина Ц у току првих неколико недеља живота, нарочито у условима стреса, као и када су изложени болестима или ограниченој исхрани колострумом. Такође се сматра да витамин Ц није есенцијалан дијетални додаток у исхрани одраслих преживара, али да је за њих користан када се витамин Ц додаје у исхрани у условима стреса или болести као што је маститис.

#### **Потенцијална токсичност витамина Ц у организму**

Витамин Ц нема изражену токсичност. Он се перорално може давати већини лабораторијских животиња у дозама од неколико грама по килограму телесне тежине без негативних ефеката на здравље (NRC, 1987). Leeson и Summers (2001) наводе да се токсичност витамина Ц може сагледати кроз ометање оксидативних система у јетри уз повећану акумулација гвожђа. О токсичности витамина Ц код преживара нема података у литератури.

#### **Улоге витамина Ц у функцијама имунског система домаћих животиња**

Витамин Ц може индиректно побољшати имунски одговор, омогућавајући одржавање нивоа витамина Е у ткивима и због тога се сматра да је потребан за раст организма и опоравак ткива. Осим тога, његова улога се може сагледати кроз оцену антиоксидативне способности и нивоа аскорбинске киселине у неутрофилним гранулоцитима, који имају кључну улогу у иницијалном одговору на инфективне агенсе (Padayattu и сар., 2003; 2002)

Последице супклиничког недостатка аскорбинске киселине могу бити веома комплексне и њен оптималан ниво у организму је од великог значаја за ефикасност имунског система (Bendich, 1992). Бактерије и вируси повећавају производњу слободних радикала у зараженом организму и тако утичу на смањење нивоа аскорбинске киселине слабећи одбрамбене функције (Beisel, 1982). Оптималан ниво аскорбинске киселине и других антиоксидативних витамина, као што је витамин Е, значајно смањује штетно дејство слободних радикала (Politis и сар., 1995).

Сматра се да аскорбинска киселина штити ДНК ћелија од оштећења слободним радикалима, спречава инфекције јачањем ћелијске мембране и штити фагоцитне ћелије од оксидативних оштећења (Nagorna – Stasiak и сар., 1997). Утврђено је и да су поједини антиоксиданси, укључујући витамин Ц, у стању да спрече оштећења леукоцита у различитом степену. Тако је заштита аскорбинском киселином у једном огледу била 41%,  $\alpha$ -токоферолом 55%, а  $\beta$ -каротеном 50% (Ramanthan и сар., 2002).

Недостатак аскорбинске киселине смањује способност неутрофилних гранулоцита да мигрирају на место инфламације и доводи до повећаног оксидативног оштећења ових ћелија уз смањену синтезу хипохлорне киселине. Када је ниво аскорбинске киселине оптималан, пролиферација лимфоцита се несметано одвија (Anderson и сар., 1990), а производња интерферона је значајно стимулисана (Gerber, 1975). Неутрофилни гранулоцити садрже око 40-60 пута више витамина Ц него крвна плазма и доказано је да су покретљивост и фагоцитни капацитет ових ћелија побољшани након суплементације витамином Ц (Padayattu и сар., 2003). Vaspinar и сар., (1998) наводе да повећање интрацелуларне концентрације Ц витамина у неутрофилним гранулоцитима значајно стимулише фагоцитозу и повећава антимикуробно деловање ових ћелија. Међутим, егзактни механизми деловања аскорбата на метаболизам и функције неутрофилних гранулоцита (хемотаксију и фагоцитозу) нису још увек у потпуности разјашњени.

#### **Значај нивоа витамина Ц у крви и млеку крава са маститисом**

Имунски систем, не функционише оптимално током периода неухрањености. Када одређене хранљиве материје и антиоксиданси, као што су неки витамини, нису дати у одговарајућим количинама може доћи до поремећаја његових функција. Код млечних крава, ово се често дешава у случајевима маститиса.

Аскорбинска киселина је најзаступљенији и најважнији хидросолубилни антиоксиданс код сисара (Sauberlich, 1994). Она није есенцијални нутритијент за млечне краве иако резултати бројних истраживања потврђују јасну везу између нивоа аскорбинске киселине у крвној плазми и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

млеку са једне стране и појаве маститиса с друге стране, као и између правилне допунске исхране и терапије витамином Ц и учесталости појаве и озбиљности маститиса. Наводе се и позитивни ефекти суплементације витамином Ц на принос и квалитет млека код крава, а озбиљност клиничких знакова маститиса је у корелацији са степеном смањења концентрације витамина Ц у крвној плазми (Weiss и сар., 2004). Утврђено је да додаток витамина Ц у храну млечних крава има за последицу бржи опоравак од акутне упале вимена и смањење броја соматских ћелија у млеку (Chaiyotwittayakun и сар. 2002, Weiss иHogan, 2007). Постоје подаци који указују на изражено смањење садржаја витамина Ц у крвној плазми крава у лактацији, код којих су забележени симптоми маститиса (Weiss и сар., 2004; Kleczkowski и сар., 2005), као и код оних, које су биле изложене топлотном стресу (Padilla и сар., 2006). Трајање клиничког маститиса, висока телесна температура, број формираних колонија бактерије *E. coli* изолованих из заражене жлезде и губитак у приносу млека су у корелацији са променом концентрације витамина Ц у млеку (Weiss и сар., 2004).

Chaiyotwittayakun и сар. (2002) су утврдили да је интравенски третман аскорбинском киселином два пута у року од 8 часова у количини од 25 g утицао на смањење интензитета акутне упале вимена, претходно индуковане интраамарном инфузијом ендотоксина. Примена аскорбинске киселине поткожном инјекцијом у количини од 25 mg/kg телесне масе стимулисала је опоравак од клиничког маститиса код крава третираних антибиотицима (Naresh и сар., 2002). Осим тога Weiss и Hogan (2007) су утврдили да додаток витамина Ц у облику аскорбил-2-полифосфата у количини од 30 g/дан утиче на смањење броја соматских ћелија у млеку крава са маститисом, индукованим инфузијом ендотоксина, али да не побољшава ефикасност неутрофилних гранулоцита из крви. Постоје докази да је стопа опоравка код крава лечених антибиотицима и додатком L-аскорбинске киселине већа. Kleczkowski и сар. (2005) су спровели истраживање на 56 крава, распоређених у пет група, од којих је четири било са клиничким формама маститиса изазваним бактеријама *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* и *Escherichia coli*. Они су утврдили да је ниво аскорбата у крвном серуму крава са маститисом значајно нижи (29,4  $\mu\text{mol/L}$ ) у поређењу са контролном групом (64,9  $\mu\text{mol/L}$ ). Von Wendt је још 1938. године доказао да садржај аскорбинске киселине у млеку зависи од здравственог стања вимена и наводи да се тај садржај у млеку инфициране четврти брзо смањује и може пасти скоро на нулу. Уколико су све четвртине заражене, мешовито млеко може бити потпуно без аскорбинске киселине. Слично овим резултатима, Reineke и сар. (1941) су утврдили су да инфекција вимена утиче на смањење концентрације аскорбинске киселине у млеку у свим четвртима вимена, при чему је степен смањења у корелацији са интензитетом инфекције. Аутори наводе да је концентрација аскорбинске киселине у млеку била смањена у раним фазама маститиса за око 10 %, док је у каснијим фазама то смањење 30 до 50 %.

Неутрофилни гранулоцити су примарни одбрамбени механизам домаћина и њихова реакција зависи од учесталости и интензитета маститиса млечних крава (Craven и Williams, 1985). Weiss и сар., (2004) су одређивали концентрацију аскорбинске киселине и дехидро-L-аскорбинске киселине у крвној плазми код 21 грла краве расе Холштајн, пре и након интраамарне инфузије бактеријом *Escherichia coli*. Они су доказали смањење концентрације витамина Ц (аскорбинска киселина + дехидро-L-аскорбинска киселина) у крвној плазми за 39 %, у млеку за 52%, а чак 62 % у узорцима узетим након 24 сата од заражавања са *E. coli*. Изражено смањење концентрације Ц витамина у млеку је било у корелацији са степеном озбиљности клиничких манифестација маститиса. Корелација између нивоа витамина Ц у крвној плазми и изражености клиничких знакова маститиса, није била статистички значајна. Weiss и Hogan (2007) наводе да су концентрације витамина Ц у неутрофилним гранулоцитима, изолованим из млека, око три пута веће од концентрација овог витамина у истим ћелијама пореклом из крви.

Доказано је да антиоксиданси повећавају одбрамбене функције неутрофилних гранулоцита у току клиничког и субклиничког маститиса (Hogan и сар., 1992; Van Meris и сар., 2004). Овде се пре свега мисли на витамине А, Ц, Е, селен и  $\beta$ -каротен који имају утицаја на појаву и трајање инфекције што је утврђено мерењем садржаја ових једињења у крви и млеку крава са клиничким и супклиничким маститисом (Erskine и сар., 1989; Kleczkowski и сар., 2005). У складу са тим, Musal и сар. (2007) су одређивали ниво антиоксиданаса у крви, укључујући витамине А и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Ц, β-каротен, глутатион и церулоплазмин, као и оксидативни стрес маркер (малондиалдехид) код холштајн-фризијских крава са супклиничким маститисом. Њихови резултати указују да се током супклиничког маститиса значајно мења антиоксидативни капацитет у крвној плазми крава и да га ефикасни интрамамари третман делимично обнавља као и концентрацију витамина Ц у крви.

Radostich и сар. (1994) наводе да су високо-млечне краве највише склоне хипогликемији или током последњих фаза гравидитета, или на врхунцу лактације. Ова чињеница може бити од значаја због тога што је глукоза прекурсор за синтезу Ц витамина. Roth и Kaerberle (1985) указују да је терапија маститиса, допуњена витамином Ц, знатно стимулисала деструкцију бактерије *Staphylococcus aureus* од стране неутрофилних гранулоцита.

Анализом интеракције антибиотика, бактерија и функција појединих компоненти имунског система установљено је да је стопа опоравка од супклиничког маститиса висока захваљујући утицају аскорбинске киселине на функције неутрофилних гранулоцита млека (Craven, 1987, Calsamiglia S и Rodriguez, 2012).

У једној опсежној студији која је недавно изведена код нас (Млинар, 2016) доказано је да је после 5-дневне апликације високих доза витамина Ц дошло до смањења или изостанка СМТ (California Mastitis Test) позитивне реакције у млеку пореклом из 70% четврти третираних крава у фази ране лактације. У млеку крава са супклиничким маститисом, третираних високим дозама витамина Ц, дошло је до смањења броја бактеријских колонија за 40,35 %, док је у контролној групи ово смањење износило 31,70 %. Доминантни изолати су били *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* у *Prototheca aureus* као и апатогени сојеви из рода *Micrococcus* и *Bacillus*. Укупан број бактеријских изолата је такође био смањен у третираној групи крава (75 : 66 и 34 : 33). Број соматских ћелија у млеку је након третмана витамином Ц, био значајно смањен ( $p < 0,05$ ) и излечење је утврђено у 66,67 % случајева (24/36 четврти). У контролној групи је од 12 четврти, спонтано дошло до смањења броја ћелија само у једном случају (8,33 %). Третман високим дозама витамина Ц није утицао на параметре црвене крвне слике, а укупан број леукоцита, полиморфонуклеарних леукоцита и лимфоцита, као и њихов однос такође се није мењао у зависности од третмана витамином Ц. Код грла у раној лактацији, са позитивном СМТ реакцијом у млеку, број полиморфонуклеарних леукоцита је био повећан. Код крава третираних супкутано Ц витамином регистровано је статистички високо значајно повећање процента активираних полиморфонуклеарних леукоцита и моноцита крви ( $p < 0,001$ ) укључених у процес фагоцитозе као и већи интензитет фагоцитозе (MFI - Mean Fluorescence Intensity), што говори о снажном стимулативном дејству витамина Ц на одбрамбени систем. Стимулативни ефекти су забележени и код полиморфонуклеарних леукоцита млека али је фагоцитоза била ниског интензитета ( $< 5$  % активних ћелија;  $p < 0,05$ ). Процент полиморфонуклеарних леукоцита крви који су извршили респираторни прасак је био статистички значајно виши ( $p < 0,05$ ) у групи крава третираној витамином Ц, док је просечан интензитет њихове флуоресценце (MFI, као индикатор снаге РОС – Reactive Oxygen Species реакције) био само нумерички виши и у крви и у млеку. Фагоцитна способност полиморфонуклеарних леукоцита и моноцита је била смањена после њихове миграције из крвотока у лумен млечне жлезде, док су интензитет респираторног праска и проценат активираних ћелија били слични као код полиморфонуклеарних леукоцита из крви. Високе дозе витамина Ц су смањивале вредности респираторног праска моноцита у крви, али ове разлике нису биле статистички значајне.

Из ових резултата се јасно може закључити да терапија супклиничких маститиса високим дозама витамина Ц може бити прихватљива алтернатива или значајна потпора антибиотској терапији.

**Захвалница:** Овај рад је делимично финансијски подржан средствима пројекта III 46002 МНТР Републике Србије

#### Литература

1. Anderson R, Smit MJ, Joone GK, Van Staden AM, Vitamin C and cellular immune functions: protection against hypochlorous acid-mediated inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and ATP generation in human leukocytes as a possible mechanism of ascorbate mediated

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

- immunostimulation, *Ann N Y Acad Sci*, 1990, 587, 34-48. 2. Ataman MB, Erdem H, Bulbul B, Haliloglu S, Cinar M, Akoz M. Plasma beta-carotene, vitamin A and vitamin C levels in cyclic and pregnant cows, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010, 16, 4, 579-84. 3. Baspinar N, Bas AL, Haliloglu S, Elmas M, Yazar E, The Effects of Intracellular Vitamin C Concentrations on Bovine Neutrophils Functions In Vitro, *Rev Med Vet*, 1998, 149, 10, 931 – 8. 4. Beisel WR, Single nutrients and immunity, *Am J Clin Nutr*, 1982, 35, 2 Suppl, 417-68. 5. Bendich A. Antioxidant Vitamins and Their Functions in Immune Responses, In: Bendich A, Phillips M, Tengerdy RB, editors, *Antioxidant nutrients and their immune functions*, New York Plenum Publishing Co, 1989, 408-21. 6. Black WD, Hidiroglou M, Pharmacokinetic study of ascorbic acid in sheep, *Can J Vet Res*, 1996, 60, 3, 216-21. 7. Calsamiglia S, Rodriguez M, Optimum vitamin nutrition in dairy cattle, In: *Optimum vitamin nutrition in the production of quality animal foods*, UK 5M Publishing, 2012, 335-85. 8. Chaiyotwittayakun A, Erskine RJ, Bartlett PC, Herdt TH, Sears PM, Harmon RJ. The effect of ascorbic acid and L-histidine therapy on acute mammary inflammation in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 2002, 85, 1, 60-7. 9. Chanda R, The effect of thyroxine on phosphatase, ascorbic acid and tocopherol content in the blood and milk of the cow and the buffalo, *Curr Sci*, 1958, 27, 3, 102-4. 10. Craven N, Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation, *Br Vet J*, 1987, 143, 5, 410-22. 11. Craven N, Williams MR, Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancements, *Vet Immunol Immunopathol*, 1985, 10, 1, 71-7. 12. De-Rodas BZ, Maxwell CV, Davis ME, Mandali S, Broekman E, Stoecker BJ, L-ascorbyl-2-polyphosphate as a vitamin C source for segregated and conventionally weaned pigs, *J Anim Sci*, 1998, 76, 6, 1636-43. 13. Erskine RJ, Eberhart RJ, Hutchinson LJ, Scholz RW, Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts, *JAVMA*, 1987, 190, 11, 1417-21. 14. Gerber WF, Effect of ascorbic acid, sodium salicylate and caffeine on the serum interferon level in response to viral infection, *Pharmacology*, 1975, 13, 3, 228-33. 15. Hemila H, Douglas RM, Vitamin C and acute respiratory infections, *Int J Tuberc Lung Dis*, 1999, 3, 9, 756-61. 16. Hemingway DC, Vitamin C in the prevention of neonatal calf diarrhea, *Can Vet J*, 1991, 32, 3, 184. 17. Hidiroglou M, Ivan M, Lessard JR, Effects of ration and inside versus outside housing on plasma levels of ascorbic acid, lactic acid, glucose and cholesterol in Hereford steers wintered under practical condition, *Can J Anim Sci*, 1977, 57, 519-29. 18. Hogan JS, Weiss WP, Todhunter DA, Smith KL, Schoenberg PS, Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E, *J Dairy Sci*, 1992, 75, 2, 399-405. 19. Hurley LW, Doane RM, Recent Development in the Roles of Vitamins and Minerals in Reproduction, *J Dairy Sci*, 1989, 72, 784-804. 20. Itze L. Ascorbic acid metabolism in ruminants, In: Wegger I, Tagwerker FJ, Moustgaard J, editors, *Proceedings of the Workshop on Ascorbic Acid in Domestic Animals*. Copenhagen, The Royal Danish Agricultural Society, 1984, 126. 21. Vitamin\_C daily\_requirements [Internet]. [cited 2015 Nov 9]. Available from: [http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_C#Daily\\_requirements](http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C#Daily_requirements). 22. (http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\_C#cite\_note-124). 23. Ascorbic acid [Internet]. [cited 2015 Nov 9]. Available from: [http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ascorbic\\_acid#section=Top](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ascorbic_acid#section=Top). 24. Kleczkowski M, Kluciński W, Shaktur A, Sikora J, Concentration of ascorbic acid in the blood of cows affected with mastitis, *Bull Vet Inst Pulawy*, 2005, 49, 203-7. 25. Kolb E, *Lehrbuch des physiologic der haustiere*, 1962, Jena, 347. 26. Leeson S, Summers JD, Scott's Nutrition of the Chicken. 4<sup>th</sup> ed. Guelph: University Books, 2001. 27. Mac-Pherson A, Plasma ascorbic acid in sheep as affected by cobalt status. *Proceedings of the Workshop on Ascorbic Acid in Domestic Animals*. Skjoldenaesholm, Denmark: Scandinavian Association of Agricultural Scientists and the Royal Danish Agricultural Society, 1983, 148-51. 28. McDowell RL, in *Vitamins in Animal and Human Nutrition*, Second Edition, Ch 15, Vitamin C, 2000, 597-639. 29. Miller ER, Kornegay ET, Mineral and vitamin nutrition of swine, *J Anim Sci*, 1983, 57 Suppl 2, 315-29. 30. Mlinar S, Uticaj visoke doze C vitamina na funkcije neutrofilnih granulocita visoko-mlečnih krava sa supkliničkim mastitisima, 2016. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 286 str. 31. Mohamed HE, Mousa HM, Beynen AC, Vitamin C status of Sudanese cattle and sheep, *J Biol Sci*, 2004, 4, 6, 778-9. 32. Musal B, Ulutas PA, Turkyilmaz S, Blood vitamin C, vitamin A, beta-carotene, ceruloplasmin, glutathione and malondialdehyde concentrations in cows with subclinical mastitis treated with intramammary antibiotics, *Rev Med Vet*, 2007, 158, 12, 633-40. 33. Nagórna-Stasiak B, Lechowski J, Kowalczyk M, The effect of vitamin E on ascorbic acid synthesis in chicken, *Med Weter*, 1997, 53, 4, 224-6. 34. Naresh R, Dwivedi SK, Swarup D, Patra RC, Effect of ascorbic acid on milk lead and

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

cadmium level on subclinical and clinical cases of mastitis, *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, 71, 5, 899-904. 35. NRC, Vitamin tolerance of animals. Washington, DC: National Academy of Sciences - National Research Council, 1987. 36. NRC, Nutrient requirements of swine. 10<sup>th</sup> ed. Washington, DC: National Academy Press, 1998. 37. NRC, Nutrient requirements of domestic animals: nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> review ed. Washington, DC: National Academy of Sciences - National Research Council, 2001. 37. Nutrient Data Laboratory, USDA National nutrient database for standard reference release 23, USA: United States Department of Agriculture Research Service, 2010. 39. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al, Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention, *J Am Coll Nutr*, 2003, 22, 1, 18-35. 40. Padilla L, Matsui T, Kamiya Y, Kamiya M, Tanaka M, Yano H, Heat stress decreases plasma vitamin C concentration in lactating cows, *Livest Sci*, 2006, 101, 1-3, 300-4. 41. Palludan B, Wegger I, Plasma ascorbic acid in calves-relations to age and individuality. In: Wegger I, Tagwerker FJ, Moustgaard J, editors, Proceedings of the Workshop on Ascorbic Acid in Domestic Animals, Copenhagen: The Royal Danish Agricultural Society, 1984, 131. 42. Politis I, Hidioglou M, Batra RT, Gilmore JA, Gorewit RC, Sherf H, Effects of vitamin E on immune function of dairy cows, *Am J Vet Res*, 1995, 56, 2, 179-84. 43. Radostits O, Blood DC, Gay CC, Veterinary medicine, 8<sup>th</sup> ed. London-Philadelphia-Sydney-Tokio-Toronto, Baillere Tindal, 1994. 44. Ramanathan K, Balakumar S, Panneerselvam C, Effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol on arsenic-induced oxidative stress, *Hum Exp Toxicol*, 2002, 21, 12, 675-80. 45. Reineke EP, Garrison ER, Turner CW, The relation of mastitis to the level of ascorbic acid and certain other constituents in milk, *J Dairy Sci*, 1941, 24, 41-50. 46. Roth JA, Kaeberle ML, *In vivo* effect of ascorbic acid on neutrophil function in healthy and dexamethasone treated cattle, *Am J Vet Res*, 1985, 46, 12, 2434-6. 47. Sahin K, Onderci M, Sahin N, Gursu MF, Kucuk O, Dietary vitamin C and folic acid supplementation ameliorates the detrimental effects of heat stress in Japanese quail, *J Nutr*, 2003, 133, 6, 1882-6. 48. Sauberlich HE, Pharmacology of vitamin C, *Annu Rev Nutr*, 1994, 14, 371-91. 49. Sivakumar AVN, Singh G, Varshney VP, Antioxidants supplementation on acid base balance during heat stress in goats, *Asian-Aust J Anim Sci*, 2010, 23, 11, 1462-8. 50. Tanaka M, Kamiya Y, Suzuki T, Kamiya M, Nakai Y, Relationship between milk production and plasma concentrations of oxidative stress markers during hot season in primiparous cows, *Anim Sci J*, 2008, 79, 4, 481-6. 51. Toutain PL, Bechu D, Hidioglou M, Ascorbic acid disposition kinetics in the plasma and tissues of calves, *Am J Physiol*, 1997, 273 (5 Pt 2), R1585-97. 52. van Merris V, Meyer E, Duchateau L, Blum J, Burvenich C, All-Trans Retinoic acid is increased in the acute phase related hypoproteinemia during *Escherichia coli* mastitis, *J Dairy Sci*, 2004, 87, 4, 980-7. 53. von Wendt G, C-Vitamin studien: C-Vitamin in der Kuhmilch, *Scand Arch Physiol*, 1938, 80, 3, 398-402. 54. Weiss WP, Hogan JS, Effects of dietary vitamin C on neutrophil function and responses to intramammary infusion of lipopolysaccharide in periparturient dairy cows, *J Dairy Sci*. 2007, 90, 2, 731-9. 55. Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*, *J Dairy Sci*, 2004 Jan, 87, 1, 32-7. 56. Weiss WP, A 100 – Year Review: From ascorbic acid to zinc – Mineral and vitamin nutrition of dairy cows, *J Dairy Sci*, 2017, 100, 10045-60, <http://doi.org/103168/jds.2017 - 12935>.

**PORCINE CIRCOVIRUS 3: НОВИ ВИРУС СА ЈОШ НЕДОВОЉНО  
ПОЗНАТИМ УТИЦАЈЕМ НА ЗДРАВЉЕ СВИЊА**

**PORCINE CIRCOVIRUS 3: A NEW VIRUS WITH AN INSUFFICIENTLY  
UNDERSTANDING IMPACT ON HEALTH OF PIGS**

**Божидар Савић<sup>1,2</sup>, Весна Милићевић<sup>1</sup>, Оливер Радановић<sup>1</sup>, Немања Здравковић<sup>1</sup>, Огњен  
Стеванчевић<sup>2</sup>, Бранислав Курељушић<sup>1</sup>, Марко Цинцовић<sup>2</sup>, Иван Вујанац<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Научни институт за ветеринарство Србије, Београд;

<sup>2</sup>Пољопривредни факултет, Департман за ветеринарску медицину, Универзитета у Новом Саду;

<sup>3</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

*Porcine circovirus 3* (PCV3) је недавно откривени вирус који припада породици *circoviridae*. Представља трећег члана рода *circovirus* који заједно са PCV-1, који се сматра апатогеним, и PCV-2 као једног од економски најзначајнијих вируса у индустријском свињарству узрокује инфекције свиња. До открића вируса је дошло наком метагеномског и NGS секвенцирања хомогената ткива свиња оболелих од промена сличних PDNS, побачених фетуса и миокардитиса непознатог порекла 2015 године. Изостанак детекције других патогена као потенцијалних инфективних агенаса одговорних за установљена стања, усмерило је сумњу на PCV-3 као евентуалног етиолошког узрочника и/или ко-фактора у настанку ових обољења. Убрзо након открића, вирус је детектован и код клинички здравих свиња, а ретроспективним истраживањима је доказано да је PCV-3 највероватније присутан у популацији свиња још од 90-тих година прошлог века. Од недавно, геном вируса је детектован и код дивљих свиња чиме је употпуњена пријемчивост породице *suidae* на ову вирусну инфекцију, а истовремено је апострофирана улога дивљих *suida* као извора инфекције за домаће свиње. До сада извршена филогенетска истраживања вируса спроведена са доступним ДНК секвенцама PCV-3 (делимичним и/или потпуним ДНК секвенцама) из целог света, су показала висок степен хомологије (>96%) изолата вируса, иако су описане две групе и неколико подкластера у које су сврстани сви до сада познати PCV-3 сојеви, шта више, предложено је и постојање (највероватнијег) заједничког претка старости преко 50 година. Узимајући у обзир ефекте PCV-2 у индустријском свињарству и његов утицај на здравље свиња, значај новог члана породице *circoviridae* – PCV-3 не треба олако занемарити. Истраживања епидемиологије вируса, патогенезе, патогеног потенцијала вируса и имунолошких аспеката ове вирусне инфекције су у наредном периоду загарантована, због чега, у овом прегледу, износимо досадашња најзначајнија сазнања, будуће трендове у истраживањима као и ситуацију у нашој земљи о овом вирусу односно инфекцији узрокованој са PCV-3.

**Кључне речи:** *Porcine circovirus 3*, здравље, свиње.

**УВОД**

Еволуциони ток и настанак нових болести су условљени са одговарајућим факторима садржаних у концепту узрочник-домаћин-околина (Davis 2012). Да би узроковао инфекцију и изавао болест, узрочник мора да избегне дејство одбрамбених механизма домаћина, а што остварује на следеће начине: мутацијама (тачкастим) у свом геному, рекомбинацијом гена и рекомбинацијом и/или транслокацијом гена (Witzany 2006). Поред тога, генетска униформност домаћина (у овом случају животиња) остварена селекцијом, демографске промене и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

интензивирање пољопривредне производње и трговине представљају битне факторе за настанак нових болести (Edfors-Lilja и сар. 1998).

Нове болести детектоване код животиња, слично као и код људи, значајно утичу на свеукупну популацију животиња, нарочито фармских животиња. Са друге стране, фармски начин држања животиња представља изаванредно окружење за преношење и одржавање великог броја различитих узрочника, а који истовремено у значајној мери доприноси и еволуцији самих патогена кроз поменуте механизме (мутације, рекомбинације и рерасортиман, природна селекција) (Woolhouse и сар. 2001). Повећање популације фармских животиња током последње четри деценије је један од главних фактора који је допринео појави нових инфективних агенаса и/или њихових варијанти, узрокујући промене у епидемиолошким карактеристикама и клиничкој експресији болести (Nichol и сар. 2000). Код свиња, током последњих 30 година, неколико нових оболења вирусне етиологије се појавило и у значајној мери проширило у популацији свиња. Међу најважније вирусне агенсе распрострањене у целом свету се убрајају, вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV, породице *Arteriviridae*), porcine circovirus 2 (PCV2, породице *Circoviridae*) и вирус епидемијске вирусне дијареје (PEDV, породице *Coronaviridae*). Поред њих описан је и већи број других новооткривених вирусних агенаса детектованих у различитим клиничким и/или патолошким стањима па иако је њихов утицај на здравствено стање, економичност и рентабилност производње различит, сматрају се значајним вирусним агенсима, а надзор над инфекцијама узрокованим овим вирусима се врши у многим земљама са развијеном производњом свиња. Релаванти примери су: *porcine deltacoronavirus* (узрочник дијареје), *senecavirus A* (узрочника везикуларног оболења и повећаног морталитета прасади на сиси), *porcine sapovirus* (детектован у случајевима полиоенцефаломијелитиса), *porcine orthoreovirus* (узрочник дијареје), атипични *porcine pestivirus* (узрочник конгениталног тремора (СТ) тип II) и *HKU2 corona virus* пореклом од слепих мишева (повезан са случајевима синдрома фаталне акутне дијареје свиња) (Fournié и сар. 2015). Поред поменутих, откривени су и други инфективни агенси код оболелих али и код клинички здравих свиња, чији значај још увек није довољно истражен. Ову групу инфективних агенаса представљају: *porcine torque teno virus (TTVs)*, *porcine bocavirus*, *porcine torovirus* и *porcine cobuvirus* за које се сматра да су узрочници субклиничких инфекција без јасно дефинисаног утицаја на здравље и производне резултате (Meng 2012). Изузетак би представљао *porcine hepatitis E (HEV) virus*, иако не толико значајна (безазлена) инфекција код свиња, сматра се важним зоонотским агенсом (Liang и сар. 2014). Недавно је откривен нови члан породице *circoviridae*, *porcine circovirus 3 (PCV3)* са још увек недовољно дефинисаним утицајем на здравље и производне перформансе свиња (Palinski и сар. 2017).

*Porcine circovirus 3* је први пут детектован 2015 године у Северној Каролини (САД), код фармских свиња, на фарми на којој је забележено повећање свеукупног морталитета и смањена вредност успешне концепције (Palinski и сар. 2017). Код инфицираних крмача је забележена клиничка слика слична дерматитис нефропатија синдрому свиња (PDNS) као и различити поремећаји у репродукцији. У циљу откривања етиолошког агенса, испитана су ткива пореклом од абортираних фетуса и органа угинулих крмача. Хистлошки налаз је одговарао променама сличним системској инфекцији узрокованој са *porcine circovirus 2 (PCV2-SD)*, међутим имунохистохемијским (ИНС) испитивањем као и применом qPCR за детекцију PCV-2 добијени су негативни резултати. Због тога су хомогенати ткива абортираних фетуса и органа угинулих крмача били подвргнути анализи тзв. метагеномског секвенцирања.

Скоро истовремено друга група истраживача такође из САД је испитала ткива пореклом од три прасета старости три недеље угинула са клиничком сликом мултисистемске инфламације и миокардитиса непознате етиологије тзв. методом секвенцирања следеће генерације (NGS), а које су биле негативне на PCV-2 и друге до тада познате инфективне узрочнике који би се могли довести у везу са овим стањима укључујући: *swine influenza virus (SIV)*, PRRSV, вирус класичне куге свиња (ККС) и друге пестривирине, вирус слинавке и шапа (СиШ), *porcine parvovirus (PPV1+2)*, вирус западног нила (WNV), *porcine encephalomyocarditis virus (EMCV)*, TTVs1+2, *porcine hemagglutinin-encephalomyelitis virus*, *porcine hepatitis E (PHEV)*, *porcine astrovirus 4 (PastV4)*, *rotavirus A*, *porcine cytomegalovirus (suid betaherpesvirus 2)*, *senecavirus A*, *Toxoplasma gondi*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyosynoviae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Erysipelothrix*



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

*rhusiopathiae*, SFBeeF и PorKNW2/USA/2009 секвенце повезане са цирковирусима, као и негативни резултати комплетног аеробног и анаеробног бактериолошког испитивања (Phan и сар. 2016).

Анализом добијених нуклеотидних секвенци у оба истраживања је установљено да секвенце имају највећу сличност са вирусима из рода *circovirus* (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017). Додатним секвенцирањем фокусираним на добијање ДНК секвенци цирковируса добијене су секвенце које су поређене са ДНК секвенцама свих до сада познатих цирковируса. Наиме, сви до сада познати цирковируси имају >75% сличности нуклеотидних секвенци комплетног генома и >70% сличности у аминокиселинским секвенцама *Cap* протеина (Rosario и сар., 2012). Обзиром да су секвенце добијене метагеномским и NGS секвенцирањем показале <50% сличности у нуклеотидним и аминокиселинским секвенцама са свим осталим до сада познатим цирковирусима установљена је нова врста унутар рода *circovirus*, односно трећа цирковирус врста код свиња, означена као *porcine circovirus tip 3* (PCV-3).

У првом истраживању аутори су даље извршили ретроспективну анализу крвних серума пореклом од свиња са променама сличним PDNS и свиња са респираторним обољењима (негативним на PCV-2) применом qPCR и у оба случаја установили присуство PCV-3. У другом истраживању аутори су извршили додатно испитивање ткива применом методе хибридизације *in situ* (ISH) којим су детектовали позитиван хибридизациони сигнал mRNK PCV-3 у цитоплазми миоцита и у ћелијама инфламатрног инфилтрата.

#### МОЛЕКУЛАРНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ *PORCINE CIRCOVIRUS* (PCVS)

*Porcine circovirus tip 3* (PCV-3) припада фамилији *Circoviridae* и роду *Circovirus*. До 2016. године фамилија *Circoviridae* је била подељена у два рода, род *Circovirus* и род *Gyrovirus*, међутим од стране међународног комитета за таксономију вируса, а на основу нових информација о структури вируса као и карактеристика генома вируса је извршено ново таксономско прегруписавање. Тако је род *Gyrovirus* премештен из фамилије *Circoviridae* у фамилију *Anelloviridae*, а таксономска група *Cyclovirus* је придружена фамилији *Circoviridae*. Већина чланови рода *Circovirus* је детектована код кичмењака, међутим од скоро присуство генома *circovirusa* је доказано и код бескичмењака. Код птица је описан тзв. вирус болести кљуна и пера (BFDV), а накнадно у више извештаја је описано присуство сличних вириона код других врста попут риба, слепих мишева, паса, људи и куна. Од 2016. године, три врсте *porcine circovirusa* је формално прихваћено укључујући *porcine circovirus typ 1* (PCV-1), PCV-2 и PCV-3 (Klaumann и сар. 2018).

Цирковируси су мали једноланчани ДНК вирус, које карактерише вирион икосаедралне симетрије и циркуларни геном дијаметра од 13 до 25 nm. Чланови ове фамилије садрже око 60 протеинских субјединица распоређених у де-дека-хедралне пентамерне јединице вирусног капсида. Геном PCV-1 садржи 1758 до 1760 нуклеотида, док геноми PCV-2 и PCV-3 садрже 1766 – 1769 односно 1999 – 2001 нуклетода. Геноми сва три порцине цирковируса садрже три отворена оквира читања (ORF) када се посматра репликативна (дволанчана) форма ДНК (Klaumann и сар. 2018).

Код PCV-1 укупно 7 ORF кодира протеине веће од 5kDa, од којих 6 садржи више од 200 нуклеотида. PCV-2 поред три главна садржи још 8 ORF, од којих је још само протеин кодиран са ORF4 детаљније описан. Код PCV-3 за сада је описано постојање само 3 ORF при чему су ORF1 и ORF2 протеини окарактерисани.

Отворени оквир читања 1 (ORF1) свих цирковируса кодира ситезу „*Rep*“ протеина чија се дужина креће од 312 до 168 аминокиселина (aa) код PCV-1, односно од 314 до 297 aa код PCV-2 и чија је улога у иницијацији репликације вируса. ORF1 код PCV-3 кодира синтезу протеина дужине од 296 – 297 aa. ORF1 свих цирковируса је оријентисан у позитивном смеру и сматра се најстабилнијим делом вирусног генома. Место почетка репликације (*ori*) садржи стабилан некодирајући регион, који је лоциран у истом смеру као и ORF1, а ова аминокиселинска секвенца (мотив) је укључена и у тзв. репликацију вируса по типу котрљајућег обруча (*rolling – circle replication*) (Klaumann и сар. 2018).

Отворени оквир читања 2 (ORF2) свих цирковируса кодира синтезу структуралних протеина вируса - „*Cap*“ протеина. „*Cap*“ протеин PCV1 садржи од 230 до 233 aa, а PCV2 од 233

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

до 236 аа док „*Cap*“ протеин PCV3 садржи 214 аа. ORF2 је оријентисан у негативном смеру, а ORF2-протеин („*Cap*“) представља најваријабилнији и најимуногенији протеин вируса. Сличност нуклеотидних секвенци које кодирају синтезу „*Cap*“ протеина између PCV-1 и PCV-2 износи 67%, док је сличност између аминокиселинских секвенци PCV-1 и PCV-3 знатно мања и износи свега 24%. Сличност аминокиселинских секвенци између PCV-2 и PCV-3 износи од 26 до 37% (Klaumann и сар. 2018).

Отворени оквир читања 3 (ORF3) свих цирковируса је оријентисан у супротном правцу од ORF1, лоциран такође у негативном смеру. ORF3 кодира синтезу протеина са апоптотичном функцијом. ORF3 протеин садржи 206 аа код PCV-1, 104 аа код PCV-2 и 231 аа код PCV-3 (21,66). Апоптотична активност у *in vitro* и *in vivo* условима ORF3 протеина је описана код PCV-1 и PCV-2 (67,68), док је функција ORF3 протеина код PCV-3 још увек непозната (Klaumann и сар. 2018). Сличност између свих до сада познатих нуклеотидних секвенци PCV-3 износи од 97-100%. Филогенетским анализама су установљене две групе PCV-3 *virusa*, PCV-3а и PCV-3б и неколико субкластера установљених на основу разлика у аминокиселинским секвенцама на местима 122 и 320 (S122A и A320V) (Klaumann и сар. 2018).

#### ЕПИДЕМИОЛОГИЈА ВИРУСА

Након прве детекције PCV-3 у неколико земаља у Азији, Европи и Јужној Америци је доказано присуство генома PCV-3 код домаћих свиња. Геном PCV-3 је детектован код свиња свих старосних категорија као и код мумифицираних фетуса и мртвоопрашене прасади. Учесталост (PCR) детекције PCV-3 варира и у зависности од врсте тестираних узорак. Најнижа учесталост детекције је забележена код крмача дојара у поређењу са детекцијом вируса код залучене прасади и товљеника. У већем броју истраживања највећа преваленца детекције вируса је забележена код залучене прасади. Геном PCV-3 је детектован у оралним секретима, фецесу, семену и колоструму (Klaumann и сар. 2018; Franco и сар. 2018; Stadejek и сар. 2017; Palinski и сар. 2017.). Kedkovid и сар. 2018 су установили позитивну корелацију између учесталости детекције вируса у серуму и колоструму и виремје код испитиваних крмача.

Нису вршена значајнија истраживања са циљем утврђивања присуства вируса у непосредном амбијенту и/или околини у којој животиње бораве, мада је вирус детектован у два од четири тестирана суиђера која су коришћена за прање транспортних возила. (Franco и сар. 2018; Klaumann и сар. 2018). Поред домаћих свиња вирус је детектован и код дивљих свиња. Нуклеотидне секвенце ових сојева вируса имају 98% сличности са вирусима пореклом од домаћих свиња (Franco и сар. 2018а). Преваленца детекције вируса у серуму дивљих свиња у спроведеним истраживањима је била слична преваленци детекције вируса код домаћих свиња, а кретала су у распону од 33% – 42,6%. Вирус је код дивљих свиња детектован такође код свих старосних категорија због чега су дивље свиње инкриминисане као потенцијални резервоар вируса и извор инфекције за домаће свиње (Franco и сар. 2018). Иако је инфекција детектована искључиво код врста из рода *suida* у једном истраживању геном PCV3 је детектован код 4 од 44 испитивана серума паса у Кини, због чега аутори закључују да инфекција није ограничена само на припаднике рода *suide* већ да вирус може узроковати и инфекције других врста (Klaumann и сар. 2018). Међутим, осим код паса до данас није потврђена инфекција код других врста.

#### БОЛЕСТИ ПОВЕЗАНЕ СА PCV-3

PCV-3 је детектован код свиња код којих су запажени различити клинички и патолошки поремећаји: респираторни, репродуктивни, гастроинтестинални и неуролошки, а поред тога вирус је детектован и код клинички здравих свиња (Palinski и сар. 2017). Различити поремећаји здравственог стања у којима је детектован PCV-3 су приказана у табели 1, међутим у већини ових случајева нису спроведена комплетна дијагностичка испитивања, због чега није могуће имплицирати PCV-3 као потенцијалног узрочника било ког од наведених стања. Број установљених вирусних копија (титар вируса) у узорцима крвног серума ( $10^2$ - $10^7$  копија/ml) (Palinski и сар. 2017) и ткивима ( $10^4$ - $10^{11}$  копија/ml) залучене прасади и старијих категорија свиња, односно у ткивима мртвоопрашене прасади ( $10^6$ - $10^9$  копија/ml) јесте значајно различит, међутим установљени титар вируса се ипак сматра умереним (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017). Позитивна корелација између броја вирусних копија и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

тежине лезија је добро позната код инфекције узроковане са PCV-2, међутим да ли постоји и ако постоји колики је значај установљеног титра вируса (PCV-3) како код здравих тако и код оболелих животиња је још увек нејасно и предмет је бројних истраживања.

**Табела 1.** Различити поремећаји здравственог стања у којима је детектован PCV-3

Поремећај	Старост/производна категорија	Поремећај здравственог стања	Референца
<b>Репродуктивни</b>	Крмаче	Повећан морталитет крмача, смањен проценат концепције, мумификација фетуса Абортуси, прашење мртве прасади Абортуси, рађање мумифицираних фетуса, поремећаји у репродукцији, рађење мањег броја прасади	Palinski et al. (25) Faccini et al. (5) Ku et al. (17)
<b>Респираторни</b>	Прасад на сиси Залучена прасад Залучена прасад Товљеници Товљеници	Диспноја Анорексија, грозница, ицтерус, абдоминално дисање Кашаљ, блажа полипноја, абдоминално дисање Респираторни дистресс PRDC	Phan et al. (26) Shen et al. (29) Zhai et al. (35) Phan et al. (26) Kedkovid et al. (13)
<b>Кардиоваскуларни</b>	Залучена прасад	Анорексија, губитак ТМ, отеченост зглобова	Phan et al. (26)
<b>Гастроинтестинални</b>	Залучена прасад	Пролив	Zhai et al. (35)
<b>Системски</b>	Залучена прасад	Заостајање у порасту, кржљање, PFTS (анорексија, летаргија, прогресиван губитак ТМ код прасади 2 -3 недеље по залучењу са варијабилном стопом морбидитета и морталитета	Stadejek et al. (29) Franzo et al. (9)
<b>Неуролошки</b>	Прасад на сиси Прасад на сиси	Симптоматологија оболења ЦНС Конгенитални тремор	Phan et al. (26) Chen et al. (26)
<b>Други поремећаји</b>	Товљеници Крмаче	Пролапсус ректума PDNS	Phan et al. (26) Palinski et al. (25)

#### РЕПРОДУКТИВНЕ БОЛЕСТИ

Геном PCV-3 је иницијално откривен код крмача са клинчком сликом сличној PDNS. На фарми на којој је вирус установљен забележено је смањење вредности успешне концепције за 0,6% и повећање морталитета крмача за чак 10,2% (Palinski и сар. 2017). Након тога, геном PCV-3 је детектован у узорцима крвних серума пореклом од крмача са различитим репродуктивним поремећајима и губитком новорођене прасади у Кини (Ку и сар. 2017). Истраживањем присуства генома PCV-3 код здравих и крмача са различитим хроничним репродуктивним поремећајима (укључујући повећање процента абортуса) и уинутих крмача је установљена знатно већа преваленца детекције вируса код оболелих (46,41%) у односу на клинички здраве крмаче (21,9%). Вирус је детектован и код мртвоопрашене прасади пореклом од крмача са различитим репродуктивним поремећајима у Кини (Ку и сар. 2017) и Јужној Кореји (Kim и сар. 2018).

#### РЕСПИРАТОРНЕ БОЛЕСТИ

Такође у иницијалном истраживању ДНК PCV-3 је детектована код свиња са различитим респираторним поремећајима (Palinski и сар. 2017). Касније, у још неколико спроведених истраживања вирус је детектован код свиња са абдоминалним дисањем као типом парадоксног дисања, конгестијом и едемом плућа (Zhai и сар. 2017; Shen и сар. 2017). У истраживању спроведеном у Тајланду PCV-3 је детектован код товљеника оболелих од тзв. комплекса респираторне болести свиња (PRDC) и симптоматологијом оболења респираторног система укључујући кашаљ, диспноју, грозницу и анорексију у знатно већој преваленци (60%) у односу на клинички здраве животиње (28%) (Kedkovid и сар. 2018).

**ДРУГА СТАЊА**

Мултисистемска инфламација и миокардитис су стања која су такође иницијално повезана са присуством PCV-3 (Phan и сар. 2015). У једној истраживању ДНК PCV-3 је детектована код залучене прасади са гастроинтестиналним обољењима праћених дијарејом у 17,14% у поређењу са животињама без клинички манифестне дијареје (2,86%) (Zhai и сар. 2017). У истраживању хомогената мозга прасади оболеле од СТ у Кини је установљен велики број вирусних копија PCV-3 (Chen и сар. 2017).

**ДЕТЕКЦИЈА PCV-3 КОД КЛИНИЧКИ ЗДРАВИХ ЖИВОТИЊА**

У великом броју истраживања је доказано присуство PCV-3 код клинички здравих свиња (Palinski и сар. 2017; Stadejek и сар. 2017; Franco и сар. 2018, 2018a; Zhai и сар. 2017; Kim и сар. 2018), што додатно компликује интерпретацију односно значај овог вируса као потенцијалног узрочника болести.

**КО-ИНФЕКЦИЈЕ**

Иако су PCV-3 позитивни узорци у иницијалном истраживању поред бројних других инфективних агенаса били негативни и на три најзначајнија вирусна патогена свиња (PCV-2, PRRSV и PPV) (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017), у каснијим истраживањима су скоро редовно детектоване ко-инфекције PCV-3 са другим вирусима (Sun и сар. 2018; Zhao и сар. 2018). Патогени детектовани у ко-инфекцији са PCV-3 су приказани у табели 2.

*Табела 2.* Патогени детектовани у ко-инфекцији са PCV-3

Патоген	Фреквенција ко-инфекције (%)	Референца
<i>PCV-2</i>	38/200 (19%) 28/40 (70%) 35/222 (15.77%) 13/46 (28.26%) 1/8 (12.5%) 11/57 (19.3%)	Sun et al. (31) Zhao et al. (36) Ku et al. (17) Kim et al. (14) Kedkovid et al. (13) Kim et al. (14)
<i>PRRSV</i>	1/8 (12.5%) 25/57 (43.86%)	Kedkovid et al. (13) Kim et al. (14)
<i>Torque teno suis virus (TTSuV1 and 2)</i>	66/132 (50%)	Zheng et al. (37)
<i>VKKS</i>	108/200 (54%)	Sun et al. (31)
<i>Porcine bocavirus (PBoV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Atipičini pesti virusi (APPV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine deltacoronavirus (PDCoV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine kobuvirus (PKV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine pseudorabies virus (PRV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine sapelovirus (PSV)</i>	НП	Chen et al. (2)
<i>Porcine parvovirus (PPV)</i>	НП	Franzo et al. (7)
<i>Ungulate bocaparvovirus 2 (BoPV2)</i>	НП	Franzo et al. (7)
<i>Pasteurella multocida</i>	НП	Kedkovid et al. (13)
<i>Haemophilus parasuis</i>	НП	Phan et al. (26)
<i>Streptococcus suis</i>	НП	Phan et al. (26)
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	НП	Phan et al. (26)

НП, није применљиво у наведеном истраживању

Још увек је рано говорити о свеукупној слици и значају инфекције узроковане са PCV-3, пре свега због чињенице да је вирус детектован код клинички здравих животиња. Због тога је предпостављено да појава оболења не зависи искључиво од присуства самог вируса, него да други за сада још увек непознати фактори представљају окидаче за настајање болести односно да регулишу репликацију вируса током болести.

#### PCV-3 КАО ЕТИОЛОШКИ АГЕНС

*Porcine circovirusi* (PCVs) су убиквитарни ssDNK вируси, присутни у популацији домаћих (и дивљих) свиња у целом свету (Klaumann и сар. 2018). За две врсте PCVs је познато да могу узроковати инфекције свиња то су: PCV-1 који се сматра апатогеним и PCV-2 који је узрочник једног од најзначајнијих инфективних оболења свиња - PCV-SD. PCV-3 представља проширење виросфере унутар фамилије *circoviridae* али су досадашња сазнања о овом вирусу и инфекцији узрокованој овим вирусом укључујући његов пун патогени потенцијал и патогенезу инфекције још увек недовољна. Интересантно је да су пре двадесетак година такође постајале озбиљне сумње и у значај инфекције узроковане са PCV-2 (Klaumann и сар. 2018). PCV-3 је детектован код животиња са различитим клиничким манифестацијама, а за нека стања је чак успостављена повезаност са вирусом од самог почетка (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017). Нажалост, у већини истраживања у којима се саопштава преваленца детекције PCV-3 код животиња са различитим клиничким манифестацијама недостају резултати детекције PCV-3 код животиња из контролних група (Franzo и сар. 2018; Klaumann и сар. 2018). У сваком случају, у већини саопштења учесталост детекције PCV-3 код болесних животиња је значајно већа у односу на здраве животиње. Ови резултати не указују на директну узрочно-последичну везу са PCV-3 инфекцијом, али су са друге стране отворили пут за нова истраживања на утврђивању дефинитивне улоге овог вируса у установљеним клиничким/патолошким стањима и свеукупно значаја овог вируса код свиња.

#### ПАТОГЕНЕЗА

Још увек нема података о патогенези PCV-3 инфекције, а основни разлог за то је недостатак изолата овог вируса што отежава изучавање патогенетских механизма вируса и установљавање модела инфекције. У досадашњим истраживањима, PCV-3 је детектован у различитим ткивима код домаћих и дивљих свиња (Zhai и сар. 2017; Klaumann и сар. 2018) што указује на системску природу инфекције, међутим, само место и начин уласка вируса у ћелије домаћина, примарна репликација, дистрибуција и перзистенција вируса у организму су још увек питања без одговора. PCV3 је детектован у фецесу, назалним и оралним секретима и транспортним возилима (камионима), што упућује на предпоставку да је директан контакт важан пут хоризонталног ширења вируса (Kwon и сар. 2018; Klaumann и сар. 2018). Детекција вирусног генома у ткивима побачених фетуса и мртворођене прасади као и у колоструму и семену указује на предпоставку да је и вертикална трансмисија такође важан пут ширења вируса (Palinski и сар. 2017; Faccini и сар. 2018). У сваком случају, неопходна су додатна истраживања на утврђивању начина излучивања и путева ширења овог вируса.

Ко-инфекција PCV-3 са PCV2 и/или PRRSV је забележена у великом броју истраживања (Zhai и сар. 2017; Kim и сар. 2018; Klaumann и сар. 2018), што је донекле и очекивано обзиром на значајно присуство и распрострањеност PCV-2 и PRRSV у популацији свиња. Обзиром да оба вируса узрокују имunosупресију код инфицираних животиња, није неуобичајена детекција ко-инфекције PCV-2 и/или PRRSV са спектром различитих инфективних агенаса у овом случају укључујући и PCV-3 (Grau-Roma и сар. 2011; Klaumann и сар. 2018). Такође, недавно је установљена ко-инфекција PPV и PCV-3 код свиња са тзв. синдромом прогресивног заостајања у порасту залучене прасади (PFTS) (Franzo и сар. 2018c). Обзиром да је раније у експерименталним инфекцијама доказано да PPV утиче на тежину клиничке експресије PCV2-SD, у овом тренутку не треба занемарити претпоставку да сличан ефекат може постојати и код PPV-PCV-3 ко-инфекције (Allan и сар. 1999). Како било, и овде су неопходна додатна истраживања којима би се установило да ли PCV-3 као секундарни агенс делује на начин да сам регулише сопствену

репликацију код имуносупресивних животиња или је са друге стране учесталост детекције PCV-3 инфекције независна од имунолошког статуса животиње.

#### ЕВОЛУЦИЈА И ПОРЕКЛО ВИРУСА

Генетска карактеризација PCV-3 је углавном вршена након читавањем нуклеотидног низа применом технологије „Sanger“ секвенцирања. Филогенетске анализе комплетних генома PCV-3 доступних у банкама гена су показале да се сојеви PCV-3 сврставају у различите кластере. Међутим, поређењем нуклеотидних секвенци је установљен висок степен сличности сојева вируса (>97%), што указује на непостојање молекуларне микроеволуције у односу на (географско) порекло вируса са једне стране и на релативну стабилност генома вируса са друге стране (Fux и сар. 2018; Li и сар. 2018). Иако PCV3 представља релативно „нов“ вирус већа геномска хетерогеност би свакако досадашњим ретроспективним истраживањима (у узорцима пореклом од пре 20 година) била идентификована.

Прве доступне секвенце вируса добијене метагеномским секвенцирањем су показале релативно малу сличност нуклеотидних секвенци са „Cap“ и „Rep“ генима PCV-1 и PCV-2 и нешто већу сличност са другим цирковирусима попут *Canine circovirus* (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017) и *Barbel circovirus* (Zheng и сар. 2017). Чланови рода *circovirus* испољавају инфективни афинитет према великом броју домаћина (Li и сар. 2010). Franzo и сар. 2018d су изнели хипотезу да је PCV-3 еволуирао као производ рекомбинација насталих као последица „прескакања“ баријере врста. Анализама генома установљен је висок степен сличности „Rep“ гена PCV-3 и „Rep“ гена цирковируса пореклом од слепих мишева односно „Cap“ гена PCV-3 са „Cap“ геном цирковируса пореклом од птица (Franzo и сар. 2018c). У скорашњем истраживању је установљен висок степен хомологије аминокиселинских секвенци „Rep“ протеина PCV-3 са цирковирусима изолованих код цибетки (Nishizawa и сар. 2018). Прикупљање нових информација ће свакако одопринети разјашњењу порекла вируса. Са друге стране Fux и сар. 2018. су детектовали промене у нуклеотидном ланцу које су резултовале променама у аминокиселинским секвенцама ORF1/ORF2 и ORF3 између два детектована генотипа PCV-3a и PCV-3b, а геноми ових сојева PCV-3 имају тзв. интермедијалну секвенцу (прелазну секвенцу) између групе *a* и групе *b*, који се у ORF2-нуклеотидној, ORF2-аминокиселинској и анализи комплетног генома различито филогенетски групишу (Fux и сар. 2018). Анализирајући аминокиселинску секвенцу ORF2 такође је установљено да се позиција 24 налази под позитивним селективним притиском и да се налази у региону потенцијалног епитопа.

Како било, узимајући у обзир висок степен сличности (>98% сличности) свих до сада анализираних делимичних и/или комплетних PCV-3 секвенци, значај установљавања одговарајућег генотипа вируса у овом тренутку се не чини нарочито релевантним. Због лимитираности технологије „сангер“ секвенцирања, у будућим истраживањима се наглашава примена NGS технологије којом би се могле установити евентуално присутне мање/друге варијанте вируса, а које се не могу установити технологијом која се тренутно примењује.

#### PCV-3 У НАШОЈ ЗЕМЉИ

Када је у питању наша земља извршена су почетна истраживања са циљем детекције и генетске карактеризације PCV-3 код фармских свиња (Savić и сар. 2019). У те сврхе укупно је прегледано 32 збирна узорка (по 5 = 160) крвних серума, 28 збирних хомогената органа (ЈЧ, слезина, плућа, бубрези, тонзиле), 3 збирна узорка ткива из парафинских блокова пореклом од свиња угуинулих од PDNS из 2006, 2010 и 2012 године и 2 хомогената мозга прасида са конгениталним тремором (СТ). Узорци су прикупљени од клинички здравих и угуинулих свиња са 10 фарми и 6 географских региона са највећом популацијом свиња у нашој земљи, што је укупно чинило 193 узорка (32 збирна узорка серума, 33 збирна узорка хомогената ткива). Узорци органа су прикупљени од свиња старости од 7 до 20 недеља угуинулих од системских (PRRS, M. Glässer (11)); респираторних (актинобацилусне плеуропнеумоније - APP, комплекса респираторне болести свиња - PRDC, плућна пастерлоза (13)) и гастроинтестиналних (колибацилоза, дизентерија свиња, езофагогастрични улкус (4)) афекција. У циљу детекције и идентификације PCV3 извршена је амплификација одговарајућих делова генома вируса применом реакције ланчане полимеразе (PCR)

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

као и PCR у реалном времену (*real-time PCR*) уз коришћење одговарајућих лабораторијских сетова за екстракцију ДНК и извођење PCR и *real-time-PCR* реакција, а према протоколу описаном од стране Palinski и сар. 2017. Амплификација комплетних секвенци ORF2 као и секвенци комплетног генома вируса је извршена применом PCR и прајмерима описаним од стране Wen и сар. 2018; Palinski и сар. 2017. Секвенцирање амплификованих PCR продуката је извршено коришћењем услуге секвенцирања комерцијалног сервиса компаније Macrogen – Холандија. Преглед и едитовање добијених секвенци, генетска карактеризација и филогенетска анализа вируса је извршена применом одговарајућих софтверских пакета (Finch TV, ChromasPro, CLC-MainWorkbench, MEGA6) и сервиса доступних на NCBI GeneBank – USA ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) и ExPASy – Switzerland (Swiss Institute of Bioinformatics) ([www.expasy.org](http://www.expasy.org)).

Коришћењем конвенционалног PCR теста, PCV3 ДНК је детектована у 28 од 33 (84,4%) збирна узорка органа и у 5 од 32 (15,6%) збирна узорка крвних серума. Позитиван PCR резултат је добијен у узорцима хомогената ткива пореклом од свиња уинулих од PRRS, M. Glässer, APP, плућне пастерелозе, PRDC, PDNS, прасета са СТ и 5 збирних узорка крвних серума свиња са PRRSV виремјом (табела 3).

Табела 3.

Узорци Патолошки/клинички налаз	PCV3 PCR	PCV3 real-time PCR
Збирни узорци органа (n=33)	28/33 (84.8%)	5/5 (100%) C <sub>t</sub> = 28.8 – 33.2
Збирни узорци серума (n=32)	5/32 (15.6%)	24/27 (89%) C <sub>t</sub> = 30.1 – 37.2
†PRRS (n=5)	5	
M. Glässer (n=6)	6	
Aktinobacillusna pleuropn. - APP (n=4)	4	
Plućna pastereloza (n=4)	4	
‡PRDC (n=5)	5	
Colibacillosis (n=1)	–	C <sub>t</sub> = 32.7
Dizenterija svinja (n=1)	–	C <sub>t</sub> = 33.2
Ezofagoga. ulcus (n=2)	–	C <sub>t</sub> = 32.9; C <sub>t</sub> = 33.0
§СТ (n=2)	1	C <sub>t</sub> = 28.8
¶PDNS (n=3)	3	

Негативан PCR резултат је забележен у збирним узорцима органа свиња уинулих од гастроинтестиналних афекција (4), и у 27 збирних узорка серума клинички здравих животиња. Иако у овим узорцима нисмо извршили квантификацију ДНК PCV3, позитиван PCR резултат сугерише да је број вирусних копија (титар вируса) (C<sub>t</sub>) у испитиваним ткивима релативно висок (Palinski и сар. 2017), што указује на то да је вирус способан да инфицира, да се репликује и да преживи у ћелијама домаћина иако га то не чини могућим патогеном (Phan и сар. 2016; Palinski и сар. 2017). Такође, резултати указују на могућност да активне инфекције (вирусне и/или бактеријске) установљене код животиња доприносе лакшој детекцији PCV3 у испитиваним ткивима, односно да ко-инфекција (PCV3+други патогени) може утицати на дистрибуцију/редистрибуцију PCV3 у одређена ткива. У сваком случају, истовремено присуство PCV3 са другим узрочницима, имплицира овај вирус као могућег ко-фактора у патогенези који може допринети тежини “основног” обољења, међутим ова тврдња захтева додатна истраживања. Као додатно објашњење за позитиван PCR резултат нарочито код свиња са активном PRRSV инфекцијом може бити и да имуносупресија узрокована са PRRSV може утицати на повећање броја копија вируса у испитиваним ткивима (Stadejek и сар. 2017; Kedkovid и сар. 2018; Sukmak и сар. 2018).

Након поновљеног тестирања применом *real-time PCR*, PCV3-ДНК је детектована у 24 од 27 (88,8%) збирних узорка крвних серума као и у збирним узорцима органа животиња уинулих од колибацилозе, дизентерије и езофагогастричног улкуса као и у хомогенату мозга прасета са СТ (табела 3). Забележене C<sub>t</sub> вредности *real-time PCR* теста су се кретале у распону од 30,1 до 37,2,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

док је  $C_t$  вредност у узорку хомогената мозга прасета са СТ износила 28,8. Обзиром да су добијене  $C_t$  вредности у овим узорцима ( $>30$ ) релативно високе, мали број вирусних копија у испитиваним ткивима не имплицира PCV3 као потенцијалног (вирусног) ко-патогена иако нису тестирани органи и ткива (нпр. танка и дебела црева, желудац и др.) директно атакиране овим афекцијама. У прилог овој тврдњи може послужити поређење са PCV2-инфекцијом код које постоји директна корелација између броја вирусних (PCV2) копија у серуму и/или ткивима и тежине лезија. Слично, забележене  $C_t$  вредности у збирним узорцима серума клинички здравих свиња су такође биле високе ( $C_t = 30.1-37.2$ ) указујући на мали број вирусних копија код виремичних животиња. Међутим, висока стопа детекције PCV3 у серуму клинички здравих животиња дозвољава могућност да се вирус репликује у веома малом броју копија узрокујући изразито благу или чак уопште инфламацију, а што може представљати механизам за избегавање ефекторских реакција имунског система који је вирус развио.

PCV3 је детектован на свим испитиваним фармама (10/10), било у узорцима серума пореклом од клинички здравих животиња или у узорцима ткива пореклом од угинулих свиња, што одговара преваленци од 100% на нивоу фарми. Преваленца вируса код клинички здравих животиња износи 88,8%, док је преваленца вируса код угинулих животиња 100%. Геном PCV3 је детектован у свим географским регионима што указује на униквитарну распрострањеност вируса у популацији свиња. Резултати испитивања преваленце вируса у популацији свиња у нашој земљи се слажу са резултатима других истраживача који такође износе високу преваленцу PCV3 код здравих и клинички оболелих и/или угинулих свиња (Stadejek и сар. 2017; Kwon и сар. 2017; Zhai и сар. 2017). Поред тога геном вируса је детектован и у узорцима ткива (из парафинских блокова) пореклом од свиња угинулих од PDNS из 2006, 2010 и 2012 године што говори у прилог да је вирус у популацији свиња највероватније био присутан и пре 2006 године, и да је до његове дисеминације вероватно дошло раније (Klaumann и сар. 2018a).

Очитавањем нуклеотидног низа, 5 нуклеотидних и 4 аминокиселинске секвенце су идентификоване и окарактерисане. Њиховим поређењем установљена је сличност (хомологија) од 99.2% – 100% на нивоу нуклеотида и 98.6% – 100% на нивоу аминокиселина. ORF2-PCV3 секвенце наших сојева су показале  $99\% \pm 0.3\%$ ,  $98.9\% \pm 0.4\%$  и  $99.1\% \pm 0.3\%$  сличности са PCV3 сојевима из Европе, Северне и Јужне Америке и Азије. Помоћу тзв. групно-специфичног мотива (аминокиселинска секвенца) у аминокиселинским секвенцама ORF2-PCV3 (VKSI) (Fux и сар. 2018), установљено је да 5 сојева PCV3 припада групи *a*. У филогенетској анализи ORF2 нуклеотидних секвенци, секвенце наших PCV3 сојева су сврстане у групу *a* и суб-групу 1, у посебан кластер који је блиско повезан са кластером ORF2-PCV3 сојева из Кине (слика 1). Сој NIVS4 је сврстан у групу *b*, на засебној филогенетској грани, заједно са PCV3 сојем DE6.1 из Немачке. Групно-специфични мотив ових сојева представља интермедијалну секвенцу (прелазну секвенцу) између групе *a* и групе *b* (AKSI), а које се у ORF2-нуклеотидној, ORF2-аминокиселинској и анализи комплетног генома различито филогенетски групишу (Fux и сар. 2018).

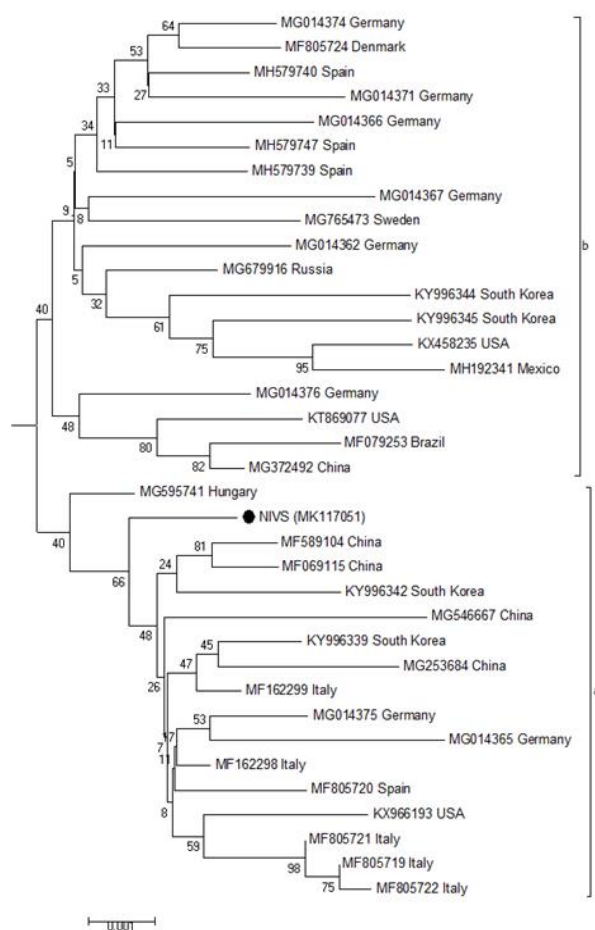
Дужина PCV3 генома добијеног у истраживању (PCV3 NIVS) износи 2000 нуклеотида. БЛАСТ анализа ове секвенце је показала да је она јединствена. Геном PCV3 соја NIVS је показао 99.65% сличности са PCV3 сојем из Мађарске (MG595741) и PCV3 сојевима из Кине (MF589104, MF069115) и 99.55% сличности са PCV3 сојем из Немачке (MG014375) односно PCV3 сојевима из Јужне Кореје (KY996342, KY996339) (разликују се у 7 односно 9 нуклеотида). Филогенетском анализом комплетне нуклеотидне секвенце PCV3 соја NIVS је установљено да он такође припада групи *a* (слика 2).





Слика 2

Филогенетско стабло конструисано поређењем 36 комплетних PCV3 геномских секвенци укључујући сој PCV3-NIVS (●). Филогенетско стабло је конструисано применом neighbor-joining algoritma (p-model, 1000 bootstrap понављања). Бројеви поред одговарајућих грана стабла означавају bootstrap вредности. Scale bar трака показује број нуклеотидних супституција по једном месту



### ЗАКЉУЧАК

PCV3 је по први пут детектован и идентификован у популацији свиња у нашој земљи. Добијени резултати су показали да је вирус веома распрострањен и да има висок проценат сличности са претходно описаним PCV3 сојевима (у Европи и свету). На основу добијених резултата, индикативно је да се PCV3 може повезати са неким системским и респираторним афекцијама, међутим та повезаност је под снажним утицајем клиничког односно патолошког статуса животиња. Нашим истраживањем смо показали да код животиња код којих је детектована активна PRRSV инфекција, животиња угинулих од M. Glässer, APP, плућне пастерелозе и PRDC постоји већи број вирусних копија (већи титар вируса) у испитиваним ткивима, што афирмише питање значаја PCV3 у патогенези ових обољења. Међутим тачан механизам којим PCV3 у ко-инфекцији са другим патогенима може довести до погоршања/компликовања и/или отежавања „примарних“ болести захтева додатна истраживања.

### Литература

1. Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, Foster JC, Ellis JA, Krakowka SJ, et al., 1999, Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus, J Comp Pathol, 121, 1–11. doi: 10.1053/jcpa.1998.0295. 2. Chen GH, Mai KJ, Zhou L, Wu RT, Tang XY, Wu JL, He LL, Lan T, Xie QM, Sun Y, Ma JY, 2017, Detection and genome

- sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China, *Transboundary and Emerging Diseases*, 64, 6, 1650–54. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12702>. 3. Davies PR, 2012, One World, One Health: the threat of emerging swine diseases. A north american perspective, *Transbound Emerg Dis*, 59, 18–26. doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01312.x. doi: 10.1111/tbed.12836. 4. Edfors-Lilja I, Watrang E, Marklund L, Moller M, Andersson-Eklund L, Andersson L, et al., 1998, Mapping quantitative trait loci for immune capacity in the pig, *J Immunol*, 161, 829–35. 5. Faccini S, Barbieri I, Gilioli A, Sala G, Gibelli LR, Moreno A, et al., 2017, Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy, *Transbound Emerg Dis*, 64, 1661–4. doi: 10.1111/tbed.12714. 6. Fournié G, Kearsley-Fleet L, Otte J, Pfeiffer DU, 2015, Spatiotemporal trends in the discovery of new swine infectious agents, *Vet Res*, 46, 114. doi: 10.1186/s13567-015-0226-8. 7. Franzo G, Kekarainen T, Llorens A, Correa-Fiz F, Segalés J, 2018, Exploratory metagenomic analyses of periweaning failure-to-thrive syndrome (PFTS) affected pigs, *Vet Rec*. doi: 10.1136/vr.105125. 8. Franzo G, Legnardi M, Centelleghé C, Tucciarone CM, Cecchinato M, Cortey M, et al., 2018, Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive, and economical detection of porcine circovirus 3, *J Vet Diagnostic Invest*, 1040638718770495. doi: 10.1177/1040638718770495. 9. Franzo G, Legnardi M, Hjulsager C. K, Klaumann F, Larsen L. E, Segales J, et al., 2018, Full-genome sequencing of porcine circovirus 3 field strains from Denmark, Italy and Spain demonstrates a high within-Europe genetic heterogeneity, *Transbound Emerg Dis*, 65, 602–6. 10. Franzo G, Segales J, Tucciarone CM, Cecchinato M, Drigo M, 2018, The analysis of genome composition and codon bias reveals distinctive patterns between avian and mammalian circoviruses which suggest a potential recombinant origin for Porcine circovirus 3, *PLoS ONE*, 13:e0199950. doi: 10.1371/journal.pone.0199950. 11. Fux R, Sockler C, Link EK, Renken C, Krejci R, Sutter G, Ritzmann M, Eddicks M, 2018, Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains, *Virol J*, 15 (25), 1–9. <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-018-0929-3>. 12. Grau-Roma L, Fraile L, Segalés J, 2011, Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2, *Vet J*, 187, 23–32. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.01.018. 13. Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, Sirisereewan C, Sangpratum N, Lumyai M, Kesdangakonwut S, Teankum K, Jittimane S, Thanawongnuwech R, 2018a, Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC), *Veterinary Microbiology*, 215, 71–76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.01.004>. 14. Kim SC, Nazki S, Kwon S, Juhng JH, Mun KH, Jeon DY, et al., 2018, The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea, *BMC Vet Res*, 14, 294. doi: 10.1186/s12917-018-1614-x. 15. Klaumann F, Correa-Fiz F, Franzo G, Sibila M, Núñez JI and Segalés J, 2018, Current Knowledge on Porcine circovirus 3 (PCV-3): A Novel Virus With a Yet Unknown Impact on the Swine Industry. *Front. Vet. Sci.* 5:315. doi: 10.3389/fvets.2018.00315. 16. Klaumann F, Franzo G, Sohrmann M, Correa-Fiz F, Drigo M, Nunez J I, Segales J, 2018, Retrospective detection of Porcine circovirus 3 (PCV-3) in pig serum samples from Spain. *Transbound E Dis*, 00, 1–7. <https://doi.org/10.1111/tbed.12876>. 17. Ku X, Chen F, Li P, Wang Y, Yu X, Fan S, et al., 2017, Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China, *Transbound Emerg Dis*, 64, 703–8. doi: 10.1111/tbed.12638. 18. Kwon T, Yoo SJ, Park CK, Lyoo YS, 2017, Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations *Vet Microbiol* 207, 178–80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.06.013>. 19. Li G, Wang H, Wang S, Xing G, Zhang C, Zhang W, et al., 2018, Insights into the genetic and host adaptability of emerging porcine circovirus 3, *Virulence*, 9, 1301–13. doi: 10.1080/21505594.2018.1492863. 20. Li L, Kapoor A, Slikas B, Bamidele OS, Wang C, Shaukat S, et al., 2010, Multiple diverse circoviruses infect farm animals and are commonly found in human and chimpanzee feces, *J Virol*, 84, 1674–82. doi: 10.1128/JVI.02109-09. 21. Liang H, Su S, Deng S, Gu H, Ji F, Wang L, et al., 2014, The prevalence of hepatitis e virus infections among swine, swine farmers and the general population in guangdong province, China, *PLoS ONE*, 9, e88106. doi: 10.1371/journal.pone.0088106. 22. Meng XJ, 2012, Emerging and re-emerging swine viruses, *Transbound Emerg Dis*, 59, 85–102. doi: 10.1111/j.1865-1682.2011.01291.x. 23. Nichol ST, Arikawa J, Kawaoka Y, 2000, Emerging viral diseases, *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 12411–2. doi: 10.1073/pnas.210382297. 24. Nishizawa T, Sugimoto Y, Takeda T, Kodera Y, Hatano Y, Takahashi M, et al., 2018, Identification and full-genome characterization of novel circoviruses in masked palm civets (*Paguma larvata*), *Virus Res*, 258, 50–4. doi: 10.1016/j.virusres.2018.10.004. 25. Palinski R, Pineyro P,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Shang P, Yuan F, Guo R, Fang Y, & Hause BM, 2017, A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure, *Journal of Virology*, 91, e01879–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.01879-16>. 26. Phan TG, Giannitti F, Rossow S, Marthaler D, Knutson TP, Li L, Deng X, Resende T, Vannucci F, Delwart E, 2016, Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation, *Virology Journal*, 13, (1), 184. <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-016-0642-z>. 27. Rosario K, Duffy S, Breitbart M, 2012, A field guide to eukaryotic circular singlestranded DNA viruses: insights gained from metagenomics, *Arch Virol.*, 2012, 57:1851–71. 28. Shen H, Liu X, Zhang P, Wang L, Liu Y, Zhang L, et al., 2017, Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China, *Transbound Emerg Dis*, 65, 264–6. doi: 10.1111/tbed. 12639. 29. Stadejek T, Wozniak A, Milek D, Biernacka K, 2017, First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland, *Transboundary and Emerging Diseases*, 64, 1350–53. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12672>. 30. Sukmak M, Thanantong N, Poolperm P, Boonsoongnern A, Ratanavanichrojn N, Jirawattanapong P, Woonwong Y, Soda N, Kaminsosakul T, Phuttapatimok S, Wajjwalku W, 2019, The retrospective identification and molecular epidemiology of porcine circovirus type 3 (PCV3) in swine in Thailand from 2006 to 2017. *Transbound Emerg Dis*, 66, 611–16. <https://doi.org/10.1111/tbed.13057>. 31. Sun J, Wei L, Lu Z, Mi S, Bao F, Guo H, et al., 2018, Retrospective study of porcine circovirus 3 infection in China, *Transbound Emerg Dis*, 65, 607–13. doi: 10.1111/tbed.12853. 32. Wen S, Sun W, Li Z, Zhuang X, Zhao G, Xie C, Zheng M, Jing J, Xiao P, Wang M, Han J, Ren J, Liu H, Lu H, Jin N, 2018, The detection of porcine circovirus 3 in Guangxi, China, *Transbound Emerg Dis*, 65, 27–31. <https://doi.org/10.1111/tbed.12754>. 33. Witzany G, 2006, Natural genome-editing competences of viruses, *Acta Biotheor*, 54, 235–53. doi: 10.1007/s10441-006-9000-7. 34. Woolhouse MEJ, Taylor LH, Haydon DT, 2001, Population biology of multihost pathogens, *Science*, 292, 1109–12. doi: 10.1126/science.1059026. 35. Zhai SL, Zhou X, Zhang H, Hause BM, Lin T, Liu R, Chen QL, Wei WK, Lv DH, Wen XH, Li F, Wang D, 2017, Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations, *Virology Journal*, 14, 222. <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-017-0892-4>. 36. Zhao D, Wang X, Gao Q, Huan C, Wang W, Gao S, et al., 2017, Retrospective survey and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in Jiangsu province, China, *Arch Virol*, 163, 2531–38. doi: 10.1007/s00705-018-3870-2. 37. Zheng S, Wu X, Zhang L, Xin C, Liu Y, Shi J, et al., 2017, The occurrence of porcine circovirus 3 without clinical infection signs in Shandong Province, *Transbound Emerg Dis*, 64, 1337–41. doi: 10.1111/tbed.12667.

INFLUENCE OF SEASONAL THERMAL STRESS ON LIPID MOBILISATION AND  
OXIDATIVE STRESS RESULTS IN DIMINISHED REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN  
DAIRY COWS

УТИЦАЈ СЕЗОНСКОГ ТЕМПЕРАТУРНОГ СТРЕСА НА МОБИЛИЗАЦИЈУ ЛИПИДА И  
РЕЗУЛТАТИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА НА СМАЊЕЊЕ РЕПРОДУКТИВНЕ  
СПОСОБНОСТИ МЛЕЧНИХ КРАВА

*Petra Zrimšek<sup>1</sup>, Janko Mrkun<sup>1</sup>, Ožbalt Podpečan<sup>1,2</sup>, Romana Turk<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Veterinary Faculty, University of Ljubljana, Slovenia;

<sup>2</sup>Savinian Veterinary Policlinic, Žalec, Slovenia;

<sup>3</sup>Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

**Summary**

Environmental heat stress compromises efficient animal production including reproductive performance in dairy cows. Dairy cows in early postpartum period experience a rapid increase in milk yield, whereas animal feed consumption ability rises slowly and cannot follow increased needs for nutrients. The negative effects of heat stress on reproduction are thought to be a consequence of poor appetite and reduced nutrient intake resulting in a negative energy balance (NEB).

The results indicate that fat to protein ratio in milk (FPR) can be used in predicting of prolonged calving to conception interval in dairy cows. In our study we confirmed that lipid mobilisation during NEB is associated with an oxidative stress. We also showed that seasonal thermal stress affects the lipid metabolism, antioxidant activity and reproductive performance in dairy cows. Heat-stressed cows inseminated during hot months in comparison to winter had lower fertility rate (lower conception rate and prolonged calving to conception interval) coupled by a higher degree of NEB confirmed with lipid mobilisation (increased non-esterified fatty acids (NEFA) and beta hydroxybutyrate (BHB)) and lower antioxidant status (decrease in total antioxidant status (TAS) and paroxonase-1 (PON1) activity).

**Key words:** dairy cows, heat stress, lipid mobilisation, negative energy balance, oxidative stress, reproductive performance

**Кратак садржај**

Топлотни стрес из животне околине угрожава ефикасну производњу животиња, укључујући репродуктивне способности млечних крава. Код млечних крава у раном постпарталном периоду нагло се повећава количина млека, док се способност конзумирања хране развија полако па се повећане потребе за хранљивим материјама не могу задовољити. Сматра се да су негативни ефекти топлотног стреса на репродукцију последица лошег апетита и смањеног уноса хранљивих материја што резултира негативним енергетским билансом (НЕБ).

Резултати показују да однос масти и протеина у млеку (ФПР) може да се користи у одређивању могућности продужавања интервала тељења до интервала зачећа код млечних крава. У нашој студији потврдили смо да је мобилизација липида током НЕБ-а повезана са оксидативним стресом. Такође смо показали да сезонски топлотни стрес утиче на метаболизам липида, антиоксидативну активност и репродуктивне способности код млечних крава. Краве са топлотним стресом, осемењене током топлијих месеци у односу на зиму, имале су нижу стопу плодности (нижу стопу зачећа и продужен интервал од телања до зачећа), заједно са вишим степеном НЕБ-а, потврђеном мобилизацијом липида (повећање не-естерификованих масних киселина (НЕФА) и

бета хидроксибутирата (БХБ)) и нижи антиоксидативни статус (смањење укупног антиоксидативног статуса (ТАС) и активности пароксоназе-1 (ПОН1)).

**Кључне речи:** млечне краве, топлотни стрес, мобилизација липида, негативни енергетски баланс, оксидативни стрес, репродуктивне способности

#### **FAT TO PROTEIN RATIO IN MILK IN PREDICTING OF PROLONGED CALVING TO CONCEPTION INTERVAL IN DAIRY COWS**

Dairy cows in early postpartum period experience a rapid increase in milk yield and a slow rise in dry matter intake. Most of them are unable to consume adequate quantity of food needed for their milk production. Therefore they enter a period of negative energy balance (NEB), which leads to mobilization of body reserves, mainly fat, to balance the deficit between food energy intake and production requirements. Increased fat mobilization in a period of NEB coupled with decrease in dry matter and energy intake is shown in higher milk fat concentration and lower milk protein concentration in the postpartum period of dairy cows (Eicher, 2004; Čejna and Chladek, 2005). Milk components can be used as a diagnostic and monitoring tool in nutritional evaluation. Many correlations between energy balance in the early postpartum period and milk composition have been reported, using different parameters such as FPR, protein to fat ratio, fat/lactose quotient, milk yield and milk protein concentration, whereas Buttchereit et al. (2010) showed FPR to be a suitable indicator of the energy status in postpartum dairy cows. FPR is mostly used as a diagnostic tool in order to estimate nutritional disbalance, NEB and some metabolic disorders. Thus, changes in fat to protein ratio in milk could be an indication of the ability of a cow to adapt to the demands of milk production and reproduction efficiency in postpartum period.

Evaluation of FPR in milk was performed for the prediction of calving to conception interval (CC) in dairy cows (Podpečan et al., 2008). Reproduction parameters of 51 high yielding dairy cows were calculated from farm recording data and milk data record from a regular dairy control. Spearman rank correlation analysis was used to determine the correlation between reproductive parameters of the herd and the milk data record. Combining protein and fat concentration in FPR may provide a better parameter for evaluating CC than assessing the mentioned characteristics independently; therefore FPR was the aim of diagnostic evaluation in this study. We evaluated FPR in milk according to CC of different time intervals, which were set at 90, 120 and 140 days. Criteria values, mentioned above, were based on reproductive characteristics found in Slovenian dairy herds.

In the time interval of 75 to 90 days postpartum the highest correlation was found between FPR and CC ( $r=0.415$ ,  $P<0.05$ ). Receiver operating characteristics (ROC) analysis was used to evaluate the FPR to distinguish between cows with different CC. The optimal cut-off value at FPR of 1.34 provided the best discrimination power according to CC of 120 days. FPR at 1.44 enable us 91.7% correct identification of cows with CC above 140 days, where the highest AUC of 0.759 and LR of 7.2 were observed. FPR lower than or equal to 1.19 was 2.86 times as likely to be found in cows with CC below as in cows with CC above 90 days. The FPR has been shown to be of benefit in the prediction of reproductive efficiency in dairy herds.

Results of the present study demonstrate that there is a significant relationship between the FPR ratio in milk samples taken in the period 75-90 days after calving and the fertility data of these cows. The study illustrates that easily available data like the FPR can be used by practitioners in the field to analyse fertility problems in dairy herds, and more exactly to examine whether metabolic stress, among other factors, is involved in the fertility problem (Podpečan et al., 2008). Our results indicated that it's valuable to explore the study to larger number of animals including to get the results from different herds and breeds, therefore another study was performed to evaluate pregnancy rates of 232 dairy cows in relation to fat to protein ratio (FPR) in milk (Podpečan et al., 2013). The aim of the present study was to evaluate practical use of milk and medical data records in association with reproductive performance in high yielding dairy cows. We evaluated pregnancy rates of dairy cows in relation to FPR in milk, using survival analysis. First, a complete receiver operating characteristics (ROC) analysis, was performed to provide an index of accuracy by demonstrating the limits of the test's ability to discriminate between

healthy cows pregnant at day 90 (or day 120) after calving or not. Groups of clinically healthy cows were compared using Kaplan-Meier survival curves.

The strongest correlations were observed between FPR and milk yield, reproduction parameters such as calving to 1<sup>st</sup> service (CFS), 1<sup>st</sup> service to conception (FSC) and calving to conception (CC) intervals in stage 2 (between 30 and 60 days postpartum;  $r=0.411$ ,  $P<0.001$ ). Therefore it was further diagnostically evaluated in a group of clinically healthy cows in order to avoid the possible influence of disease. In our previous study (Podpečan et al., 2008) the strongest correlations were observed in stage 3, but clinically healthy and diseased animals were not differentiated. From the diagnostic point of view, the strongest correlations in stage 2 enable us to predict animals at risk before the voluntary waiting period ends. Although FPRs were calculated for only three lactation stages, the tendency to decrease is evident in all groups and comparable to the results of Buttchereit et al. (2010). It appears that the results of optimal cut-off values of FPR differ among studies due to the numbers of animals or herds included in the studies, their general nutrition status, lactation time frame and the statistical methods used. ROC analysis showed that the optimal cut-off value at 1.37 in our study allowed discrimination between cows with CC above 120 days and cows with CC below 120 days with an accuracy of 71 % (Podpečan et al., 2013). High sensitivity of FPR was found at a cut-off value of 1.22, which enabled around 90 % correct identification of cows with CC lower than 120 days. On the other hand, cows with FPR more than 1.53 were over 85 % correctly identified as cows with CC above 120 days.

Survival curves calculated for subgroups of animals with FPR below and above 1.37 differed significantly in the case of clinically healthy cows, where CC in subgroups were  $87 \pm 28$  and  $122 \pm 42$  days, respectively. Pregnancy rates within 90 and 120 days postpartum in a group of clinically healthy cows were 38 and 68 %, respectively. The present study clearly demonstrates that milk data records (FPR) and medical data can be used by bovine practitioners to analyse and to predict some fertility problems, mainly failure to conception and address metabolic disorders. The results presented here offer a simple and useful tool for assessing energy balance in a dairy herd in order to predict reproductive performance.

#### **LIPID MOBILISATION AND OXIDATIVE STRESS IN DAIRY HEIFERS DURING TRANSITION PERIOD**

Pregnancy, parturition and the onset of lactation pose an enormous physiological challenge to the homeostasis of dairy cows being a risk interval for their health and reproductive performance (Lucy, 2003). During NEB, cows meet their energy requirements by lipolysis and proteolysis. Lipolysis results in an intense mobilisation of triglycerides (TG) from adipose tissue with the consequence of an increased concentration of NEFA in the blood. NEFA are metabolized by hepatocytes via  $\beta$ -oxidation to acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) to produce energy, as the excessive amount of acetyl-CoA is shunted to de novo cholesterol synthesis or via ketogenesis to acetoacetate, and subsequently to acetone and beta-hydroxybutyrate (BHB) (Lassen and Fettman, 2004). Ketone bodies provide an important form of energy to peripheral tissues in cases when carbohydrate levels are reduced. In addition, BHB is also used for milk fat synthesis. This lipomobilisation syndrome in periparturient cows, i.e. in the dry period and early lactation, is accompanied by typical changes in the serum concentration of lipid parameters, particularly changes in the total cholesterol and HDL-C concentrations (Turk et al., 2008).

Energy metabolism during periparturient period is accompanied by enlarged rates of reactive oxygen species (ROS) production and may result in oxidative stress (Gaal et al., 2006). Particularly, intensified processes of NEFA oxidation proceeded in the liver, result in the increased production of ROS and oxidative stress development (Bionaz et al., 2007). Increased oxidative stress might be an important mechanism by which periparturient disorders increase the incidence of reproduction and production diseases in advanced lactation. Thus, the proper balance between oxidants and antioxidants is essential for maintaining the dairy cows' health and performance. Among a number of antioxidant enzymes and other substances, PON1 is recognized as an important part of the mammalian natural anti-oxidative system. It is an anti-oxidative/anti-inflammatory enzyme which hydrolyses lipid hydroperoxides and oxidatively fragmented phospholipids produced during oxidative stress (Turk et al., 2008). In the bovine and human serum, PON1 is bound to high density lipoproteins (HDL) (Miyamoto et al., 2005). In our previous studies, we found that PON1 activity is reduced during transition period in dairy cows (Turk et al., 2008).

Besides by measuring antioxidant components separately, oxidative stress could be evaluated by the total antioxidant status (TAS), which predominantly measures chain-breaking antioxidants with low molecular weight (Castillo et al., 2006).

In our study nineteen healthy Holstein-Frisian dairy heifers, bovine viral diarrhoea (BVD) virus and infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus free were included (Turk et al., 2013). The objective was to evaluate metabolic disorders and oxidative stress in dairy heifers during transition period. Possible relationships between lipid mobilisation indicators and oxidative stress markers were investigated as well. Blood samples were collected at the time of estrus synchronisation in heifers, at insemination, three weeks after insemination, one week before calving, at calving and 1, 2, 4 and 8 weeks postpartum. Common metabolic parameters, PON1 activity and TAS were analysed. Around insemination, no significant difference was observed in the majority of tested parameters ( $P>0.05$ ). However, transition period markedly affected the concentration of triglycerides, total cholesterol, HDL-C, BHB, NEFA, TAS and PON1 activity. Triglyceride concentration significantly decreased at calving and remained at the lowest concentration until the eighth week of lactation. A decrease in triglycerides was in accordance with an increase of NEFA after calving what is shown with significant inverse correlation between these two parameters. The reasons for such disturbances probably are in triglycerides accumulation in the liver; and in triglycerides taking up by the mammary gland for milk fat synthesis and secretion (Bernard et al., 2008). Total cholesterol and HDL-C concentrations were significantly lower one week around parturition with the lowest values one week prior to calving. These lipids change present typical patterns of lipomobilisation syndrome during transition period. Moreover, positive correlations between PON1 activity and total cholesterol, HDL-C and triglycerides, but inverse correlations with NEFA, BHB and bilirubin have been found indicating that PON1 activity changed accordingly with lipid metabolism and was influenced by negative energy balance. These findings suggest that lipid mobilisation and oxidative stress are part of a complex metabolic adaptation to low energy balance which reaches equilibrium later in advanced lactation.

#### **THE EFFECT OF SEASONAL THERMAL STRESS ON LIPID MOBILISATION, ANTIOXIDANT STATUS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN DAIRY COWS**

Heat stress is a major factor contributing to low fertility of dairy cows with a great economic impact in dairy industry. Heat stressed dairy cows usually have reduced nutrient intake resulting in a higher degree of NEB. High temperature environment can diminish conception rates in cows which are inseminated during the summer months, even in cows kept in farms with good cooling systems. In such condition, thermal stress can alter fertility directly by impairing cellular function of reproductive cells. On the other side, heat stress can indirectly affect reproduction through the reduction in food intake with a consequence in alterations in energy balance during lactation (Wolfenson et al. 2000). During heat stress cows have poor appetite and reduced dry matter intake which prolongs the period of NEB. Decreased feed intake during heat stress causes less frequency of the luteinizing hormone pulse resulting in longer follicular waves with the development of smaller dominant follicles (Sartori et al. 2002).

The aim of our study was to investigate the seasonal thermal effect on lipid metabolism, antioxidant activity and reproductive performance in dairy cows (Turk et al., 2015). Thirty two healthy Holstein-Frisian dairy heifers, BVD virus and IBR/IPV virus free were included in the study. According to the ambient temperature animals were divided in two groups: winter ( $N=14$ ) and summer season ( $N=18$ ). Reproduction parameters; the number of services per conception for heifers and later on for primiparous cows as well as CC interval were calculated from farm recording data. Reproduction parameters were recorded from the time of first insemination of heifers until successful insemination after first calving (primiparous cows). Metabolic parameters and PON1 activity and TAS were monitored at the time of insemination (basal values) and from 1 week before until 8 weeks after calving.

Results showed that lipid mobilization in order to gain energy after calving was enhanced and prolonged in time in summer more than in winter, suggesting the higher degree of NEB in primiparous cows during the hot months. Serum triglycerides, NEFA and BHB concentrations were significantly increased after calving in summer compared to winter indicating higher degree of NEB in cows during summer. PON1 activity was significantly decreased after calving in both summer and winter group. TAS concentration was significantly lower in summer than in winter; in winter TAS at calving significantly



correlated with CC interval. The number of services per conception in the current study was significantly higher in heifers and primiparous cows inseminated during hot months compared with those inseminated during winter indicating that insemination of animals was more successful in winter than in summer. A significant higher number of services were needed for primiparous cows than for heifers in summer, whereas no significant difference was observed between number of services needed for heifers and primiparous cows in winter. CC interval in heifers after calving, i.e. in primiparous cows was also affected with heat stress being significantly longer in summer than in the winter group. In addition, poor reproductive performance significantly correlated with the degree of NEB. Particularly in the summer group, the CC interval significantly positively correlated with NEFA and BHB two weeks postpartum, while there was a significant negative correlation of CC interval with PON1 and both total cholesterol and HDL-C one week after parturition indicated that the degree of NEB greatly contributed to the poor fertility in cows.

In conclusion, heat stressed cow's experienced higher degree of NEB and lower antioxidant status after calving during summer than those calved in winter. Both heifers and primiparous cows inseminated during hot months had a lower conception rate than those inseminated during winter. Additionally, their reproductive performance significantly correlated with the severity of NEB. The results indicated that heat stress has negative effect on energy metabolism, antioxidant status and reproductive performance in dairy cows (Turk et al., 2015).

**Acknowledgements:** This work was supported by the Slovenian Ministry of Education, Science, Culture and Sport, programme groups "Endocrine, immune, nervous and enzyme responses in healthy and sick animals" (P4-0053)), Ministry of Science, Education and Sport Republic of Croatia (research project "Investigation of biomarkers of metabolic and oxidative stress in dairy cows") and bilateral project between Slovenia and Croatia (BI-HR/12-13-006).

#### References

1. Bernard L, Leroux C, Chilliard Y, 2008, Expression and Nutritional Regulation of Lipogenic Genes in the Ruminant Lactating Mammary Gland, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 606, 67-108.
2. Bionaz M, Trevisi E, Calamar, L, Librandi F, Ferrai A, Bertoni G, 2007, Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90, 1740-50.
3. Buttchereit N, Stamer E, Junge W, Thaller G, 2010, Evaluation of five curve models fitted for fat:protein ratio of milk and daily energy balance. *J. Dairy Sci.*, 93:1702-12.
4. Castillo C, Hernandez J, Bravo A, Lopez-Alonso M, Pereira V, Benedito JL, 2005, Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows, *Vet. J.*, 169, 286-92.
5. Čejna V, Chladek G, 2005, The importance of monitoring changes in milk fat to protein ratio in Holstein cows during lactation, *J. Cent. Eur. Agric.* 6 (4), 539-46.
6. Eichner R, 2004, Evaluation of the metabolic and nutritional situation in dairy herds, diagnostic use of milk components, *Med. Vet., Quebec*, 34 (1), 36-8.
7. Gaal, T, Ribiczeyne-Szabo, P, Stadler, K, Jakus, J, Reczigel, J, Köver, P, Mezes, M, Sümeghly, L, 2006, Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. *Comp. Biochem. Phys. A*, 43, 391-6.
8. Lassen, ED, Fettman, MJ, 2004, Laboratory Evaluation of Lipids. In: Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., DeNicola, D., Fettman, M.J., Lassen, E.D., Rebar, A. and Weiser, G., *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 421-31.
9. Lucy, MC, 2003, Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction Supply*, 61, 415-27.
10. Miyamoto T, Takahashi Y, Oohashi T, Sato K, Oikawa S, 2005, Bovine paraoxonase 1 activities in serum and distribution in lipoproteins, *J. Vet. Med. Sci.*, 67, 243-8.
11. Podpečan O, Mrkun J, Zrimšek P, 2008, Diagnostic evaluation of fat to protein ratio in prolonged calving to conception interval using receiver operating characteristic analyses, *Reprod Domest Anim*, 43(2), 249-54.
12. Podpečan O, Mrkun J, Zrimšek P, 2013, Associations between the fat to protein ration in milk, health status and reproductive performance in dairy cattle. *Slovenian veterinary research*, 50 (2), 57-66.
13. Sartori R, Rosa GJ, Wiltbank MC, 2002, Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci*, 85, 2813-22.
14. Turk R, Juretić D, Gereš D, Svetina A, Turk N, Flegar-Meštrić Z, 2008, Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA concentration in transition dairy cows, *Anim Reprod Sci*, 108, 98-106.
15. Turk R, Podpečan O,

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

*Mrkun J, Kosec M, Flegar-Meštrić Z, Perkov S, Starić J, Robić M, Belić M, Zrimšek P, 2013, Lipid mobilisation and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period, Anim Reprod Sci, 141(3-4), 109-115. 16. Turk R, Podpečan O, Mrkun J, Flegar-Meštrić Z, Perkov S, Zrimšek P, 2015, The Effect of Seasonal Thermal Stress on Lipid Mobilisation, Antioxidant Status and Reproductive Performance in Dairy Cows, Reprod Domest Anim, 50(4), 595-603. 17. Wolfenson D, Roth Z, Meidan R, 2000, Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Anim Reprod Sci, 60-61, 535-47.*

РЕФЕРЕНТНЕ ВРЕДНОСТИ МЕТАБОЛИЧКИХ ПАРАМЕТАРА  
КОД ЈУНИЦА СТАРОСТИ 6-12 МЕСЕЦИ

REFERENCE VALUE OF BLOOD METABOLIC PARAMETERS  
IN HEIFERS 6-12 MONTHS OLD

*Бранислава Белић<sup>1</sup>, Марко Цинцовић<sup>1</sup>, Ивана Лакић<sup>1</sup>,  
Радојица Ђоковић<sup>2</sup>, Милош Петровић<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Департман за ветеринарску медицину – Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Агрономски факултет Чачак, Универзитет у Крагујевцу

**Кратак садржај**

Метаболички профил је дефинисан као серија специфичних лабораторијских тестова, којима се одређују вредности метаболита после узимања крви код крава. Метаболити могу поделити на оне који осликавају енергетски статус крава, протеински статус крава, функционални статус јетре, статус минерала и друго. Метаболички профил код крава се уобичајено ради у периоду засушења, ране лактације, пика лактације и касне лактације. Међутим, данас се тежи да се што раније предвиди будућа продуктивност и здравље крава. Због тога се врши израда метаболичких профила и код јуница, да би се испитала њихова предиктивна вредност. Циљ овог рада је био да објасни параметре метаболичког профила и да се покажу референтне вредности метаболичких параметара добијених од 155 јуница.

**Кључне речи:** јунице, метаболички профил, референтне вредности.

**Summary**

The metabolic profile is defined as a series of specific laboratory tests that determine the values of metabolites after taking blood in cows. Metabolites can be divided into those that reflect the energy status of cows, the protein status of cows, the functional status of the liver, the status of minerals, and others. Traditional metabolic profile in cows is done during the period of dried, early lactation, lactation peak and late lactation. However, today it is tending to predict the future productivity and health of cows as soon as possible. Therefore, metabolic profiles are also performed in heifers in order to examine their predictive value. The aim of this paper was to explain the parameters of the metabolic profile and to show the reference values of metabolic parameters obtained from 155 heifers.

**Key words:** heifers, metabolic profile, reference value.

**Метаболички профил**

Већ четрдесетак година користи се Комптонов метаболички профил у испитивању здравственог статуса крава и задовољења њихових потреба храном. Метаболички профил је дефинисан као серија специфичних лабораторијских тестова којима се одређују вредности метаболита после узимања крви код крава у засушеном периоду, раној лактацији и пику лактације. Са развојем науке број параметара, који се одређује у метаболичком профили постајао је све већи. Данас се метаболити могу поделити на оне који осликавају енергетски статус крава, протеински статус крава, функционални статус јетре, статус минерала и друго.

### Процена енергетског статуса

Перипартални метаболички стрес се одлучује негативним енергетским билансом, потрошњом масти у енергетске сврхе периферног ткива и потрошњом глукозе за потребе вимена и производњу млека. Овакво метаболичко престојаване доводи до снижене концентрације глукозе и повишене концентрације неестерификованих масних киселина (NEFA), чија претерана употреба доводи до стварања кетонских тела у јетри, а у крви расте концентрација бета хидроксибутирата (BHB). Метаболички показатељи лошег енергетског статуса код крава су: снижена концентрација глукозе, повишена концентрација NEFA и повишена концентрација BHB. Овакв метаболички профил је типичан за перипартални период код крава, а код већег броја крава ови параметри се налазе значајно изван референтних вредности. NEFA и BHB су слабо варијабилне вредности и показују велики дијагностички значај у процени метаболичког и здравственог статуса крава, док је концентрација глукозе средње варијабилна вредност, па је њен дијагностички значај такође средњи. Најновије тенденције у науци је да се утврди која је то концентрација глукозе NEFA и BHB и каква је њихова предиктивна улога у раној процени здравља и продуктивности крава и ризика за њихово искључење из производње. Концентрација NEFA преко 0.4 mmol/l односно 0.8 mmol/l у првој недељи после партуса и концентрација BHB већа од 1,2 mmol/l у првој и/или другој недељи после партуса значајно чешће постоји код крава, које су развиле перипарталне болести, па је на овај начин улога ових метаболита у предвиђању (предикцији) доказана. Многи истраживачи, као и наша истраживачка група, су утврдили да концентрација NEFA има важнију улогу и већи значај у предвиђању. За настанак субклиничке кетозе оптимална предиктивна вредност за NEFA је много нижа (0.26 mmol/l). Концентрација глукозе се није показала као статистички значајан предиктивни показатељ здравља и продуктивности крава, али њена оријентациона вредност испод 2.3 mmol/l може указати на настанак различитих обољења.

### Процена протеинског статуса

Процена протеинског статуса је много сложенија од процене енергетског статуса код крава у перипарталном периоду, а посебно је тешко одвојити утицај енергетског биланса од протеинског биланса због њихове заједничке метаболичке везе. Као индикатори за процену протеинског статуса користи се: концентрација укупних протеина, албумина и уреје у крви. Концентрација уреје зависи од учешћа протеина у храни у односу на потребе, енергетске карактеристике хране, сварљивости протеина и угљених хидрата у румену, аминокиселинског састава хране, функционалног статуса јетре и бубрега. Уреја се у организму ствара детоксикацијом амонијака у јетри. Код преживара, амонијак је главни продукт разлагања протеина унетих храном под дејством микрофлоре преджелудца. Микрофлора преджелудца унете протеине разлаже преко аминокиселина до кетокиселина и амонијака, који користе за синтезу својих протеина. Да би се створени амонијак могао искористити, микроорганизми морају бити снабдевени довољном количином лако сварљивих угљених хидрата као извора енергије. Вишак амонијака се кроз руминални зид транспортује у јетру где се конвертује у уреу, која путем крви поново долази у румен и служи за бактеријски раст или се излучује путем бубрега. Продукција уреје се врши преко амонијака и у процесу метаболизма ендогених аминокиселина. Вредност концентрације албумина указује на доступност протеина у дужем временском периоду и показује протеински статус у протекла два до три месеца. Обзиром да се албумини производе у јетри, оптерећени функционални капацитет јетре може се довести у везу са сниженом албуминемијом у перипарталном периоду. Албумини чине већински део укупних протеина, па се њиховим падом увиђа и пад укупних протеина. Код протеинских дефицијенција тек засушених крава вредност уреје ће бити ниска (<10mg/dl одн. 7,1 mmol/l) уз нормалну концентрацију албумина (>3.5 g/dl). Засушене краве у транзиционом периоду (три недеље пред тељење) имају ниску до средњу вредност уреје, нижу вредност албумина и повишену вредност креатин киназе. Свеже отелене краве генерално имају ниску вредност уреје и ниску вредност албумина (<2.5 g/dl). Концентрација укупних протеина испод 60 g/l повећава ризик од перипарталних болести.

### Показатељи функционалног статуса јетре

Метаболичка адаптација организма која се огледа у интензивној мобилизацији масти и њиховој употреби у енергетске сврхе значајно оптерећује јетру, која врло брзо може ући у

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

декомпензационе процесе. Наиме, повишена концентрација NEFA у перипарталном периоду завршава у јетри где се искоришћава у енергетске сврхе. Она се може у потпуности метаболирати до угљеник-4-оксида и воде, што обезбеђује енергију јетри и организму за физиолошке функције. Међутим, могуће је и скретање метаболичких процеса што оптерећује здравље јетре и то је: а) парцијална оксидација NEFA и продукција кетонских тела (посебно BHB) који одлазе у циркулацију и б) реестерификација NEFA и формирање триглицерида који остају у хепатоцитима. Акумулација масти и смањена могућност транспорта акумулиране масти из јетре доводи до некрозе јетриног паренхима. Параметри који указују на некрозу јетриног паренхима (синдром некрозе хепатоцита) огледају се у активности следећих ензима: аланин аминотрансфераза (ALT), аспарат аминотрансфераза (AST) и др. Код крава у перипарталном периоду расте концентрација билирубина и активност јетриних ензима. Концентрација триглицерида и концентрација холестерола у серуму опада, због акумулације односно смањене продукције VLDL. Однос концентрације NEFA према холестеролу користи се као индиректни показатељ замашћења јетре код крава. Вредност многих метаболита корелира са степеном замашћења јетре код крава.

#### **Процена концентрација јона**

Метаболизам минерала у перипарталном периоду значајно је измењен, а од посебног патофизиолошког значаја је испитивање концентрације калцијума (Ca), магнезијума (Mg) и фосфора (P). Хипокалцемија, хипомагнезија и хипофосфатемија имају велики клинички значај у перипарталном периоду. Хипокалцемија (мање од 2 mmol/l) и хипомагнезија доводе до млечне грознице, која се одликује најпре хиперсензибилношћу, а убрзо атакцијом и парализом, уз престанак преживања и развој хипотермије. Обољење се код крава јавља најчешће у првих 24 сата после телења. Хипокалцемија се доводи у везу са маститисом и метритисом, због значаја калцијума у функционисању имунолошких ћелија. Сnižена калцемија доводи до сметњи у функционисању глатке мускулатуре дигестивних органа, па код крава долази до дислокације сиришта. Концентрација калцијума испод 1,8 mmol/l је значајан предиктивни фактор за рано искључивање крава из производње. За испитивање релације између перипарталног метаболичког стреса и хипокалцемије треба напоменути да хипокалцемија спречава секрецију инсулина и искоришћавање глукозе у периферном ткиву. Овакво стање повећава липидну мобилизацију и појачава метаболички стрес. Хипомагнезија код крава доводи до развоја тетаничних грчева, познатијих као пашта тетанија, који настају као последица недовољног уношења Mg путем зелене траве. Клинички симптоми се могу видети када је концентрација Mg испод 0.5 mmol/l, а постоји и хипокалцемија. Смањен унос хране и промене у производњи млека се виде када је концентрација Mg испод 0.8 mmol/l. Хипофосфатемија прати многе поремећаје у перипарталном периоду крава. Концентрација фосфора значајно утиче на одговор крава на терапију током млечне грознице тако да хипофосфатемија (концентрација P нижа од 0.9 mmol/l) умањује терапеутски ефекат. Код многих крава концентрација фосфора може бити у субоптималним концентрацијама 0.8-1.1 mmol/l, што може утицати на глуколизу и функционални статус еритроцита, па се јавља хемоглобинурија.

#### **Референтне вредности Лабораторије за патолошку физиологију Департамента за ветеринарску медицину у Новом Саду на узорку од 155 јуница**

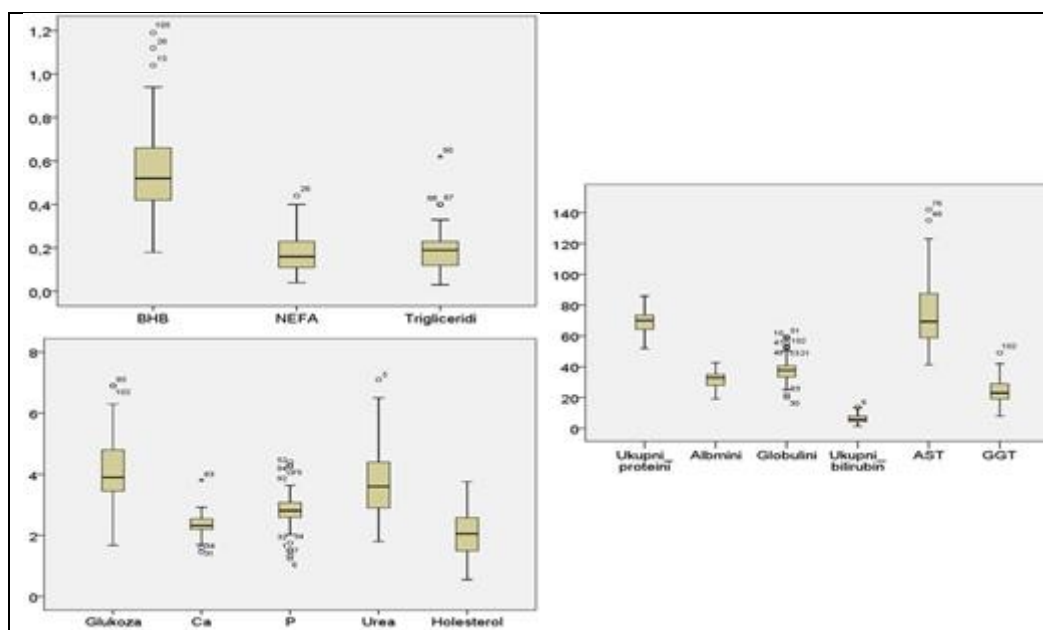
Испитани метаболички параметри се налазе у оквиру вредности, које су нађене у ранијим истраживањима. Код многих истраживача је утврђено да старост има утицаја на бројне биохемијске параметре, а највећа одступања постојала су управо у старости од 6 месеци. У предходним истраживањима, које смо спровели на сличној популацији јуница, показано је да старост показује значајан утицај на следеће метаболичке параметре: албумин, укупни билирубин, глукоза, фосфор, холестерол, триглицериди, BHB и NEFA. Код јуница током времена долази до опадања вредности албумина, глукозе, триглицерида, NEFA и BHB, а долази до пораста вредности холестерола и билирубина. Ове разлике су најупечатљивије када се упореде јунице старости 6 и 12 месеци, док се у међувредности метаболички показатељи могу кретати на различите начине, али у тренду опадања или пораста који је наведен. На остале параметре старост јуница није имала сигнификантан утицај. Опадање концентрације холестерола би могло бити увод у еструс, који

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

долази јер се циркулишући холестерол користи за продукцију прогестерона. Еструс може утицати на бројне метаболичке показатеље. У анализи метаболичког статуса јуница могу се користити референтни опсези за краве, међутим, због значајног утицаја старости и година и због утицаја лактације на концентрацију метаболита потребно је да се формирају и прецизно одреде референтни опсези за јунице, посебно млађих категорија. Резултати дескриптивних статистичких анализа и графички распоред добијених вредности приказани су у табели 1 и на слици 1.

Табела 1. Дескриптивна статистика референтних вредности биохемијских параметара код јуница

	Minimum 95%CI	Maximum 95%CI	Mean $\pm$ SE		Std. Deviation	Variance
Укупни протеини (g/L)	53	81	69,06	0,65	6,64	44,12
Албумини (g/L)	21	40	31,27	0,5	5,36	28,69
Глобулини (g/L)	31,5	41	37,78	0,7	7,58	57,38
Укупни билирубин ( $\mu$ mol/L)	1,5	11,5	6,29	0,26	2,68	7,19
AST (IU/L)	43,1	115	74,31	2,05	21,03	442,48
GGT (IU/L)	9,0	35	23,93	0,77	7,9	62,44
Глукоза (mmol/L)	2	5,8	4,1	0,1	1,04	1,07
Ca (mmol/L)	1,85	3,55	2,34	0,03	0,3	0,08
P (mmol/L)	1,45	3,7	2,8	0,05	0,52	0,26
Urea (mmol/L)	2,2	5,9	3,7	0,1	1,05	1,11
Холеsterol (mmol/L)	1,1	3,3	2,04	0,07	0,71	0,51
Триглицериди (mmol/L)	0,1	0,3	0,19	0,01	0,09	0,01
BHB (mmol/L)	0,2	0,7	0,56	0,02	0,19	0,04
NEFA (mmol/L)	0,05	0,35	0,17	0,01	0,08	0,01



Слика 1.- Бок-плот дијаграм метаболичких параметара код јуница

Захвалница: Рад је резултат пројеката TR31062 и TR31095, које финансира МРНТР.

**Литература**

1. Abeni F, Calamari L, Stefanini L, Pirlo G, 2012, Effect of average daily gain on body size, metabolism, and milk production of Italian Holstein heifers raised on two different planes of nutrition and calving at two different ages. *Livestock Science*, 149, 7–17.
2. Abeni F, Petrera, F, Le Cozler Y, 2018, Effects of feeding treatment on growth rates, metabolic profiles and age at puberty, and their relationships in dairy heifers. *Animal*, 1-10.
3. Anderson JL, Kalscheur KF, Clapper JA, Perry GA, Keisler DH, Garcia AD and Schingoethe DJ, 2015, Feeding fat from distillers dried grains with solubles to dairy heifers: II. Effects on metabolic profile. *J Dairy Sci*, 98, 5709–19.
4. Cincović MR, 2016, Metabolički stres krava. Monografija, Poljoprivredni fakultet Novi Sad - Departman za veterinarsku medicinu.
5. Crane EM, Munro JC, Bourgon SL, Diel de Amorim M, Ventura R, Fredeen AH, Montanholi YR, 2016, Metabolic blood profile of beef heifers during oestrous and non- oestrous states. *Reproduction in domestic animals*, 51, 819-26.
6. Dechow CD, Baumrucker CR, Bruckmaier RM, Blum JW, 2017, Blood plasma traits associated with genetic merit for feed utilization in Holstein cows. *J dairy Sci*, 100, 8232-38.
7. Klinkon M, Ježek J, 2012, Values of blood variables in calves. In *A bird's-eye view of veterinary medicine* (ed. CC Perez-Marin), pp. 301–320. InTech, Rijeka, Croatia.
8. Schuermann Y, Welsford GE, Nitschmann E, Wykes L, Duggavathi R, 2019, Association between pre-breeding metabolic profiles and reproductive performance in heifers and lactating dairy cows. *Theriogenology*, 131, 79-88.
9. Zahirović N, Galić I, Lakić I, Toholj B, Stančić I, Petrović M, Cincović MR, 2018, Metabolički status junica uzrasta 6-12 meseci. *Letopis naučnih radova/Annals of Agronomy*, 42, 78-83.

ЗНАЧАЈ КОРТИЗОЛА И ЕВАЛУАЦИЈА ЊЕГОВОГ ОДРЕЂИВАЊА ПОМОЋУ  
ИМУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЕ МЕТОДЕ У СЕРУМУ ГОВЕДА

*Марко Цинцовић<sup>1</sup>, Бранислава Белић<sup>1</sup>, Ивана Лакић<sup>1</sup>,  
Мира Мајкић<sup>1</sup>, Радојица Ђоковић<sup>2</sup>, Милош Петровић<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Агрономски факултет Чачак, Универзитет у Крагујевцу

**Кратак садржај**

Кортизол је код говеда главни глукокортикостероид, који се синтетише у кори надбубрега. Ниво кортизола у циркулацији за време гравидитета је релативно низак, до пред сам партус, када настаје изражен пораст његове концентрације у крви. Наиме, својом израженом глуконеогенетском функцијом обезбеђују правилно снабдевање плода и млечне жлезде потребним количинама глукозе, а својом липолитичком улогом обезбеђују довољну количину енергетских прекурсора за развој плода и продукцију млека. Концентрација кортизола је одређена из крви код 50 говеда различитих категорија (јунице, краве у раној лактацији, краве у кетози, краве у стабилној лактацији). У Лабораторији за патолошку физиологију Департмана за ветеринарску медицину врши се рутинско одређивање концентрације хормона помоћу на апарату TOSOH AIA 360. Резултати добијени у овом раду настали су као последица валидације методе и опреме. Одређена је концентрација кортизола, која се кретала у распону од 5,5-320,4 nmol/L. Код истих животиња одређена је концентрација кортизола стандардним ELISA методама, које смо користили у досадашњем раду. Резултати су линеарно повезани са коефицијентом детерминације на нивоу 93,5%. Сегментирана регресија показује да је линеарна повезаност зависи од концентрације хормона, те да се код врло високих концентрација налази нешто нижа линеарна повезаност метода. Поновљивост мерења је веома висока и износи 98%. Разређивање узорка серума доводи до линеарног опадања концентрације хормона, у односу на разређење. Наведени резултати показују да се може одређивати концентрација кортизола у узорцима крви говеда помоћу имунофлуоресцентне методе на апарату TOSOH AIA 360.

**Кључне речи:** говеда, кортизол, валидација

**Summary**

Cortisol is the main glucocorticosteroid in the cattle that is synthesized in the suprarenal gland. The level of cortisol in the circulation during pregnancy is relatively low, until the partus is in front of me when a marked increase in its concentration in the blood occurs. Namely, by their pronounced gluconeogenic function, they ensure proper supply of the fetus and mammary gland to the required amounts of glucose, and with their lipolytic role, they provide sufficient amount of energy precursors for fetal development and milk production. The cortisol concentration is determined from blood in 50 cattle of different categories (heifers, cows in early lactation, cows in ketosis, cows in stable lactation). In the Pathology Physiology Laboratory of the Department of Veterinary Medicine, a routine determination of hormone concentration is performed using the TOSOH AIA 360. The results obtained in this paper were the result of validation of the method and equipment. A cortisol concentration ranging from 5.5-320.4 nmol/L was determined. In the same animals, the concentration of cortisol was determined by the standard ELISA methods that we used in the previous work. The results are linearly related to the determination coefficient at 93.5%. Segmented regression shows that the linear association depends on the hormone concentration and that at very high concentrations there is a somewhat lower linear



connection of the methods. Repeatability of measurements is very high and is 98%. Dilution of serum samples leads to a linear decrease in hormone concentration, according to dilution. These results show that the concentration of cortisol in blood samples of cattle can be determined using the immunofluorescence method on the TOSOH AIA 360 apparatus.

**Key words:** cow, cortisol, validation

#### ФИЗИОЛОШКА УЛОГА КОРТИЗОЛА

Кортизол је код говеда главни глукокортикостероид, који се синтетише у кори надбубрега. Ниво кортизола у циркулацији за време гравидитета је релативно низак, до пред сам партус, када настаје изражен пораст његове концентрације у крви. Испитивања *in vitro* су показала да лептин смањује секрецију кортикостероида под утицајем АСТН, без утицаја на пролиферацију ћелија. Надбубрежне жлезде луче кортизол и кортикостерон у карактеристичном односу 1:1. При томе, треба нагласити, да је кортизол главни глукокортикостероид код говеда. Једнократна апликација дексаметазона (60 mg/kg/дан) код крава у постпарталном периоду врло брзо доводи до снижења концентрације АСТН и кортизола и изазива умерено повишење концентрације инсулина и лептина. Кортизол је најзначајнији глукокортикостероид код преживара. Стероидне је структуре и синтетише се у сноповној зони (зона фасцикулата) коре надбубрежне жлезде, из холестерола, који углавном потиче из крвне плазме, док се мале количине синтетишу у самој адреналној жлезди из асeтiл-СоА. Биосинтеза и секреција кортизола је у потпуности зависна од утицаја хормона аденохипофизе (АСТН). Основна физиолошка улога кортизола је у регулацији метаболизма органских материја. Код преживара кортизол има важну улогу у регулисању процеса глуконеогенезе и депоновању гликогена у јетри, код нормално храњених а и гладних животиња. Кортизол има претежно катаболичку улогу на метаболизам масти. Наиме, високе концентрације АСТН, односно кортизола у крви стимулишу разлагање масти у масном ткиву. Као последица разлагања масти у масном ткиву, настаје хиперлипидемија, хиперхолестеролемија и повећање концентрација слободних масних киселина у крви. Код крава је доказано да при давању АСТН или глукокортикостероида долази до повећања концентрације слободних масних киселина у крви. Сматра се да ови хормони директно или индиректно доприносе ослобађању масних киселина из масног ткива.

Осим тога, глукокортикостероиди смањују улазак и искоришћавање глукозе у масном ткиву и тако смањују стварање глицерола. Пошто је глицерол потребан за поновну естерификацију масних киселина, смањење количине глицерола доводи до мобилизације масних киселина из масног ткива и повећања њихове концентрације у крви. Ипак, најзначајније деловање глукокортикостероида на метаболизам масти се огледа у стимулисању липолитичког деловања катехоламина и хормона раста (пермисивно деловање). Липолитичка активности ових хормона је далеко слабија, ако истровремено нису присутни и глукокортикостероиди у довољним количинама. О овој појави говори и чињеница да у одсуству глукокортикостероида ни један хормон не проузрокује значајније интензивирање липолизе. Супротно овоме, глукокортикостероиди повећавају липогенетско деловање инсулина када се инсулин налази у повећаним концентрацијама у крви, мада ови хормони испољавају антагонистички ефекат на искоришћавање глукозе у масном ткиву. Код стања хипоинсулинизма кортизол стимулише липолизу и доводи до хиперлипидемије и кетонемије.

Код говеда је утврђено да кортизол инхибише процес глуколизе и тако смањује липогенезу у јетри. Поред наведеног, сматра се да глукокортикостероиди имају директан липолитички учинак на метаболизам масти у јетри, јер ови хормони доводе до ослобађања масних киселина из изолованих хепатоцита. У складу са наведеним је и податак, да хормон раста, АСТН и кортизол коче синтезу масти у јетри. АСТН и глукокортикостероиди стимулативно делују на мобилизацију масти у масном ткиву и истовремено спречавају активности дехидрогеназе масних киселина у хепатоцитима.

**КОРТИЗОЛ У ГРАВИДИТЕТУ И ЛАКТАЦИЈИ**

Код млечних крава за време гравидитета и лактације глукокортикостероиди имају врло значајну улогу. Наиме, својом израженом глуконеогенетском функцијом обезбеђују правилно снабдевање плода и млечне жлезде потребним количинама глукозе, а својом липолитичком улогом обезбеђују довољну количину енергетских прекурзора за развој плода и продукцију млека. Сама чињеница да високе концентрације кортизола појачавају липолитичка дејства других хормона, указује да високе концентрације кортизола у време тељења могу утицати на повећану липолизу, која се манифестује липомобилизацијом и накупљањем масти у ћелијама јетре.

Концентрација глукокортикостероида у периферној крви зависи од бројних фактора. Најчешће се помиње брзина, којом се хормон дистрибуира у организму, интензитет искоришћавања у ткивима и брзина његовог разлагања и елиминације из организма. Добро је познат утицај АСТН на функцију коре надбубрежне жлезде. Резултати аутора, који су испитивали овај ефекат, говоре да функционално способна кора одговара појачаном продукцијом и вишеструким повећањем концентрације кортизола у периферној крви.

Гравидитет и лактација не утичу на дневна колебања концентрације хормона у крви, мада је утврђено да је дневна концентрација кортизола већа код гравидних животиња. Концентрација кортизола у крви код високо-продуктивних млечних крава нижа у последња три месеца гравидитета, да би се тако низак ниво одржао и у првом месецу лактације, а онда, како лактација напредује концентрација кортизола у крви се постепено враћа на првобитно више вредности. До повећане концентрације кортизола у крви долази неколико дана пре и на сам дан партуса, што се сматра последицом стреса у том периоду, односно прилагођавања неуро-ендокриног система крава наступајућој високој производњи млека. После тељења, концентрација кортизола у крви је нижа код млечних крава, а посебно код оних које имају ниске нивое тиреоидних хормона у крви. Према неким подацима, концентрација кортизола у крвном серуму непосредно пре тељења просечно износи 55,0 nmol/l, а код отељених крава она је нижа и износи 34,3 nmol/l. Међутим, најмање вредности за концентрацију кортизола у крвном серуму су нађене код крава са ниским нивоима тријодтиронина и тироксина. У таквим случајевима ниво кортизола просечно износи 17,4 nmol/l.

Код високо-продуктивних млечних крава значајно ниже вредности нивоа кортизола у крви 30. дана лактације у односу на ниско-продуктивне, као и у односу на краве, које нису у лактацији. Више аутора је утврдило да високо-продуктивне млечне краве, које оболевају од кетозе, на почетку лактације имају ниже вредности кортизола у крви у односу на здраве животиње. Због тога се оправдано претпоставља да је неадекватна функција коре надбубрежне жлезде у условима великих метаболичких оптерећења у раној лактацији један од основних предуслова за настанак кетозе.

Такође, постоје подаци у литератури који говоре да су код крава на почетку лактације, код којих је утврђена масна инфилтрација и дегенерација ћелија јетре присутне значајно ниже вредности нивоа кортизола у крви у односу на препарталне вредности и у односу на здраве животиње у пурперијуму.

**ОДРЕЂИВАЊЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ КОРТИЗОЛА У КРВИ ГОВЕДА ПОМОЋУ ТОСОХ ТЕХНОЛОГИЈЕ**

У Лабораторији за патолошку физиологију Департмана за ветеринарску медицину врши се рутинско одређивање концентрације хормона помоћу имунофлуоресцентне методе на апарату TOSOH AIA 360. Ова метода и апарат валидирани су за одређивање концентрације полних хормона и тиреоидних хормона, хормона надбубрега и инсулина код кућних љубимаца. Циљ овог рада је да се покажу параметри валидације за одређивање концентрације хормона кортизола код говеда. У оглед је укључено 50 говеда различитих категорија (јунице, краве у раној лактацији, краве у кетози, краве у стабилној лактацији). Одређена је концентрација кортизола, која се кретала у распону од 5,5-320,4 nmol/L. Код истих животиња одређена је концентрација кортизола стандардним ELISA методама, које смо користили у досадашњем раду. Резултати су линеарно повезани са коефицијентом детерминације на нивоу 93,5%. Сегментирана регресија показује да је линеарна повезаност зависи од концентрације хормона, те да се код врло високих концентрација

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

налази нешто нижа линеарна повезаност метода. Поновљивост мерења је веома висока и износи 98%. Разређивање узорка серума доводи до линеарног опадања концентрације хормона, у односу на разређење. Наведени резултати показују да се може одређивати концентрација кортизола у узорцима крви говеда помоћу имунофлуоресцентне методе на апарату TOSOH AIA 360.

Код говедима, нема много података о употреби имунофлуоресцентне EIA методе у одређивању кортизола. У једном новијем раду је коришћена VIDAS технологија за одређивање кортизола и поређена са златним стандардом, а то је RIA метод. Резултати тих истраживања показују да је ова метода адекватна за детекцију кортизола и за истраживачке сврхе, али да може довести до грешака у интерпретацији код појединачних и клиничких узорака.

Резултати нашег истраживања показују да се TOSOH имунофлуоресцентна техника може користити у мерењу концентрације кортизола код крава. До сада нису вршене валидације употребе овог апарата у говедарству, па је потребно вршити додатна истраживања.

**Захвалница:** Резултати су део пројекта TP31062, који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Р. Србије.

#### Литература

1. *Belić B, Cincović M, Lakić I, Đoković R, Petrović M, Ježek J, & Starić J*, 2018, Metabolic Status of Dairy Cows Grouped by Anabolic and Catabolic Indicators of Metabolic Stress in Early Lactation. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46,1, 9.
2. *Cincović M, Starić J* (ur.), 2017, Laboratorijska istraživanja metaboličkog statusa говеда. Monografija. Departman za veterinarsku medicinu-Poljoprivredni fakultet Novi Sad i Klinika za velike životinje – Veterinarska fakulteta Ljubljana.
3. *Cincović MR*, 2016, Metabolički stres крава. Monografija – Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu.
4. *Đoković R, Cincović MR, Belić B*, 2015, Fiziologija i patofiziologija metabolizma крава u peripartalnom periodu. Udžbenik, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu.
5. *Đoković R, Cincović M, Kurčubić V, Petrović M, Lalović M, Jašović B*, 2014, Endocrine and metabolic status of dairy cows during transition period. *Thail. J. Vet. Med.*, 44, 1, 59-66.

УПОТРЕБА КОМБАТА ЗА КВАНТИФИКАЦИЈУ РИЗИЧНИХ ФАКТОРА  
БИОСИГУРНОСТИ НА КОМЕРЦИЈАЛНИМ ФАРМАМА СВИЊА У СРБИЈИ

USE OF THE COMBAT FOR THE QUANTIFICATION OF RISK FACTORS BIOSECURITY  
ON COMMERCIAL PIG FARMS IN SERBIA

Здравко Томић<sup>1</sup>, Владан Миљковић<sup>1</sup>, Татјана Дамјановић<sup>1</sup>, Марко Пајић<sup>2</sup>,  
Далибор Тодоровић<sup>2</sup>, Ненад Стојанац<sup>3</sup>, Огњен Стеванчевић<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Берингер Ингелхејм Србија;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“;

<sup>3</sup>Департаман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај**

СОМБАТ (*Comprehensive online management biosecurity assessment tool*) је нова алатка коју је развила компанија Берингер Ингелхејм са циљем пружања корисних информација произвођачима свиња и ветеринарима у виду квантификације фактора ризика као и указивања на критичне тачке и предлоге за њихово побољшање. Степен процене биосигурносних мера применом СОМБАТ методе базиран је на указивању критичних тачака и оптималних мера за побољшање са аспекта интерног и екстерног ризика, као и ризика који се односе на мере менаџмента и локацију фарме. Примарно је намењена за квантификовање фактора ризика на фармама на којима је дијагностичким испитивањем установљено присуство *Porcine Reproductive Respiratory Syndrome Virus* (ПРРСВ). Испитивање је спроведено током пролећног периода 2019. године на 15 комерцијалних фарми свиња у Републици Србији са укупним капацитетом око 20 хиљада крмача. У оквиру наведене четири групе ризика, налази се укупно 58 питања која су приликом добијених резултата класификована као: веома висок степен, висок степен, средњи степен и низак степен ризика како би се указало на диференцирање приоритета појединих мера која су од већег или мањег значаја. Добијени резултати су показали средњи и висок степен интерног и екстерног ризика, менаџмент је био веома високог и високог степена ризика, док је локација била ниског степена ризика.

**Кључне речи:** СОМБАТ, интерни и екстерни ризик, менаџмент, локација

**УВОД**

Интензивна производња свиња захтева висок ниво здравствене заштите како би генетски потенцијал животиња могао да се максимално испољи (1). Постизање и очување високог нивоа здравствене заштите представља један од највећих изазова са којима се произвођачи свиња и ветеринари данас суочавају. Један од кључних фактора који представља полазну основу за остваривање високог здравственог статуса животиња јесу биосигурносне мере (2, 3). Наиме, биосигурност представља скуп мера које се спроводе у циљу спречавања уношења бројних патогена споља, као и мера које се спроводе унутар запата ради минимизирања постојећих инфекција и спречавања ширења патогена између различитих категорија животиња (4, 5). Да би биосигурносне мере на фармама свиња биле на што вишем нивоу, неопходно је направити стратегију са активностима и правилима којих ће се придржавати сви учесници у ланцу производње. СОМБАТ (*Comprehensive online management biosecurity assessment tool*) је нова алатка коју је развила компанија Берингер Ингелхејм са циљем пружања корисних информација произвођачима свиња и ветеринарима у виду квантификације ризичних фактора као и указивањем

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

на критичне тачке и предлозима за њихово побољшање. Степен процене биосигурносних мера применом СОМВАТ методе базиран је на указивању критичних тачака и оптималних мера за побољшање са аспекта интерног и екстерног ризика, као и ризика који се односе на мере менаџмента и локацију фарме (6, 7, 8). Примарно је намењена за квантификовање фактора ризика на фармама на којима је дијагностичким испитивањем установљено присуство *Porcine Reproductive Respiratory Syndrome Virus* (ПРРСВ). На комерцијалним фармама свиња у Србији, у последње две године, серолошким дијагностичким испитивањем установљена је преваленца ПРРСВ око 90 % што представља отежавајућу околност у остваривању рентабилне производње уколико се не спроводи неки вид контроле. По мишљењу великог броја стручњака, ПРРСВ са економског аспекта представља најскупљу болест у производњи свиња са годишњим губицима у европским земљама са развијеном свињарском производњом од око 1,5 милијарди евра (9, 10).

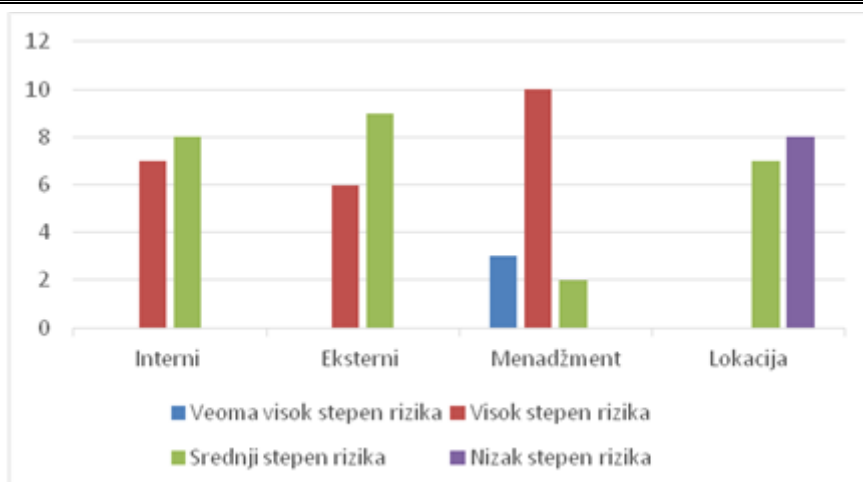
Циљ нашег истраживања је био да се применом СОМВАТ методе квантификују фактори ризика са аспекта интерног, екстерног ризика, менаџмента и локације на комерцијалним фармама свиња у Србији на којима је установљено присуство ПРРСВ.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Испитивање је спроведено током пролећног периода 2019. године на 15 комерцијалних фарми свиња у Републици Србији са укупним капацитетом око 20 хиљада крмача. На свим испитиваним фармама, у последњих годину дана дијагностичким испитивањем установљено је присуство ПРРСВ. Пре почетка спровођења СОМВАТ методе, урађен је мониторинг фарми уз детаљно сагледавање и анализирање производних операција у сарадњи са запосленима на фарми а након тога се приступило реализацији СОМВАТ-а. Метода је заснована на оцењивању четири групе ризика: интерни ризик, екстерни ризик, менаџмент и локација. У оквиру наведених четири група ризика, налази се укупно 58 питања која су приликом добијених резултата класификована као: веома висок степен, висок степен, средњи степен и низак степен ризика како би се указало на диференцирање приоритета појединих мера која су од већег или мањег значаја.

#### РЕЗУЛТАТИ СА ДИСКУСИЈОМ

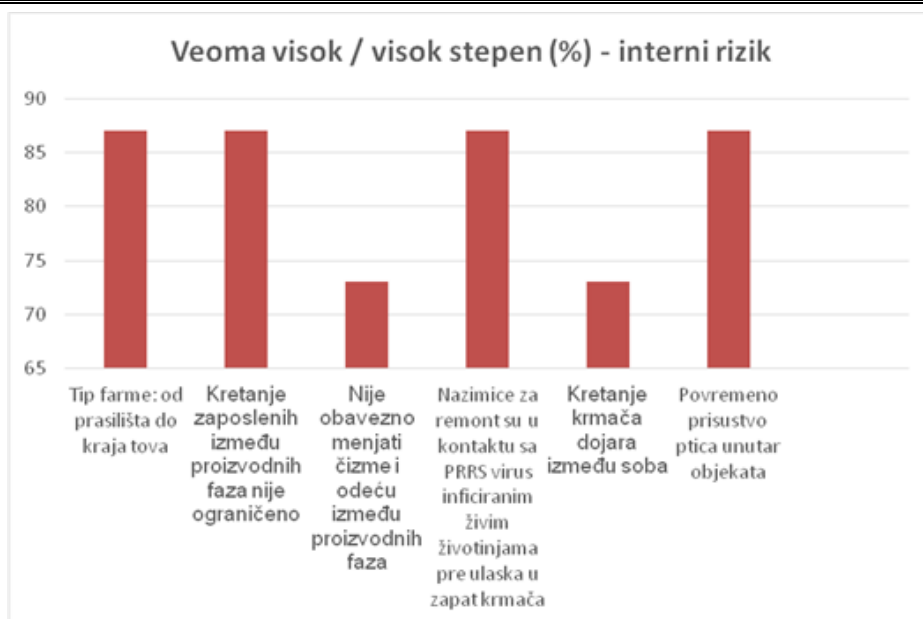
На основу добијених резултата, применом СОМВАТ методе за оцену интерног ризика на седам испитиваних фарми (47%) установљен је висок степен ризика, док је на преосталих осам фарми (53%) установљен средњи степен ризика. Са аспекта екстерног ризика, на шест испитиваних фарми (40%) утврђен је висок степен ризика, док је на преосталих девет фарми утврђен средњи степен ризика (60%). Посматрајући резултате који се односе на ризик менаџмента уочава се да је на испитиваним фармама највише изражен овај ризик што значајно доприноси ширењу болести унутар фарме и на тај начин додатно отежава контролу бројних патогена а нарочито ПРРСВ. Наиме, у резултатима се може видети да је на три фарме (20%) установљен веома висок степен ризика, на десет фарми (67%) је установљен висок степен ризика, док је на преостале две фарме (13%) установљен средњи степен ризика (Графикон бр.1). У нашем истраживању, резултати локацијског ризика су били на ниском и средњем степену ризика што је добар предуслов за спречавање уношења патогена.



Графикон број 1. COMBAT резултати интерног, екстерног ризика, менаџмента и локације

#### Интерни ризик

У нашим резултатима, најважније критичне тачке веома високог и високог степена са аспекта интерног ризика представљене су на графикону бр.2. Кретање крмача дојара између соба прасилишта као и контакт назимица са ПРРСВ инфицираним живим животињама пре уласка у запат крмача су процедуре рада које доприносе ширењу ПРРСВ. До сличних резултата у својим истраживањима су дошли и други аутори (5). У њиховим истраживањима која су вршена у 46 различитих земаља, преко 55% испитиваних фарми има слободно кретање запослених између различитих производних фаза, што је у великој мери слично нашим резултатима (између 85 до 90%). Током спровођења COMBAT-а на фармама свиња у Кини, установљено је да код 41,5% фарми није обавезно мењати обућу и одећу између производних фаза (11).



**Графикон број 2.** Критичне тачке веома високог и високог степена интерног ризика

#### **Екстерни ризик**

Место за одлагање уинутих животиња које се налази унутар круга фарме као и употреба истих превозних средстава како за ПРРС позитивне тако и за ПРРС негативне и наивне животиње су једне од критичних тачака високог степена екстерног ризика (Графикон бр. 3). Истраживања која су спроведена (7), на фармама у Шпанији су показала да код 62% испитиваних фарми не постоји ограничење у употреби возила за транспорт животиња. Резултати наших истраживања показују да ПРРС статус фарми из које долазе животиње је позитиван на ELISA, али нема доказа о активном ширењу вируса (око 50%) што је у сагласности са резултатима које су добили и други аутори (11). Ови аутори наводе да код 51,7% испитиваних фарми, у запат се уводе назимице које су ПРРС позитивног стабилног статуса.

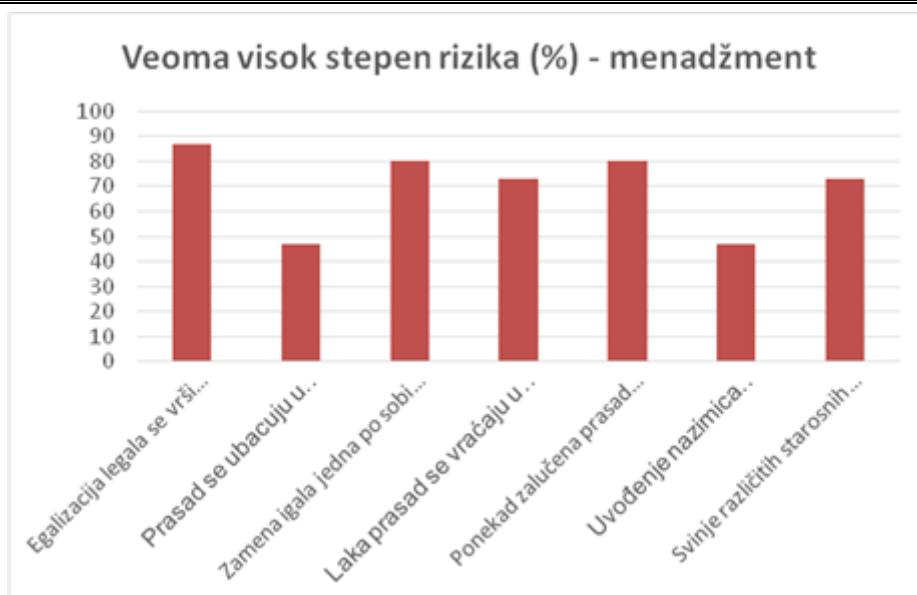


**Графикон број 3.** Критичне тачке високог степена екстерног ризика

#### Менаџмент

У нашим резултатима истраживања уочене су бројне критичне тачке веома високог степена ризика које се односе на менаџмент (Графикон бр. 4). Међу њима посебно треба издвојити егализацију легала која се спроводи током читавог дојног периода, као и изостанак мењања игала између легала или група животиња. Познато је да се ПРРСВ јатрогеним путем веома успешно преноси па тако контаминираним инвазивним инструментима може доћи до преноса вируса са заражених на здраве јединке. У истраживањима која су вршена у Холандији, на више од 90% испитиваних фарми на залучењу се спроводи пребацавање/враћање лаке прасади која нису спремна за даљи одгој у млађе групе у прасилишту (8). Резултати ових аутора се слажу са резултатима у нашим истраживањима. Други аутори наводе да веома висок степен ризика представља и појава залучене прасади у прасилишту без присуства крмаче (6, 7). Они у својим резултатима показују да око 50% испитиваних фарми спроводи овакву процедуру рада.





Графикон број 4. Критичне тачке веома високог степена ризика менаџмента

#### Локација

За разлику од резултата у нашим истраживањима, у којима је установљен низак степен ризика везаног за локацију фарми, резултати других аутора су били различити. Наиме, (8) у својим истраживањима указују да локација представља висок ризик на фармама у Холандији. Главни разлог који томе доприноси јесте мала удаљеност између фарми и то углавном мање од 1 км као и непознавање ПРРС статуса запата у непосредној околини.

#### ЗАКЉУЧАК

Употреба алатки као што је СОМВАТ даје могућност квантификације фактора ризика и скретање пажње на ризичне поступке који угрожавају здравствени статус запата по питању ПРРС вируса. Периодичном евалуацијом фактора ризика у истом запату уз помоћ СОМВАТ-а могуће је управљати ризиком и пратити напредак у смањењу или елиминацији фактора ризика. Такође, СОМВАТ има и едукативни карактер за произвођаче свиња и ветеринаре будући да нуди решења за оптималну ситуацију у циљу постизања успешније и рентабилније свињарске производње.

#### Литература

1. Tomić Z, Stojanac N, Stevančević O, Pajić M, Todorović D, Samojlović M, 2016, Značaj infekcije sa Haemophilus parasuis u nastanku povećanog mortaliteta prasadi u odgoju, *Zbornik radova 14. simpozijuma, zdravstvena zaštita, selekcija i reprodukcija svinja sa međunarodnim učešćem*, Srebrno jezero.
2. Antunović B, Vargović L, Cvrković D, Kundih K, Spajić R, Sili V, Hižman D, Pavičić Ž, Ostović M, 2012, Biosigurnosne mjere u intenzivnome svinjogojstvu, *Poljoprivreda*, 18, 1, 60-4.
3. Kouam M, Moussala J, 2018, Assessment of factors influencing the implementation of biosecurity measures on pig farms in the Western Highlands of Cameroon (Central Africa), *Veterinary Medicine International*, 9.
4. Postma M, 2016, The biosecurity status and its associations with production and management characteristics in farrow-to-finish pig herds, *Animal*, 10, 3, 478-89.
5. Sahlstrom L, Virtanen T, Kyuro J, Lyytikäinen T, 2014, Biosecurity on Finnish cattle, pig and sheep farms – results from a questionnaire, *Prev Vet Med*, 117, 1, 59-7.
6. Rathkjen P, De Paz X, Huang N, Gomez-Duran O, Mondaca E, Maala C, 2018, COMBAT – A new tool for fast evaluation and benchmarking of biosecurity, pig flow and

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

management, Poster section, *ESPHM*, Barcelona. 7. *Rodriguez-Vega V, Figueras-Gourgues S, Hernandez-Caravaca I, Callen A*, 2018, Use of COMBAT – Comprehensive online management and biosecurity assessment tool – in 21 farms in Spain, Poster section, *ESPHM*, Barcelona. 8. *Van Rengen P, Steenaert M, Rathkjen P*, 2018, PRRS risk assessment of Dutch sow herds using COMBAT, Poster section, *ESPHM*, Barcelona. 9. *Nieuwenhuis N, Duinhof TF, Van Nes A*, 2012, Economic analysis of outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nine sow herds. *Veterinary record*, 170, 9, 225. 10. *Holtkamp DJ, Kliebenstein JB, Neumann EJ, Zimmerman JJ, Rotto HF, Yoder TK*, 2013, Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on United States pork producers. *Journal of Swine Health and Production*, 21, 2, 72-84. 11. *Su L, Cai W, Li Y, Fang S, Wang A, Xu D, Wang H, Zhu L, Kolb J*, 2018, Questionnaire survey result of the current biosecurity situation in China pig farms by COMBAT, *IPRRS Symposium*, Chongqing.

КЛИНИЧКЕ ПРОМЕНЕ И НАЧИН ДИЈАГНОСТИКЕ СИНДРОМА  
МАСНЕ ЈЕТРЕ КОД ВИСОКО МЛЕЧНИХ КРАВА

*CLINICAL CHANGES AND METHOD OF DIAGNOSIS OF  
FATTY LIVER SYNDROME IN HIGH DAIRY COWS*

Јован Станојевић, Миодраг Радиновић, Марко Цинцовић, Бранислава Белић

Департаман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Нови Сад

**Кратак садржај**

Метаболичка стања негативног биланса енергије код крава (гладовање, порођај и лактација) доводе до убрзане и неконтролисане мобилизације масти из телесних депоа и њиховог повећаног накупљања у јетри, нарушавајући њен морфолошки и функционални интегритет. У перипарталном периоду код млечних крава се често појављује масна инфилтрација и дегенерација ћелија јетре. Наиме, присуство прекомерне количине масти у јетри је чест налаз код преживара за време касног гравидитета и на почетку лактације. Код млечних раса крава у периоду око тељења, умерена масна инфилтрација јетре се сматра скоро нормалним стањем. Последњих година клинички значај масне јетре у перипарталном периоду крава је добио на значају због везе између умањене функције јетре и повећане склоности за настајање многобројних болести у том периоду.

**Кључне речи:** јетра, крава, мобилизација масти, метаболичка оболења.

**Summary**

The metabolic conditions of the negative balance of energy in cows (starvation, delivery and lactation) lead to accelerated and uncontrolled mobilization of fat from the body depots and their increased accumulation in the liver, disrupting its morphological and functional integrity. In peripartur period, fat infiltration and degeneration of liver cells often occur in milk cows. Namely, the presence of excessive amount of fat in the liver is a common finding in ruminants during late pregnancy and at the beginning of lactation. In dairy breeds of cows in the period around calving, moderate fatty infiltration of the liver is considered almost normal. In recent years, the clinical significance of fatty liver in the peripartur period of cows has become significant because of the link between decreased liver function and increased preference for the formation of many diseases in that period.

**Key words:** cow, liver, mobilization of fat, metabolic diseases

**КЛИНИЧКЕ ПРОМЕНЕ**

Код високомлечних крава масна јетра настаје у току прве четири недеље након телења, када 50% свих крава подлеже акумулацији триглицерида у јетри. Један од разлога је то што је унос хране смањен у односу на потребе организма за енергијом, која се користи за лактацију и потребе организма. Тако је НЕФА из адипозног ткива мобилисана у већим количинама, него што је потребно, па је повећан њихов транспорт у јетру, посебно код гојазних крава. Повећана инфилтрација липидима, посебно триглицеридима, изазива макро и микроскопске промене на јетри, које постају уочљивије што је јача масна инфилтрација. Јетра постаје увећана и отечена, заобљених ивица и бледо жућкаста. Акумулација триглицерида код крава са благо замашћеном јетром је ограничена на централобуларне пределе јетре, у близини хепатичне вене, али се

акумулација шири и на перипорталне просторе. Микроскопске промене се огледају у нарушеном интегритету ћелије и функције хепатоцита, па тако и некрозом и попуштањем мембране ћелија, што узрокује повећану концентрацију јетриних ензима и продуката жучи у плазми. Повећање жучних продуката указује на то да је проток жучи смањен код крава са масном јетром. Повећано акумулирање триглицерида у хепатоцитима смањује простор за депоновање гликогена, што додатно повећава ризик за настанак метаболичких поремећаја. Концентрације протеина које улазе у састав липопротеина су такође смањене код масне јетре, што додатно отежава ослобађање триглицерида из јетре у плазму. Масна инфилтрација доводи и до смањене синтезе естара холестерола који су важни прекурсори стероида, што доводи до ендокриних репродуктивних проблема. Поред стероидних хормона јетра утиче и на метаболизам полних хормона пептидне структуре пореклом из хипофизе, што додатно изазива репродуктивне проблеме код крава са смањеном функцијом јетре. Најчешће су то у питању цисте и нередовни еструсни циклуси. Због смањене функције јетре јављају се и повишене концентрације амонијака, БХБ, НЕФА и ацетоацетата који могу умањити физиолошко функционисање органа услед њихове токсичности при високим концентрацијама. Повећане концентрације НЕФА повећавају липогенезу и кетогенезу у хепатоцитима. Краве са масном јетром имају смањену могућност бета-оксидације, глуконеогенезе и креповог циклуса, што директно представља предиспозицију за настанак кетозе код таквих крава. Као последица кетозе често се код крава јавља и дислокација сиришта због негативног енергетског биланса. Такође краве које уђу у кетозу могу да испољавају нервне симптоме (нервни облик кетозе), што клинички може да буде слично хепатичној коми. За разлику од нервног облика кетозе, који настаје као последица недовољне количине енергије за потребе централног нервнег система, нервни поремећаји код хепатичне енцефалопатије, као најтежег облика масне јетре, настају као последица деловања високе концентрације амонијака на централни нервни сиситем, као и других токсина из дигестивног тракта које јетра није успела да изметаболише. Један од таквих токсина су и меркаптани који настају из метионина у дигестивном тракту. Различити облици имуног одговора су супримирани код крава са масном јетром, тако да се код таквих крава много чешће јављају маститиси и метритиси. Клинички масна јетра често је праћена и повећаном концентрацијом кетонских тела у урину, јаким падом телесне масе и смањеном конзумацијом. Говеда показују нагли престанак апетита, смањење лактације, поремећај рада преджелудца, измет кашаст или течан. Код тежих промена на јетри престаје рад дигестивног тракта и животиње нагло мршаве. Животиње су невеселе, несигурно се крећу или трајно леже. Тријас је најчешће не промењен. Појава жутице настаје као последица повећане концентрације билирубина у крви, и представља знак тежег оштећења паренхима јетре, док се у мокраћи налазе веће количине билирубина и стеркобилиногена. Код веома тешких оштећења јетре настаје општи поремећај организма, често снижена телесна температура, убрзано дисање и рад срца, поремећај свести (жвакање на празно), повремене напади грчева до појаве тетанија, повремено и наизменично раздражење и отупелост, па све до тешких поремећаја рада централног нервнег система (хепатична кома). Продукција млека, репродуктивни и здравствени статус крава са масном јетром могу бити смањени недељама после пада концентрације триглицерида у јетри на нормалан ниво, што показује да проблем масне јетре оставља дугорочне хистолошке, метаболичке и хормоналне промене на цео организам.

#### ДИЈАГНОСТИКА

Веома је важна правовремена дијагностика овог синдрома код високомлечних крава, собзиром да се оболење јавља постепено, а може да доведе до озбиљних проблема, па чак и леталног исхода. Дијагностика овог оболења се базира на неколико основних принципа: општа клиничка дијагностика, лабораторијска дијагностика и одређени функционални тестови за испитивање функције јетре.

Општа клиничка дијагностика – пружа могућност дијагностике овог синдрома већ у подмаклој фази болести, када је јетра значајно замашћена, са инфилтрацијом или дегенерацијом већег броја хепатоцита, што за последицу има њену смањену функцију. Суспектна дијагноза се поставља на основу клиничке слике и симптома који се јављају (описано у делу клиничке слике).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Такође се користе палпација и перкусија али са ограниченим могућностима. Палпација је могућа само уколико је јетра јако повећана, па се њен руб може палпирати испод десног ребарног лука.

Лабораторијска дијагностика – пружа могућност прецизнијег одређивања функционалног стања јетре, на основу специфичних параметара као што су: укупни билирубин, АСТ, АЛТ, ЛДХ, ГГТ, концентрација холестерола.

А) Укупни билирубин - Услед оштећења хепатоцита или поремећаја метаболизма долази до поремећаја екскреторне функције јетре чији је резултат повећање концентрације билирубина у крви. Јовановић и сар. (1987) су код засушених крава установили концентрацију билирубина од 4,7  $\mu\text{mol/L}$ , док су вредности у пуерперијуму значајно више на горњој физиолошкој граници и износе 5,4  $\mu\text{mol/L}$ . Шаманц и сар. (1992) су код првотелки холштај расе установили просечну билирубинемiju од 6,59  $\mu\text{mol/L}$  у пуерперијуму, док у високом гравидитету концентрација билирубина је била нижа и износила је 4,85  $\mu\text{mol/L}$ .

Б) Концентрација АСТ - Трансаминазе су ензими који преводе аминокиселине у кетокиселине и обрнуто и на тај начин повезују метаболизам угљених хидрата и протеина, односно азотних једињења. Највећа концентрација АСТ је у срчаном мишићу, јетри, а затим у скелетној мускулатури, бубрезима и мозгу. Ензим је локализован у цитоплазми и у митохондријама. Разарањем ћелија ових ткива долази до ослобађања ензима и до повећања његове активности у серуму. Из тог разлога код масне дегенерације хепатоцита јавља се повећање концентрације овог ензима у серуму.

В) Концентрација АЛТ - сматра веома специфичним ензимом за јетру јел га у осталим органима има релативно мало. Код лаких оштећења хепатоцита активност АЛТ расте брже него активност АСТ, док ће у тежим случајевима, када су захваћене и митохондрије, повећање АСТ бити израженије.

Г) Концентрација ЛДХ и ГГТ – такође ензими специфични за јетру, до њиховог повећања долази код тежих оштећења хепатоцита и најчешће прате концентрацију АСТ.

Д) Концентрација холестерола – холестерол је типичан производ животињског метаболизма, а код биљоједа који храном уносе веома мало холестерола, јетра представља централни орган синтезе овог једињења. Пошто се основна синтеза холестерола одвија у јетри, до поремећаја у синтези долази код крава са оштећеном функцијом јетре. Код високо млечних крава долази до значајног смањења концентрације холестерола у крви у перипарталном периоду у односу на вредности утврђене 2 до 3 месеца пре партуса, односно 1 до 2 месеца после партуса. Ове промене нарочито су изражене код животиња код којих је утврђена масна инфилтрација и дегенерација ћелија јетре. На основу овога може се проценити функционално стање јетре и пре настанка клиничких симптома болести. Сматра се да код крава са високом концентрацијом холестерола у крви пре телења, постоји мала вероватноћа да у периоду после телења оболе од кетозе или других поремећаја метаболизма масти.

Функционални тестови – тест оптерећења пропионатом

Овај тест је уведен на основу познате чињенице да је пропионат основни прекурсор за синтезу глукозе код преживара, а да је јетра главни орган глуконеогенезе и метаболизма пропионата. Приликом интравенске апликације натријум-пропионата код здравих крава у јетри долази до брзе конверзије пропионата у глукозу, што се манифестује значајним повећањем концентрације глукозе у крви. Насупрот овоме код крава са масном инфилтрацијом или дегенерацијом ћелија јетре не долази до повећања концентрације глукозе у крви.

#### ЗАКЉУЧАК

Пуерперијум представља најкритичнији период за појаву масне јетре. Како је јетра најважнији орган који обезбеђује енергију кравама на почетку лактације веома је важно очувати њену максималну функцију. Из тог разлога правовремена процена функције јетре представља најважнији корак у превенцији и лечењу метаболичких оболења високо млечних крава. За постављање тачне дијагнозе и прогнозе поред опште клиничке дијагностике, значајну улогу има и лабораторијска дијагностика.

**Литература:**

1. Belić B, Cincović MR, 2015, Patološka fiziologija, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
2. Cincović MR, Belić B, Stevančević M, Lako B, Toholj B, Potkonjak A, 2010, Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress, *Contemporary agriculture* 59 (3-4), 300-5.
3. Cincović MR, 2010, Toplotni stres krava – fiziologija i patofiziologija, *Monografija, Zaduzbina Andrejević*, Beograd.
4. Đoković R, Cincović M, Belić B, 2014, Fiziologija i patofiziologija metabolizma krava u peripartalnom periodu, univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad.
5. Jovanović JM, Stamatović MS, Boroš I, Pivnički Z, Damjanović Z, 1991, Vrednosti nekih parametara u krvi kod krava obolelih od hronične ketoze, endometritisa i mastitisa, *Vet glasnik*, 10, 697-701.
6. Jovanović JM, Stamatović SM, Šamanc H, Biljana Radojčić, Ivanov I, Damjanović Z, Jonić B, Arsić B, Arandjelović J, Stefanović M, Petković B, 1987, Prilog izučavanju Metaboličkog profila krava u visokom graviditetu i puerperijumu, *Vet Glasnik*, 41 (5) 297-400.
7. Jovanović M J, Šamanc H, Damjanović Z, Marković S, Djoković R, 1993, Funkcionalno stanje jetre krava u visokom graviditetu i ranoj laktaciji, *Vet glasnik*, 47, 4-5, 295- 310.
8. Koubkova M, Knížková I, Kunc P, Härtlová H, Flusser J, Doležal O, 2002, Influence of high environmental temperatures and evaporative cooling on some physiological, hematological and biochemical parameters in high-yielding dairy cows, *Czech J. Anim. Sci.*, 47, (8): 309–18.
9. Ronchi B, Bernabucci U, Lacetera NG, Supplizi AV, Nardone A, 1999, Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status of Holstein heifers, *Zoot Nutr Anim*, 25, 11–20.
10. Šamanc H, Jovanović MJ, Damjanović Z, Ivanov I, 1992, Koncentracija aminokiselinskog azota i ukupnog bilirubina u krvnom serumu visokogravidnih i tek oteljenih junica istočno-frizijske i Holštajn rase, *Vet glasnik*, 46 (7-8) 377-81.
11. Tietz NW, 1988, Fundamentals of clinical Chemistry, W.B. Sanders Company, Philadelphia.

УТИЦАЈ ТОПЛОТНОГ СТРЕСА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ  
TNF- $\alpha$  И ПРОДУКЦИЈУ МЛЕКА КОД КРАВА

*INFLUENCE OF HEAT STRESS ON TNF- $\alpha$  AND MILK PRODUCTION IN DAIRY COWS*

*Мира Мајкић, Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Нада Плавша, Ивана Лакић*

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

**Кратак садржај**

Топлотни стрес се дефинише као стање у коме је организам изложен високим амбијенталним температурама. У стању топлотног стреса долази до акумулације топлоте па је количина произведене топлоте већа од утрошене. Топлотни стрес негативно утиче на здравствено-продуктивне особине. Последице топлотног стреса су мањи унос хране, пад у производњи млека, и поремећаји функције репродуктивног тракта. THI индекс се користи као модел за процену топлотног стреса, а вредност изнад 72 доводи до физиолошке адаптације. У стању топлотног стреса присутан је и инфламаторни одговор организма који се карактерише повећањем концентрације проинфламаторних цитокина (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  утиче негативно на производњу млека. Циљ рада је да се испита концентрација TNF- $\alpha$  код крава у топлотном стресу и његов утицај на производњу млека. У оглед је укључено 30 крава Холштајн-фризијске расе. Узорци крви су узети венепункцијом из репне вене 0. дана, 7. и 14. дана након излагања топлотном стресу. Вредности TNF- $\alpha$  одређене су (кит Cloud-Clone Sgor., US). Резултати испитивања су показали да су краве које су биле изложене топлотном стресу имале веће вредности TNF- $\alpha$ . Високе вредности TNF- $\alpha$  негативно утичу на производњу млека. Повећање концентрације TNF- $\alpha$  настаје услед продукције веће количине LPS у системску циркулацију. TNF- $\alpha$  негативно утиче на производњу млека, зато што се услед повећане резистенције ћелија на инсулин глукоза не може искористити као енергент за синтезу млека.

**Кључне речи:** топлотни стрес, инфламација, TNF- $\alpha$ , краве

**Summary**

Heat stress is defined as a state in which the organism is exposed to high ambient temperature. In the heat stress condition, heat accumulation occurs and the amount of heat produced is higher than the consumed. Thermal stress negatively affects health-productive qualities. The consequences of heat stress are lower food intake, decline in milk production, and disorders of the reproductive tract function. The THI index is used as a model for the assessment of heat stress, and the value above 72 leads to physiological adaptation. In the state of heat stress, the organism's inflammatory response is also present, which is characterized by an increase in the concentration of proinflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  had negative effect of milk production. The aim of this paper is to examine the concentration of TNF- $\alpha$  in cows in heat stress and its impact on milk production. The study includes 30 Holstein-Friesian cows. Blood samples were taken from tail vein venipuncture for 0 days, 7 days and 14 days after exposure to heat stress. The TNF- $\alpha$  values are determined (Cloud-Clone Sg., US). The results of the study showed that cows exposed to thermal stress had higher levels of TNF- $\alpha$ . High levels of TNF- $\alpha$  adversely affect milk production. An increase in TNF- $\alpha$  concentration is due to the production of a higher amount of LPS in systemic circulation. TNF- $\alpha$  has a negative effect on milk production, because due to the increased resistance of cells to glucose insulin, it can not be used as an energy source for milk synthesis.

**Key words:** heat stress, inflammation, TNF- $\alpha$ , cow

#### УВОД

Говеда су хомеотермне животиње и представљају врсту која је осетљива на високе температуре. Топлотни стрес се дефинише као стање у коме је организам изложен високим амбијенталним температурама. У стању топлотног стреса долази до акумулације топлоте па је количина произведене топлоте већа од утрошене. Топлотни стрес негативно утиче на здравствено-продуктивне особине. Последице топлотног стреса су мањи унос хране, пад у производњи млека, и поремећаји функције репродуктивног тракта. Смањење млечности као последица топлотног стреса настаје услед метаболичке адаптације организма на високе амбијенталне температуре. Постоје различити модели за процену топлотног стреса. Широко прихваћен је модел који се базира на вредностима температуре и влажности ваздуха (ТНІ индексе). Сматра се да је критична вредност ТНІ индекса изнад које се јављају физиолошке адаптације на нивоу 72. У стању топлотног стреса присутан је и инфламаторни одговор организма који се карактерише повећањем концентрације проинфламаторних цитокина (TNF- $\alpha$ ). Фактор некрозе тумора  $\alpha$  је рани показатељ присуства повреда или инфламација. Повећање концентрације TNF- $\alpha$  првенствено има протективну улогу, међутим перзистентно високе концентрације овог медијатора могу довести до мултисистемског дисбаланса и угинућа. Индукција синтезе TNF- $\alpha$  подразумева активацију протеин-киназе и нуклеарног фактора -  $\kappa$ B који промовишу синтезу проинфламаторних и антиинфламаторних гена. Синтетизована форма TNF- $\alpha$  се везује за специфичне рецепторе чиме се активира сигнална каскада у ћелијама и покреће инфламаторни одговор. TNF- $\alpha$  олакшава регрутovanje, активацију, диференцијацију и пролиферацију имунолошких ћелија. Такође, промовише и синтезу неких анти-инфламаторних медијатора (IL-10). Концентрација TNF- $\alpha$  може утицати на производњу млека. Циљ рада је да се испита концентрација TNF- $\alpha$  код крава у топлотном стресу и његов утицај на производњу млека.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У оглед је укључено 30 крава Холштајн-фризијске расе. Просечна производња млека је била 7,995 L по крави у последњој лактацији. Топлотни стрес испитиваних животиња базиран је на вредности ТНІ индекса која је израчуната по формули (Kibler, 1964):  $TNI = 1.8T_a - (1 - RH)(T_a - 14.3) + 32$ ; где је  $T_a$  измерена амбијентална температура изражена у  $^{\circ}C$ , и RH - релативна влажност ваздуха изражена у процентима. ТНІ вредност је мерена 0. дана (термонеутрални период), 7. и 14. дана након излагања животиња топлотном стресу. Измузиште на фарми је по типу рибље кости са аутоматским уређајима за мерење количине млека. Краве су измузане два пута дневно. Количина млека је изражена у форми крави/литар/дан. Узорци крви су узети венепункцијом из репне вене 0. дана, 7. и 14. дана након излагања топлотном стресу. Узорковање је вршено пре јутарњег храњења како би се избегле постпрандијалне промене. Након лабораторијске анализе утврђене су вредности TNF- $\alpha$  (кит Cloud-Clone Sgor., US). Ефекти топлотног стреса на продукцију млека и концентрацију TNF- $\alpha$  су израчунати користећи ANOVA методу и поредећи вредности параметара добијених 0. дана, 7. и 14. дана након излагања топлотном стресу. Парцијалном корелацијом утврђена је производња млека у односу на концентрације глукозе, TNF- $\alpha$  и вредности ТНІ индекса.

#### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

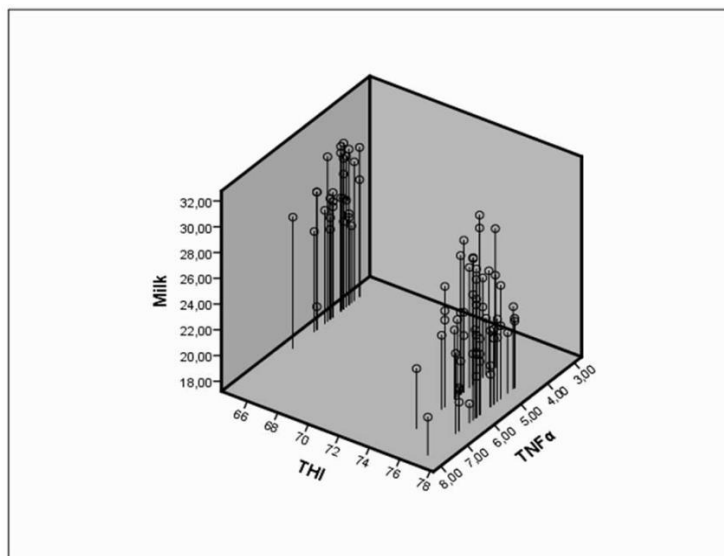
Просечне дневне добијене вредности ТНІ су биле су  $65 \pm 1.05$  (дан 0),  $75 \pm 1.1$  (дан 7) и  $77 \pm 1.4$  (дан 14). Резултати испитивања су показали да су краве које су биле изложене топлотном стресу имале веће вредности TNF- $\alpha$ . Производња млека је била смањена. Највеће разлике у за TNF- $\alpha$  биле су између 0:7, 0:14, 7:14 дана (Табела 1) Корелациона анализа је показала да је TNF- $\alpha$  у значајној мери утиче на производњу млека (Слика 1).



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Табела 1. Утицај топлотног стреса на концентрацију TNF- $\alpha$  и производњу млека

Мерење у данима	Термонеутрални период	Топлотни стрес		ANOVA	LSD at minimal p<0,05
		0	7		
Дневне вредности ТНI	65 $\pm$ 1.05	75 $\pm$ 1.1	77 $\pm$ 1.4	p<0.01	0:7, 0:14, 7:14
Млеко (L/дану)	27.01 $\pm$ 2.5	23.95 $\pm$ 2.1	21.97 $\pm$ 2	p<0.01	0:7, 0:14, 7:14
TNF- $\alpha$ (ng/mL)	4.35 $\pm$ 0.59	5.15 $\pm$ 0.61	5.68 $\pm$ 0.6	p<0.01	0:7, 0:14, 7:14



Слика 1. Однос ТНI и TNF

Добијени резултати се слажу са резултатима других аутора који су су утврдили да је код крава, које су изложене топлотном стресу већа концентрација циркулишућих цитокина и TNF- $\alpha$ . Повећање концентрације проинфламаторних цитокина индуковано је од стране LPS (липополисахариди) грам негативних бактерија. У стању топлотног стреса LPS грам негативних бактерија се појачано ослобађају као последица промена на нивоу гастроинтестиналног тракта, где долази до скраћивања и слепљивања епителијалних ресица. Такође је присутан повећан пермеабилитет ћелијске мембране и умножавање грам негативних бактерија, чији токсини продиру у системску циркулацију и стимулишу продукцију проинфламаторних цитокина. Током експозиције крава високим амбијенталним температурама долази и до оксидативног стреса. Концентрација TNF- $\alpha$  и осталих проинфламаторних цитокина може бити повећана током трајања топлотног стреса, а разлог за то је стимулација од стране LPS (липополисахариди) грам негативних бактерија.

TNF- $\alpha$  регулише и метаболизам угљених хидрата тако што супримира процес глуконеогенезе у јетри. Услед активности TNF- $\alpha$  повећава се периферна резистенција ћелија на инсулин, чиме се блокира улазак глукозе у ћелије и њено даље метаболисање. У таквом стању енергија, која се налази у форми глукозе остаје "заробљена". У крви се може регистровати повећана концентрација глукозе што представља стимулус за ћелије панкреаса, које повећано луче инсулин, али због периферне неосетљивости ћелија глукоза се не може искористити, те тако организам улази у *circulus viciosus*. У млечну жлезду не долазе сировине за синтезу млека па последично реагује смањеном млечношћу. Последица топлотног стреса је нижа гликемија. Међутим, током дуже експозиције крава високом температурама организам улази у стање

системске инфламације, па тада због повећања концентрације проинфламаторних цитокина до повећања периферне резистенција хелија на инсулин и повећања концентрације глукозе.

#### ЗАКЉУЧАК

Корелационе и регресионе анализе су показале да постоји позитивна линеарна крелација између вредности THI индекса и концентрације TNF- $\alpha$ . Концентрација TNF- $\alpha$  је повећана код крава које су изложене топлотном стресу, а повећање концентрације настаје услед продукције веће количине LPS у системску циркулацију. TNF- $\alpha$  негативно утиче на производњу млека, зато што се услед повећане резистенције хелија на инсулин глукоза не може искористити као енергент за синтезу млека.

**Захвалница:** Рад је резултат пројекта ”Значај одређивања и клиничка евалуација серумског фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у процени инфламаторног одговора преживара и паса”, финансиран од стране Покрајинског секретаријата за високо образовање и научно-истраживачку делатност АП Војводине.

#### Литература

1. *Herbut P, Angrecka S, 2012, Forming of temperature-humidity index (THI) and milk production of cows in the free-stall barn during the period of summer heat. Animal Science Papers & Reports, 30, 4.*
2. *Sordillo LM, Contreras GA, Aitken SL, 2009, Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Animal Health Research Reviews, 10, 01, 53-63.*
3. *Olesen CM, Coskun M, Peyrin-Biroulet L, Nielsen OH, 2016, Mechanisms behind efficacy of tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel diseases. Pharmacology & therapeutics, 159, 110-119.*
4. *Taylor PC, 2010, Pharmacology of TNF blockade in rheumatoid arthritis and other chronic inflammatory diseases. Curr Opin Pharmacol 10, 308-15.*
5. *Gunther C, Neumann H, Neurath MF, Becker C, 2013, Apoptosis necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. Gut, 62, 1062-71.*
6. *Chen S, Wang J, Peng D, Li G, Chen J, Gu X, 2018, Exposure to heat-stress environment affects the physiology, circulation levels of cytokines, and microbiome in dairy cows. Scientific reports, 8, 14606.*
7. *Sanz-Fernandez MV, Stoakes SK, Johnson JS, Abuajamieh M, Seibert JT, Pearce SC, et al, 2015, Heat Stress: What's the Gut Got To Do With It? Link: [https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/813/39210/3/Baumgard\\_manu.pdf](https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/813/39210/3/Baumgard_manu.pdf).*
8. *Zebeli Q, Metzler-Zebeli BU, 2012, Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. Research in veterinary science, 9, 3, 1099-108.*
9. *Greenberg AS, Kraemer FB, Soni KG, Jedrychowski MP, Yan QW, Graham CE, et al, 2011, Lipid droplet meets a mitochondrial protein to regulate adipocyte lipolysis. The EMBO journal, 30, 4337-39.*
10. *Perino A, Ghigo A, Scott JD, Hirsch E, 2012, Anchoring proteins as regulators of signaling pathways. Circulation research, 111, 482-92.*

ПОВЕЗАНОСТ ИНСОЛАЦИЈЕ СА АМБИЈЕНТАЛНИМ ПОКАЗАТЕЉИМА  
ТОПЛОТНОГ СТРЕСА КОД КРАВА

*Мира Мајкић, Марко Цинцовић, Бранислава Белић, Нада Плавша*

Департаман за ветеринарску медицину – Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај**

Инсолација, је количина енергије коју површина земље прими од Сунца у виду електромагнетног зрачења. Инсолација се може мерити на површини Земље, или на одређеном простору. Краве се могу држати у везаном и слободном систему. Везани систем држања значи да је држање појединачно, да се све манипулативне радње изводе по том принципу. Једна од предности слободног система држања је боља кондиција крива и дужи експлоатациони век. Објекте треба градити на сеновитим теренима од материјала који неће одавати превелику количину топлоте. Добра топлотна изолација подразумева да се стаја може одржавати са минимално потребним односом телесне топлоте која је преостала након вентилације. Топлотни стрес се дефинише као стање у коме је организам изложен амбијенталним температурама, које су изван биолошког оптимума, што доводи до тога да количина произведене топлоте у телу буде већа од утрошене. Стресогеност температуре амбијента се процењује упоредним мерењем температуре ваздуха и влажности ваздуха (ТН). Ретроспективне анализе су показале да је критична вредност ТН индекса изнад, које се јављају физиолошке адаптације, на нивоу 72. Резултати испитивања показују позитивну корелацију између инсолације и дневне и ноћне температуре, а негативну корелацију са влажношћу ваздуха измерене током дана и ноћи. Вредност инсолације позитивно корелира са максимално израчунатим вредностима ТН индекса.

**Кључне речи:** инсолација, климатске промене, објекти за смештај говеда, ТН, топлотни стрес

**Summary**

Insolation is the power per unit area received from the Sun in the form of electromagnetic radiation. Insolation can be measured in space or at the Earth's surface. Cows can be kept in binding and freestall system. Binding system means that keeping is individual and all manipulative actions are performed according this principle. One of the advantage of freestall system is the cow better condition and longer exploitation age. Stalls should be built on shady area with good thermal isolation materials. Good thermal isolation means that the stall can be maintained with the minimum required body heat ratio left after ventilation. Heat stress is defined as a high temperature cows exposed when amount of heat production is higher then used. THI index is the best model to evaluate of heat stress. When the values of THI are below of 72 heat stress are presented. The results show a positive correlation of insolation with day and night temperatures, and a negative correlation with the humidity of the air measured during the day and night. The insolation value positively correlates with the maximum calculated values of the THI index.

**Key words:** climatic changes, heat stress, insolation, stalls, THI

**Дефиниција и мерење инсолације**

Инсолација или осунчаност, је количина енергије коју површина земље прими од Сунца у виду електромагнетног зрачења. Један мали део зрачења доспева до земљине површине, док се већи део рефлектује, расипа или га упија атмосфера. Осим зрачења коју емитује Сунце, и Земља

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

емитује одређену количину зрачења које се назива терестичка радијација. Инсолација се може мерити на површини Земље, или на одређеном простору. Осунчаност у неком одређеном простору зависи од удаљености од Сунца, соларног циклуса и промена у соларном циклусу. Инсолација на површини Земље зависи од нагиба, мерне површине, висине Сунца изнад хоризонта и атмосферских услова. Када је реч о временским приликама, вредност директног сунчевог зрачења се мења под утицајем облачности. У нашим крајевима дневна сума директног Сунчевог зрачења је већа за пет пута пред летњи солстицијум (равнодневница.) у односу на зимски. Међутим дневна сума овог зрачења је већа пред јесењу равнодневницу за 48 сати у односу на пролећну.

У пракси се користе различити инструменти за мерење инсолације. Најчешће коришћени су: 1) Хелиограф који мери трајање сунчевог сјаја. Састоји се од стаклене лопте са пречником од 9-12 cm која служи као сабирно сочиво у чијем се центру концентришу сунчеви зраци. Сунчеви зраци прогоревају хелиографске траке које се налазе иза стаклене лопте. На траци су обележени сати па је могуће прочитати колико је сунце трајало у току дана; 2) Кембел-стоксов хелиограф, састоји се из стаклене лопте иза које је на раздаљини која је једнака раздаљини од центра причвршћена метална шкољка. На њеној површини се стрављају три пара усека у које се стављају хелиографске траке. На спољашњој страни се налази скала која служи за постављање скољке на географску ширину метеоролошке станице која мери осунчаност, 3) Камбел-Стоксов хелиограф погодан је за регистровање сунчевог сјаја само у средњим географским ширинама, 4) Пиранометар мери укупно Сунчево зрачење које пада на одређену водоравну површину, 5) Пирхелиометар уређај који мери количину енергије које Сунце дозрачи Земљи.

Клима Србије се може описати као умерено-континентална са мање или више израженим локалним карактеристикама, Најтоплији делови године су јул и август када су просечне температуре у интервалу од 27.6 до 34.0°C за јул и 37.4-40.3 °C за август. Најниже температуре регистроване су у јануару и крећу се у интервалу од -30,7 °C до -20,1 °C. Годишња осунчаност је у интервалу од 1500 до 2200 сати годишње. Највиша просечна осунчаност изменера је у Кикинди, а најнижа у Пожеги.

#### Објекти за смештај говеда и повезаност са климатским факторима

Музне краве се могу држати на два начина везаним и слободним системом држања. Везани систем држања крава значи да је држање појединачно, односно да се све манипулативне радње изводе по том појединачном принципу. При томе се мисли на исхрану, негу, напајање, мужу, и у таквим условима се могу испунити готово сви захтеви за постизање високе производње. Везани систем држања крава остаје као трајно решење само за мале неспецијализоване фарме које имају до 20 крава у стаји. Везани систем држања крава карактеришу нека основна обележја, од којих је најзначајније дужина лежишта. У том погледу се разликују три основна типа: дугачко, средње и кратко лежиште.

Слободни систем држања крава има предности у односу на везани. Једна од предности је боља кондиција крава и дужи експлоатациони век. Здравље папака и вимена представља најважније елементе који одржавају грло у експлоатацији. То је веома важно код гајења племенитих раса, а слободни систем држања крава омогућава да се здравствено стање папака и вимена одржава у добром стању. Код овог система држања разликују се стаје без лежишта, и стаје са лежиштима. Заједничко за оба типа је раздвајање функција лежања од исхране и кретања. Даље разлике су по начину изјубравања, односно са и без коришћења простирке.

Краве су врста која лакше подноси ниже температуре. Оптимални температурни интервал је од -7°C до +24°C. У том интервалу корелација између хране и продукције млека је константна, а зван овог подручја настаје топлотни или хладни стрес. Приликом изградње објеката треба водити рачуна о избору локације. Објекте треба градити на сеновитим теренима од материјала који неће одавати превелику количину топлоте. Добра топлотна изолација подразумева да се стаја може одржавати са минимално потребним односом телесне топлоте која је преостала након вентилације. Крава своју температуру од +38-39°C одржава и балансира путем одавања телесне топлоте и испарења преко коже и дисајних органа. Загрејани ваздух који има мању специфину тежину од атмосферског ваздуха диже се у више слојеве стаје и тиме ствара ефекат подпритиска у зони крава

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

и омогућава да се на то место спусти свежи атмосферски ваздух који има већу специфичну тежину од стајског ваздуха. Да би овај систем функционисао потребно је да на врху крова стаје постоје стални отвори за одвод топлих слојева ваздуха, као и прозори на висини око 2 метра да би се избегао директни удар свежег ваздуха на тело животиња. Кретање већих количина ваздуха око тела краве побољшава и подстиче стално одавање телесне топлоте, а тиме и уравнотежење телесне температуре краве са околином. Повећањем температуре у стаји, организму краве је теже да се ослободи вишка топлоте коју сама производи. У том случају долази до акумулације вишка топлоте у организму и настанка топлотног стреса. Циљ вентилације је да се смањи температура и релативна влажност ваздуха.

#### **Дефиниција и значај топлотног стреса код крива**

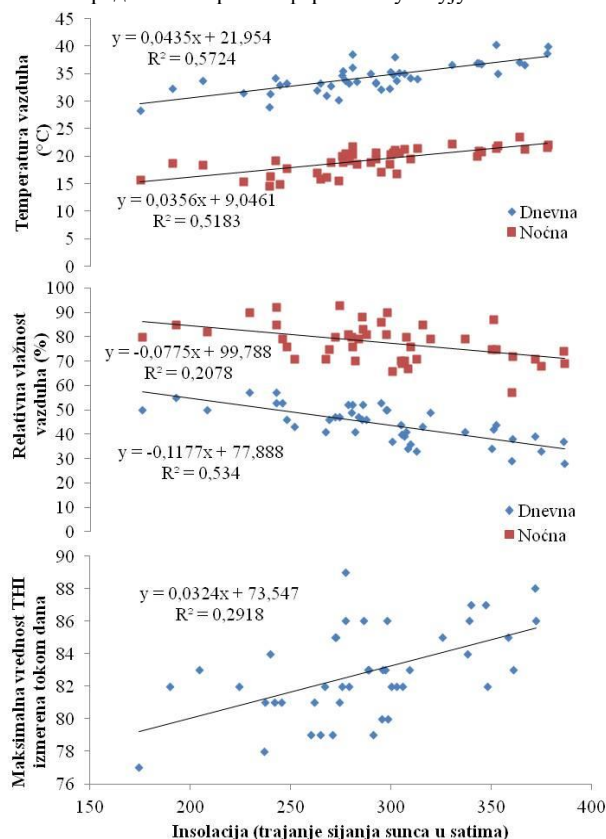
Топлотни стрес се дефинише као стање у коме је организам изложен амбијенталним температурама, које су изван биолошког оптимума, што доводи до тога да количина произведене топлоте у телу буде већа од утрошене. У стању топлотног стреса енергија се троши на расхлађивање, односно одржавање хомеотермије, уместо на одржавање производних особина. Последице топлотног стреса су: смањен унос СМ хране, повећање телесне температуре, смањена производња млека и већа учесталост за настанак маститиса, повећање броја соматских ћелија, повећање броја респирација. Стресоногеност температуре амбијента се процењује упоредним мерењем температуре ваздуха и влажности ваздуха (eng. Temperature-Humidity Index, THI). Ретроспективне анализе су показале да је критична вредност THI индекса изнад, које се јављају физиолошке адаптације, пад продуктивности и патофизиолошке измене на нивоу 72. Уколико вредност THI индекса прелази 78, долази до значајног смањења продукције млека, а код вредности од 82 може доћи и до угинућа. Климатске промене доводе до повећања максималних вредности THI индекса за 0,19 у јуну, 0,13 у јулу и 0,44 у августу. Година са највећом вредношћу THI индекса је била 2007., када је у јуну забележено више од 20 дана где су вредности THI > 74, као и 2012. са 22 топла дана. Број топлих дана у летњим месецима је повећан и лето у просеку почиње две недеље раније (у поређењу са подацима о почетку лета, током претходних година) и траје две недеље дуже. Број дана код којих је просечна дневна температура износила 30°C је повећан, а истраживачи предвиђају да ће максималне температуре између две сезоне износити од 35-48°C. У циљу смањења негативних ефеката топлотног стреса неопходно је развити систем у коме температуре коже неће прелазити 35°C. Израелски истраживачи су документовали да је корисно израчунати број веома топлих дана у години на основу дугогодишњег просека, и на основу добијених вредности планирати стратегију расхлађивања. У стратегију заштите од негативног утицаја високе температуре, потребно је узети у обзир и врсту, расу као и производну категорију животиње, која се посматра. Дужина трајања експозиције топлотном стресу негативно утиче на производњу млека. Свој негативни ефекат топлотни стрес остварује у првих 24-48 сати по изложености топлотном стресу. Уколико су вредности THI индекса од 72-80 значајно се смањује производња млека и то у прва четири дана по експозицији. Потребно је нагласити да се осетљивост говеда на веће вредности THI индекса повећава са повећањем производње млека, па уколико се производња млека повећа са 35 на 45 kg/дан, осетљивост на топлотни стрес се повећава за 5%.

#### **Значај инсолације у процени топлотног стреса код крива**

Највећа осунчаност је присутна у летњим месецима, када вентилацијони системи нису довољни да коригују високе амбијенталне температуре и високу влажност ваздуха. У истраживање су укључени подаци о инсолацији, просечној дневној и ноћној температури и просечној дневној и ноћној влажности ваздуха за месеце мај, јун, јул и август у протеклој деценији. Подаци су добијени из извештаја РХМЗС и обрачунати на нивоу месечних просека. Испитана је линеарна регресија и корелација између инсолације и температуре и влажности ваздуха, као и максимално израчунате вредности THI индекса током дана. Резултати испитивања показују позитивну корелацију између инсолације и дневне и ноћне температуре, а негативну корелацију са влажношћу ваздуха измерене током дана и ноћи. Вредност инсолације позитивно корелира са максимално израчунатим вредностима THI индекса. Сви резултати су приказани на слици 1. Добијени

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

резултати указују на значај инсолације, те потврђују да је једна од значајнијих мера заштите од топлотног стреса обезбеђивање сенке ако су животиње у испусту или на паши, односно адекватно постављање објеката ако се ради о затвореном фармском узгоју.



Слика 1.- Линеарна регресија и корелација просечне месечне инсолације са просечном температуром, влажности ваздуха и просечном максималном вредности THI индекса

**Захвалница:** Рад је део пројекта TP31062 које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Р.Србије.

#### Литература

1. Angrecka S, Herbut P, Nawalany G, Sokolowski P, 2017. The impact of localization and barn type on insolation of sidewall stalls during summer, *Journal of Ecological Engineering*, 18,4, 60-6.
2. Cincović MR, Belić BM, Toholj BD, Radović IV, Vidović BR, 2010. The influence of THI values at different periods of lactation on milk quality and characteristics of lactation curve, *Journal of Agricultural Sciences*, 55, 3, 235-41.
3. Collier RJ, Hall LW, Rungruang S, Zimbleman RB, 2012. Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. *Department of Animal Sciences University of Arizona*, 68.
4. Majkić M, Cincović M. R, Belić B, Plavša N, 2016. Indeks termalnog komfora (THI) krava u letnjim mesecima od 2005-2016 godine na teritoriji AP Vojvodine, *Zbornik radova XXII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, Agronomski fakultet Čačak*, pp. 737-42.
5. Republički Hidrometeorološko Zavod <http://www.hidmet.gov.rs/>

УТИЦАЈ ПЕРОРАЛНЕ АПЛИКАЦИЈЕ ИНСУЛИНА И ГЛУКОЗЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ  
ИМУНОГЛОБУЛИНА Г КЛАСЕ У КРВНОМ СЕРУМУ НОВОРОЂЕНЕ ТЕЛАДИ

*EFFECTS OF PERORAL INSULIN AND GLUCOSE ON CIRCULATING IMMUNOGLOBULIN G  
IN BLOOD SERUM OF NEONATAL CALVES*

Данијела Кировски<sup>1</sup>, Љубомир Јовановић<sup>1</sup>, Радиша Продановић<sup>1</sup>, Сретен Недић<sup>1</sup>, Жељко  
Сладојевић<sup>2</sup>, Иван Вујанац<sup>1</sup>, Миодраг Лазаревић<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Београд, Србија

<sup>2</sup> Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бања Лука, Република Српска,  
Босна и Херцеговина

**Кратак садржај**

Новорођена телад се рађају у стању хипогликемије и хипоинсулинемије, као и недовољно функционалним хомеостатским механизмима. Стога су први дани неонаталног живота критични за опстанак јединке. Циљ истраживања је био да се испита утицај апликације инсулина и глукозе, уз напајање колострумом, на концентрацију ИгГ у крви током неонаталног живота. Тридесет два телета холштајн фризијске расе су, 30 минута после рођења, примила перорално 80 мл раствора инсулина (Инс група), глукозе (Глу група), инсулина и глукозе (Инс/Глу група) односно носача NaHCO<sub>3</sub> (К група). Телад су напајана пуловима колострума припремљених за по 4 телета из различитих група 2., 14. и 26. сата након рођења. Концентрација ИгГ је била највиша у примарном а статистички нижа у секундарном и терцијалрном колоструму. Узорци крви су узимани пункцијом *v. jugularis* 30., 60. и 90. минута, као и 3., 4., 5., 16., 18., 20., 28., 30., 32. сата и 7. дана неонаталног живота, за одређивање концентрација инсулина и глукозе. Концентрација ИгГ одређивана је у узорцима добијеним 30. минута и 32. сата живота. Концентрација ИгГ је била, 30. минута живота, просечно 0,61±0,23 g/l, 0,61±0,43 g/l, 0,77±0,33 g/l и 0,75±0,48 g/l редом по групама, док је 32. сата живота била 13,3±5,1 g/l, 19,0±1,8 g/l, 17,3±2,2 g/l и 14,4±3,9 g/l редом по групама, односно 32. сата је била статистички значајно виша у односу на К групу једино у Глу групи (p=0,008) али не и у Инс/Глу (p=0,090) и у Инс групи (p=0,656). Резултати показују да је за процес ресорпције имуноглобулина из колострума, поред биолошки активних материја, од круцијалног значаја присуство енергије у периоду пре уноса колострума која вероватно повећава капацитет еритроцита за иницијалну ресорпцију. Само додавање инсулина није поспешило ресорпцију, супротно очекивањима, вероватно због изразите неонаталне хипогликемије код таквих телад док је инсулин уз додатак глукозе поспешило ресорпцију али не до нивоа статистичке значајности.

**Кључне речи:** телад, колострум, инсулин, глукоза, ИгГ

**Summary**

Newborn calves are born in the state of hypoglycemia and hypoinsulinemia, and with immature homeostatic mechanisms. Therefore, first days of neonatal life are crucial for newborn`s survival. The aim of this study was to investigate the effect of insulin and glucose application, combined with colostrum intake, on blood IgG concentration during neonatal life. Thirty two Holstein Friesian calves received, 30 minutes after delivery, 80 ml of peroral solution of insulin (Ins group), glucose (Glu group), both insulin and glucose (Ins/Glu group) and NaHCO<sub>3</sub> carrier (K group). Calves received colostrum pools prepared for 4 calves from each group on hours 2, 14 and 26 after delivery. IgG concentration was high in

primary and significantly lower in secondary and tertial colostrum. Blood samples were taken by *v. jugularis* punctation at minutes 30., 60. and 90., as well as hours 3., 4., 5., 16., 18., 20., 28., 30., 32. and day 7 of neonatal life, for determination of insulin and glucose. IgG concentration was determined in samples taken on minute 30 and hour 32 of neonatal life. On minute 30, IgG concentration was  $0.61\pm 0.23$  g/l,  $0.61\pm 0.43$  g/l,  $0.77\pm 0.33$  g/l and  $0.75\pm 0.48$  g/l respectively, while at hour 32 it was  $13.3\pm 5.1$  g/l,  $19.0\pm 1.8$  g/l,  $17.3\pm 2.2$  g/l and  $14.4\pm 3.9$  g/l respectively, meaning that at hour 32 it was significantly higher, compared to K group, only in Glu group ( $p=0.008$ ) but not in Ins/Glu ( $p=0.090$ ) and in Ins group ( $p=0.656$ ). Our results show that, besides biological active substances, energy supply during precolostral period, is crucial, probably due to incising capacity of enterocyte for initial absorption. Opposite of what was expected, only insulin application did not increase absorption, probably because of severe neonatal hypoglycemia in those calves while insulin combined with glucose application increased absorption but not significantly.

**Key words:** calves, colostrum, insulin, glucose, IgG

#### УВОД

Новорођена телад се рађају са смањеном концентрацијом многих биохемијских компоненти у крви, као и недовољно функционалним хомеостатским механизмима. Посебно су критични првих два до четири сата неонаталног живота, односно период пре уношења првог колострума. Када је у питању енергетски метаболизам, телад се рађа у стању хипогликемије која је праћена повишеном концентрацијом инсулина и смањеном концентрацијом глукагона уз високу концентрацију кортизола. У првим сатима живота, концентрација глукагона расте а концентрација инсулина опада, омогућавајући појачано одвијање катаболичких процеса неопходних за одржавање нормогликемије. Истовремено, повишена концентрација кортизола је одговорна за започињање процеса глукогенезе (Кировски, 2015). С друге стране, имунски систем јединке је недовољно развијен, а концентрација имуноглобулина Г класе (ИгГ) је минимална (или имуноглобулина Г нема) због синдесмохоријалног типа плаценте који онемогућава трансфер имуноглобулина из крви мајке у плод, а што је описано у ревијалном раду McGee и Early (2019).

Колострум је једина храна новорођенчади у првим данима живота и обезбеђује телету неопходне хранљиве материје за опстанак али и биолошки активне супстанце које су неопходне за преживљавање (имуноглобулини, фактори раста, хормони). Квалитет колострума је од изузетне важности за успостављање физиолошких процеса код новорођенчади. Иако се највећа пажња у литератури, када је у питању колострум, поклања садржају имуноглобулина у њему јер они обезбеђују пасиван имунитет, утврђено је да и многи други фактори доприносе правилном развоју неонаталног црева и тиме имају могућност да повећају ресорпцију имуноглобулина. Тако је утврђено да је инсулин из колострума одговоран за правовремено сазревање ентероцита новорођених јединки (Ontsouka и сар., 2016).

Узимајући у обзир чињеницу да је један од најпоузданијих показатеља правилног одгоја новорођене телад степен ресорпције имуноглобулина током неонаталног периода живота, многи аутори су испитивали различите факторе који на тај процес утичу (Sangild, 2003). Стога је циљ нашег истраживања био да се испита утицај апликације инсулина и глукозе, уз напајање колострумом, на концентрацију имуноглобулина Г класе током неонаталног живота.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Оглед је изведен на 32 новорођена телета холштајн-фризијске расе одгајаних на фарми комерцијалног типа. Телад су по рођењу провела 2 сата уз мајке, без могућности сисања, након чега су транспортована у суседни објекат и смештена у индивидуалне боксеве. Телад нису показивала знаке поремећеног здравља. По рођењу, свако теле је било сврстано у једну од 4 групе које су добијале перорално, 30 минута након рођења, по 80 мл раствора. Група Инс добијала је 30 U/kg телесне масе инсулина раствореног у 0,6 М натријум карбоната (pH=8,5). Група Глу добијала је 1 g/kg телесне масе глукозе растворене у 0,6 М натријум карбоната (pH=8,5). Група Инс/Глу добијала је 30 U/kg телесне масе инсулина и 1 g/kg телесне масе глукозе растворене у 0,6 М



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

натријум карбоната (pH=8,5). Група К добијала је 0,6 М натријум карбонат (pH=8,5). За напајање телад припремљено је 8 збирних узорака колострума примарног (добијеног мужем крава 2 сата након тељења), секундарног (добијеног мужем 14 сати после тељења) и терцијарног (добијеног мужем 26 сата након тељења). Тако добијени збирни узорци колострума су замрзавани на  $-20^{\circ}\text{C}$ . Телад су напајана примарним колострумом 2. сата, секундарним 14. сата и терцијарним 26. сата неонаталног живота. Збирни узорци су коришћени за напајање по 4 телета, из сваке групе по једног. На овај начин је обезбеђено да телад подвргнута различитим третманима добију исту количину хранљивих и биолошки активних материја приликом првог и следећих колостралних напоја.

Узорци крви су узимани пункцијом *v. jugularis* 30., 60. и 90. минута, као и 3., 4., 5., 16., 18., 20., 28., 30. и 32. сата и 7. дана неонаталног живота. Издвојен је крвни серум који је складиштен на  $-20^{\circ}\text{C}$ , све до извођења анализа. Узорци колострума узети су из осам збирних узорака примарног, секундарног и терцијалног колострума. Издвојено је 50 мл узорка за анализе који су замрзнути на  $-20^{\circ}\text{C}$ . Колострални серум је издвајан након одмрзавања узорка колострума.

Концентрације ИгГ одређиване су у узорцима колостралног серума у примарном, секундарном и терцијарном колоструму. Док су концентрације инсулина и глукозе одређивљне у свим узорцима крвног серума, концентрација ИгГ одређена је само у 0. и 32. сату неонаталног живота. Концентрација ИгГ одређивана је комерцијалним радијалним имунодифузионим тестом (sRID, INEP Zemun).

Добијени подаци су обрађени дескриптивним статистичким параметрима (средња вредност и стандардна девијација) а поређење вредности између група извршено је Студентовим *t* тестом. Ралика је сматрана статистички значајном за вредност  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛТАТИ

Резултати концентрације имуноглобулина у узорцима збирних колострума указују да је концентрација ИгГ у примарном колоструму била  $95,50 \pm 11,53$  g/l, у секундарном  $54,75 \pm 7,7$  g/l, док је у терцијалном била  $30,5 \pm 5,01$  g/l. Коефицијенти варијације унутар група су били 12,08%, 13,83% и 16,44%, појединачно, указујући да су сва телад храњена колострумима који се нису значајно разликовали по саставу. Концентрација ИгГ је у примарном колоструму била је значајно већа него у секундарном и терцијалном ( $p < 0,001$ ), а концентрација имуноглобулина у секундарном је била значајно већа него у терцијалном колоструму ( $p < 0,001$ ).

Добијени резултати су показали да је концентрација ИгГ у крвном серуму била, 30. минута живота, просечно  $0,61 \pm 0,23$  g/l,  $0,61 \pm 0,43$  g/l,  $0,77 \pm 0,33$  g/l и  $0,75 \pm 0,48$  g/l редом по групама. Тридесет другог сата живота концентрација имуноглобулина је била  $13,3 \pm 5,1$  g/l,  $19,0 \pm 1,8$  g/l,  $17,3 \pm 2,2$  g/l и  $14,4 \pm 3,9$  g/l редом по групама, односно била је статистички значајно виша у односу на К групу једино у Глу групи ( $p=0,008$ ) али не и у Инс/Глу ( $p=0,09$ ) и у Инс групи ( $p=0,656$ ).

#### ДИСКУСИЈА

У овом раду испитиван је утицај инсулина и/или глукозе на концентрацију имуноглобулина Г класе код новорођенчади. Раствори су давани перорално јер се они у раном неонаталном периоду не разграђују у дигестивном тракту телад и тако интактни долазе у танко црево где могу да остваре свој пуни ефекат на недовољно развијене ентероците (Brumbach, 2003). Многи аутори су показали да супстанце унете перорално током неонаталног живота остварују у високом проценту своје деловање локално у дигестивном тракту док се мањи део ресорбује и одлази у системску циркулацију (Blum и Baumrucker, 2002). Ово се посебно односи на биолошки активне материје као што су инсулин или различити фактори раста. Део који се ресорбује порталним крвотоком доспева у јетру. Према подацима Reynolds и сарадника (1989), при првом проласку инсулина кроз јетру разгради се 66% овог хормона, због чега он у много нижој концентрацији доспева из јетре у циркулацију. Судбина глукозе у јетри у великој мери зависи од тренутних енергетских потреба јединке, као и концентрације хормона који утичу на метаболизам глукозе (Larsen и сар. 2013).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Просечне концентрације ИгГ код новорођене телад различитих огледних група које смо добили у овом раду биле су врло уједначене и у сагласности са резултатима већине аутора који су проучавали овај параметар код новорођених телад (Kühne и сар. 2000). Телад се рађа у стању физиолошке агамаглобулинемије (Vogels и сар. 2013). Резултати за концентрацију ИгГ добијени 6. сати након уноса терцијалног колострума указују да перорално апликовани раствори инсулина и/или глукозе утичу на њихову концентрацију у смислу да енергетски прекурсор имају доминантну улогу у правилном сазревању ентероцита. Иако подаци из литературе указују да инсулин утиче на развој ентероцита (Ontsouka и сар., 2016), очито је да је његово дејство супримирано у условима хипогликемије и да је за остваривање његовог потенцијала потребна хипергликемија која у групама које су примале инсулин није постигнута. Добијени резултати указују на методологију која се може користити у циљу праћења физиологије новорођенчади као и утицаја различитих третмана на факторе који су есенцијални за осптанак младунчади (Kirovski и сар, 2008). Такође, утврђени реаговање организма телад на перорално уношење инсулина и глукозе одмах после рођења а пре узимања колострума, указује на сву сложеност рада хомеостатских механизма задужених за одржавање нормалног хормоналног статуса и енергетског промета у неонаталном периоду.

#### ЗАХВАЛНИЦА

Рад је подржан средствима пројеката ИИИ 46002 и ТР 31003 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. За анализе су коришћени узорци добијени у оквиру израде докторске дисертације Данијеле Кировски

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Blum JW, Baumrucker CR, 2002, Colostral and milk insulin-like growth factors and related substances: mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets, *Dom Anim Endocrinol*, 23 (1-2), 101-110. 2. Brumbacugh GW, 2003, Neonatal adjustments, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 19 (3), 551-556. 3. Kirovski D, 2015, Endocrine and metabolic adaptations of calves to extra-uterine life, *Acta Veterinaria Beograd*, 65 (3), 297-318. 4. Kirovski D, Lazarević M, Baricević-Jones I, Nedić O, Masnikosa R, Nikolić JA, 2008, Effects of peroral insulin and glucose on circulating insulin-like growth factor-1, its binding proteins and thyroid hormones in neonatal calves, *Can J Vet Res*, 72 (3), 253-258. 5. Kühne S, Hammon HM, Bruckmaier RM, Morel C, Zbinden Y, Blum JW, 2000, Growth performance, metabolic, and endocrine traits, and absorptive capacity in neonatal calves fed either colostrum or milk replacer at two levels, *J Anim Sci*, 78 (3), 609-620. 6. Larsen M, Kristensen NB, 2013, Precursor for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows, *Animal*, 7 (10), 1640-1650. 7. McGee M, Early B, 2019, Review: Passive immunity in beef-suckler calves, *Animal*, 13 (4), 810-825. 8. Ontsouka EC, Albrecht C, Bruckmaier RM, 2016, Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters, *J Dairy Science*, 99 (6), 4111-4123. 9. Reynolds CK, Huntington GB, Elssasser TH, Tyrrell HF, Reynolds PJ, 1989, Net metabolism of hormones by portal-drained viscera and liver of lactating holstein cows, *J Dairy Sci*, 72 (6), 1459-1468. 10. Sangild PT, 2003, Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn animal, *Acta Vet Scand Suppl*, 98, 105-122.

УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ СЕЗОНА НА КОНЦЕНТРАЦИЈУ ИНСУЛИНУ СЛИЧНОГ  
ФАКТОРА РАСТА 1 У КРВИ КРАВА ТОКОМ ЛАКТАЦИЈЕ

EFFECTS OF DIFFERENT SEASONS ON BLOOD INSULIN LIKE GROWTH FACTOR 1  
CONCENTRATIONS IN LACTATING COWS

*Иван Вујанац<sup>1</sup>, Радиша Продановић, Сретен Недић, Света Арсић,  
Љубомир Јовановић, Данијела Кировски*

<sup>1</sup> Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Београд, Србија

**Кратак садржај**

Циљ овог рада је да се испита утицај сезоне (лето и пролеће) на концентрацију ИГФ-1 у крви крава. Одабрано је 40 крава (20 из оба периода). Током лета конзумација хране је била мања за 15% него у пролеће. Одређиван је ноћно-јутарњи ТНН (22h-10h) и поподневно-вечерњи ТНН (10h-22h). Узорци крви су узимани у обе сезоне 30. и 90. дана лактације пре подне (9h, n = 10) и после подне (15h, n = 10).

У пролеће, 30. дана лактације, јутарњи ТНН био је 54,94, а поподневни 57,07, а 90. дана јутарњи ТНН био је 68,04, а поподневни 75,99. У лето, 30. дана лактације јутарњи ТНН био је 70,3, а поподневни 75,55, док је 90. дана јутарњи ТНН био 61,03, а поподневни 72,04.

Концентрација ИГФ-1 током пролећа била је  $17,10 \pm 4,07$  nmol/l (30. дан, пре подне),  $16,34 \pm 4,05$  nmol/l (30. дан, после подне),  $14,16 \pm 1,56$  nmol/l (90. дан, преподне) и  $17,88 \pm 3,52$  nmol/l (90. дан, после подне). Преподневне и послеподневне вредности су се разликовале 90. дана ( $p < 0,01$ ). Вредности ИГФ-1 су 90. дана биле значајно ниже него 30. дана, значајно само у преподневним сатима ( $p < 0,05$ ).

Током лета, концентрација ИГФ-1 била је  $17,50 \pm 2,91$  nmol/l (30. дан, пре подне),  $14,32 \pm 2,69$  nmol/l (30. дан, после подне),  $21,14 \pm 6,35$  nmol/l (90. дан, пре подне) и  $24,88 \pm 5,14$  nmol/l (90. дан, после подне). Преподневне и послеподневне вредности су се разликовале 30. дана ( $p < 0,05$ ). Вредности ИГФ-1 су 90. дана биле више него 30. дана, значајно само у поподневним сатима ( $p < 0,05$ ).

Није било значајне разлике између концентрација ИГФ-1 добијених 30. дана у лето и пролеће, али су концентрације ИГФ-1 биле значајно веће 90. дана током лета у односу на пролеће како пре подне, тако и после подне ( $p < 0,01$ , појединачно).

Промене ИГФ-1 током лета се могу објаснити преусмеравањем метаболизма на путеве који олакшавају превазилажење топлотног стреса.

**Кључне речи:** краве, сезона, ИГФ-1

**Summary**

The aim of this study was to investigate the effect of seasons (summer and spring) on blood IGF-1 concentration in cows. Forty cows were selected (20 for each period). During summer, feed intake was 15% less than in spring. Hourly night-morning heat indices (THI) were calculated (10PM-10AM) and late afternoon-evening THI (10 AM-10 PM). Blood samples were taken in both seasons on days 30 and 90 of lactation in the morning (9 AM, n = 10) and afternoon (3 PM, n = 10).

In spring, morning THI was 54.94, and evening 57.07, while on day 90. дана morning THI was 68.04, and evening 75.99. In summer, on day 30 of lactation morning THI was 70.3, and evening 75.55, while on day 90, morning THI was 61.03, and evening 72.04.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

In spring, concentration was  $17.10 \pm 4.07$  nmol/l (day 30, morning),  $16.34 \pm 4.05$  nmol/l (day 30, afternoon),  $14.16 \pm 1.56$  nmol/l (day 90, morning) and  $17.88 \pm 3.52$  nmol/l (day 90, afternoon). Morning and afternoon values were different on day 90 ( $p < 0.01$ ). IGF-1 values were lower on day 90 than 30, significantly in afternoon hours ( $p < 0.05$ ).

In summer, IGF-1 concentration was  $17.50 \pm 2.91$  nmol/l (day 30, morning),  $14.32 \pm 2.69$  nmol/l (day 30, afternoon),  $21.14 \pm 6.35$  nmol/l (day 90, morning) and  $24.88 \pm 5.14$  nmol/l (day 90, afternoon). Morning and afternoon values were different on day 30 ( $p < 0.05$ ). IGF-1 values were higher on day 90 than 30, significantly in afternoon hours ( $p < 0.05$ ).

There was no significant difference between IGF-1 values obtain on day 30 during summer and spring, but values were significantly higher on day 90, during summer compared to spring, both in morning and afternoon samplings ( $p < 0.01$ , respectively).

Changes of IGF-1 established during summer may be explained by metabolism redirection on pathways which overcome heat stress.

**Keywords:** cows, seasons, IGF-1

#### УВОД

Високомлечне краве се током раног периода лактације налазе у стању негативног биланса енергије јер је унос хране мањи од потреба за енергијом на почетку лактације. Истовремено, у том периоду се очекује први фертилни еструс који се тешко постиже у условима дефицита енергије (Roche и сар., 2017).

Главна компонента крви која везује нутритивни статус јединке и њене репродуктивне активности је инсулину сличан фактор раста 1 (ИГФ-1). Он се превасходно синтетише у јетри под утицајем хормона раста (соматотропна осовина). Међутим у условима рестриктивне исхране соматотропна осовина престаје да функционише и синтеза ИГФ-1 постаје зависна од других фактора, пре свега концентрације инсулина у крви (Kim и сар., 2015). Након што доспе у циркулацију, ИГФ-1 се везује за везујуће протеине. Само слободна форма је биолошки активна и испољава деловање након везивања за рецепторе на таргет ћелијама. Поред других ткива, значајан број ИГФ рецептора типа 1, за које се ИГФ-1 везује највећим афинитетом, налази се на хипоталамо-хипофизно-оваријалној осовини. Због тога је пад концентрације ИГФ-1 у циркулацији увек праћен падом концентрације лутинизирајућег хормона (ЛХ). Наиме, истраживања су показала да ИГФ-1 стимулише секрецију гонадотропин ослобађајућег хормона из хипоталамуса као и ослобађање ЛХ из аденохипофизе. Додатно, ИГФ-1 повећава експресију ЛХ на гранулоза ћелијама фоликула јајника. Стога, смањење концентрације доступног ИГФ-1 у циркулацији током потхрањености, поред слабљења пулзација ЛХ, условљава и смањену осетљивост јајника на стимулацију са ЛХ. Тада не долази до производње довољне количине естрадиола у јајнику да би се десила овулација, због чега овулација изостаје (Wathes и сар., 2007).

Током последњих деценија, велики број истраживања је изведен везано за утицај топлотног стреса на физиолошке параметре крава, као и механизме који су у основи тог утицаја (Min и сар., 2019; Liu и сар., 2019; Adelatt и сар., 2017). Познато је да се у условима топлотног стреса смањује производња млека и репродуктивна активност високомлечних крава, као и унос хране, али нису познати тачни механизми који су у основи ових поремећаја. Додатно, с обзиром да се сматра да су краве изложене умереном топлотном стресу када сатни топлотни индекс (ТНІ) пређе вредност од 72, а изразитом када сатни топлотни индекс (ТНІ) пређе вредност од 78, обично се овакви амбијентални услови индукују. Значајно мањи број истраживања је изведен у фармским условима током различитих сезона, од којих у неким (летњи период) краве повремено, али ретко у континуитету, бивају изложене топлотном стресу (Vujanac и сар., 2017)

Циљ овог рада је да се у фармским условима држања крава испита утицај различитих сезона у умерено континенталној клими на концентрацију ИГФ-1 у крви крава.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Оглед је изведен током лета (од средине јуна до средине септембра) и у пролеће (од средине марта до средине јуна) на комерцијалној фарми крава на подручју Београда. Одабрано је 40 крава, по 20 из оба периода испитивања. Животиње су уведене у оглед 30 дана након телјења, односно у првој фази лактације и све јединке су биле клинички здраве. Током оба периода краве су храњене миксираним оброком истог састава два пута дневно, у складу са препорукама за ту категорију животиња. Мерењем количине заостале хране после сваког obroка, установљено је да је у летњем периоду конзумација хране била мања за 15% у односу на пролећни период. Током извођења огледа сваког сата (24 сата) је одређивана температура и релативна влажност ваздуха, као и температура влажног и сувог термометра. Вредности су регистроване у аутоматској станици Хидрометеоролошког завода Републике Србије удаљене око 3 км ваздушном линијом од фарме на којој су вршена испитивања. На основу прикупљених података израчунати су „сатни“ топлотни индекси (ТНІ) за цео период испитивања. Топлотни индекси су израчунати применом формуле:

$TNI = (T_{st} + T_{vt}) \times 0,72 + 40,6$ , где је

$T_{st}$  – температура сувог термометра

$T_{vt}$  – температура влажног термометра

На основу добијених вредности обрачунао је, за сваки дан извођења огледа ноћни-јутарњи ТНІ који је добијен одређивањем просечне вредности сатних ТНІ измерених у периоду од 22 h претходног дана до 10 h ујутру текућег дана, као и поподневни-вечерњи ТНІ који је добијен одређивањем просечних вредности сатних ТНІ измерених у периоду од 10 h до 22 h текућег дана.

Узорци крви су узимани пункцијом *vene jugularis*. У пролећном и летњем периоду, појединачно, узорковање је спроведено када су краве биле просечно у 30. и 90. дану лактације, и то пре подне (9 h, n = 10) и после подне (15 h, n = 10).

За одређивање концентрације ИГФ-1 коришћен је RIA IGF-I тест (INEP, Zemun). Тест је стандардизован према референтном материјалу Светске здравствене организације (WHO 87/518). Анти ИГФ-1 антитела су имала унакрсну реактивност < 3,00 % за IGF-II и < 0,01 % за хумани инсулин.

Подаци су обрађени дескриптивним статистичким параметрима: аритметичком средином и стандардном девијацијом. За анализу степена значајности разлика средњих вредности испитиваних параметара коришћен је Студентов “t” тест, при чему је статистички значајна разлика сматрана она када је  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛТАТИ

У пролећном периоду краве нису биле у стању топлотног стреса 30. дана лактације, док су 90. дана биле у стању умереног топлотног стреса. Тридесетог дана лактације, просечни јутарњи ТНІ био је 54,94, а поподневни 57,07. Деведесетог дана лактације у овом периоду јутарњи ТНІ био је 68,04, а поподневни 75,99.

У летњем периоду животиње су биле у условима умереног топлотног стреса 30. дана, али не и 90. дана лактације. У летњем периоду. 30. дана лактације просечни јутарњи ТНІ био је 70,3, а поподневни 75,55. Деведесетог дана лактације у овом периоду јутарњи ТНІ био је 61,03, а поподневни 72,04.

Концентрација ИГФ-1 у узорцима добијеним током пролећне сезоне била је, 30. дана лактације,  $17,10 \pm 4,07$  nmol/l у преподневним сатима, а  $16,34 \pm 4,05$  nmol/l у поподневним сатима, док је 90. дана лактације била  $14,16 \pm 1,56$  nmol/l у преподневним сатима, а  $17,88 \pm 3,52$  nmol/l у поподневним сатима. Вредности добијене пре подне у односу на послеподневне вредности биле су статистички значајно ниже 90. дана лактације ( $p < 0,01$ ), док 30. дана лактације није било разлике између преподневних и послеподневних вредности. Такође, концентрација ИГФ-1 је 90. дана лактације била статистички значајно нижа у односу на вредности добијене 30. дана лактације, али само у преподневним сатима ( $p < 0,05$ ), док у поподневним сатима није било разлике.

Концентрација ИГФ-1 у узорцима добијеним током летње сезоне била је 30. дана лактације  $17,50 \pm 2,91$  nmol/l у преподневним сатима а  $14,32 \pm 2,69$  nmol/l у поподневним сатима, док је 90. дана лактације била  $21,14 \pm 6,35$  nmol/l у преподневним а  $24,88 \pm 5,14$  nmol/l у поподневним сатима. Вредности добијене пре подне у односу на послеподневне вредности су се статистички

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

значајно разликовале 30. дана лактације ( $p < 0,05$ ), али не и 90. дана лактације. Такође, концентрација ИГФ-1 је 90. дана лактације била виша у односу на вредности добијене 30. дана лактације, али статистички значајно само у поподневном тесту ( $p < 0,05$ ).

Није било статистички значајне разлике између вредности концентрација ИГФ-1 добијених 30. дана лактације у летњем и пролећном периоду. Деведесетог дана лактације концентрације ИГФ-1 су биле статистички значајно веће током летњег периода у односу на пролећни како пре подне, тако и после подне ( $p < 0,01$ , појединачно).

#### ДИСКУСИЈА

Резултати овог рада показују значајан пораст концентрације ИГФ-1 у периоду од 30. до 90. дана лактације током летњег периода, али, с друге стране значајан пад током пролећног периода. Поједини аутори су показали да топлотни стрес доводи до смањења концентрације ИГФ-1 у крви крава (Rhoads и сар., 2009) што је у супротности са нашим резултатима. Узимајући у обзир да је у нашем раду испитиван утицај сезоне, у којима су краве биле повремено у стањима умереног или изразитог топлотног стреса, могуће је да је пораст концентрације ИГФ-1 у крви крава током летње сезоне последица преусмеравање метаболизма крава на путеве који омогућавају лакше превазилажење топлотног стреса. Наиме, познато је да у условима негативног биланса енергије, које се код крава очекује у летњем периоду током целог периода лактације с обзиром на смањени унос хране, ИГФ-1 углавном помаже анаболичке процесе, док у условима темичке неутралности и енергетске стабилности он поново враћа улогу фактора раста, када утиче на пролиферацију и диференцијацију ћелија, а тиме позитивно и на производњу млека и репродуктивне функције код крава. Settivarі и сарадници (2007), су пораст концентрације ИГФ-1 у условима топлотног стреса објаснили порастом концентрације инсулина који је главни контролор синтезе ИГФ-1 у условима негативног биланса енергије. Такође, судбина ИГФ-1 из циркулације у великој мери зависи од типа везујућег протеина за који је ИГФ-1 везан, а везујућих протеина има шест. Стога је за потпуно разумевање утицаја сезоне на ИГФ систем потребно испитати и заступљеност ИГФ везујућих протеина у циркулацији.

Данас се све више инсистира на коришћењу система за хлађење објеката како би се у летњим месецима обезбедили услови за држање високомлечних крава и умањили губици у производњи млека. У последње две деценије, мада је постигнут велики напредак у развоју поменутих система, топлотни стрес је још увек главни фактор који нарушава здравље крава, активност њихових репродуктивних органа, а тиме и производњу млека. Ако би се у будућности наставе климатске промене које би довеле до повећања температуре на планети, топлотни стрес ће представљати још већи проблем за високомлечне краве имајући у виду да се селекција крава и даље одвија у правцу повећање производње млека.

#### ЗАХВАЛНИЦА

Рад је подржан средствима пројеката ИИИИ 46002 и ТР 31003 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. За анализе су коришћени узорци добијени у оквиру израде докторске дисертације Ивана Вујанца

#### Литература

1. Abdelatty AM, Iwaniuk ME, Potts SB, Gad A, 2018, Influence of maternal nutrition and heat stress on bovine oocyte and embryo development, *Int J Sci Med* 13 (6), Suppl, S1 – S5. 2. Kim JW, 2015, Modulation of the somatotrophic axis in periparturient dairy cows, *Asian-Australas J Anim Sci*, 27 (1), 147-154. 3. Liu J, Li L, Chen X, Lu Y, Wang D, 2019, A review of effects of heat stress on body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: a novel idea for monitoring and evaluation of heat stress, *Asian-Australas J Anim Sci*, 4, 1332 – 1339. 4. Min L, Li D, Tong X, Nan X, Ding D, Xu B, Wang G, 2019, nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress n dairy cows: a review, *Int J Biometer*, 63 (9), 1283 – 1302. 5. Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH, 2009, Effects of heat stress on plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin, *J Dairy Sci*,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

92 (5), 1986 – 1997. 6. Roche JR, Burke CR, Crookenden MA, Heiser A, Loor JL, Meier S, Mitchell MD, Phyn CVC, Turner SA, 2017, Fertility and the transition dairy cows, *Reprod Fertil Dev*, 30 (1), 85-100. 7. Settivari RS, Spain JN, Ellersieck MR, Byatt JC, Collier RJ, Spiers DE, 2007, Relationship of thermal status to productivity in heat-stressed dairy cows given recombinant bovine somatotropin, *J Dairy Sci*, 90 (3), 1265 - 1280. 8. Vujanac Ivan, Prodanović Radiša, Korićanc Goran, Bojkovski Jovan, Simeunović Predrag, Palamarević Milija, Nedić Sreten, Celeska Irena, Kirovski Danijela, 2017, Field trial on glucose-induced insulin response in high-yielding dairy cows under different environmental temperatures, *Acta veterinaria Beograd*, 67 (3), 362 – 382. 9. Wathes DC, Fenwick M, Cheng Z, Bourne N, Llewellyn S, Morris DG, Kenny D, Murphy J, Fitzpatrick R, 2007, Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow, *Theriogenology*, 68, Suppl 1, S232 – 241.

КОНЦЕНТРАЦИЈА ИМУНОГЛОБУЛИНА Г КЛАСЕ У КОЛОСТРУМУ КРМАЧА  
ДРЖАНИХ У РАЗЛИЧИТИМ АМБИЈЕНТАЛНИМ УСЛОВИМА

*IMMUNOGLOBULIN G CONCENTRATION IN COLOSTRUM ORIGINATED FROM SOWS  
KEPT UNDER DIFFERENT ENVIROMENTAL CONDITIONS*

*Жељко Сладојевић,<sup>1\*</sup> Марко Кировски<sup>2</sup>, Љубомир Јовановић<sup>3</sup>, Сретен Недић<sup>3</sup>,  
Радиша Продановић<sup>3</sup>, Иван Вујанац<sup>3</sup>, Данијела Кировски<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина

<sup>2</sup> Ветеринарски завод Суботица, Суботица, Србија

<sup>3</sup> Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Београд, Србија

**Кратак садржај**

Циљ овог рада је био да се испита утицај држања крмача у различитим амбијенталним условима на концентрацију имуноглобулина Г класе у колоструму. Испитивање је извршено на 28 крмача мелеза великог јоркшира и шведског ландраса. Четрнаест крмача је држано у екстензивном узгоју (на индивидуалном сектору), а 14 крмача је држано интензивно (на фарми индустријског типа). Узорци колострума узети су првог, другог и трећег дана након прашења, а у издвојеним колостралним серумима одређена је концентрација имуноглобулина Г класе. Концентрације ИгГ у примарном колоструму била  $61,55 \pm 4,41$  g/l и  $54,81 \pm 3,19$  g/l, у секундарном  $50,88 \pm 1,41$  g/l и  $48,45 \pm 2,99$  g/l, а у терцијалном  $43,84 \pm 2,55$  g/l и  $40,65 \pm 4,59$  код крмача држаних у интензивном односно екстензивном узгоју, појединачно. Концентрација ИгГ се значајно смањивала од примарног до терцијалног колострума код обе групе, појединачно. У сва три колострума добијених од крмача држаних у интензивном узгоју, концентрација ИгГ је била већа него код крмача држаних у екстензивном узгоју, али је ова разлика била статистички значајна једино у примарном колоструму ( $p < 0,01$ ). С обзиром да је концентрација ИгГ у крвној плазми прасади у високој позитивној корелацији са садржајем ИгГ у колоструму, оправдано је очекивати да прасад пореклом од крмача држаних у екстензивном узгоју имају копромитован имунитет, који се углавном одражава на дугорочно слабије здравље ових јединки.

**Кључне речи:** крмаче, колострум, имуноглобулини Г, тип држања

**Summary**

The aim of this study was to investigate effect of environmental conditions under which ar pregnant sows kept, on immunoglobulin G concentration in colostrum. Twenty eight sows, mestizos of large Yorkshire and Swedish Landrace, were included in the study. Fourteen sows were kept in extensive condition of breeding (on individual sector) and 14 sows were kept in intensive condition of breeding (industrial type of farm). Colostrum samples were taken on days 1, 2 and 3 after farrowing, and concentration of IgG was determined in separated colostrum serum. IgG concentrations were in 1<sup>st</sup> colostrum  $61.55 \pm 4.41$  g/l and  $54.81 \pm 3.19$  g/l, in 2<sup>nd</sup>  $50.88 \pm 1.41$  g/l and  $48.45 \pm 2.99$  g/l, while in 3<sup>rd</sup>  $43.84 \pm 2.55$  g/l and  $40.65 \pm 4.59$  in sows kept under intensive and extensive breeding conditions, respectively. In both groups, IgG concentrations significantly decreased from 1<sup>st</sup> to 3<sup>rd</sup> colostrum. In all three colostrums, IgG concentration was higher in sows kept under extensive breeding condition, compared to intensive one, although difference was significant only in 1<sup>st</sup> colostrum ( $p < 0,01$ ). Since, IgG concentration in the blood of piglets is in high positive correlation with IgG content in colostrum, it



may be expected that piglets that originated from sows kept under extensive conditions have compromised immunity, which might have long term effect on health of these animals.

**Key words:** sows, colostrum, immunoglobulin G, environmental conditions

#### УВОД

Висок степен морталитета код новорођених прасади последица је неадекватне адаптације новорођенчади на екстраутерину средину. Неодговарајуће прилагођавање на нову средину резултат је лоших амбијенталних услова приликом рођења, или, што је чешће, неадекватних услова држања гравидних крмача. Опстанак новорођенчади је у позитивној корелацији са степеном пасивног имунитета и концентрацијом имуноглобулина у циркулацији, посебно имуноглобулина Г класе (ИгГ), који су одговорни за одбрану организма од антигена присутних у екстраутериној средини. Пре рођења, фетус је плаценталном баријером изузетно добро заштићен од напада антигена. После рођења, урођени имунитет није још потпуно зрео, а стечени имунитет код већине врста домаћих животиња, укључујући и прасад, не постоји. Пасивна имунизација која се остварује уносом колострума је неопходно док млада јединка не развије активни имунитет (Sinkora и сар., 2003). Поред имуноглобулина, колострум садржи и лимфоците, цитокине, нуклеотиде и различите факторе раста који, постнатално, утичу на развој имунског система (Blum и Baumrucker 2002). Количина имуноглобулина у колоструму и степен ресорпције имуноглобулина (која почиње 6 до 12 сати и траје до 24., односно 36. сата неонаталног живота прасета), су круцијални за адекватно стицање пасивног имунитета. Различити фактори утичу на степен и дужину ресорпције имуноглобулина. То су гладовање, начин исхране (перорално или парентерално), концентрација глукокортикостероида у крви и друго (Klobasa и сар., 1994; Sangild, 2003). С обзиром да се специјализовани механизам ресорпције имуноглобулина развија током касног феталног развоја и траје до неколико дана после рођења, мала одступања у физиологији током интраутериног и екстраутериног развоја фетуса односно новорођенчета могу знатно компромитовати овај процес и довести до дугорочних негативних последица по здравље прасета (Gomez и сар., 1998; Sangild, 2003).

Циљ овог рада је био да се испита утицај држања крмача у различитим амбијенталним условима на концентрацију имуноглобулина Г класе у колоструму.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Испитивање је извршено на 28 крмача мелеза великог јоркшира и шведског ландраса. Четрнаест крмача је држано у екстензивном узгоју (на индивидуалном сектору), а 14 крмача је држано интензивно (на фарми индустријског типа). Крмаче из екстензивног узгоја држане су у класичним оборима и услови нису задовољавали зоохигијенске стандарде, док су крмаче из интензивног узгоја биле смештене на фарми затвореног типа, која је у погледу начина држања, исхране и неге испуњавала све зоохигијенске стандарде за дату врсту и категорију животиња. Колострум је узоркован од 28 крмача (14 из сваке групе). Узорци колострума узети су у стерилне епрувете првог, другог и трећег дана након прашења, а потом је одвојен колострални серум који је чуван на  $-20^{\circ}\text{C}$  до извођења анализе. У узорцима колостралног серума одређена је концентрација имуноглобулина Г класе. Концентрација ИгГ одређивана је комерцијалним радијалним имунодифузионим тестом (sRID, INEP Zemun). Добијени подаци су обрађени дескриптивним статистичким параметрима (средња вредност и стандардна девијација) а поређење вредности између група извршено је Студентовим t тестом. Ралика је сматрана статистички значајном за вредност  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛТАТИ

Резултати концентрације имуноглобулина Г класе у узорцима колострума показују да је концентрација ИгГ у примарном колоструму била  $61,55 \pm 4,41$  g/l код крмача из интензивног, а  $54,81 \pm 3,19$  g/l код крмача држаних у екстензивном узгоју. У секундарном колоструму

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

концентрација ИгГ је била  $50,88 \pm 1,41$  g/l код крмача из интензивног, а  $48,45 \pm 2,99$  g/l код крмача из екстензивног узгоја. У терацијарном колоструму концентрација ИгГ је била  $43,84 \pm 2,55$  g/l, односно  $40,65 \pm 4,59$  g/l код крмача из интензивног, односно екстензивног узгоја појединачно. Концентрација ИгГ се значајно смањивала од примарног до терцијалног колострума у обе групе, појединачно. У сва три колострума држаних у интензивном узгоју уз примену свих зоохигијенских мера, концентрација ИгГ је била већа него код крмача држаних у екстензивном узгоју, али је ова разлика била статистички значајна једино у примарном колоструму ( $p < 0,01$ ).

#### ДИСКУСИЈА

Унутар 24 сата од прашења садржај имуноглобулина у колоструму крмача сваког сата се смањује за 3,4 %, при чему највећи део чини смањење заступљености имуноглобулина Г класе, који код свиња чине око 80% укупних имуноглобулина (ИгА има око 14%, а ИгМ око 6%). У постколостралном периоду, заступљеност ИгГ и ИгМ у млеку крмача је приближно једнака и износи 20, односно 18%, док највећи део чине ИгА, са приближно 62% од укупних имуноглобулина (Markovska-Daniel и Pomorska-Mol, 2010). Због свега наведеног, садржај имуноглобулина је у складу са садржајем протеина у колоструму (Sladojević и сар., 2013). Наши резултати су показали овакав тренд промена концентрација ИгГ у прва три колострума обе групе крмача. Међутим, крмаче држане у екстензивном узгоју у коме нису испоштоване све зоохигијенске мере имале су нижу концентрацију имуноглобулина у колоструму у односу на крмаче држане у интензивном узгоју, значајно једино у првом колоструму. Ови резултати су у складу са резултатима Merlot и сарадника (2019).

С обзиром да је концентрација имуноглобулина Г класе у крвној плазми прасица у високој позитивној корелацији са садржајем имуноглобулина Г класе у колоструму (Kielland и сар., 2015), оправдано је очекивати да прасад пореклом од крмача држаним у екстензивном узгоју имају копромитован имунитет, који се углавном одражава на дугорочно слабије здравље ових јединки.

#### ЗАХВАЛНИЦА

Рад је финансиран средствима Министарства за научноистраживачки развој, високо образовање и информационо друштво Републике Српске под називом: Мониторинг присуства патогена важних за репродукцију у популацији домаћих свиња у Републици Српској

#### Литература

1. Gomez GG, Phillips O, Goforth RA, 1998, Effect of immunoglobulin source on survival, growth and hematological and immunological variables in pigs, *J Anim. Sci*, 76, 1-7. 2. Kielland C, Rootwelt V, Reksen O, Framstad T, 2015, The association between immunoglobulin G in sow colostrum and piglet plasma, *J of Anim Sci*, 93 (9), 4453-4462. 3. Klobasa F, Greimann H, Kallweit E, 1994, The "waiting period" for follow-up administration of bovine colostrum to newborn lambs, *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 107, 334-339. 4. Markovska-Daniel I, Pomorska-Mol M, 2010, Shifts in immunoglobulin levels in the porcine mammary secretions during whole lactation period, *Bull Vet Inst Pulawy* 54, 345-349. 5. Merlot E, Pastorelli H, Prunier A, Pere MC, Louveau I, Lefacheur L, Perruchot MH, Meunier-Salaun MC, Gardan-Salmon D, Gondret F, Quesnel H, 2019, Sow environment during gestation: part I. Influence on maternal physiology and lacteal secretions in relation with neonatal survival, *Animal*, 13 (7), 1432 – 1439. 6. Sangild PT, 2003, Uptake of Colostral Immunoglobulins by the Compromised Newborn Farm Animal, *Acta Vet Scand*, Suppl 98, 105-122. 7. Sinkora M, Sun J, Sinkorova J, Christenson RK, Ford SP, Butler JE, 2003, Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets. VI. B cell lymphogenesis occurs at multiple sites with differences in the frequency of in-frame rearrangements, *J Immunol*, 170, 1781-1788. 8. Sladojević Ž, Kasagić D, Kukulj B, Kirovski D, 2013, Uticaj različitih uslova držanja, pariteta i broja prasadi u leglu na gubitak telesne mase krmača u toku laktacije, *Veterinarski glasnik*, 67 (5-6), 337-348.

---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ IV***  
***THEMATIC SESSION IV***

**Новооткривене могућности  
комплексног света угљених  
хидрата у исхрани животиња**

***The newly discovered possibilities of  
the complex world of carbohydrates in  
animal nutrition***

---



УЛОГА ОЛИГОСАХАРИДА ДОДАТИХ У ХРАНУ У КОНТРОЛИ ЕУБИОТИЧКИХ  
ОДНОСА У ДИГЕСТИВНОМ ТРАКТУ НЕПРЕЖИВАРА

*THE EFFECT OF OLIGOSACCHARIDE ON FEED ON PRODUCTION RESULTS AND THE  
HEALTH OF THE DIGESTIVE TRACT IN ANIMALS IN INTENSIVE BREEDING*

*Радмила Марковић, Стамен Радуловић, Дејан Перић, Драган Шефер*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

После најаве повлачења из употребе антибиотика у циљу стимулације раста код животиња, почело се са коришћењем алтернативних решења антибиотикима међу које спадају и пребиотици а од њих свакако манан-олигосахариди (МОС) заузимају значајно место. Манани, заједно са глуканима и хитином, представљају главне компоненте ћелијског зида квасца у коме учествују са око 30%. Поред манан-олигосахариди у пребиотике се сврставају и фрукто-олигосахариди (ФОС), а бројна истраживања се воде са циљем доказивања да ли се у пребиотике могу сврстати и галакто-олигосахариди и олигосахариди соје.

У раду је описан начин дејства олигосахариди као и ефекти примене олигосахариди у исхрани свиња и живине на здравствено стање и производне резултате.

**Кључне речи:** храна за животиње, олигосахариди, производни резултати

**Summary**

Following the announcement of withdrawal from the use of antibiotics to stimulate growth in animals, the use of alternative solutions to antibiotics, including prebiotics, of which mannan oligosaccharides (MOS) certainly occupy a significant place. Manans, together with glucan and chitin, are the main components of the yeast cell wall in which they participate with about 30%. In addition to mannan oligosaccharides, fructo-oligosaccharides (FOS) are classified in prebiotics, and numerous studies are being conducted to prove whether galacto-oligosaccharides and soybean oligosaccharides can be classified into prebiotics.

The paper describes the effect of oligosaccharides as well as the effects of the use of oligosaccharides in the diet of pigs and poultry on their health status and production results.

**Key words:** animal feed, oligosaccharides, production results

**УВОД**

Током последњих деценија у производњи хране за животиње уведене су бројне промене које су инициране новим прописима у овој области. Регулацивом Европске уније (Regulation (EC) No 1831/2003) забрањена је употреба антибиотика, изузев кокцидиостатика и хистомоноостатика, као додатака храни за животиње, и то од 1. јануара 2006. године. И пре саме примене ових нових прописа услед све чешћег иступања негативних страна употребе антибиотика у стимулативне сврхе и потрошачког лобија чији ставови и мишљења почињу да се уважавају у индустрији хране и хране за животиње, почело се са проналажењем алтернативних решења која ће имати сличне или исте ефекте као антибиотици али без негативних последица (стварање резистентних сојева

ентеробактерија, појава унакрсне резистенције и резидуа антибиотика у намирницама анималног порекла, генотоксично деловање).

У индустрији хране за животиње последњих деценија најчешће се користе манан-олигосахариди као пребиотици. Европска Комисија (Regulation (EC) No 1831/2003) пребиотике заједно са пробиотцима и фитобиотцима сврстава у групу зоотехничких и сензорних адитива. Позитивни ефекти заснивају се на добро познатом значају одржавања еубиотичких односа, јер равнотежа у микропопулацији дигестивног тракта омогућава ефикасно варење и ресорпцију хранљивих материја повећавајући отпорност према поремећајима изазваним ентеропатогеним бактеријама (Mogan, 2004).

Несварљиви угљени хидрати, и међу њима одређени олигосахариди, могу бити пребиотици. Олигосахариди се састоје од 2 до 10 моносахарида међусобно повезаних глицозидним везама које се формирају између хемиацетал групе (или хемикетал групе) једног шећера и хидроксилне групе другог шећера. Најзаступљенији олигосахариди у исхрани животиња су фрукто-олигосахариди добијени из пшенице и зрневља лептирњача и манан-олигосахариди пореклом из ћелијског зида квасца, док се у хуманој медицини значајније количине олигосахарида могу обезбедити путем банане, артичоке, црног и белог лука, парадајза, меда итд. (Marković, 2005).

Несварљиви угљени хидрати обухватају различита једињења као што су несварљиви скроб, нескробни полисахариди (полисахариди ћелијског зида, хемичелулоза, пектини, гуме) и несварљиви олигосахариди. Због своје хемијске структуре набројане компоненте хране не подлежу ензимској хидролизи нити се ресорбују у предњим партијама дигестивног тракта, па се могу назвати “*колонална храна*”, односно храна која доспевши у задње партије дигестивног тракта служи као супстрат за присутне бактерије, индиректно обезбеђујући домаћина енергијом, метаболичким супстратима и есенцијалним микроингредијентима. Међутим, сви набројани угљени хидрати могу се сврстати у категорију колоналне хране, али не могу задовољити строге критеријуме пребиотика (нпр. селективност као један од главних критеријума класификације) (Marković Radmila, 2005).

Поред набројаних, новија истраживања показују да се у пребиотике могу сврстати и галакто-олигосахариди и олигосахариди соје. Олигосахариди из рафиноза серије (рафиноза, стахиоза, вербаскоза и ајугоза), присутни у зрневљу легуминоза испољавају негативан ефекат на производне резултате бројлера.

Корисни ефекти олигосахарида на здравље домаћина се остварују на следеће начине: адсорпцијом патогених бактерија које садрже Тип 1 фимбрије, модулација имуног одговора домаћина, побољшање интестиналног интегритета.

Бактерије млечне киселине и бифидобактерије, које се сматрају члановима пожељне микрофлоре у дигестивном тракту, за потребе свог метаболизма користе угљене хидрате пореклом из пребиотика. Међутим, патогене бактерије (*E. coli*, *Salmonella* spp.), као и многе друге Грам-негативне бактерије не поседују наведене способности и бивају елиминисане из цревне микропопулације путем пожељне бактеријске флоре која има способност интензивнијег умножавања (Bederska и Pieszka, 2011).

Бројна истраживања указују да су олигосахариди алтернативни производи који потпомажу симбиотску везу између домаћина и микрофлоре, корисно делујући на здравствени статус цревног тракта и стимулишући раст животиња. Олигосахариди, а нарочито манан-олигосахариди добијени из одабраних сојева квасца показали су се као веома ефикасни у побољшавању здравственог статуса и перформанси свиња и живине.

Фрукто-олигосахариди (ФОС), олигосахариди који су присутни углавном у воћу, налазе већ дуже своју примену у хуманој медицини. Везивањем ФОС са појединим патогеним бактеријама индиректно се мења микрофлора дигестивног тракта у смислу смањења непожељних врста бактерија што се широко користи у контроли дијете код људи. У ветеринарској медицини фрукто-олигосахариди могу релативно успешно да се користе код инфекција изазваних салмонелама (Oyarzabal и сар., 1995), мада манан-олигосахариди (МОС) добијају значајније место. МОС су полимери манозе у којима главни ланац састављен од резидуа манозе повезаних  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) везама, носи краће гране (1-3 манозе) припојене  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2) и  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) везама. Манани, заједно са

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

глюканима и хитином, представљају главне компоненте ћелијског зида квасца у коме учествују са око 30%.

#### НАЧИН ДЕЈСТВА ОЛИГОСАХАРИДА

Принцип дејства манана базира се на компатибилности структуре маноза и лектина који се налазе на бактеријским пилама и фимбријама. На површини бакетрија које уједно и преовлађују у патологији дигестивног тракта моногастричних животиња (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Vibrio* spp.) налазе се лектини преко којих се бактерије припајају за површину мукозе епителних ћелија црева које на својој површини поседују полисахаридну структуру која конформацијски одговара лектинима. Додавањем манан-олигосахарида долази до стварања комплекса манан-бактерија чиме се онемогућава адхеренција патогена за цревни зид. Иако бактерије поседују и друге механизме адхеренције за епителне ћелије црева који су резистентни на инхибицију манозама, врло велики број сојева *E. coli* (66%) и *Salmonella* spp. (53%) поседују адхезине остевљиве на манозу.

Пошто ендогени ензими не могу разградити манан-олигосахариде они пролазе несметано до задњих партија дигестивног система где се на описан начин везују са бактеријама. На тај начин спречава се колонизација задњих партија дигестивног тракта патогеним бактеријама, избацујући их у спољну средину. У неповољним условима (промена рН цревног садржаја, лезије цревне слузнице) и продора патогених бактерија у предње партије дигестивног тракта, манан-олигосахариди делују на исти начин стварајући комплекс манан-бактерија који неразграђен пролази кроз дигестивни тракт и избацује се у спољну средину.

Доказано је да се *E. coli* са манозо специфичним лектинима не може припојити на површину епителне ћелије када је присутна маноза. У испитивањима *in vitro* утврђено је да *E. coli* може да се помери са површине епителне ћелије за 30 минута од момента излагања мананима. Ово указује на чињеницу да МОС не само да спречавају припајање патогених бактерија на површину цревне слузнице, већ могу да “почисте” већ припојене бактерије. Поред тога, огледи на бројлерима који су храњени уз додавање манан-олигосахарида показују значајно смањење насељавања цекума у инфекцијама *S. typhimurium* и *S. dublin* (Newman, 1999), као и колонизацију *Campylobacter jejuni*.

Селективност дејства манан-олигосахарида базира се на чињеници да пожељне врсте бактерија у дигестивном тракту (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrekii*) садрже ензим маназу која спречава стварање комплекса. На тај начин је обезбеђена селективност (табела 1) везивања манан-олигосахарида само за непожељне врсте бактерија које иначе нормално не садрже овај ензим.

Табела. 1. Утицај манан-олигосахарида на раст различитих врста бактерија

Патогене врсте	Раст	Пожељне врсте	Раст
<i>Escherichia coli</i>	инхибиран	<i>Bifidobacterium longum</i>	стимулисан
<i>Salmonella typhimurium</i>	инхибиран	<i>Lactobacillus casei</i>	стимулисан
<i>Clostridium botulinum</i>	инхибиран	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	стимулисан
<i>Clostridium sporogenes</i>	инхибиран	<i>Lactobacillus delbrekii</i>	стимулисан

Описан начин везивања манан-олигосахарида није ограничен само на бактерије. Неки токсини, вируси и еукариотске ћелије такође поседују способност везивања препознавањем одређеног шећера на површини других ћелија (Stanley и Sefton, 1998).

Поред локалног, манан-олигосахариди показују и системске ефекте на људе и животиње који се превасходно огледају у позитивном дејству на имуни систем у случајевима различитих тумора и бактеријских инфекција (Mizuno и сар., 1995). Антитуморозна својства препарата манана углавном су испитивана на псима и мачкама (Harris и сар., 1991).

Savage и сар. (1996) су у експерименту на ћуркама којима су додавани у храну манан-олигосахариди утврдили повећану продукцију имуноглобулина и то како плазминих IgG, тако и секреторних IgA. Добијене резултате су у својим радовима потврдили и Newman (1999), и Verword (1997).

Повећање имунолошког одговора је углавном резултат дејства манан-олигосахарида на повећавање лучења IgA за око 25%, при чему је познато да IgA из мукозе представља кључни део имунолошке заштите црева. Поред наведених механизма деловања манан-олигосахарида на имунолошки систем евидентан је и њихов утицај у смислу повећавања одговора макрофага код различитих животињских врста (Vukić-Vranješ Marina, 2005).

Манан-олигосахариди на описане начине доприносе повећаној виталности животиња, смањењу губитака и побољшању искоришћавања хране, чиме се постижу оптимални производни резултати и повољан економски ефекат па већ дуже време у свету представљају саставни део многих индустријски произведених смеша за исхрану животиња.

#### МАНАН-ОЛИГОСАХАРИДИ У ИСХРАНИ ЖИВИНЕ

Утицај манан-олигосахарида је испитиван на бројерима и ћуркама у многобројним огледима, изведеним широм света. Резултати огледа извођених у истраживачким центрима, на универзитетима и у производним погонима указују на ефикасност примене у разним околностима.

Spring (1996) је, у контролисаним условима, испитивао ефекте манан-олигосахарида (MOC) на цекалну микрофлору, а посебно енетропатогене бактерије и колонизацију колиформних бактерија које поседују тип 1 фимбрије. У цекумима бројлера третираних MOC био је смањен број салмонела, а уочен је и мањи број (75 према 15%) јединки код којих је успела инфекција *E. coli* 15 R. Такође, број колиформа у цекуму је био статистички значајно мањи (8,80 према 8,54 log CFU/g), а исти ефекат није уочен испитивањем броја лактобацила, ентерокока и анаеробних бактерија.

Kumprecht и сар. (1998) су испитивали утицај Bio-Mos на сварљивост хранљивих састојака и производне резултате бројлера. Испитивања су извршили на 560 бројлера, Ross провенијенције, који су храњени смешама са различитим количинама Bio-Mosa. Током прве три недеље бројлери огледних група постигли су врло значајно већу телесну масу за 11,1-17,6% ( $p < 0,01$ ), док је у другом делу огледа повећање било значајно и то за 2,7-5,1% ( $p < 0,05$ ). У исто време, конверзија је била боља за 6,6-11,1%, односно 2,3-11,4%. Боље производне резултате аутори повезују са бољом сварљивошћу протеина (за 5,4%) и посебно силових влакана (61,5-147,7%).

Исти препарат су испитивали и други истраживачи (Newman, 1999;) и у резултатима показали његово позитивно дејство на производне резултате бројлера и ћурака. У бројним огледима су ефекти израженији у завршном периоду пораста, а резултат су бржег и потпунијег развоја младог организма у првом периоду.

Sims (1998) је извршио компаративна испитивања ефеката антибиотика (bacitracin) и пребиотика (Bio-Mos) на производне резултате бројлера. Телесна маса, односно прираст бројлера огледних група у прве три недеље нумерички су били нешто нижи него бројлера контролне групе, али без статистичке значајности. На крају огледа, бројлери огледних група постигли су статистички значајно ( $p < 0,05$ ) већу телесну масу, односно прираст у односу на бројлере контролне групе. Међутим, разлике између вредности посматраних параметара код бројлера храњених храном која је садржала антибиотик, односно пребиотик није утврђена. Конверзија хране у групи храњеној храном са Bio-Mosом била је боља у обе фазе, а статистички значајно ( $p < 0,05$ ) нижа за цео оглед збирно. Статистичке разлике у mortalитету између група нису утврђене, али је нумерички био најнижи у групи са Bio-Mos.

Savage и сар. (1997) су у свом огледу на ћурцима испитивали и хистолошку грађу танких црева. Код бројлера храњених Bio-Mos у количини од 0,3% ВСМ хране утврдили су значајно повећање броја пехарастих ћелија у дисталној половини дуоденума (9,92 према 11,7), у пределу мекеловог дивертикулума (9,33 према 11,00) и на прелазу танких црева у цекум (11,7 према 12,08). Поред тога, у истим сегментима уочена је статистички значајно мања дубина крипти и то у контролној групи, истим редом, 235,4, 121,9 и 180,8, а у огледној групи 168,8, 146,9 и 95,8  $\mu\text{m}$ . Добијени резултати се слажу са раније описаним резултатима огледа Bradly и сар. (1994) у коме је



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

коришћен цео ћелијски зид квасаца, што указује да су поједини делови ћелијског зида квасца есенцијалне компоненте одговорне за његове биолошке ефекте.

Spring (1996) је испитивао морфолошку структуру танких црева (илеума) пилаци у доби од 10 дана који су храњени храном са додатком 4% МОС. У контролној групи дужина, односно ширина ресица била је 632,6 (626,5-638,7), односно 83,8  $\mu\text{m}$  (82,5-85,0), просечно. Исхрана манан-олигосахаридима је значајно ( $p < 0,05$ ) утицала на повећање дужине, али не и ширине ресица. Повећана цревна површина са оптималном функционалном зрелашћу ентероцита представља битан предуслов за омогућавање максималне дигестије и ресорпције хранљивих састојака, а тиме и за постизање оптималних производних резултата.

У једном експерименту испитиван је утицај додавања манан-олигосахарида (пребиотског препарата Bio-Mos; Alltech Inc®, USA; 2 kg/t хране) храни за бројлере на производне резултате, микробиоту појединих сегмената црева (дуоденум, илеум, цекум) и морфометријске параметре у истим деловима црева у односу на контролну групу која није добијала овај препарат храном. Bio-Mos је производ добијен екстракцијом манан-олигосахарида из спољашњег дела ћелијског зида квасца *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*. Оглед је изведен на 118 једнодневних бројлера (две групе по 59 бројлера) *Hybro* провенијенције, оба пола, просечне телесне масе 43,1 $\pm$ 3,93 g. Бројлери су храњени потпуним смешама за исхрану пилаци у тову стандардног сировинског и хемијског састава. Коришћене су три смеше које су у потпуности задовољавале потребе бројлера у различитим фазама това. Потпуна смеша за почетни тов пилаци коришћена је од 1-21. дана, а потпуне смеша за завршни тов од 21-35, односно 35-42. дана огледа. Резултати су приказани у табелама 2-4 (Marković, 2005).

Табела 2. Производни резултати у тову бројлера

	К	О
ТМ 1. дан, kg	43,29 $\pm$ 3,88	43,03 $\pm$ 3,56
ТМ 21. дан, kg	580,35 $\pm$ 61,9 <sup>a</sup>	624,44 $\pm$ 61,08 <sup>a</sup>
ТМ 35. дан, kg	1351,42 $\pm$ 149,01	1368,74 $\pm$ 160,85
ТМ 42. дан, kg	1815,67 $\pm$ 201,29 <sup>a</sup>	1915,23 $\pm$ 203,23 <sup>a</sup>
Прираст 1-21. дан, kg	25,11 $\pm$ 2,78 <sup>a</sup>	27,55 $\pm$ 2,75 <sup>a</sup>
Прираст 22-35. дан, kg	54,88 $\pm$ 6,59	53,07 $\pm$ 7,56
Прираст 36-42. дан, kg	65,91 $\pm$ 8,60 <sup>x</sup>	78,07 $\pm$ 7,00 <sup>x</sup>
Прираст 1-42. дан, kg	41,96 $\pm$ 4,71 <sup>a</sup>	44,58 $\pm$ 4,76 <sup>x</sup>
Конзумација, 1-42, kg	91,19	81,84
Конверзија, 1-42, kg	2,173	1,836

\*Вредност изражена као  $\bar{x} \pm \text{C}\delta$

иста слова <sup>a</sup>  $p < 0,05$  <sup>x</sup>  $p < 0,01$

Промене у морфологији цревног тракта као што су краће ресице и дубље крипте се везују за присуство стресора у цреву. Скраћивањем ресица се смањује површина за апсорпцију хранљивих састојака, а већа крипта указује на бржу потрошњу ткива и веће захтеве за енергијом потребном за њихово одржавање. Енергија која се уштеди захваљујући смањеној стопи потрошње епителских ћелија се можда искоришћава за синтезу масе мишићног ткива, те би се на основу овога могла објаснити побољшања до којих долази у прирасту тежине и конверзији хране додавањем манан-олигосахарида у храну (Vukić Vranješ Marina, 2005).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Табела 3. Микробиолошке анализе појединих сегмената дигестивног тракта у тову бројлера, [log CFU/ml]

	К	О
	Дуоденум	
<b>Ук. број бактерија</b>	6,77±0,13	6,78±0,07
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,95±0,11	6,92±0,09
<i>E. coli</i>	6,13±0,14 <sup>a</sup>	5,94±0,21 <sup>a</sup>
<i>Streptococcus spp.</i>	6,54±0,14 <sup>a</sup>	6,64±0,07 <sup>a</sup>
<i>Clostridium spp.</i>	5,15±0,73 <sup>x</sup>	3,80±0,15 <sup>x</sup>
	Илеум	
<b>Ук. број бактерија</b>	6,83±0,14	6,81±0,07
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,03±0,09	6,94±0,10
<i>E. coli</i>	6,16±0,16 <sup>a</sup>	5,96±0,13 <sup>a</sup>
<i>Streptococcus spp.</i>	6,64±0,15	6,70±0,09
<i>Clostridium spp.</i>	5,82±0,18 <sup>x</sup>	4,85±0,27 <sup>x</sup>
	Цекум	
<b>Ук. број бактерија</b>	8,18±0,07	8,08±0,06
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,84±0,08	7,93±0,09
<i>E. coli</i>	7,83±0,19 <sup>x</sup>	7,34±0,09 <sup>x</sup>
<i>Streptococcus spp.</i>	7,92±0,08	7,95±0,10
<i>Clostridium spp.</i>	8,04±0,22 <sup>x</sup>	7,72±0,15 <sup>x</sup>

\*Вредност изражена као  $\bar{x} \pm Sd$  иста слова <sup>a</sup> p<0,05 <sup>x</sup> p<0,01

Табела 4. Марфометријске анализе појединих сегмената дигестивног тракта бројлера

	К	О
	Дуоденум	
<b>Дужина ресица, <math>\mu m</math></b>	901,28±70,02 <sup>a</sup>	1013,08±81,98 <sup>a</sup>
<b>Ширина ресица, <math>\mu m</math></b>	93,72±15,11 <sup>a</sup>	107,70±13,91 <sup>a</sup>
<b>Дубина крипти, <math>\mu m</math></b>	140,35±27,20 <sup>a</sup>	123,72±32,10 <sup>a</sup>
<b>Број пехарастих хелија, /mm</b>	71,32±7,83	78,37±3,65
	Илеум	
<b>Дужина ресица, <math>\mu m</math></b>	452,77±181,13 <sup>x</sup>	640,53±115,95 <sup>x</sup>
<b>Ширина ресица, <math>\mu m</math></b>	87,15±10,92 <sup>a</sup>	95,12±12,30 <sup>a</sup>
<b>Дубина крипти, <math>\mu m</math></b>	111,93±14,06 <sup>a</sup>	86,52±10,90 <sup>a</sup>
<b>Број пехарастих хелија, /mm</b>	93.87±11.79	100.85±9.98
	Цекум	
<b>Дужина ресица, <math>\mu m</math></b>	160,22±29,27 <sup>a</sup>	171,25±44,06 <sup>a</sup>
<b>Ширина ресица, <math>\mu m</math></b>	59,08±6,55 <sup>a</sup>	65,10±16,29 <sup>a</sup>
<b>Дубина крипти, <math>\mu m</math></b>	42,23±11,77 <sup>a</sup>	31,75±7,82 <sup>a</sup>
<b>Број пехарастих хелија, /mm</b>	48,67±8,82	56,08±9,16

\*Вредност изражена као  $\bar{x} \pm Sd$  иста слова <sup>a</sup> p<0,05 <sup>x</sup> p<0,01

### МАНАН-ОЛИГОСАХАРИДИ У ИСХРАНИ СВИЊА

После најаве увођења забране коришћења антибиотских стимулатора раста произвођачи у свињарству су били принуђени да користе алтернативне начине (пре свега пре- и пробиотице) за антибиотике како би свели на минимум гастроинтестиналне поремећаје и морталитет код прасади и утицали на њихово здравље и виталност. Бројни су огледи којима је доказан позитиван ефекат додавања олигосахарида у исхрани свиња на производне резултате и на здрав дигестивни тракт свиња. Осим испитивања утицаја манан-олигосахарида на перформансе прасади директно, путем додавања препарата у смеше за прасад спроведена су такође и испитивања утицаја на особине прасади давањем истог кроз храну за крмаче.

Roekhampha и сар. (2011) извели су оглед којим су доказали да је употреба МОС резултирала повећањем крајње телесне масе, просечног дневног прираста и побољшањем конверзије хране у односу на контролну групу прасади, с тим да није утврђена разлика у конзумацији хране. Укупан број млечнокиселинских бактерија, као и *E. coli* у испитиваним сегментима дигестивног тракта (цекум и ректум) није био под утицајем МОС. Употреба наведеног пребиотика утицала је на повећање бутерне киселине и укупних SCFA у цекуму, као и дубине крипти у јејунуму ( $p < 0,05$ ).

Употребом пребиотика (пиварски квасац са 5,2% манан-олигосахарида) White и сар. (2002) су забележили смањен унос хране, као и последично нижи остварен дневни прираст у односу на контролну групу прасади. Дужина цревних ресица и дубина крипти у дванаестопалачном цреву нису били под утицајем пребиотика. На крају експерименталног периода (28. дан) број лактобацила у фецесу прасади која су добијала пребиотик био је већи ( $p < 0,05$ ) у односу на контролну групу.

Miguel и сар. (2004), процењујући ефекат МОС, утврдили су већи унос хране код прасади која су одбијена при ранијем (17-18 дана) узрасту у односу на касније одбијену прасад (24-28 дана старости). Највећи дневни прираст остварила су прасад током прве две недеље након одбијања, док је у каснијем периоду исхране разлика у односу на контролу била слабије изражена (2,12% у односу на првобитних 8,47%).

Rossi и сар. (2008) су извели оглед у циљу процене употребе глуко-олигосахарида (ГОС), као алтернативног стимулатора раста у исхрани прасади. Употребом наведеног пребиотика остварен је већи просечан дневни прираст током последње фазе огледа (период од 57 до 77. дана огледа). Прасад која су током првих 14 дана огледа путем оброка добијала антибиотик, а затим ГОС, имала су већу дужину ресица у илеуму у односу на прасад која су добијала само ГОС током целокупног периода исхране. Ниво протеина који учествују у запаљенској реакцији ( $\beta$ -1 глобулин и хаптоглобулин) је смањен код прасади која су током огледа добијала ГОС без претходне употребе антибиотика.

После резултата добијених са Bio-Mos код прасади јавила се потреба испитивања утицаја Bio-Mos у храни за крмаче (комерцијална фарма у Сев. Каролини). Праћена је маса крмача и легла, морталитет прасади и фертилитет крмача. Поред тога, узимани су узорци колострума од крмача пре дојења и анализирани на садржај IgA, IgG и IgM. Експериментални оброк је садржавао 2 kg/t Bio-Mos-а за супрасне, односно 1 kg/t за крмаче у лактацији. Почетне и завршне масе крмача су биле сличне између контролне и огледне групе, као и број живорођене и мртворођене прасади. Додавањем Bio-Mos су повећане масе прасади при рођењу и одбијању, а самим тим је и повећан и прираст легла и просечан дневни прираст. Смртност пре одбијања је смањена са 11,27 на 9,09% у огледној групи. Крмаче из огледне групе су се брже враћале у еструс. Интересантно је напоменути да је 88,02% крмача из огледне групе враћено у еструс, за разлику од контролне групе 77,76%. Једно од објашњења за побољшани прираст масе легла и смањену смртност пре одбијања се може наћи у променама профила имуноглобулина у колоструму. Концентрације IgA, IgG и IgM су се повећавале додавањем Bio-Mos у оброке крмача. Плацента не дозвољава пролазак имуноглобулина код свиња, тако да су новорођена прасад потпуно зависна од антитела у колоструму. Побољшањем квалитета колострума се може повећати здравствени статус прасади (смањењем смртности пре одбијања) као и стопа раста (Vukić Vranješ Marina, 2005).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Radulović (2014) је извео оглед у коме је коришћено 48 прасади, мелези шведског ландраса и пиетрена, одбијених од крмаче у старости од 35 дана. Основни задатак испитивања био је да се утврди утицај исхране прасади смешама са препаратом манан-олигосахарида (Technomos, Biochem) на производне резултате и здравствено стање. Technomos (Biochem) је комерцијални препарат коришћен у огледу као пребиотик и представља екстракт који се добија из ћелијског зида пекарског квасца *Saccharomyces cerevisiae* и одликује се високим садржајем манан-олигосахарида (19,3%) и  $\beta$  1-3 глукана (20,6%). Контролна група прасади храњена је смешом без додатог препарата, док је у храну за огледну групу, додат пребиотик у количини која је препоручена од стране произвођача. Испитивања су изведена на прасадима оба пола, просечне телесне масе  $8,61 \pm 1,59$  kg која су одмах након одбијања распоређена у један од два хранидбена третмана (групе по 12 јединки са једнаким односом полова). Оглед је трајао 40 дана, а подељен је у две фазе од по 20 дана (смеше за исхрану до ТМ 15 kg и до ТМ 15-25 kg). Током огледа праћени су производни резултати и здравствено стање прасади. На почетку и крају сваке фазе огледа извршено је мерење телесне масе животиња, утросак хране као и узимање узорака потпуних смеша за анализу, а из добијених података вршено је израчунавање осталих производних резултата. На крају друге фазе огледа извршено је планирано жртвовање по 6 јединки из сваке групе, а приликом жртвовања узети су узорци црева за хистолошка испитивања. Резултати су приказани у табелама 5 и 6.

Табела 5. Производни резултати у тову прасади

	К	О
ТМ 1. дан, kg	8,53±2,20	8,55±1,34
ТМ 20. дан, kg	13,20±4,04	13,56±2,51
ТМ 40. дан, kg	25,32±6,31	27,23±4,44
Прираст 1-20. дан, kg	0,23±0,15	0,25±0,12
Прираст 21-40. дан, kg	0,61±0,13	0,68±0,14
Прираст 1-40. дан, kg	0,42±0,12	0,47±0,10
Конзумација дневна, 1-40, kg	0,89	0,97
Конверзија, 1-40, kg	2,119	2,064

\*Вредност изражена као  $\bar{X} \pm Sd$

Табела 6. Морфометријске анализе појединих сегмената дигестивног тракта прасади

	К	О
	Јејунум	
Дужина ресица, $\mu m$	498,1±112,5	507,5±88,72
Ширина ресица, $\mu m$	66,5±18,70	67,43±19,03
Дубина крипти, $\mu m$	166,8±55,26 <sup>A</sup>	206,9±76,14 <sup>A</sup>
Цекум		
Дубина крипти, $\mu m$	124,4±30,62 <sup>a</sup>	146,8±40,14

\* Вредност изражена као  $\bar{x} \pm Sd$

<sup>a</sup> p<0,05

<sup>A</sup> p<0,01

Анализирајући целокупан период огледа (1-40. дан), употреба пребиотика резултирала је побољшањем конверзије хране у огледној групи у односу на контролну групу (2,60%).

Процес одбијања се одликује израженим морфометријским променама слузице дигестивног тракта (скраћење дужине цревних ресица, повећање дубине крипти) које резултирају укупним смањењем способности црева за варење и апсорцију хранљивих материја, што представља предиспонирајући фактор за настанак малапсорпције и дијареје. Spreuweenberg и сар.

(2001) су доказали да одбијање прасиди доводи до повећања пропустљивости цревне слузнице, при чему бактерије и цревни антигени доспевају у *lamina propria* и доводе до настанка инфламације. Radulović (2014) наводи да је развој дигестивног тракта приоритетан задатак у одгоју прасиди.

У изведеном експерименту, на основу хистолошке анализе јејунума може се закључити да су прасид контролне групе имала правилно развијену грађу испитиваних сегмената која је одговарала њиховој старосној доби и обезбеђивала оптималну дигестију и ресорпцију хранљивих материја.

Употребом пребиотика благо су повећана дужина и ширина цревних ресица јејунума и изразито повећана дубина крипти у јејунуму ( $p < 0,01$ ) у поређењу са контролном групом прасиди. Међусобним поређењем остварених резултата који се односе на дубину крипти у јејунуму осталих огледних група, највећа вредност је утврђена у групи која је путем хране добијала препарат пребиотика. Повећање дубине крипти је показатељ повећане продукције ентероцита и њихове миграције ка врху ресице. Убрзана пролиферација ћелија крипти уз смањење дужине ресица резултира појавом недовољно зрелих и диферентованих ентероцита који бивају одбачени са врха цревне ресице пре него што су у потпуности развили своју максималну ензимску активност (Poeikampha и Bunchasak, 2011).

На основу добијених података који се односе на морфометријске карактеристике цекума уочава се значајан, позитиван утицај примењених третмана на дубину крипти. Употребом пребиотика остварена је статистички значајно већа ( $p < 0,05$ ) дубина крипти у односу на контролну групу прасиди.

#### ЗАКЉУЧАК

За угљене хидрате је одавно познато да су важни састојци хране, иако су традиционално посматрани као молекули који дају енергију и као структурне компоненте. Недавно су студије показале да несварљиви угљени хидрати играју важну улогу у исхрани производних животиња и за здравље људи. Чак штавише, све је присутније признање да су угљени хидрати који нису сварљиви више од извора енергије за микрофлору дебелог црева, затим такође играју виталну улогу у ћелијском метаболизму, структури протеина и функцији, комуникацији ћелија-ћелија и у имунитету домаћина. Ћелијски зид квасца је природни извор два најмоћнија олигосахарида,  $\beta$ -глюкан и манган-олигосахарид. Функционална особине обе компоненте чине их привлачним за употребу у хуманом прехранбеном сектору. Подаци добијени у бројним студијама у вези са утицајем на здравље животиња и производне резултате, показују да су неопходна даља испитивања њихових функционалних својства. Веће разумевање састава ћелијског зида и функционалних компоненти може да доведу до развоја нове хране, хранива за животиње као и за примену у фармацији.

Манан-олигосахариди могу сматрати потенцијалном алтернативом промоторима раста уместо антибиотика, коришћењем као додатака хране за животиње, чак и у малим количинама 0,1% -0,4%. Потврђена је њихова ефикасност у побољшању здравственог стања и перформанси производних животиња. МОС се сматрају једном од најбољих природних алтернатива за промотере раста и могу имати веће користи од антибиотика ако се употребљавају синергетски са другим нефармацеутским препаратима, као што су фруктоолигосахариди, пробиотици, биоактивни пептиди и нека биља, што би допринело смањењу трошкова хране у интензивном сточаству.

**Захвалница:** Овај рад је финансиран средствима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије у оквиру пројекта “Одабране биолошке опасности за безбедност/квалитет хране анималног порекла и контролне мере од фарме до потрошача“, 2011-2019, бр.пројекта ТР 31034.

**Литература**

1. Bederska Lojewska D, Pieszka M, 2011, Modulating gastrointestinal microflora of pigs through nutrition using feed additives, *Ann Anim Sci*, 11, 3, 333–55.
2. Harris C, Pierce K, King G, Yates K M, Hall J, Tizard J, 1991, Efficacy of acemann in treatment of canine and feline spontaneous neoplasms, *Mol Biotherm*, 3, 207-13.
3. Kumprecht I, Zobac P, Siske V, Sefton AE, Spring P, 1998, Effect of dietary mannan oligosaccharide level on performance and nutrient utilization of broilers, Poster, U: Biotechnology in the Feed Industry, *Proc Alltechs 14<sup>th</sup> Annual Symposium*, (Ed.: T. PZ. Lyons), Nicholasville Kentucky, Enclosure code, 016 C.
4. Marković Radmila, 2005, Uticaj korišćenja različitih stimulatora rasta u ishrani brojlera na proizvodne rezultate i zdravstveno stanje, *Magistarska teza*, Katedra za ishranu i botaniku, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu.
5. Miguel JC, Rodriguez-Zas SL, Pettigrew JE, 2004, Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance, *J Swine Health Prod*, 12, 6, 296–307.
6. Mizuno T, Kinoshita T, Zhuang C, Ito H, Mayuzumi Y, 1995, Antitumor-active heteroglycans from Niohshimeji mushroom, *Tricholma giganteum*, *Biosci Biotech*, 59, 568-71.
7. Moran A Colm, 2004, Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan, *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's Twentieth Annual Symposium* Nottingham University Press, UK.
8. Newman K, 1999, Feeds with antibiotic growth promoters- The oligosaccharide alternative, *Biotechnology Responds, Alltech's 1999 European, Middle Eastern and African Lecture Tour*.
9. Oyarzabal OA, Conner DE, Blevins WTT, 1995, Fructo-oligosaccharide utilization by *Salmonellae* and potential direct-fed microbial bacteria for poultry, *J Food Prot*, 58, 1192-6.
10. Poeikampha T and Bunchasak C, 2011, Comparative Effects of Sodium Gluconate, Mannan Oligosaccharide and Potassium Diformate on Growth Performances and Small Intestinal Morphology of Nursery Pigs, *Asian-Aust, J Anim Sci*, 24, 6, 844 - 50.
11. Radulović Stamen, 2014, Ispitivanje uticaja prirodnih stimulatora rasta na zdravstveno stanje i proizvodne rezultate prasadi u odgoju, *Doktorska disertacija*, Katedra za ishranu i botaniku, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu.
12. Rossi Filippo, Mauro M, Paolo G, Sara S, Callegari ML, Piva G, 2008, Effects of a gluco-oligosaccharide supplement on the morphological characteristics of the gastro-intestinal tract and growth performance in weaned piglets, *Ital J Anim Sci*, 7, 185-98.
13. Savage TF, Zakrzewska EI, Andersen JR, 1997, The effects of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and morphology of the small intestine, *Poult Sci*, 76 (Suppl. 1), 139.
14. Sims MD, 1998, Evaluation of Bio-Mos vs BMD and a negative control in diets fed to commercial broiler chickens, Poster, U: Biotechnology in the Feed Industry, *Proc Alltechs 14<sup>th</sup> Annual Symposium*, (Ed.: T. PZ. Lyons), Nicholasville Kentucky, Enclosure code, 51,149.
15. Spreeuwenberg MJ, Verdonk JM, Gaskins HR, Verstegen MW, 2001, Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning, *J Nutr*, 131, 1520–1527.
16. Spring P, 1996, Effects of mannanoligosaccharide on different cecal parameters and on cecal concentrations of enteric pathogens in poultry, *PhD thesis*, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Zurich.
17. Stanley VG, Sefton AE, 1998, Egg and serum cholesterol as influenced by mannan oligosaccharide and aflatoxin, *Poster Presented at the 14<sup>th</sup> Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry*, Lexington, KY, 20-22.
18. Verword DJ, 1997, Enteric conditions in ostrich chicks in relation to the use of mannan oligosaccharides, Poster, U: *African Lecture Tour Series*, Enclosure code, 51.
19. Vukić Vranješ Marina, 2005, Uticaj manan-oligosaharida na ishranu i performanse svinja i živine, *Zbornik naučnih radova sa XIX Savetovanja agronoma, veterinara i tehnologa*, Padinska skela, 11, 3-4, 125-32.
20. White LA, Newman MC, Cromwell GL and Lindemann MD, 2002, Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs, *J Anim Sci*, 80, 2619-28.

УТИЦАЈ ПРЕЧИШЋЕНЕ ЛИГНОЦЕЛУЛОЗЕ НА ВЛАЖНОСТ ПРОСТИРКЕ И  
ПРОИЗВОДНЕ РЕЗУЛТАТЕ БРОЈЛЕРА У ТОВУ

*THE EFFECTS OF DIETARY LIGNOCELLULOSE ON LITTER QUALITY AND BROILERS  
PERFORMANCE*

*Драган Шефер<sup>1</sup>, Лазар Макивић<sup>2</sup>, Стамен Радуловић<sup>1</sup>, Дејан Перић<sup>1</sup>,  
Цвијан Мекић<sup>3</sup>, Радмила Марковић<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду;

<sup>2</sup>Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду

<sup>3</sup>Фармофит, Фабрика сточне хране Рапић, Градишка, Република Српска;

**Кратак садржај**

Пречишћена лигноцелулоза представља пронутритивну супстанцу која утиче на вискозитет цревног садржаја, повећава апсорпцију хранљивих материја и смањује број патогених бактерија у танком цреву код бројлера. Циљ експеримента био је испитивање утицаја лигноцелулозе као додатка исхрани живине. Испитивањем је обухваћено 384 бројлера Cobb 500 провенијенције, равномерног односа полова, подељених у четири групе (контролна група: К и три огледне групе: О-I, О-II и О-III), по 96 животиња у свакој. Бројлери су храњени потпуним смешама за исхрану бројлера у тову стандардног хемијског и сировинског састава према препоруци произвођача и то starter (од 1-13. дана), grower (од 14-28. дана) и finisher (од 29-42. дана). Контролна група храњена је смешама без додатка лигноцелулозе. Огледне групе су у прве две смеше (starter и grower) имале као додаток комерцијални препарат пречишћене лигноцелулозе (Arbocel® R, J. Rettenmaier & Söhne GmbH+CO. KG, Rosenberg, Germany). О-I група бројлера храњена је смешама са додатком препарата у количини од 4 g/kg, О-II група бројлера храњена је смешама са додатком препарата у количини од 6 g/kg (као замена за 0,3% сојине сачме и 0,3% кукуруза), док је О-III група храњена смешама са додатком препарата у количини од 6g/kg (као замена за 0,6% сојине сачме). Детаљном анализом производних резултата, уочавамо да је додаток препарата лигноцелулозе смешама којима је храњена О-II група имао за резултат најбоље показатеље (просечна телесна маса 2611g, просечан дневни унос хране 96,09g, просечан прираст 2569,29g и конверзија хране 1,67), као и оптималну вредност садржаја влаге у простирци (6,69%). На основу добијених резултата може се закључити да употреба пречишћене лигноцелулозе у исхрани бројлера има своје медицинско, нутритивно и економско оправдање.

**Кључне речи:** бројлер, лигноцелулоза, додаток, производни резултати

**Summary**

Purified lignocellulose represents a pronutritive substance that affects the viscosity of the intestinal content, increases the absorption of nutrients and reduces the number of pathogenic bacteria in the small intestine. In this experiment the effects of lignocellulose in poultry nutrition was studied. Trial included 384 broilers of Cobb 500 provenance, both male and female, divided into four groups (control group: C and three experimental groups: E-I, E-II and E-III), 96 animals in each. Animals were fed with standard feed mixtures, starter (from 1<sup>st</sup> to 13<sup>th</sup> day), grower (from 14<sup>th</sup> to 28<sup>th</sup> day) and finisher (from 29<sup>th</sup> to 42<sup>th</sup> day), according to the manufacturer's recommendation. A control group (C) diet was without additives. The experimental groups differed in the fact that in the first two mixtures (starter and grower) a

commercial preparation of purified lignocellulose (Arbocel® R, J. Rettenmaier & Söhne GmbH + CO. KG, Rosenberg, Germany) was added in the amount of 4 g/kg of feed for the E-I group, 6 g/kg of Arbocel® R as an expense of 0.3% soybean meal and 0.3% maize was added for the E-II group and 6 g/kg of Arbocel® R as an expense of 0.6% soybean meal was added for the E-III group. Analyzing the entire period of observation (from 1<sup>st</sup> to 42<sup>th</sup> day), adding the lignocellulose in experimental E-II group resulted in the best production indicators (final body weight 2611.00 g, average daily feed intake 96.09 g, average weight gain 2569.29 g and feed to gain ratio 1.67) as well as the best litter quality (moisture content 6.69%). Based on the obtained results, it can be concluded that the use of lignocelluloses in broilers nutrition has its medical, nutritional and economical justification.

**Key words:** broilers, lignocellulose, addition, production results

#### Увод

Захваљујући бројним открићима и примени науке у последњих двадесетак година, учињен је велики напредак у развоју и унапређењу живинарске производње у свету и код нас. Нема ниједне гране сточарства гдје је учињен такав прогрес као у живинарству. Ово су, несумњиво, пратиле и одговарајуће промене у систему држања и исхрани живине. У односу на друге врсте меса, пилеће месо има релативно ниску цену, као и прихваћеност од стране свих култура и религија, што пилеће производе чини прихватљивим, пожељним и прикладним у свакодневној исхрани људи. Велику улогу у брзом развоју производње живинског меса имале су и велике специјализоване фарме за тов бројлера, растуће интересовање произвођача за ову врсту това путем кооперације, као и повољна цена меса бројлера, у односу на цене других врста меса (Jovanović i sar., 2004). Осим интезивног држања живине, бројлери се у различитим европским земљама држе и у мање интезивном тову, а последњих десет година присутна је и еколошка производња бројлера. У нашој земљи као и у свету присутни су следећи хибриди: Cobb 500, Ross 308, Hybro, Hubbard, Lohman а међу њима најзаступљенији су Cobb 500 и Ross 308 (Bjedov i sar., 2011).

Према подацима ФАО-а и Министарства пољопривреде САД последњих година широм света бележи се раст производње меса живине, укључујући и месо бројлера. У 2013. години у свету произведено је 94,2 милиона тона меса живине, при чему је учешће меса бројлера 87,4-90,3 %, односно 86,4 милиона тона меса бројлера. У 2009. години производња меса бројлера порасла је за 1,0 милион тона (1,4%) у односу на 2008. годину, док је у 2010. години произведено више од 4,5 милиона тона (6,1%) у односу на предходну годину. У 2011. години, произведено је више од 3,0 милиона тона (3,8%) меса бројлера, у 2012. години- 1,95 милиона тона (2,3%), а у 2013. години- 3,2 милиона тона (3,8%) меса бројлера у односу предходне године (2010., 2011. и 2012. годину) (Sakhatskiy, 2014).

Производни резултати у тову бројлера зависе од генетског потенцијала линијског хибрида, исхране, технологије това, здравственог стања и превентивних мера. Применом биотехнологије и генетике у задњих 20-ак година дошло је до побољшања производних перформанси бројлера. Једно од значајних унапређења перформанси је и потенцијал раста који се сваке године на шест недеља старости повећавао за око 60g. Као резултат циљева постављених пред генетичаре произведени су брзорастући хибриди широких груди који слабо оперјавају, а код којих је временом дошло до промене анатомских, физиолошких, метаболичких и хематолошких параметара. Један од задатака селекције је и да се произведе бројлер који има што мање перја у моменту завршетка това, јер је лакша манипулација у кланици. Бројлери имају висок базални метаболизам и захтевају строго избалансиране оброке састављене од енергетски богатих хранива, који истовремено садрже и остале хранљиве материје неопходне за раст њиховог организма. Код бројлера срце и плућа су једва у стању да обезбеде довољно кисеоника да би се задовољиле потребе организма. Уз контролисане услове менаџмента и биосигурносне мере, селекционари су успели да произведу бројлере који на 35-ом дану постижу масу од 2100 g, а на 42 дану 2800 g, уз конверзију хране и до 1,47 (Bjedov и sar., 2011).



#### Дигестивни тракт живине

Дигестивни тракт живине представља тубуларни систем који се простире од усне дупље до клоаке, а састоји се од специјализованих делова са припадајућим жлездама. Између појединих животињских врста постоје значајне разлике у анатомији и физиологији појединих сегмената, као и целог алиментарног канала, а птице у том погледу представљају јединствен животињски ред. Карактеристика варења и ресорпције хране представља основу савремене исхране појединих врста и категорија животиња, као и могућности за побољшање искоришћавања састојака obroka, односно управљања исхраном. Дигестивни систем, а посебно црева, представљају средину у којој се одвијају најважнији физиолошки и биохемијски процеси варења на које утичу одговарајући морфолошки, микробиолошки и физичко-хемијски фактори (MC Lelland, 1975).

Осим макроуслова, унутар дигестивног система можемо говорити и о микроусловима, односно различитим еколошким нишама у појединим деловима црева (Clarke и Bauchop, 1977). Површина епителних ћелија, слуз који облаже ресице или унутрашњост крипти, као и интралуминални садржај обезбеђују различите услове за развој појединих врста бактерија. На основу тога може се закључити да се услови за развој бактерија у дигестивном тракту животиња разликују вертикално од једњака до ректума и хоризонтално од лумена до дубине цревних крипти. Микрофлора у сваком станишту је типична, стабилна заједница највишег реда састављена од великог броја различитих бактеријских врста. Ове заједнице су такође карактеристичне за врсту животиње, али зависе и од начина исхране, типа obroka и услова држања животиње.

Активност трипсина, протеазе и амилазе убрзано се повећава током прве три недеље живота бројлера, што није случај са липазом. Међутим активност липазе се није повећавала све до 21. дана старости, а сматра се да може бити лимитирајући фактор код варења. Давањем хране са високим садржајем масти није се значајно повећала активност липазе све до 21. дана старости. Неколико значајних промена уочено је у развоју система за транспорт хранљивих материја током онтогенезе код бројлера. Током прве недеље живота бројлера, апсорција пролина у танком цреву је висока у поређењу са апсорцијом глукозе. Пошто је релативна стопа раста бројлера највећа током прве недеље, онда унос аминокиселина може бити паралелан са овим обрасцем раста. Током друге недеље видљиво је повећање апсорције глукозе. Због алометријског раста црева, током друге недеље живота бројлера видљиво је смањење црева у односу на телесну масу. Ово може бити други разлог за повећање апсорције глукозе које се јавља у овом периоду. Током шесте недеље присутно је привремено повећање апсорције пролина. Ово повећање је паралелно са првим пост-младуначким митарењем и повећањем апсолутне стопе раста. Важно је да се апсорциони капацитет црева блиско подудара са нутритивним потребама бројлера (Kuenzel, 1994).

#### Влакна у исхрани живине

Угљени хидрати чине количински највећу компоненту хране за исхрану домаћих животиња. Угљени хидрати, као најзаступљенији састојак хране за животиње, у организму биљака представљају структурни и потпорни материјал, а поседују и значајну улогу као резерва енергије настала фотосинтезом. Структурни угљени хидрати, заједно са лигнином, дају облик и чврстину биљке, а неструктурни представљају резерве енергије. Од укупне количине суве материје у ткивима биљака, на угљене хидрате отпада око 70%, док у зрну житарица има и до 85% угљених хидрата. С друге стране, у организму животиња угљени хидрати представљају основни извор енергије, а значајну улогу имају у обезбеђивању нормалне перисталтике дигестивног тракта (баланс). Угљени хидрати на основу структуре могу се поделити у две групе: прости и сложене шећере. Прости шећери су моносахариди, а разликују се по броју угљеникових атома и деле се на триозе, тетрозе, пентозе, хексозе и хептозе. Могу да буду међусобно везани и стварају ди-, три-, тетра- и пента олигосахариде. Полисахариди (гљукани) су полимери моносахарида и деле се на хомогљукане састављене од истих јединица моносахарида и хетерогљукане састављене од различитих јединица моносахарида, и њихових деривата (Binkley, 1988).

Савремени приступ дефинише угљене хидрате као *полихидрокси алдехиде, кетоне, алкоhole* или *киселине*, и њихове једноставне деривате, који стварају ове у току хидролизе. Нерастворљиви угљени хидрати у биљкама, а нарочито целулоза, одговорни су за стабилност и њихову механичку чврстину, док угљени хидрати веће растворљивости, као што је скроб, служе

као депо енергије. Према Јовановићу и сар. (2004), живина има природну способност варења скроба, гликогена, сахарозе, малтозе и простих шећера глукозе и фруктозе, док лактозу или млечни шећер живина веома слабо вари због ограничене активности лактазе у цревима.

Влакна се дефинишу као скелетни остаци биљних ћелија која нису подложна разлагању дигестивним ензимима присутним у организму животиња и представљају квантитативно респектабилан део хране биљног порекла. Варијација у количини и структури влакана је велика између различитих хранива биљног порекла. Састоје се од полимерних угљених хидрата пореклом из биљног ћелијског зида, укључујући и не угљено хидратне компоненте каква је лигнин, које нису или су минимално сварљиве у танком цреву.

Одбор за храну и исхрану САД-а дефинише „укупна прехранбена влакна“ као скуп „прехранбених влакана“ која се састоје од несварљивих угљених хидрата и лигнина пореклом из унутрашњости биљака, а састоје се од изолованих, несварљивих угљено хидратних компоненти са доказаним позитивним физиолошким ефектима на људе.

Према Јовановићу и сар. (2004), сирова влакна су подељена у зависности од њиховог типа и порекла на целулозу, хемицелулозу и лигнин (високонерастворива влакна која се налазе у спољашњем делу зрневља житарица и дрвенастом делу дрвећа и жбуња). Влакна утичу на развој гастроинтестиналног тракта, морфологију црева и секрецију ензима, као и апсорпцију хранљивих материја код животиња, а наведени ефекти зависе пре свега од физичко-хемијских особина влакана, али и старости животиња (Mateos и сар., 2012). Физичкохемијске особине влакана првенствено зависе од врсте полисахарида који чине ћелијски зид, односно њихове интермолекуларне везе одређују растворљивост влакана, а односе се се на топовост у води, способност формирања гела, кристализацију, као и могућност агрегације (здруживање) у сложене структуре ћелијског зида биљака.

Влакно се претежно налази се у зидовима биљних ћелија и састоји се од НСП-а и неких других једињења која по пореклу нису угљени хидрати укључујући лигнин, протеине, масне киселине и воскове са којима је влакно нераскидиво везано (Bach Knudsen, 2001).

Физичкохемијска својства НСП-а у биљкама имају важну улогу у исхрани људи. Влакна имају за циљ да побољшају здравље колоне, смање количину холестерола, повећају метаболизам глукозе, побољшају реакцију инсулина, смање количину липида у крви, као и да смање учесталост појаве одређених врста канцера.

Главни проблеми везани за коришћења НСП-а у храни за живину су вискозитет и капацитет везивања воде. Истраживања су показала да је вискозност последица присуства растворљивих пектина или -гукана који чак и у малим количинама знатно повећавају интестинални вискозитет. Са друге стране, нерастворени полисахариди као што су целулоза и ксилани могу везивати воду у ограниченим количинама, с тим да не утичу превише на повећање вискозитета у дигестивном тракту.

Додавање одређених НСП-а у исхрани живине негативно утиче на варење скроба, протеина и липида. Наведени ефекат приписује се присуству вискозних шећера који ометају дифузију и транспорт липаза, уља и мицелија жучних соли унутар гастроинтестиналног химуса.

Повећана вискозност интестиналног садржаја може ометати интеракцију између супстрата и липаза или жучних соли у танком цреву и тако умањити ресорпцију одређених хранљивих материја. Претпоставља се да  $\beta$ -гукани који се налазе у јечму и овасу стварају сложене везе са дигестивним ензима и смањују њихову активност. Међутим, насупрот наведеном, Ikegami и сар. (1990) су доказали да се активност ГПТ ензима код пацова повећава након исхране хранљивима која повећавају вискозитет у дигестивниом тракту, тако да се може закључити да иако поједине фракције НСП поседују антинуитритивну улогу у метаболизму живине, могуће је да се нека корисна својства ипак могу повезати са крајњим производима ферментације НСП-а.

Садржај влакана у хранљивима биљног порекла зависи од врсте и дела биљке, као и фазе вегетације. Младе зелене или конзервисане биљке и коренасто кртоласта хранива, садрже најмању количину влакана која се повећава са фазом вегетације. Сено, а посебно слама су веома богати извори влакана. Зрнаста хранива садрже релативно малу количину влакана, а разлике су везане за присуство плевнице. Садржај БЕМ-а у споредним производима релативно варира, што је условљено

врстом и начином прераде полазне сировине. Хранива анималног порекла не садрже влакна, осим оних заосталих у дигестивном тракту након прераде целих животиња у месно брашно.

Коришћење сирових влакана у формулама за исхрану живине често је контраверзна тема међу многим стручњацима који се баве исхраном непреживара. Са једне стране међународне организације (Isa, Lohman) сматрају сива влакна битном компонентом, с обзиром да њихово присуство у храни између осталог изазива пораст величине желуца, побољшава сварљивост скроба и ограничава или смањује кљуцање перја. Са друге стране, многи нутриционисти још увек избегавају значајнију употребу влакана у исхрани живине уз образложење да влакна нису значајан извор енергије, односно да присуство влакана у храни неминовно доводи до њеног енергетског разређења. Уз то, традиционални извори влакана се повезују са неким негативним својствима као што је пре свега могућност контаминације микотоксинима. Један од разлога што су влакна у исхрани живине још увек недовољно прихваћена може бити и чињеница да различита влакна имају различите утицаје пре свега на дигестивни тракт, али и на остале органске системе непреживара.

Нерастворљива влакна присутна у храни остварују доминантан утицај на функцију црева и на тај начин модулирају искоришћавање хранљивих материја. Дефинитивно, сварљивост скроба, као и пасажа цревног садржаја су под директним утицајем присутних нерастворљивих влакана у храни, чиме се смањује ризик од колонизације штетних бактерија. Може се закључити да нерастворљива влакна утичу на здравље црева путем два различита механизма деловања, а која се односе на бржи транзит цревног садржаја, али и на повећан број пехарастих ћелија. Пехарасте ћелије представљају посебну врсту епителних ћелија чија је основна функција формирање муцина, саставне компоненте цревне слузи. Позната је чињеница да се штетне врсте бактерија не могу тако лако закачити за непромењену слузницу црева и колонизовати их, тако да повећан број пехарастих ћелија позитивно делује на здравље дигестивног тракта и одржање еубиозе. Такође, нерастворљива влакна поседују веома висок капацитет везивања воде, тако да везујући воду у горњим деловима црева исту ту воду ослобађају осмотским притиском у доњим деловима, чиме она постаје доступна за ресорпцију и не појављује се у спољној средини, односно директно утичу на влажност простирке.

Традиционални извор влакана у нашим условима су углавном пшеничне мекиње које ипак садрже недовољно количину влакана (око 10%) и носе са собом ризик присуства микотоксина. Решење би могло бити коришћење овсених мекиња које садрже висок проценат нерастворљивих влакана, с тим да се оне ретко могу наћи на тржишту, а и постоји могућност контаминације микотоксинима. Из тог разлога, намеће се употреба концентрата нерастворљивог сировог влакана (ЦФЦ) чији би се хемијски састав и чистоћа знатно разликовао од стандардних извора влакана у исхрани непреживара. Према Netland и сар. (2004), нерастворљива влакна се традиционално посматрају као инертни разређивач хранљивих материја са мало или без нутритивне вредности у исхрани моногастричних животиња. Ипак, новија истраживања указују на позитивну улогу нерастворљивих влакана на развој и здравље дигестивног тракта живине, и самим тим повећање ресорпције основних хранљивих материја и контролисање понашања животиња. (Mateos и сар., 2012)

Иако су раније студије (Sklan и сар., 2003) указивале на негативан утицај влакана на конзумацију хране, сварљивост основних хранљивих материја и генерално производне резултате, новији подаци (Gonzalez-Alvarado и сар., 2010) указују да влакнасти материјали у умереним количинама побољшавају перформансе бројлера. Врста и количина влакана присутна у храни утичу на развој гастроинтестиналног тракта и производне резултате бројлера у тову (Jimenez-Moreno и сар., 2009).

Специфична карактеристика за различита влакна је њихова растворљивост која пресудно утиче на здравље и понашање живине. Корење биљака, шећерна репа, као и поједино воће (јабука, поморанџа итд.) су извори првенствено растворљивих влакана, за разлику од свих врста житарица које садрже велики проценат нерастворљивих влакана. Иако растворљива влакна могу показивати благи пребиотски ефекат, ипак њихово присуство у храни повећава вискозитет цревног садржаја због чега се смањује сварљивост скроба, масти и протеина, односно везују одређене хранљиве материје чиме негативно утичу на њихову сварљивост. (Iji и сар., 2001). За разлику од

растворљивих, нерастворљива влакна повећавају брзину пасаже цревног садржаја чиме смањују могућност акумулирања отровних супстанци у дигестивном тракту. Такође, стимулишу развој цревних ресица, позитивно делују на сварљивост скроба и спречавају појаву канибализма (Farran и Akilian, 2014).

Нерастворљива и набубрела влакна попут целулозног комплекса испуњавају дигестивни систем обзиром да имају добар капацитет везивања воде. Ефекат набубрелог влакна утиче на надражај рецептора руба црева чиме се олакшава пасажа хране кроз црева. Са друге стране растворљива и ферментабилна влакна представљају хранљиву основу за млечно киселинске бактерије у задњим партијама црева. Међу ферментабилним влакнима, пектин присутан пре свега у пулпи шећерне трске и јабуке игра веома важну улогу као извор енергије за животиње. За разлику од младих животиња чија исхрана треба да буде формулисана без коришћења већих количина растворљивих и ферментабилних извора влакана, јер варење у задњим партијама црева није добро развијено, старије категорије животиња су способне да ефикасно користе ове изворе хране. Повећавано уношење растворљивих влакана позитивно утиче на сварљивост енергије, док присуство нерастворљивих влакана смањује сварљивост енергије, што указује на чињеницу да однос растворљивих и нерастворљивих влакана утиче на сварљивост хране.

#### **Лигноцелулоза, улога, значај и механизам деловања**

Лигноцелулоза је производ добијен од дрвета и користи се као висококвалитетан извор влакана у исхрани животиња. Састоји се од угљених хидрата (целулоза, хемицелулоза) и лигнина који не представља једну добро дефинисану супстанцу, већ ароматични полимер који потиче од три деривата фенил-пропана, и то кумарила, конифериала и синапил алкохола. Такође, присутни су и пектин, а у траговима и одређени минерали и со (Singh и сар., 2014). Све биљке садрже лигноцелулозу, с тим да је међу њима лигнин скоро потпуно нерастворљив и обезбеђује физичку јачину и чврстину ћелијском зиду биљке. Са друге стране, присуство лигнина у лигноцелулози спречава њену ефикасну ензимску деградацију и накнадну микробиолошку ферментацију насталих шећера (Zeng и сар., 2014).

Захваљујући својој сложеној структури, лигноцелулоза је веома нерастворљива и не може се директно користити у микробиолошким процесима. Међутим, излажући лигноцелулозу ензимској хидролизи ослобађају се ферментивни шећери, које могу користити микроорганизми за производњу ензима за њихов раст (Meng и Ragauskas, 2014).

Shivus и Denstadli (2010) су утврдили да присуство лигноцелулозе у оброку продужава време задржавања хране у мишићном делу желуца што повећава ефикасност егзогенних (додатих) ензима. Пре свега, описани ефекат би требало да буде изражен у варењу протеина, с обзиром да је први корак у њиховом варењу хидролиза у желуцу под дејством желудачне киселине. Сличне резултате везане за активност протеолитичких ензима и повећану сварљивост аминокиселина утврдили су и Yokhana и сар., (2014). У просеку додавање 0,8% лигноцелулозе у оброк за бројлере је повећавало сварљивост есенцијалних аминокиселина за 5,8%, на основу чега је израчуната матрична вредност за нерастворљиву ЦФЦ која омогућава смањење количине сојине сачме приликом оптимизације obroka.

Farran и сар. (2013) доказали су да је лигноцелулоза додата у храну у количини од 0,8% повећавала сварљивост протеина и принос меса, односно значајно смањивала количину абдоминалне масти код бројлера у тову. Добијени резултате потврђују и Bogusławska- Gryk и сар. (2015). који су доказали да лигноцелулоза у количини од 0,5-1,0% позитивно делује на састав цревне микробиоте и степен микробиолошке ферментације у цревима.

Лигноцелулоза утиче на здравље танких цријева тако што спречава колонизацију штетних бактерија путем два различита механизма деловања, а који се односе на повећање броја пехарастих ћелија и убрзање пасаже цревног садржаја. Rezaei и сар (2011) доказали су значајно повећање броја пехарастих ћелија, а Hetland и сар. (2004) убрзање проласка цревног садржаја када је у оброку за бројлере била присутна умерена количина хлорофлуороугљеника.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

#### Материјал и методе

У циљу изучавања оправданости употребе пурификоване лигноцелулозе у исхрани бројлера извршена су испитивања која су била усмерена на то да се омогући детаљан увид у производне резултате (прираст, конзумацију и конверзију хране) и влажност простирке бројлера у тову храњених оброком са различитим количинама додате пурификоване лигноцелулозе.

Организован је оглед по групно-контролном систему на фарми Пилепром д.о.о, Србац, Република Српска (БиХ) у трајању од 42 дана. За оглед је коришћено 400 бројлера Cobb провенијенције пореклом из комерцијалне инкубаторске станице „Инста д.о.о, Србац, Република Српска, (БиХ). Испитивања су изведена на једнодневним бројлерима оба пола просечне телесне масе од 41,84 g. Све експерименталне групе су током огледа храњене смешама стандардног сировинског састава које су у потпуности задовољавале потребе бројлера у свим фазама това. Програм исхране обухватао је три периода това од 1- 42. дана, током којих су примјењиване три нутритивно различите концентроване смеше у пелетираном облику: стартер (од 0- 13. дана, дробљене пелете), гровер (14-28 дана, пелете 3,5 cm) и финишер (29-42. дана, пелете 3,5 cm) произвођача Рапић д.о.о, ПЈ Фармофит, Градишка, Република Српска (БиХ). Базална исхрана је формулисана како би задовољила захтеве одржавања и раста животиња кориштених у експерименту.

Основни задатак испитивања био је да се утврди утицај исхране бројлера у тову смешама са различитим количинама пурификоване лигноцелулозе на здравствено стање и производне резултате. Због тога су у смешама за исхрану огледних група извршене минималне корекције како би се постигао постављени циљ (табела 1 и 2). Смеше за огледне групе су се разликовале једино у томе што је у прве две смеше (стартер и гровер) додат препарат пурификоване лигноцелулозе у количинама од 4 g/kg хране и 6 g/kg хране за прву и другу огледну групу, односно 6 g/kg за трећу огледну групу уз смањење сојине сачме за 0,6%. У оброк за све три огледне групе додат је комерцијални препарат Arbocel® (R.J. Rettenmaier & Söhne GmbH+ CO. KG, Rosenberg, Немачка) који садржи око 70% киселих детергентских влакана (АДФ) и 24% киселог детергента лигнина (АДЛ).

Табела 1. Сировински састав смеша за исхрану бројлера у тову, (%)

Хранива	I-стартер	II-гровер	III-финишер
Кукуруз	40,86	46,40	44,83
Пшеница	15,00	15,00	20,00
Сојина сачма	31,10	21,86	17,75
Сојин гриз	7,00	12,00	12,00
Сојино уље	1,71	0,78	1,68
Сточна креда	1,44	1,26	1,24
Монокалцијум фосфат	1,02	0,86	0,66
Сточна со	0,20	0,19	0,19
Сода бикарбона	0,17	0,15	0,15
Витаминско-минерални додатак	1,50	1,50	1,50
Укупно	100,00	100,00	100,00

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Табела 2. Хемијски састав смеша за исхрану бројлера у тову (%)

Нутријент	Стартер од 0-13 дана				Гровер од 14-28 дана				Финиш. 29-42 дана
	К	О-1	О-2	О-3	К	О-1	О-2	О-3	
Метаболичка енергија Kcal/kg	2990	2984	2979	2985	3045	3037	3033	3040	3150
Влага	10,93	10,93	10,87	10,88	11,09	11,1	11,03	11,04	11,11
Укупни пепео	5,92	5,92	5,89	5,88	5,56	5,56	5,54	5,53	5,16
Сирови протеин	22	21,95	21,87	21,84	20	19,26	19,89	19,87	18,5
Сирова влакна	3,4	3,82	3,97	3,95	3,25	3,67	3,85	3,82	3,15
Укупне масти	5,21	5,21	5,19	5,2	5,31	5,31	5,29	5,3	6,19
Калцијум	0,95	0,95	0,95	0,95	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8
Фосфор укупни	0,67	0,67	0,66	0,66	0,62	0,62	0,61	0,61	0,56
Фосфор искористиви	0,44	0,44	0,44	0,44	0,42	0,42	0,42	0,42	0,40
Натријум	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Хлор	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
НФЕ***	52,44	52,21	52,21	52,25	54,79	55,1	54,4	54,44	55,89
Лизин (укупни)	1,30	1,30	1,30	1,30	1,18	1,18	1,18	1,18	1,06
М+Ц (укупни)	0,98	0,98	0,98	0,98	0,88	0,88	0,88	0,88	0,80
Треонин (укупни)	0,87	0,87	0,87	0,87	0,80	0,80	0,80	0,80	0,72

Vitamin A 13500 IU, Vitamin D3 5000 IU, Vitamin E 80 IU, Vitamin K3 4 mg, Vitamin B1 4 mg, Vitamin B2 6 mg, Vitamin B6 5 mg, Vitamin B12 0.025 mg, Vitamin C 25 mg, Biotin 0.15 mg, Niacin 60 mg, Calcium pantothenate 16.5 mg, Holin hlorid 750 mg, Folic acid 2 mg, Iodine 1 mg, Selenium 0.3 mg, Iron 40 mg, Copper 20 mg, Manganese 100 mg, Zinc 80 mg, Antioxidant 125 mg, Endo-1,3(4)-beta-glucanase (4a15) EC3.2.1.6 - 152 U, Endo-1,4-beta-xylanase (4a15) EC 3.2.1.8 – 1220 U, 6-phytase (4a1640) EC3.1.3.26 – 500 FTU

Контролна мерења огледних јединки извршена су појединачно при усељавању једнодневних бројлера, као и на крају сваке фазе тога бројлера. Мерења су извршена на електронској ваги са тачношћу од 1 g. На основу резултата мерења израчуната је просечна телесна маса бројлера на крају сваке фазе, као и на почетку и крају огледа збирно. Из разлика телесних маса на почетку и крају сваке фазе израчунат је укупни прираст, а на основу трајања појединих фаза, као и самог огледа, укупан и дневни прираст.

Током трајања огледа, на крају сваке фазе, прецизно је мерена количина утрошене хране за сваку групу. Из добијених података о утрешку хране и прирасту израчуната је конверзија хране и то посебно за сваку фазу, као и за цели оглед.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

На 28. дан експеримента, из сваког бокса узето је по пет узорака из свих слојева стеље (4 у близини зидова и један из средине). Узорци из сваке групе су састављени и темељно измешани, а садржај влаге је одређен сушењем на  $103 \pm 2$  °C до константне тежине (ИСО 1442: 1997).

#### Производни резултати

##### Телесне масе бројлера у току това

Кретање телесне масе бројлера у огледу приказано је у табели 3. одакле се уочава да су бројлери на почетку експеримента имали уједначену телесну масу ( $41,71 \pm 1,41$ - $42,16 \pm 1,31$  g) и да нису утврђене статистички значајне разлике ( $p < 0,05$ ) између различитих група. Након три недеље това највећу телесну масу ( $826,20 \pm 118,94$  g) остварила је група бројлера (О-II) која је путем хране добијала већу количину препарата лигноцелулозе и која је била статистички значајно већа ( $p < 0,05$ ) у односу на телесну масу бројлера контролне ( $772,10 \pm 117,47$  g) и прве огледне групе ( $782,10 \pm 96,93$  g). На крају огледа, само је група бројлера храњена са мањом количином додате лигноцелулозе постигла незнатно мању телесну масу (0,02%) у односу на контролну групу. Највећу телесну масу постигла је огледна група бројлера (О-II) којима је у храну додавана већа количина лигноцелулозе, а без смањења учешћа сојине сачме, и то за 7,5% у односу на бројлере контролне, односно 7,7 и 4,6% у односу на бројлере О-I и О-III групе. Утврђена је статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ) између просечне масе бројлера огледне групе О-II и осталих посматраних група (Табела 3.)

Табела 3. Телесне масе бројлера током експеримента, G

Дан мерења	Групе			
	К	О-I	О-II	О-III
$\bar{X} \pm SD$				
1. дан	$41,72 \pm 1,41$	$42,16 \pm 1,31$	$41,71 \pm 1,40$	$41,93 \pm 1,98$
21.дан	$772,10 \pm 117,47^a$	$782,10 \pm 96,93^a$	$826,20 \pm 118,94^b$	$785,90 \pm 123,03^{ab}$
42.дан	$2420 \pm 332,15^a$	$2432 \pm 260,32^a$	$2611 \pm 266,69^b$	$2495 \pm 309,56^a$

Легенда: иста слова <sup>a,b,c,ab</sup>  $p < 0,05$ ;

##### Просечан прираст бројлера у току това

Просечан прираст бројлера током експеримента приказан је у табели 4. одакле се уочава да је додавање већих количина лигноцелулозе у оброк резултовало и највећим оствареним дневним прирастом у другој ( $784,00 \pm 118,81$  g) и трећој ( $743,97 \pm 117,98$  g) огледној групи бројлера током прве половине експеримента. Исти тренд је задржан и у другом делу експеримента (21-42 дан) где је највећи просечан дневни прираст остварила О-II група ( $1781,80 \pm 278,99$  g) и који је био статистички значајно већи ( $p < 0,05$ ) у односу на остварени просечни дневни прираст контролне ( $1647,90 \pm 330,58$  g) и О-I ( $1640,90 \pm 269,32$  g) групе, али не и О-III ( $1709,10 \pm 305,97$  g) групе бројлера. Посматрано за цели оглед збирно (1-42 дан) најмањи просечни дневни прираст остварили су бројлери контролне ( $2378,28 \pm 332,14$  g), а највећи бројлери О-II ( $2569,29 \pm 266,50$  g) групе који је био статистички значајно већи у односу на прираст контролне и О-I ( $2389,84 \pm 263,01$  g) групе.

Табела 4. Просечан прираст бројлера током експеримента, g

Период това	Групе			
	К	О-I	О-II	О-III
$\bar{X} \pm SD$				
1-21. дана	$730,38 \pm 109,44^a$	$739,94 \pm 98,06^a$	$784,49 \pm 118,81^b$	$743,97 \pm 117,98^a$
22-42. дана	$1647,90 \pm 330,58^a$	$1649,90 \pm 269,32^a$	$1784,80 \pm 278,99^b$	$1709,10 \pm 305,97^a$
1-42. дана	$2378,28 \pm 332,14^a$	$2389,84 \pm 263,01^a$	$2569,29 \pm 266,50^b$	$2453,07 \pm 307,11^a$

Легенда: иста слова <sup>a,b,c</sup>  $p < 0,05$

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

#### Конзумација и конверзија хране бројлера током това

Дневна конзумација хране приказана је у табели 5. из које може да се види да је контролна група бројлера током експеримента конзумирала уобичајене количине хране. У првој фази огледа (1-21. дан) конзумација хране се није знатно разликовала између огледних група бројлера храњених смешама којима је додата различита количина препарата лигноцелулозе, с тим да су бројлери О-II групе остварили највећу конзумацију хране (1063,30 g) која је била за 4,1% боља у односу на бројлере контролне, односно 5,0 и 4,1% у односу на бројлере О-II и О-III групе. Идентичан тренд је утврђен и у другој фази огледа (21-42. дан), где је најбољи апетит (3,254 g) утврђен код групе бројлера (О-II) којима је у храну додавана већа количина препарата лигноцелулозе без смањења учешћа сојине сачме.

Табела 5. Просечна дневна конзумација током това бројлера, g

Период огледа	К	О-I	О-II	О-III
1-21. дана	51,27	50,64	52,63	51,24
22-42. дана	154,47	143,21	154,99	149,72
1-42. дана	103,02	96,93	103,81	100,48

Посматрано за цели оглед збирно, додавање лигноцелулозе није утицало на конзумацију хране, тако да је контролна група постигла бољу конзумацију за 6,3 и 2,5% у односу на О-I и О-III групу, односно нижу конзумацију за 0,80% у односу на О-II групу.

Табела 6. Укупна конзумација хране у току това бројлера, kg

Период огледа	К	О-I	О-II	О-III
1-21. дана	1,076	1,063	1,105	1,076
22-42. дана	3,250	3,007	3,254	3,144
1-42. дана	4,327	4,071	4,360	4,220

Просечна конверзија хране током експеримента приказана је у табели 7. а из података се уочава позитиван утицај додавања препарата лигноцелулозе у храну, с тим да су у првој фази експеримента најлошију конверзију постигли бројлери контролне групе (1,394) и која је била за 2,5; 4,2 и 1,8% слабија у односу на остварену конверзију бројлера О-I, О-II и О-III групе. У другој фази експеримента (21-42. дан) задржан је исти тренд тако да су најбољу конверзију постигли бројлери О-I (1,822), а најлошију бројлери (1,973) контролне групе. Посматрано за цели период това, од првог до четрдесет другог дана това, бројлери контролне групе су оствариле и највећу конверзију (1,788), док су бројлери огледних група храњени смешама у којима је додавана различита количина лигноцелулозе постигли нижу и скоро идентичну (1,673; 1,669 и 1,691) конверзију хране у односу на бројлере контролне групе.

Табела 7. Конверзија хране у току това бројлера, kg

Период огледа	К	О-I	О-II	О-III
1-21. дана	1,394	1,359	1,337	1,369
22-42. дана	1,973	1,822	1,823	1,839
1-42. дана	1,788	1,673	1,669	1,691



**Одређивање влажности простирке**

На основу добијених резултата статистичке анализе утврђено да је додавање веће количине лигноцелулозе у храну за бројлере резултирало нижом просечном влажношћу простирке код бројлера О-II (21,98±1,67%) и О-III (24,10±1,81%) групе у односу на бројлере контролне групе (29,32±1,73%) и бројлера прве огледне групе (26,56±2,42%) која је путем хране добијала нижу количину лигноцелулозе.

Просечна влажност простирке бројлера О-II и О-III групе била је статистички значајно ( $p < 0,05$ ) нижа од просечне влажности простирке бројлера контролне групе, а утврђена је и статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ) између просечне влажности простирке бројлера О-II и О-I групе.

**Табела 8.** Влажност простирке

Параметар	Групе			
	К	О-I	О-II	О-III
$\bar{X} \pm \text{СД}$				
<b>Влажност %</b>	29,32±1,73 <sup>a</sup>	26,56±2,42 <sup>аб</sup>	21,98±1,67 <sup>и</sup>	24,10±1,81 <sup>би</sup>

Легенда: иста слова<sup>a, и, аб, би</sup>  $p < 0,05$ ;

**Закључак**

Нерастворљива влакна имају позитиван утицај и на искоришћавање хранљивих материја, тако да присуство нерастворљивих влакана у оброку продужава време задржавања хране у мишићном делу желуца што повећава ефикасност егзогених (додатих) ензима. Пре свега, описани ефикасност би требало да буде изражен у варењу протеина, обзиром да је први корак у њиховом варењу хидролиза у желудцу под дејством желудачне киселине. У просеку додавање 0,8% лигноцелулозе у оброк за бројлере повећало је сварљивост есенцијалних аминокиселина за 5,8%, на основу чега је израчуната матрична вредност за нерастворљиву ЦФЦ која омогућава смањење количине сојине сачме приликом оптимизације оброка.

Додавање већих количина лигноцелулозе у оброк резултирало је највећом телесном масом и највећим просечним дневним прирастом који је био статистички значајно већи у односу на остварене телесне масе и просечан дневни прираст бројлера контролне групе, као и О-I групе бројлера која је путем хране добијала мању количину препарата лигноцелулозе. Највећу телесну масу (2611±266,69g), као и највећи просечни дневни прираст (2569,29±266,50g) остварила је група бројлера која је путем хране добијала 0,6% препарата лигноцелулозе, а без смањења учешћа сојине сачме (О-II).

Анализом основних економских показатеља (укупни трошкови, вредност производње, коефицијент економичности) можемо закључити да је укупан финансијски резултат био позитиван за све четири посматране групе бројлера, с тим да је додавање у храну веће количине препарата лигноцелулозе резултирало и најбољим финансијским ефектом.

**Захвалница:** Овај рад финансиран је од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја у оквиру Пројекта ТР 31034 и Пројекта ИИИ 46002

**Литература**

1. Bach K, 2001, *The nutritional significance of "dietary fibre" analysis*, Anim Feed Sci Technol, 90, 3-20.
2. Binkley R W, 1988, *Modern Carbohydrate Chemistry*, New York, Marcel Dekker.
3. Bjedov S, Ljubojević D B, Milošević N, Stanačev V, Đukić M, 2011, Productin performance of meat type hybrids, *Biotechnology in animal husbandry*, Institut for animal husbandry, Zemun-Beograd.
4. Bogusławska-Tryk M, Szymeczko R, Piotrowska A, Burlikowska K, Śliżewska K, 2015, Ileal and cecal microbial population and short-chain fatty acid profile in broiler chickens fed diet supplemented with lignocellulose, *Pakistan Veterinary Journal*, 35, 212-16.
5. Clarke R T J, Bauchop T, 1977, *Microbiol*

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

ecology of the gut, Academic Press, New York. 6. Farran M T, Pietsch M, Chabrilat T, 2013, Effect of lignocellulose on the litter quality and the ready to cook carcass yield of male broilers, Actes des 10emes Journees de Recherche Avicole et Palmipedes a Foie Gras, La Rochelle, France, 917-21. 7. Farran M T, Akilian H, 2014, Effect of dietary lignocellulose in post peak production and hatching performance of broiler breeders grown under commercial settings, XIV European Poultry Conference, Stavanger, 158. 8. Gonz'alez-Alvarado J M, Jim'enez-Moreno E, Gonz'alez- S'anchez D, L'azaro R, Mateos G, G, 2010, Effect of inclusion of oat hulls and sugar beet pulp in the diet on productive performance and digestive traits of broilers from 1 to 42 days of age, Anim. Feed Sci Technol, 162, 37-46. 9. Hetland H, Choct M, Svihus B, 2004, Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition, Worlds Poult Sci J 60, 4, 415-22. 10. Iji P A, Saki A A, Tivey D R, 2001, Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide, J Sci Food Agric, 81, 1186-92. 11. Jim'enez-Moreno E, Gonz'alez-Alvarado J M, Gonz'alez-Serrano A, L'azaro R, Mateos G G, 2009, Effect of dietary fiber and fat on performance and digestive traits of broilers from one to twenty-one days of age, Poultry Sci, 88 (12), 2562-74. 12. Jovanović S, Miladinović D, Stamenković T, 2004, Proizvodnja živinskog mesa u svijetu i njene tendencije, Tehnologija mesa, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd. 13. Kuenzel, 1994, Appetite and its control, Poult Sci, Rev, 5, 209-29. 14. Mateos G G, Jimenez-Moreno E, Serrano M P, Lazaro R P, 2012, Poultry responseto high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics, Journal of Applied Poultry Research, 21, 156-74. 15. MC Lelland, 1975, Aves digestive system, In "Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals", Vol 2, 1857-82. 16. Meng X, Ragauskas A J, 2014, Recent advances in understanding the role of cellulose accessibility in enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates, Curr Opin Biotechnol, 27, 150-58, doi 10.1016/j.copbio.2014.01.014. 17. Rezaei M, Karimi T, Rouzbehan Y, 2011, The influence of different levels of micronized insoluble fiber on broiler performance and litter moisture, Poult Sci 90, 2008-12. 18. Sakhatskiy M I, 2014, Broiler meat production in the world: volumes, technologies, current states and prospects, Ukraina. 19. Singh R, Shukla A, Tiwari S, Srivastava M, 2014, A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential, Renew Sustain Energy Rev, 32, 713-28. 20. Sklan D, Smirnov A, Plavnik I, 2003, The effect of dietary fibre on the small intestines and apparent digestion in the turkey, Br Poult Sci, 44, 735-40. 21. Zeng Y, Zhao S, Yang S, Ding S Y, 2014, Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels, Curr Opin Biotechnol, 27, 38-45, doi, 10.1016/j.copbio.2013.09.008.

СИРОВА ЦЕЛУЛОЗА ИЛИ ВЛАКНА У ИСХРАНИ ЖИВОТИЊА – ПРАКТИЧАН ПРИСТУП

*CRUDE CELLULOSE OR FIBER IN ANIMAL FOOD - PRACTICAL ACCESS*

*Стамен Радуловић, Радмила Марковић, Драган Шефер*

Факултет ветеринарске медицине, Београд

**Кратак садржај**

Иако постоји већи број метода, информације о саставу хранива којима данас располажемо, добијене су коришћењем тзв Weende методе. Овај класичан поступак, развијен пре више од 150 година, задржао се као основа и при најмодернијој инструменталној аналитици на савременим апаратима. Међутим, Weende поступком могуће је добити само сирове вредности јер аналитичком процедуром није могуће издвајање чистих супстанци већ су оне удружене са пратећим састојцима хране. Највећи недостаци и непрецизност у примени овог поступка, односе се на садржај угљених хидрата, пре свега сирове целулозе, која под овим термином обухвата низ других састојака хране. Тако се започело са развојем бројних модификација Weende поступка и алтернативних процедура, где је највећу примену у пракси нашао Van Soest модел. Основни циљ овог поступка базиран је на раздвајању високосварљивих, неструктурних, компоненти ћелијског садржаја (скроб, шећери, протеин, пектини и маст), које представљају главни извор енергије, од структурних компоненти ћелијског зида биљне ћелије (целулоза, хемицелулоза и лигнин), које представљају мање сварљив, фиброзни (влакнасти) део. Фиброзни део, даље се раздваја се у две компоненте које се скраћено означавају NDF и ADF влакна и чије вредности указују на могућност конзумације хране и њену енергетску вредност, превасходно у исхрани преживара. Савремени трендови у исхрани животиња указују на значај ових влакана и у исхрани моногастричних животиња.

**Кључне речи:** ADF, целулоза, енергија хране, NDF, влакна

**Summary**

Although there are a numerous methods, informations about the nutrient composition we use today are obtained by the use of the so-called Weende method. This classic procedure, developed more than 150 years ago, has remained the basis even with the most uptodate instrumental analytics on modern devices. However, Weende procedure can provide only raw values, because analytical procedure is not capable to extract pure substances, which are associated with the accompanying substances of feed. The major inaccuracies in the application of this procedure are related to the carbohydrate content, primarily crude cellulose, which includes a number of other feed ingredients under this term. This was the reason for the development of numerous modifications and alternatives, where the Van Soest model found its greatest use. The main objective of this model is based on the separation of highly digestible, non-structural, cellular components (starch, sugars, protein, pectins and fat), which are the main energy source, from the structural components of the cell wall of the plant cell (cellulose, hemicellulose and lignin), which represent less digestible, fibrous part. The fibrous part is further separated into two components, NDF and ADF fibers, whose values indicate the possibility of feed consumption and its energy value, primarily in ruminant nutrition. Current trends in animal nutrition indicate the importance of these fibers in the diet of monogastric animals.

**Key words:** ADF, cellulose, fiber, feed energy, NDF

### УВОД

Наука о исхрани домаћих животиња остварила је свој брз развој у последњим деценијама захваљујући опсежним научним истраживањима изведеним у циљу бољег познавања природе хранива и процеса који се одвијају у организму животиња. Континуирани развој и унапређење метода и аналитичких процедура пресудно су утицали на унапређење исхране свих врста и категорија домаћих животиња. Добијање поузданих информација о хемијском саставу и хранљивој вредности хранива омогућило је потпуније формулисање оброка а животињама могућност да у потпуности испоље генетски потенцијал својих продуктивних својстава. Прецизним балансирањем и оптимизацијом оброка омогућава се минимализовање директних трошкова исхране, спречава се непотребан губитак хранљивих материја, као и емисија штетних гасова у спољашњу средину, уз непосредан утицај на економичност производње. Привредна вредност сваке животиње зависи од количине и квалитета производа који даје и стога је неопходно, поред детаљног увида у хемијски састав хране, пратити и даљу судбину хранљивих материја у метаболичким процесима, јер се само сварене и ресорбоване материје могу користити у производњи. Нови аналитички поступци пружају реалну могућност да се наведени задаци испуне а животиње обезбеде високу производњу уз мању потрошњу хране по јединици производа.

### СТАНДАРДНИ ПОСТУПАК ОДРЕЂИВАЊА УГЉЕНИХ ХИДРАТА У ХРАНИ ЗА ЖИВОТИЊЕ

Одређивање хемијског састава хране за животиње, а тиме и оцењивање њене хранљиве вредности, врши се признатим поступцима и методама. Ово подразумева припрему узорка хране за анализу а затим и саму хемијску анализу којом се одређује присуство и заступљеност појединих хранљивих материја. Иако постоји већи број метода, информације о саставу хранива којима данас располажемо, добијене су коришћењем тзв Weende методе. Процедура подразумева низ простијих физичко хемијских поступака којима се хранљиви састојак који се испитује издваја, уз могућност његовог квантитативног одмеравања аналитичком вагом (Синовец и Шевковић, 2008). Овај класичан поступак задржао се као основа и при најмодернијој инструменталној аналитици на савременим апаратима. Назив Weende поступка потиче од имена експерименталне станице у Немачкој, једне од првих пољопривредних установа у тој земљи, у којој су пре више од 150 година (1859) научници Honneberg i Stohmann разрадили овај метод. Према Weende поступку хранива се састоје из укупно шест фракција и то: влага, пепео, протеини, маст, целулоза и безазотне материје (БЕМ). Првих пет фракција одређују се хемијском анализом, док се последња фракција одређује калкулативно на основу претходно утврђених вредности (Choct, 2015). Подаци добијени на овај начин називају се сировим јер се приликом анализа, осим основних, екстрахују и пратећи састојци хране. Тако, сирова влага обухвата грубу и хигроскопну влагу, сирове масти осим масти обухватају и масне киселине, старска уља, воскове, стерине, хлорофил, ксантофил, каротен, док сирови протеини обухватају азот како протеинског тако и непротеинског порекла. Највише примедби упућених на рачун прецизности Weende поступка (добијање сирових а не правих вредности) односи се на утврђивање садржаја угљених хидрата. На основу овог поступка угљени хидрати у испитиваном храниву класификују се у две групе: лако сварљиви угљени хидрати тј. БЕМ и теже сварљиви угљени хидрати или сирова влакна (*Eng. crude fiber*), који се одомаћено, али погрешно, означавају још и као целулоза или сирова целулоза (Шефер и Синовец, 2008).

Поступак за одређивање садржаја сирових влакана назива се Honneberg Stohmann-ова метода. Принцип методе заснива се на третирању узорка са кључалом разблаженом сумпорном киселином. Остатак након третирања одваја се филтрацијом, испира а затим третира кључалим раствором калијум-хидроксида. Након одвајања остатка филтрацијом, испирања, сушења и мерења, остатак се жари. Губитак масе након жарења одговара маси сирових влакана у делу узорка за испитивање. Иако се цео описани поступак заснива на нерастворљивости целулозе у slabим киселинама и базама, поред целулозе овим путем остаје неразложен и низ других органских молекула који редовно прате целулозу: хемицелулоза, лигнин, суберин, кутин и други. На основу тога, податак добијен Honneberg Stohmann-овом методом прецизније је назвати сирова влакна и као таквог га примењивати како у прописима који се тичу квалитета и безбедности хране за животиње, тако и у практичном раду нутрициониста. Уједно, назив сирова влакна одомаћен је и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

у светски признатим нутритивним таблицама, препорукама, као и научним истраживањима у области исхране животиња.

Поступак за одређивање садржаја лако сварљивих угљених хидрата, односно безазотних екстрактивних материја, врши се калкулативно и заснива се на одређивању разлике укупне масе узорка и збира првих пет фракција одређених Weende поступком. Практично, одређивање БЕМ-а подразумева примену формуле:

$$\text{БЕМ} = 100 - (\% \text{ сирова влага} + \% \text{ сирови пепео} + \% \text{ сирова маст} + \% \text{ сирова влакна})$$

С обзиром да се БЕМ одређује калкулативно на основу претходно утврђених вредности са свим недостатцима примењених метода (сирови подаци), практично се у наведеној формули сви до тада настали недостатци сумирају, чинећи добијени податак најмање поузданим. У практичном раду, добијена вредност углавном је показатељ заступљености лако сварљивих угљених хидрата као што су скроб и шећери али у овој фракцији присутни су и целулоза, хемицелулоза, као и лигнин. Истовремено присуство наведених компоненти (целулоза, хемицелулоза и лигнин) у БЕМ-у и у сировим влакнима умањује прецизност анализе и смањује реалну „праву“ вредност сирових влакана. Састав БЕМ-а може значајно варирати и зависи првенствено од врсте хране. Концентрована хранива у фракцији БЕМ садрже претежно скроб и шећере, док се код кабастих хранива у овој фракцији повећава удео састојака зидова ћелија и тиме смањује сигурност у процени хранљиве вредности БЕМ-а. Сматра се да при стандардном Weende поступку, чак 80% хемицелулозе или пентозана, као и 50 то 90% лигнина може бити уклоњено дејством примењених реагенса и као такви даље се могу наћи као део БЕМ-а. Тако, БЕМ сламе може садржати чак и 90% наведених састојака, чиме контрадикторно, лако сварљив угљени хидрат БЕМ постаје теже сварљив од сирових влакана. У случају концентрованих хранива, наведене грешке су доста мање, с обзиром на знатно ниже присуство ових састојака. У табели 1 приказан је садржај сирових влакана, БЕМ и енергетска вредност најчешће коришћених хранива у формулисању obroка за исхрану животиња.

*Табела 1.* садржај сирових влакана, БЕМ и енергетска вредност најчешће коришћених хранива у формулисању obroка за исхрану животиња (Синовец и Шевковић, 2008)

	Сирова влакна	БЕМ	МЕ (свиње)	МЕ (живина)	СЈ (говеда)
Кукуруз	2,1	71,7	13,97	14,31	0,814
Јечам	5,4	61,8	11,30	11,08	0,712
Пшеница	2,5	68,8	13,97	12,92	0,755
Соја сачма	5,8	33,5	15,58	9,42	0,737
Сунц. сачма	23,0	26,0	8,28	9,46	0,460
Ливадско сено врло добро	21,5	41,8	9,09	/	0,405
Ливадско сено лоше	33,4	38,1	/	/	0,270
Кукурузна силажа	6,8	16,2	1,90	/	0,158

#### ПРАКТИЧНА ПРИМЕНА ПОДАТАКА ДОБИЈЕНИХ WEENDE АНАЛИЗОМ

У исхрани домаћих животиња угљени хидрати третирају се углавном као енергетске материје, односно као неспецифични извори енергије, коју организам може користити за своје потребе. Само поједини чланови из ове комплексне групе могу имати специфичну улогу у исхрани, попут пребиотског ефекта олигосахарида, имуномодулаторне улоге бета глукана итд. На основу података добијених Weende анализом (% протеина, масти, сирових влакана и БЕМ у испитиваном храниву) калкулативно се одређује бруто (БЕ) и нето (НЕ) енергија, као

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

потенцијална и продуктивна енергија хране, док је за одређивање сварљиве, метаболичке енергије и скробне јединице неопходно наведене податке допунити и коефицијентима сварљивости.

$$\text{БЕ} = 24,12 X_1 + 39,33 X_2 + 20,92 X_3 + 17,63 X_4$$

$$\text{НЕ (говед)} = (1,71 X_1 + 7,52 X_2 + 2,01 X_3 + 2,01 X_4) \cdot 4,184 \cdot 10$$

$$\text{НЕ (свиње)} = (2,59 X_1 + 8,10 X_2 + 0,96 X_3 + 2,15 X_4) \cdot 4,184 \cdot 10$$

$X_1, X_2, X_3, X_4$  = % сирових протеина, сирових масти, сирових влакана и БЕМ у храни

На основу садржаја сирове целулозе (сирових влакана) утврђеног Weende анализом кабастих хранива врши се корекција (за сваки проценат сирових влакана у храниву) некориговане вредности скробне јединице. Наведени поступак подразумева најпре израчунавање корекције према формули:

**Корекција = % сирових влакана у храниву · корективни фактор** (Корективни фактори дефинисани су за сваки проценат сирове целулозе који је утврђен у храниву, а њихове вредности дате су у Табели 2)

Затим се израчунава коначна (коригована) скробна вредност према формули:

$$\text{Скробна вредност} = (\text{некоригована СЈ} - \text{Корекција}) / 100$$

На основу израчунате скробне вредности, сва хранива се могу поделити на ниско енергетска, кабаста, волуминозна хранива (енергетска вредност испод 0,35 СЈ / кг) и високо енергетска, концентрована хранива (енергетска вредност изнад 0,35 СЈ / кг) (Шевковић и сар., 1992).

**Табела 2.** Корективни фактори за сваки проценат сирове целулозе који је утврђен у храниву

Сирова целулоза %	Корективни фактор	Сирова целулоза %	Корективни фактор
<4,0	0,29	10,1-12,0	0,43
4,1-6,0	0,31	12,1-14,0	0,48
6,1-8,0	0,34	14,1-16,0	0,53
8,1-10,0	0,38	>16	0,58

Осим наведеног значаја података о садржају сирових влакана у храни за калкулативно одређивање енергетске вредности хране, као и у утврђивању потреба, тј. норматива у исхрани животиња, овај податак има велики значај и у процени квалитета хранива у практичном раду, као што је поентирање сена по Lenkeit-у. У наведеном систему процене, садржај сирове целулозе у сени од 19-24% вреднује се са 25-30 бодова, а затим, са повећањем % учешћа целулозе смањује се број бодова, тако да сено са више од 31% целулозе у свом саставу носи најмањи брод бодова – 1.

#### ПРЕЦИЗНИЈА ПОДЕЛА ВЛАКАНА – VAN SOEST МОДЕЛ

Убрзо након прихватања Weende поступка у анализи хемијског састава и хранљиве вредности хране за животиње, утврђени су и бројни недостаци и непрецизност у одређивању, пре свега, садржаја угљених хидрата, али и осталих хранљивих материја. Тако се започело са развојем бројних модификација и побољшавања наведене методе, али нови предлози били су компликованији у аналитичкој процедури или су лимитирани само на одређена хранива. Такође, предложени су и модели по којима би сви угљени хидрати били обухваћени само једном вредношћу, али се брзо одустало од тога јер се поједностављењем процедуре изгубило од прецизности и удаљило од разумевања физиолошких процеса и улоге појединих фракција угљених хидрата у исхрани животиња. Алтернативни поступак за одређивање садржаја сирових влакана и утврђивање његових појединачних фракција разрадио је седамдесетих година прошлог века (1963) Peter John Van Soest, професор на предмету исхрана животиња на Корнел Универзитету у Америци. Основни циљ овог поступка базиран је на раздвајању високосварљивих, неструктурних, компоненти ћелијског садржаја (скроб, шећери, протеин, пектини и маст), које представљају главни извор енергије, од структурних компоненти ћелијског зида биљне ћелије (целулоза,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

хемицелулоза и лигнин), које представљају мање сварљив, фиброзни (влакнасти) део, који може значајно ограничити унос такве хране. Фиброзни део, затим, раздваја се у две компоненте које се скраћено означавају NDF и AADF влакна (Saha и сар., 2017). Према аналитичкој методи професора Van Soest-а у првом кораку узорак се третира са неутралним раствором детергента (neutral detergent solution NDS) и испере са термо стабилном амилазом која чини шећере, скроб и пектине растворљивим. Остатак након третмана састоји се од несварљивих или мање сварљивих супстанци белијског зида - хемицелулозе, целулозе и лигнина. Наведене материје, односно остатак, означавају се као влакна нерастворљива у неутралном детергенту, скраћено NDF (Neutral Detergent Fibre). У другом кораку, користећи кисели раствор детергента (Acid Detergent Solvent ADS) хемицелулоза постаје растворљива а остатак након третмана састоји се претежно од целулозе и лигнина. Наведени остатак означава се као влакна нерастворљива у киселом детергенту, скраћено ADF (Acid Detergent Fibre). Остатак се затим може третирати концентрованом сумпорном киселином, која раствара целулозу и оставља лигнин у остатку, који се означава као лигнин киселог детергента, скраћено ADL (Acid Detergent Lignin). Након добијања све три вредности (NDF, ADF и ADL) могуће је калкулативно доћи до података о заступљености појединачних фракција угљених хидрата у храниву и то:

**NDF** = хемицелулоза + целулоза + лигнин

**ADF** = целулоза + лигнин

**ADL** = лигнин

**ADF – ADL** = целулоза

**NDF – ADF** = хемицелулоза

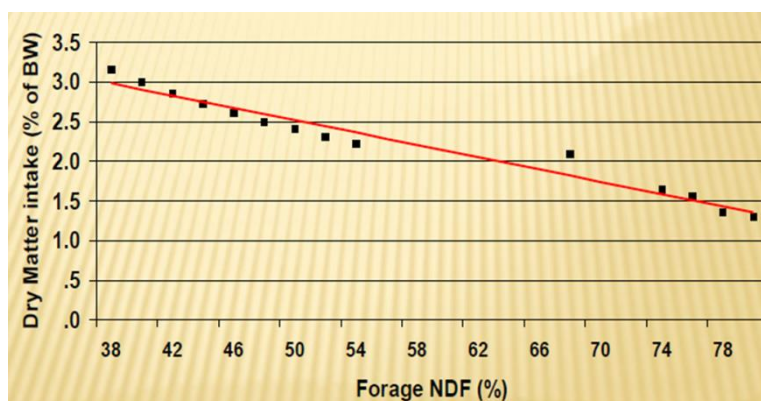
**Табела 3.** Садржај ADF и NDF влакана и енергетска вредност најчешће коришћених хранива у формулисању оброка за исхрану говеда (NRC, 2001)

Храниво	NDF	ADF	TDN	NEI	NE <sub>m</sub>	NE <sub>g</sub>
Кукуруз	9,5	3,4	88,7	2,01	2,16	1,48
Пшеница	13,4	4,4	86,6	1,99	2,15	1,47
Јечам	20,8	7,2	82,7	1,86	2,02	1,36
Сунц. сачма	40,3	30,0	59,9	1,38	1,49	0,92
Сојина сачма	14,9	10,0	80,0	2,13	2,29	1,59
Пшен. мекиње	42,5	15,5	71,5	1,61	1,74	1,12
Сточни квасац	47,4	22,2	71,3	1,71	1,84	1,21
Пшен. слама	73	49,4	47,5	0,82	0,83	0,29
Сено легумин.	42,9	33,4	59,1	1,28	1,38	0,80
Силажа кукуруз	45,0	28,1	68,8	1,45	1,57	0,97

Иако Van Soest метода представља далеко прецизнији начин анализе, превасходно садржаја угљених хидрата у храни (у односу на Weende поступак), у случају трава и цереалиа може се прихватити да NDF осликава састав ћелијског зида, док у случају легуминоза, због високог садржаја пектинских материја, полисахарида који се растварају у неутралном детергенту и не улазе у састав NDF, то није случај. Са друге стране, током термичке обраде хранива, протеини који се том приликом оштете задржавају се у анализи као нерастворљиви у неутралном детергенту и тиме постају део NDF, чиме се смањује прецизност добијених вредности.

#### ПРАКТИЧНА ПРИМЕНА ПОДАТАКА ДОБИЈЕНИХ VAN SOEST АНАЛИЗОМ NDF ВЛАКНА

У практичном раду нутрициониста, подаци о садржају NDF у храниву указују на волуминозност, а самим тим и могућност његове конзумације. При високим вредностима NDF, бржа испуњеност бурага при уносу таквог хранива ограничава конзумацију. На Слици 1 приказан је утицај садржаја NDF влакана у храни на њену конзумацију.



Слика 1. Утицај садржаја NDF влакана у храниву на конзумацију (извор: <https://extension.oregonstate.edu>)

Препоруке о уносу NDF влакана у исхрани музних крава изражавају се у односу на телесну масу грла или у процентима унете суве материје оброка. Већина истраживача сагласна је да при исхрани кабастом храном стандардног квалитета дневни унос NDF влакана требало би да износи 1,1-1,2% телесне масе животиње. При исхрани кабастим хранивима високог квалитета наведене вредности могу износити 1,55% или бити веће од тога. Уколико нам је познат садржај (%) NDF у сувој материји неког хранива, може се израчунати и дневни унос таквог хранива на основу формуле:

$$DMI = (1,1 \cdot \text{телесна маса животиње}) / \% \text{ NDF у сувој материји хранива}$$

DMI (Dry Matter Intake) представља дневни унос суве материје хранива/оброка

На основу информација које даје NRC (2001), препоручене вредности NDF за краве износе 25% суве материје оброка (25-33%), при чему 19% (19-15%) мора бити пореклом из кабастог дела оброка, док се препоруке за ADF крећу у распону од 17-21%. Максимална количина NDF која може бити присутна у оброку представља функцију енергетских потреба краве, минималне количине невлакнастих угљених хидрата (скроба и шећера) неопходних за здравље бурага, као и негативног ефекта високе концентрације NDF на унос хране. Најчешће, максималан ниво NDF у оброку условљен је енергетским потребама животиња (NEI). Хемијски састав NDF влакана, прецизније, пропорционално учешће целулозе, хемицелулозе и лигнина, утиче на сварљивост NDF фракције у храниву, тако да хранива са сличним NDF вредностима не морају имати и сличну енергетску вредност.

#### **ADF ВЛАКНА**

Садржај ADF у храниву представља добар показатељ његове сварљивости а самим тим и његове могућности да задовољи енергетске потребе животиње при конзумацији. Повећањем учешћа ADF у храниву његова сварљивост, као и енергетска вредност се смањују. Фактори који утичу на повећање заступљености ADF у храниву обухватају стадијум зрелости биљке (позитивна корелација), временске непогоде, оштећења кишом, као и високе температурне услове током раста биљке. С обзиром да се ADF вредност односи на садржај целулозе и лигнина у храниву, више различитих хранива може имати исту ADF вредност, али са различитим учешћем саставних компоненти. У таквом случају храниво са већом количином лигнина сматра се мање искористивим/сварљивим због ефекта везивања лигнина за целулозу и тзв лигнификације биљке. Највећу практичну примену ADF нашао је у калкулацијама енергетске вредности хране. Лабораторије за анализу хране за животиње користе различите једначине и компјутерске програме за израчунавање енергетске вредности. При томе, једначине нису исте за сва хранива, већ у циљу



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

прецизности развијене су за одређене групе или чак само за појединачну врсту хранива. Beauchemin (1996) сумирао је 20 различитих једначина за одређивање нето енергије лактације за траве, легуминозе, травно легуминозне смеше и зрнаста хранива, чиме је указао на велике разлике у начину рада и интерпретацији добијених резултата. У Табели 4 приказан је калкулативан начин утврђивања енергије различитих хранива у AGRIFOOD лабораторији из Канаде.

**Табела 4.** Израчунавање енергетске вредности различитих хранива на основу ADF вредности (извор: [http://www.agtest.com/articles/feed and forages calculations](http://www.agtest.com/articles/feed%20and%20forages%20calculations))

Храниво	TDN (%)	NEI (Mcal/kg)
Кабасте легуминозе	88.875-(0.812*ADF)	2.0575-(0.0199*ADF)
Кабасте траве	98.625-(1.048*ADF)	2.296-(0.0257*ADF)
Кабасте травно легуминозне мешавине	92.62-(0.9093*ADF)	2.149-(0.0223*ADF)
Кукурузна силажа	82.14-(0.577*ADF)	1.892-(0.0141*ADF)
Кукуруз зрно	92.22-(1.535*ADF)	2.139-(0.0376*ADF)
Остала зрнаста хранива	92.2-(1.12*ADF)	0.12-(0.0245*ADF)
TMP	95.88-(0.9111*ADF)	1.909-(0.017*ADF)

Најчешће коришћена једначина за одређивање енергије укупних сварљивих састојака (TDN) сена луцерке назива се “Western State equation” и развијена је у Калифорнији 90-их година прошлог века. У даатој формули, након утврђивања % ADF у храниву, приступа се калкулацији на следећи, једноставан начин:

$$TDN = 82,38 - (0,7515 \cdot ADF\%)$$

Иако је метода за одређивање ADF једноставнија и бржа у извођењу, савремени нутриционисти постепено напуштају употребу ADF влакана у калкулацији енергетске вредности хране и окрећу се NDF подацима, на основу којих добијају потпунији увид у структуру угљених хидрата ћелијског зида. Наведена “Western State” једначина, пре свега захваљујући утврђивању високе линеарне колерације између NDF и ADF у сену луцерке, данас је модификована, и базира се на вредностима NDF у храни (Robinson, 1999). У свом новом, модификованом облику једначина гласи:

$$TDN = 82,38 - (0,7515 \cdot (\%NDF - 3,41)) / 1,1298$$

#### **РЕЛАТИВНА ВРЕДНОСТ ХРАНЕ (NDF И ADF ВЛАКНА)**

Подаци о садржају NDF и ADF у храниву користе се као добар показатељ квалитета хране, посебно при анализи сена (луцерке), када се примењује формула за израчунавање релативне вредности хранива (RFV Relative Feed Value):

$$RFV = (DDM \times DMI) / 1,29$$

DDM (Digestible Dry Matter) представља сварљиву суву материју хранива и израчунава се према формули:

$$DDM = 88,9 - (0,779 \times \% ADF)$$

DMI (Dry Matter Intake) представља унос суве материје хране и израчунава се према формули:  $DMI = 120 / (\% NDF)$

Вредност RFV представља индекс и нема јединице изражавања а на основу добијеног података врши се рангирање процењиваног хранива у односу на луцерку у пуном цветању, која представља стандард и чија RFV вредност износи 100 (41% ADF и 53 % NDF). При рангирању хранива на основу RFV користе се ознаке: Prime за најбољи квалитет, а затим бројеви од 1 до 5, где број 5 означава најлошији квалитет (представљено у Табели 5). При набавци хранива са познатом RFV вредношћу у пракси се примењује дозвољено одступање од 5 бројева, односно уколико жељена вредност RFV хранива износи 140, свако храниво у распону од 135-145 сматра се једнако квалитетним (Saha и сар., 2017). У исхрани говеда, пожељно је да сено садржи 21 то 22%

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

сирових протеина, мање од 28% ADF и 35% NDF са RFV вредности од 170 до 180 или чак и вишој.

**Табела 5:** Релативна вредност сена базирана на садржају ADF и NDF влакана (Marsalis и сар., 2009)

РАНГ	NDF (% суве материје)	ADF (% суве материје)	RFV
<b>Prime</b>	<b>&lt;40</b>	<b>&lt;31</b>	<b>&gt;151</b>
<b>1</b>	40-46	31-35	125-151
<b>2</b>	47-53	36-40	103-124
<b>3</b>	54-60	41-42	87-102
<b>4</b>	61-65	43-45	75-86
<b>5</b>	>65	>45	<75

#### **NDF ВЛАКНА У ИСХРАНИ СВИЊА И ЖИВИНЕ**

Иако се подаци о садржају NDF и ADF влакана користе првенствено приликом нормирања оброка за исхрану преживара, интересантни су резултати које су изнели Nepomuceno и сар. (2016) у свом огледу на прасадима. Током 21 дан огледа, одбијена прасад добијала су оброке са различитим нивоом NDF влакана (8,5; 10,5; 12,5; 14,5 и 16,5%), чији су извор представљале пшеничне мекиње. Најбољи производни резултати остварени су у групи која је добијала 10,5% NDF у храни, што је објашњено стимулацијом интестиналног мотилитета, бржом пасажом хране и лимитирањем адхеренције патогена на зид црева и њиховом бржом елиминацијом из дигестивног тракта. Наведени ефекти одразили су се и на здравље дигестивног тракта, преваходно његове морфолошке карактеристике (повећање висине цревне ресице и последично њене апсорптивне способности) и смањену учесталост дијареје код испитиваних јединки. Приликом формулисања оброка за исхрану живине, уобичајено је да се тежи нижем садржају сирових влакана, посебно код младих категорија, где висок ниво влакана у оброку резултује недовољним уносом енергије и смањеном сварљивошћу хране, што доводи до слабијих производних резултата (Mateos и сар., 2012). Такође, висок ниво влакана у оброку може смањити апсорпцију калцијума у цревима и довести до хипокалцемије у крви а последично и до слабијег развоја костију (Rath и сар., 2000). У свом огледу, Freitas и сарадници (2014) користили су оброке са 14,50; 16,50 и 18,50% NDF у исхрани кокошака ноиља и у складу са претходно изнетим подацима, утврдили су да садржај NDF изнад 14,50% смањује сварљивост хранљивих материја, као и енергетску вредност оброка. Високи нивои NDF у оброку нису утицали на квалитет трупа, чврстину костију, унос хране и остварен прираст, док је забележен негативан ефекат на конверзију хране. Пшеничне мекиње које су у описаним огледима коришћене као извор NDF у оброку, повећавају вискозитет цревног садржаја због присуства нескробних полисахарида, првенствено арабиноксилана, који негативно утиче на сварљивост угљених хидрата, маст и протеина, а наведени ефекат је израженији код млађих категорија (Annison и Choct, 1991).

**Захвалница:** Овај рад финансиран је средствима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије бр. ИИИ 46002

#### **Литература**

1. Annison G, Choct M, 1991, Anti-nutritive activities of non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects, World's Poultry Science Journal, 47, 232-42. 2. Beauchemin K A, 1996, Using ADF and NDF in dairy cattle diet formulation-a western Canadian perspective, Animal Feed Science Technology, 58, 101-11. 3. Choct M, 2015, Fibre - Chemistry and Functions in Poultry Nutrition, LII Symposium Avicultura Malaga, 113-19. 4. Freitas E R, Braz N, Watanabe P H, Cruz C E, Nascimento G A, Bezerra R M, 2014, Fiber level for laying hens during the growing phase, Ciênc. Agrotec. Lavras, 38, 2, 188-98. 5. Marsalis M A, Hagevoort G R, Lauriault L M, 2009, Hay Quality, Sampling, and Testing, Cooperative Extension Service, College of Agricultural, Consumer and

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

Environmental Sciences, New Mexico State University, Circular 641. 6. Mateos G G, Jiménez-Moreno E, Serrano M P, Lázaro R P, 2012, Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics, *Journal of Applied Poultry Research*, 21, 156-74. 7. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 2001, Seventh Revised Edition, National academy press, Washington, D.C. 8. Nepomuceno R C, Watanabe P H, Freitas E R, Carvalho L E, Oliveira E L, Veira A M, 2016, Neutral detergent fibre in piglet diets: performance and gastrointestinal implications, *Ciência e Agrotecnologia* 40, 2, 205-16. 9. Rath N C, Huff G R, Huff W E, Balog J M, 2000, Factors regulating bone maturity and strength in poultry, *Poultry Science*, 79, 1024-32. 10. Robinson P H., 1999, Neutral Detergent Fiber (NDF) and its Role in Alfalfa Analysis, *Proceedings, 29th California Alfalfa Symposium*, Fresno, CA, UC Cooperative Extension, University of California, Davis. 11. Saha U, Sonon L, Hancock D, Hill N, Stewart L, Heusner G, Kissel D, 2017, *Common Terms Used in Animal Feeding and Nutrition*, UGA Cooperative Extension Bulletin 1367. 12. Шефер Д, Синовец З, 2008, Општа исхрана, Факултет ветеринарске медицине, Београд. 13. Шевковић Н, Прибичевић С, Рајић И, 1992, Исхрана домаћих животиња, Научна књига, Београд. 14. Синовец З, Севковић Н, 2008, Практикум из Исхране, Факултет Ветеринарске медицине, Београд. 15. Van Soest P J, 1963, Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin, *J Assoc Off Anal Chem*, 46, 829–35.

HRANA ZA ŽIVOTINJE KAO IZVOR ZONOTSKIH PATOGENA

ANIMAL FOOD AS A SOURCE OF ZONOTIC PATHOGENS

Aida Kavazović

Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

**Kratak sadržaj**

Hrana za životinje potencijalni je izvor patogenih mikroorganizama koji mogu štetno djelovati na zdravlje životinja i ljudi, i jedan je od mogućih načina širenja zaraznih bolesti životinja, među njima i zoonoza. Stoga, ona postaje sve značajniji faktor rizika u ishrani ljudi, a nadzor i kontrola ishrane u proizvodnji hrane animalnog porijekla su od izuzetne važnosti u prehrambenom lancu (hrana za životinje – životinje – namirnice animalng porijekla - čovjek).

*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* (O157:H7) su najčešći uzročnici zoonoza koje se prenose hranom. Evidentni su brojni primjeri povezanosti kontaminirane hrane animalnog porijekla (mlijeko, meso, jaja) i bolesti u ljudi, kao i oboljenja životinja sa izolatima pojedinih bakterija iz hrane za životinje. Pored zoonoza uzrokovanih bakterijama, veoma značajna u lancu ishrane je goveđa spongiformna encefalopatija, a povezuje se sa varijantom Creutzfeldt- Jakobove bolesti kod ljudi.

U mnogim zemljama se provode različiti programi kontrole i nadzora, u skladu sa važećim propisima. Godišnji izvještaji EFSA i ECDC o nadzoru i pojavi zoonoza i drugih agensa u ljudi, životinja, hrani i hrani za životinje uglavnom se koriste za procjenu rizika javnog zdravstva s obzirom na infekcije kod ljudi i životinja. U skladu sa Uredbom EU 2160/2003, programi kontrole za salmonele i druge određene uzročnike zoonoza koji se prenose hranom, uspostavljaju se na nacionalnom novou, tako da se ne primjenjuju ujednačeni način uzorkovanja sirovina i gotove hrane za životinje, kao i programi monitoringa.

U cilju poboljšanja sigurnosti hrane za životinje potrebno je redovno provoditi planirane programe nadzora sirovina i hrane za životinje na prisustvo salmonela i drugih određenih uzročnika zoonoza koje se prenose hranom te rezultate nadzora uključiti u sisteme za praćenje bolesti koje se prenose hranom.

**Ključne riječi:** hrana za životinje, patogen, zdravlje, zoonoze

**Summary**

Animal feed is a potential source of pathogenic microorganisms that can have an adverse effect on the health of animals and humans, and is one of the possible ways of spreading infectious animal diseases, including zoonoses. Therefore, it is becoming an increasingly significant risk factor in human nutrition, and the monitoring and control of nutrition in the production of food of animal origin are of paramount importance in the food chain (animal food - animal - animal origin food - human).

*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* (O157: H7) are the most common causes of food borne zoonoses. There are numerous examples of the connection between contaminated food of animal origin (milk, meat, eggs) and diseases in humans, as well as animal diseases with isolates of certain bacteria from animal feed. In addition to zoonoses caused by bacteria, bovine spongiform encephalopathy is also very important in the food chain, and is associated with the type of Creutzfeldt-Jakob disease in humans.

Different control and surveillance programs are implemented in many countries in accordance with applicable regulations. The EFSA and ECDC annual reports on the control and occurrence of zoonoses and other agents in humans, animals, food and feeds are mainly used to assess public health risks with regard to human and animal infections. In accordance with EU Regulation 2160/2003, control programs for *Salmonella* and other specified food-borne zoonotic agents are established on a national basis, so that uniform sampling of feedstuffs and compound feed is not applied, as well as monitoring programs.

In order to improve the safety of feed, planned monitoring of feedstuffs and feed should be carried out on a regular basis, in the presence of *Salmonella* and other specified food-borne zoonotic agents, and incorporated into monitoring systems for food-borne diseases.

**Key words:** feed, pathogen, health, zoonoses

#### Uvod

Proizvodne životinje npr. goveda, kokoši, svinje i ćurke) su glavni rezervoari mnogih bakterijskih crijevnih patogena koji uključuju *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Escherichia coli* (*E. coli*) sojeve koji proizvode toksine. Hrana za životinje se može kontaminirati bakterijama u različitim fazama proizvodnje: prije stavljanja sirovina (hraniva) u postupak proizvodnje (biljna hraniva i prerađena animalna proteinska hraniva), tokom samog postupka proizvodnje u tvornicama hrane za životinje, i nakon procesa proizvodnje (tokom transporta do farme i ishrane životinja na farmi). Kontaminacije hrane za životinje prije unosa ili u toku skladištenja i ishrane životinja na farmi doprinosi infekciji i kolonizaciji proizvodnih životinja ovim patogenima sa ili bez kliničkih znakova bolesti. Životinje mogu izlučivati ​​patogene u okolinu, što predstavlja rizik za sve životinje na farmi i potrošače animalnih proizvoda. Na ovakav način, patogeni se putem hranidbenog lanca prenose na ljude uzrokujući oboljenja nastala hranom (Alali, 2012).

Faktori kojima se utvrđuje unos patogena putem hrane za životinje životinjama ili ljudima su: uvjeti skladištenja hrane za životinje, prijevoz, prevalenca i koncentracija salmonele u hrani za životinje, zdravstveni status životinja, prijenos sa životinje na životinju, načini ishrane te dobra higijenska praksa na farmi. Kontrola patogena u sirovinama za proizvodnju hrane za životinje i tokom proizvodnje hrane ima značajan uticaj na kontaminaciju hrane.

#### Zoonotski patogeni u hrani za životinje

Bakterije iz roda *Salmonella* su jedan od najvažnijih zoonotskih patogena koji se prenose hranom, a imaju značajan zdravstveni i ekonomski efekat i na ljude i na životinje. Dvadeset od 2405 (0,8%) uzoraka sirovina za proizvodnju stočne hrane su bili pozitivni na *S. enterica* dok je svih 226 testiranih uzoraka krmnih smjesa bilo negativno. Na dvije farme je utvrđen serotip *S. Typhimurium* pri prvom uzorkovanju sirovina. Na obje ove farme, uzorci fecesa prikupljeni naknadno bili su pozitivni na *S. enterica* serotip *Typhimurium* s identičnim profilom rezistencije na antibiotike i istim PFGE profilom (Davies i sar, 2003).

Bakterije iz roda *Salmonella* su utvrđene u sirovinama, brašnastoj i peletiranoj hrani za životinje uz signifikatno veći broj enterobakterija u odnosu na uzorke koji su bili negativni na salmonele (Jones i Richardsons, 2004). Hsieh i sar (2014) su ustanovili kontaminaciju sa *Salmonella* spp. u 305 od 2622 uzorka hrane za životinje sa 78 različitih serotipova što ukazuje na porast raznolikosti serotipova u hrani za životinje. Serotipovi Mbandaka i Montevideo su najčešće izolirani iz hrane za životinje. U kontroli hrane za životinje primjenjuju se različiti programi uzorkovanja, nadzora tako da se ne može procijeniti stvarna kontaminacija hrane za životinje salmonelama. Godišnji Izvještaj EFSA i ECDC (2018) ukazuje na nisku prevalencu salmonela (< 0,5%) u hrani za perad, goveda i svinje. Dobiveni rezultati ne moraju nužno da znače malu učestalost salmonela u hrani za životinje. Neujednačenost distribucije salmonela u hrani za životinje još je dodatni nedostatak koji otežava njihovu detekciju te su uočili da je potrebno nekoliko stotina uzoraka kako bi se precizno procijenio stepen kontaminacije hrane a što svakako povećava troškove analize. Iz tog razloga, u procjeni kontaminiranosti sirovina i hrane za životinje preporučuje se korištenje drugih indikatorskih mikroorganizama kao što su Enterobacteriaceae jer

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

salmonela pripada istoj familiji. Broj enterobakterija veći od  $10^4$  cfu/g u neprerađenoj i veći od  $10^2$  cfu/g u prerađenoj hrani za životinje ukazuje s velikom vjerovatnoćom na moguću kontaminaciju bakterijama iz roda *Salmonella* (Jones i Richardson, 2004). U tvornicama hrane za životinje prašina je najvažniji izvor kontaminacije hrane salmonelama te je jako važno kontrolisati prašinu tokom cijelog proizvodnog procesa. Dodatni prenosioci u širenju salmonela i drugih patogenih bakterija su glodari i ptice te je neohodna implementacija mjera kontrole (Jones, 2011).

U EU u 2016. godini od ukupno 94.425 potvrđenih slučajeva salmoneloze (96.039 prijavljenih), udio slučajeva u populaciji od 100 000 ljudi iznosio je 20,5% a u 2017. se navodi da su zabilježena i potvrđena 91.662 slučaja salmoneloze kod ljudi (93.583 prijavljenih) uz udio slučajeva u populaciji od 100 000 ljudi od 19,7%. Jaja i proizvodi od jaja i dalje ostaju značajan izvor infekcija salmonelama kod ljudi. Najčešće dokazani slučajevi oboljenja su sa serotipom *S. enteritidis* (31,3%) uzrokujući 46 slučajeva masovnih oboljenja uzrokovanih hranom. I u 2016. i 2017. godini *S. enteritidis* (48,5 i 49,1%, respektivno) i *S. typhimurium* (13,4 i 13,4%, respektivno) su bile najčešći izvor infekcija kod ljudi (EFSA i ECDC, 2017 i 2018).

Kampilobakterioza je najčešća zoonoza prijavljena u EU (EFSA i ECDC, 2017). Nalazi *Campylobacter* spp. i dalje su najčešći u pilećem mesu. Prisutnost kampilobaktera u peradi poznata je najmanje posljednjih 30 godina. Horizontalni prijenos zbog kontaminirane hrane i vode odvija se vrlo brzo među unutar jata, a ustanovljeno je da se kontaminacija širi sa zaraženih ptica na druge životinje u roku od tri dana. Isto tako, ako perad pije kontaminiranu vodu, većina ptica će se zaraziti u roku od sedam dana (Miller WG and Mandrell RE, 2005). Enterohemoragična *E. coli* O157:H7 (*E. coli* koja stvara shiga toksin – STEC) je jedan od važnih patogena koji se prenosi hranom i izaziva ozbiljno oboljenje kod ljudi širom svijeta. Zdrava goveda su rezervoar STEC a prerađevine od govedeg mesa i svježi proizvodi kontaminirani govedim otpadom su najčešći izvori epidemije bolesti u SAD. Prisustvo STEC kod goveda uglavnom prolazi asimptomatski. Pored goveda, utvrđeno je da ovce, koze, svinje, a i perad izlučuju STEC u svom fecesu. Kao i ljudi, i goveda su izložena STEC-u putem kontaminirane hrane i vode ili kontaktom s fecesom drugih životinja koji izlučuju uzročnika. Nepravilno skladištenje hrane ili loše dizajnirana korita za hranjenje mogu rezultirati onečišćenjem hrane s fecesom divljih ili domaćih životinja (Persad AK i Lejeune JT, 2014).

U istraživanjima koja su proveli Davis i sar (2003) utvrđeno je 0,2% uzoraka krmnih smjesa i 0,4% sirovina za krmne smjese pozitivnih na STEC. *PFGE* profil STEC izolovane iz uzoraka sirovina za hranu za životinje veoma je sličan izolatu iz fecesa naknadno prikupljenog sa iste farme, što je dokaz o ulozi hrane za životinje u prenošenju STEC. Rezultati (Al-Yasir i Mohammed, 2018) pokazuju da je iz 5 (3,33%) od ukupno 150 ispitanih uzoraka hrane za brojlerske piliće izolirana STEC. Prevalenca STEC kod peradi je relativno mala i kreće se od 0 do 1,5%, ovisno o geografskom području (Ferens i Hovde, 2011).

Hrana za životinje kontaminirana *L. monocytogenes* (najčešće silaža), može uzrokovati oboljenje kod životinja, te kroz lanac ishrane predstavljati opasnost za zdravlje ljudi (EFSA and ECDC, 2018). Podaci o *L. monocytogenes* u ishrani prikupljaju se samo u sklopu ispitivanja na domaćim životinjama u slučaju epidemije listerioze te su rijetko dostupni podaci o praćenju *L. monocytogenes* u hrani za životinje.

Pored zoonoza uzrokovanih bakterijama, veoma značajna u lancu ishrane je goveda spongiformna encefalopatija (BSE) koju uzrokuje infektivni protein-prion, a povezuje se sa varijantom Creutzfeldt- Jakobove bolesti kod ljudi. Povlačenjem mesno-koštanog brašna kao sastojka krmnih smjesa u 1991 godini za vrijeme BSE krize, brašna uljanih sačmi su postala popularna zamjena za protein i energiju. Šira upotreba ovih hraniva u proizvodnji krmnih smjesa imat će veći utjecaj na krajnju kontaminaciju krmnih smjesa salmonelom (Holley, 2011).

#### Monitoring zoonoza i pojava bolesti koje se prenose hranom u Evropskim državama

Sistem za nadzor i prikupljanje podataka o zoonozama u Evropskoj uniji (EU) zasnovan je na Direktivi o zoonozama 2003/99/EZ, koja obavezuje države članice EU da prikupljaju relevantne i, prema potrebi, uporedive podatke o zoonozama, zoonotskim agentima, antimikrobnoj rezistenciji i pojavi oboljenja uzrokovanih hranom. Evropska agencija za sigurnost hrane (EFSA) i Evropski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) na osnovu podataka o zoonozama, zoonotskim agentima,

antimikrobnoj rezistenciji i pojavi oboljenja uzrokovanih hranom, koje im dostavljaju države članice EU, i druge evropske države objavljuju godišnji „Zbirni izvještaj Evropske unije o trendovima i izvorima zoonoza, uzročnicima zoonoza i pojavama bolesti koje se prenose hranom“ (EFSA and ECDC, 2017; 2018). U Izvještajima za 2016. i 2017. godinu uključeni su i rezultati monitoringa/sluzbenog uzorkovanja provedenog u Bosni i Hercegovini (EFSA, 2016; 2017).

#### **Salmonella**

Salmonela se u mnogim zemljama smatra najvažnijim bakterijskim patogenom u hrani za životinje jer je glavni uzročnik oboljevanja ljudi širom svijeta. Prema mišljenju mnogih, hrana za životinje kontaminirana salmonelom je zabrinjavajuća jer konzumacija takve hrane produžava period asimptomatskog rasipanja uzročnika, povećava se kontaminacija trupa i utječe na pojavu oboljenja kod ljudi. U izvještaju EFSA i ECDC, 2018 se navodi da su u 2017. godini zabilježena i potvrđena 91.662 slučaja salmoneloze kod ljudi što je za 2,9% manje nego u 2016. godini. Najčešći serotipovi kod ljudi bili su u opadajućem redoslijedu: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, monofazni *S. Typhimurium*, *S. Infantis* i *S. Newport*. Salmoneloza uzrokovana *S. Enteritidis* je u porastu u 2017. godini. U EU procenat ljudi oboljelih od salmoneloze uzrokovanih *S. Typhimurium*, monofaznom *S. Typhimurium* i *S. Infantis* se smanjio se odnosu na 2016., dok je za *S. Newport* ostao nepromijenjen (, 2017; 2018).

Podaci za hranu i životinje pokazali su da je *S. Enteritidis* uglavnom povezana s kokoškama nosiljama, a zatim i mesom brojlera. U periodu 2012. i 2017. sličan je trend zabilježen u odnosu oboljena uzrokovanih *S. Enteritidis* kod ljudi i učestalosti prevalencije *S. Enteritidis* kod kokoši nesilica u EU. *S. Typhimurium* je izolirana iz gotovo svih ispitivanih vrsta hrane životinjskog porijekla. Za monofazne varijante *S. Typhimurium* potvrđena je evidentna povezanost sa svinjama i brojlerima. *S. Infantis* je jasno povezana s brojlerskim jatima i mesom a *S. Newport* se vezuje za uzorke porijeklom od ćurki i brojlera EFSA and ECDC, 2018).

Iz podataka monitoringa hrane koje su dostavile države članice u skladu s Uredbom (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima, za razliku od prethodnih godina, za 2017. obrađeni su samo rezultati službenih pojedinačnih uzoraka označenih kao objektivno uzorkovanje jer ti podaci obezbjeđuju zadovoljavajući nivo harmonizacije. Međutim, podaci su bili previše oskudni i nereprezentativni da bi se opisala situacija na nivou EU. Općenito, najveći broj pojedinačnih uzoraka hrane pozitivnih na salmonelu u okviru službenih kontrola su bili uzorci iz kategorije mesa namijenjenog da se jede kuhano i to: 6,4% uzoraka „mljevenog mesa i mesnih proizvoda od peradi“ i 3,3% „mljevenog mesa i mesnih proizvoda drugih vrsta osim peradi“ bili su pozitivni na salmonelu. Iz pojedinačnih uzoraka „mljevenog mesa i mesnih proizvoda koji se žele jesti sirovi“, 1,09% je bilo pozitivno na salmonelu. Od „svježeg mesa peradi“, 0,11% pojedinačnih uzoraka bilo je pozitivno na ciljane serotipove. U 2016, od 5.782 testirane jedinice konzumnih jaja, 0,29% je bilo pozitivno na salmonelu. Slični rezultati su zabilježeni i u 2017. godini.

Prema Uredbi (EZ) br. 2160/2003 Evropskog Parlamenta i Vijeća, monitoring salmonela se provode kroz Nacionalne programa kontrole salmonela u peradi a dobiveni podaci se prikupljaju i izvještavaju EFSA-i na potpuno usklađen način i kroz sistemsko uzorkovanje. Ovi podaci omogućavaju analizu podataka poput procjene prostornih i vremenskih kretanja na nivou EU. Oni također omogućavaju izradu opisnih zbirnih izvještaja na nivou EU i praćenje trendova u EU. Ostali podaci praćenja salmonela koji se dostavljaju EFSA-i u skladu s Uredbom (EZ) br. 2073/2005 omogućuju izradu opisnih sažetaka na novou EU-a, ali ne mogu poslužiti u svrhu praćenja ili analize trendova (EFSA and ECDC, 2018).

Bakterije iz roda salmonela utvrđene su u 1,89% uzgojnih jata (ili 297 jata) u poređenju s 1,47% u 2016. godini (EFSA and ECDC, 2017). Prevalence pozitivnih jata za bilo koji od ciljanih serotipova (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, uključujući njegovu monofaznu varijantu, *S. Virchow*, *S. Infantis* i *S. Hadar*) iznosile su 0,57% (ili 90 jata) što je približno isto s nalazom u 2016. godini (0,54%). Tako je, 30,3% (90 od 297) prijavljenih salmonela u uzgojnim jatima pozitivno za ciljni serotip. Salmonela je utvrđena u 3,70% (ili 1.361) jata u poređenju s 3,71% u 2016. Prevalenca pozitivnih jata bila je 1,11% (410 jata) za bilo koja od dva ciljana serovara i nešto je niža u odnosu na nalaz u 2016. (1,44%). Pozitivan nalaz za ciljane serotipove salmonela prijavljen je kod 30,1% (410 od 1.361) jata kokoši nosilja.

Salmonela je utvrđena u 3,70% (ili 1.361) jata kokošaka nosilja u poređenju s 3,71% u 2016. Prevalenca pozitivnih jata za bilo koja od dva ciljana serotipa bila je 1,11% (410 jata) u poređenju s

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

1,44% u 2016. tako da je 30,1% (410 od 1.361) prijavljenih jata kokoši nosilja pozitivnih na salmonelu bilo je pozitivno za ciljane serotipove (EFSA and ECDC, 2017; 2018).

U EU salmonela je utvrđena u 3,31% brojerskih jata (ili 11.730 jata) u poređenju s 2,61% u 2016. Prevalenca pozitivnih jata na bilo koji od dva ciljane serotipa salmonela bila je 0,19% (ili 659 jata) dok je u 2016. iznosila 0,21%. Pozitivan nalaz na ciljane serotipove salmonela u brojerskim jatima utvrđen je kod 5,6% (659 od 11.730) jata.

Salmonela je u 2017. utvrđena u 5,95% (2.431) jata tovnih ćurki u poređenju s 4,87% u 2016. u EU. Prevalenca pozitivnih na bilo koji od dva ciljane serotipa salmonela bila je 0,28% (ili 113 jata) dok je u 2016. iznosila 0,36%. Na ciljane serotipove je bilo pozitivno 4,7% (113 od 2.431) prijavljenih salmonela pozitivnih jata tovnih ćurki (EFSA and ECDC, 2017; 2018).

Na osnovu izvještaja koje su dostavile 24 države članice EU, ukupna prevalenca pozitivnih jedinica na salmonelu u hranivima životinjskog i biljnog porijekla u 2017. godini iznosila je 1,32% od 21.868 jedinica, što je niže u odnosu na 2016. (3,9% od 4.750 testiranih jedinica). U kompletnim krmnim smjesama prevalenca salmonela-pozitivnih jedinica u 2017. godini bila je niska za sve vrste životinja: 0,28% od 14.343 testiranih uzoraka za perad, 0,43% od 2.808 testiranih uzoraka za goveda i 0,47% od 3.591 testiranih uzoraka za svinje (EFSA and ECDC, 2018).

Prema Izvještajima EFSA-e i ECDC-a (2017. i 2018.) vidljivo je da prijava zoonoza kod ljudi nije unificirana u svim zemljama Evropske unije, tako da nije u potpunosti uporedivo. Kada je u pitanju monitoring hrane nalaz salmonela se ne prijavjuje u svim zemljama (obavezno je samo u 16 zemalja EU) tako da i ovi podaci nisu potpuni. Međutim, salmoneloza kod životinja se obavezno prijavjuje u zemljama EU, izuzev Mađarske. U skladu sa Uredbom (EZ) br. 2160/2003 kontrola salmoneloze kod životinja se provodi prema nacionalnim programima tako da su i planovi uzorkovanja u uzgojnim jatima, jatima tovnih pililica, kokoši nosilja i ćurki ujednačeni a rezultati uporedivi.

#### ***Campylobacter***

U 2017, bakterije iz roda *Campylobacter*, su najčešće prijavljeni uzročnici gastrointestinalnih oboljenja kod ljudi u EU, što je tako još od 2005. godine. Kod ljudi je prijavljeno 246.158 potvrđenih slučajeva kampilobakterioze što je neznatno manje u odnosu na 2016. godinu (246.307). U svježem mesu brojlera i ćurki nalaz bakterija iz roda *Campylobacter* i dalje je veliki i kreće se od 37,4% do 31,5%, respektivno. Kampilobakteriozu kod životinja prijavilo je nekoliko zemalja EU. Većina slučajeva je utvrđena kod brojlera i goveda.

Način uzorkovanja i izvještavanja za utvrđivanje prisustva kampilobaktera nisu usklađeni što isključuje analize i praćenje trendova i onemogućava zaključivanje o izvorima kampilobaktera u hrani ili životinjama.

#### ***E.coli***

Prema Izvještaju EFSA i ECDC, u 2017. godini je prijavljeno 6.073 potvrđenih slučajeva infekcije Shiga toksinima *E.coli* (STEC). Obavještavanje o STEC infekcijama obavezno je u većini država članica EU. Zabilježen je jasan sezonski trend u potvrđenim slučajevima STEC u EU između 2008. i 2017., s tim da je više slučajeva prijavljeno tokom ljetnih mjeseci.

Kao i prethodnih godina, najčešće prijavljena STEC serogrupa u potvrđenim slučajevima STEC infekcija kod ljudi, bila je O157 (31,9%). U 2017. godini testirano je 21.574 jedinica hrane (šarže ili pojedinačni uzorci) i 2.310 jedinica iz životinja (životinja ili stada ili jata). U poređenju s 2016. godinom, ovo je umjereno povećanje broja ispitanih uzoraka i broja država članica koje prijavljuju izvještaj, što je sugeriralo pojačanu svijest na razini EU-a o potrebi praćenja ovog patogena u hrani, u skladu s Direktivom EU 2003/99 / EC.

Tokom 2017. godine 4.879 jedinica svježeg goveđeg mesa testirano je na STEC, od čega je 1.0% bilo pozitivno (0,08% za STEC O157) i 513 uzoraka svježeg ovčjeg mesa (5,3% je bilo pozitivno).

Prema Izvještaju 1.680 uzoraka goveda je testirano na prisustvo STEC. Ukupno je 137 uzoraka (8,1%) bilo pozitivno na STEC, a 4,0% od ukupno testiranih uzoraka pozitivno na STEC O157. U 2017.godini ukupno su prijavljena 244 (10,55%) pozitivna uzorka od 2.310 testiranih jedinica od životinja (životinja ili stada ili jata), s podacima o serogrupi za 127 izolata. Utvrđeno je 77 uzoraka koji pripadaju STEC O157 (31,6% od ukupnog broja uzoraka pozitivnih na STEC), od čega 71 iz goveda, a



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

preostali prijavljeni kod pasa, svinja i kunića. Prema Izvještaju EFSA i ECDC, u 2016. godini ukupno je prijavljeno prisustvo STEC u 12,7% (316 od 2.496) jedinica od životinja, od čega je 41 STEC O157 utvrđen kod preživara.

#### *Listeria*

Podaci o *L. monocytogenes* kod životinja i hrane za životinje koje države članice EU dostavljaju EFSA-i se pripremaju prema neusklađenim šemama monitoringa a izvještavanje o pozitivnim nalazima nije obavezno. U 2017. godini u EU prijavljeno je 2.480 potvrđenih slučajeva humane listerioze, što je približno na istom nivou kao i u 2016 (2.509). Prisustvo *L. monocytogenes* je ispitivano u proizvodima od mesa „spremno za konzumaciju“ tako da je 93,4% svih uzoraka bilo od svinjetine, a zatim od mesa brojlera (3%), goveda (2,3%) i ćurki (1,2%). Kombinovanje svih kategorija proizvoda od mesa „spremno za konzumaciju“ od svih faza uzorkovanja i svih jedinica za uzorkovanje ukupno prisustvo *L. monocytogenes* u proizvodima od mesa „spremno za konzumaciju“ bilo je 1,8% (400 od 22.544 testiranih uzoraka je bilo pozitivno) bez značajnih razlika između kategorija. S obzirom da je podatke iz 2017. uglavnom izveštavao ograničeni broj država članica, podaci predstavljeni naovakav način ne mogu biti reprezentativni na nivou EU.

*L. monocytogenes* je otkrivena u 2,8% od 2.055 testiranih jedinica mlijeko „spremno za konzumaciju“. Rezultati testiranja različitih vrsta i kategorija životinja (životinje za proizvodnju hrane, divlje, zoo- i kućni ljubimci, uključujući ptice) na *Listeria* spp. pokazuju da je od ukupno 19.295 jedinica, 247 (1,3%) bilo pozitivno na *Listeria* spp od čega je 146 (59%) prijavljeno kao pozitivno na *L. monocytogenes*.

Podatke za ispitivanje *L. monocytogenes* u hrani za životinje prijavila je samo jedna država članica EU (ukupno je analizirano 28 uzoraka, uglavnom silaže, sa samo jednim pozitivnim uzorkom). U 2016. godini nije bilo prijavljenih slučajeva nalaza *L. monocytogenes* u hrani za životinje.

#### **Programi kontrole salmonela i drugih određenih uzročnika zoonoza koji se prenose hranom u BiH**

Zakon o veterinarstvu BiH (Sl. glasnik BiH 32/2002) i Zakon o hrani (Sl. glasnik BiH 50/2004) su osnovni propisi u kojem se navode opći principi o hrani i hrani za životinje općenito, te osobito zdravstvene ispravnosti i kvaliteta hrane i stočne hrane, na nivou Bosne i Hercegovine. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima u hrani za životinje (Sl. glasnik BiH 67/2012) propisuje kriterije za određene mikroorganizme, uključujući i bakterije iz roda *Salmonella* kao i kriterije mikrobiološke kvalitete u odnosu na ukupan broj saprofitskih bakterija, kvasaca i plijesni.

Odukom o higijeni hrane za životinje Sl. glasnik BiH br. 6/2016 propisuju se opća pravila o higijeni hrane za životinje, uslovi i postupak osiguravanja sljedivosti hrane za životinje. U cilju osiguranja sigurne hrane za životinje, subjekti, osim onih koji obavljaju djelatnosti na nivou primarne proizvodnje hrane za životinje moraju provoditi sistem samokontrole zasnovan na principima analize opasnosti i kritičnih kontrolnih tačaka (engl. Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP).

Navedenom Odukom propisana je obaveza za subjekte u poslovanju s hranom za životinje da moraju prijaviti svaki objekt koji je pod njihovom odgovornošću a koji djeluje u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade, skladištenja, transporta ili distribucije hrane za životinje odgovarajućem nadležnom entitetskom organu ili Brčko Distriktu BiH, u skladu s procedurom koju taj nadležni organ traži radi registracije.

Nadzor nad subjektima i kontrolu provedbe propisanih zahtjeva o sigurnosti hrane za životinje provode nadležni organi (Agencija za sigurnost hrane, Ured za veterinarstvo, nadležni organi entiteta i Brčko distrikta BiH te nadležni inspekcijски organi) putem službenih kontrola, u skladu s Pravilnikom o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje te propisa o zdravlju i dobrobiti životinja (Sl. glasnik BiH 5/2013 i 62/17), koji je usklađen sa Uredbom EU br. 882/2004.

Pravilnikom za kontrolu salmonela i drugih određenih uzročnika zoonoza koji se prenose hranom (Sl. glasnik BiH 46/10 i 7/13) propisuje se način provedbe prikladnih i efikasnih mjera radi otkrivanja i kontrole salmonela i drugih uzročnika zoonoza u svim relevantnim fazama proizvodnje, prerade i distribucije, a posebno na nivou primarne proizvodnje, uključujući hranu za životinje, kako bi se

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

smanjila njihova raširenost i rizik koji predstavljaju za javno zdravstvo. Pravilnik o mjerama u slučaju otkrivanja relevantnih serotipova salmonela od interesa za javno zdravstvo kod peradi (Sl. glasnik BiH 96/13) *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. hadar*, *S. typhimurium* uključujući monofaznu *S. typhimurium* s antigenskom formulom 1, 4, [5], 12:i- i *S. virchow* kod rasplodnih jata te *S. enteritidis* i *S. typhimurium* kod koka nosilja i brojlera. Pravilnik o izmjenama i dopuni Pravilnika o mjerama u slučaju otkrivanja relevantnih serotipova salmonela od interesa za javno zdravstvo kod peradi ("Službeni glasnik BiH", broj 14/18); Ovim Pravilnikom se preuzimaju odredbe Uredbe (EZ) br. 2160/2003 Evropskog Parlamenta i Vijeća sa svim izmjenama i dopunama zaključno sa 01.07.2013. godine.

U cilju poboljšavanja sistema službenih kontrola u sektoru peradarstva Ured za veterinarstvo BiH je izradio Uputstva koja su objavljena na službenoj stranici Ureda i distribuirana na teren, nadležnim veterinarskim inspektorima. Ured za veterinarstvo donosi godišnji Program mjera zdravstvene zaštite životinja i njihovog provođenja kao i Programe kontrole salmoneloze kod peradi vrste *Gallus gallus* u Bosni i Hercegovini.

Agencija za sigurnost hrane (FSA) BiH je uspostavila sistem za prikupljanje i izvještavanje o zoonozama i uzročnicima zoonoza, antimikrobnoj rezistenciji i epidemijama uzrokovanim hranom u koji su uključene nadležne institucije BiH, entiteta i Brčko Distrikta BiH. U skladu sa Direktivom Parlamenta i Vijeća 2003/99/EZ, Izvještaje o zoonozama i uzročnicima zoonoza, antimikrobnoj rezistenciji i epidemijama uzrokovanim hranom za 2016. i 2017. godinu (EFSA 2016, EFSA 2017.) FSA je dostavila Evropskoj agenciji za sigurnost hrane (EFSA). U 2016. godini u okviru monitoringa/službenog uzorkovanja na prisustvo salmonela su testirana ukupno 643 uzorka mesa i proizvoda od mesa od čega je 8 uzoraka bilo pozitivno na *S. enteritidis*. *L. monocytogenes* je izolirana iz 14 od 6.334 testirana uzorka hrane (pekarski proizvodi, žitarice, meso i gotova jela) dok je na *E. coli* bilo pozitivno 10 od 4.417 uzoraka (pekarski proizvodi, žitarice i brašno). U istom Izvještaju je prijavljena jedna epidemija toxiinfectio/intoxicatio alimentaris uzrokovana stafilokoknim enteretoksinom sa 12 oboljelih i jednom hospitaliziranom osobom.

U okviru monitoringa/službenog uzorkovanja za 2017. godinu od ukupno 8.381 testiranog uzorka (meso, sladoled, gotova jela), 13 odnosno 0,16% uzoraka je bilo pozitivno na *S. enteritidis*, od čega je devet bilo iz uzoraka mesa peradi. *E. coli* je izolirana iz sedam od 1.747 testirana uzorka hrane (mlijeko i mliječni proizvodi), dok je na *L. monocytogenes* bilo pozitivno osam od 8.872 uzorka (pekarski proizvodi, gotova jela). I u 2017. godini su zabilježene dvije epidemije uzrokovane *Staphylococcus aureus* sa 18 oboljelih i osam hospitaliziranih osoba.

U BiH obavezno se prijavljuje pozitivan nalaz na relevantni serotip salmonela od interesa za javno zdravstvo kod rasplodnih jata, kokošaka nosilja i brojlera.

Iako programi kontrole obuhvataju i proizvodnju hrane za životinje, programi monitoringa i uzorkovanja nisu ujednačeni u zemljama EU, tako da su podaci o nalazu salmonela u hranivima (sirovinama) i hrani za životinje između zemalja EU neuporedivi a stvarna slika kontaminiranosti ovim patogenom samo se može procjenjivati.

#### Zaključak

Slijedom iznesenog može se zaključiti da politika sigurnosti hrane za životinje koja je bazirana na načelu sljedivosti i uspostavi integriranog pristupa duž cijelog prehrambenog lanca osigurava preduvjete za postizanje visokog stepena sigurnosti svih prehrambenih proizvoda na tržištu u svim fazama proizvodnje i distribucije, i potrošačima garantuje pristup potpunim informacijama o sadržaju i sastavu proizvoda, čime se štiti njihovo zdravlje i interesi.

Sprečavanje kontaminacije zoonotskim bakterijama koje se prenose hranom zahtijeva dobivanje nekontaminiranih sastojaka (sirovina) hrane za životinje; kontrola cjelokupnog procesa proizvodnje hrane za životinje uz održavanje visokog nivoa higijene; implementacija dobre proizvodne prakse u tvornicama stočne hrane; kontrola osoblja, opreme i vazduha; suzbijanje glodara i divljih ptica.

Poboljšanja u sigurnosti hrane za životinje trebaju uključivati jačanje nadzora hrane za životinje za kontaminaciju zoonotskim patogenima i integraciju takvog nadzora sa sistemima za praćenje bolesti koje se prenose hranom. Analizu opasnosti i kontrolu kritičnih tačaka trebalo bi efikasno uspostaviti u industrijskoj proizvodnji hrane za životinje.

**Literatura**

1. Alali WQ, 2012, The ecology and control of bacterial pathogens in animal feed, In: editors Johanna Fink-Gremmels, *Animal Feed Contamination Effects on Livestock and Food Safety*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 35-55.
2. Al-Yasiri TH and Mohammed MF, 2018, Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Cloacal Broiler and Feed Samples, *Indian Journal of Natural Sciences*, 9, 15955-61.
3. Skarp CPA, Hanninen ML, and Rautelin HIK, 2016, Campylobacteriosis: the role of poultry meat, *Clin Microbiol Infect*, 22, 103-9.
4. Davies M A, Hancock DD, Rice DH, Call DR, DiGiacomoR, Samadpour M, and Besser TE, 2003, Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Vet. Microbiol*, 95,199–210.
5. Davies PR, Hurd HS, Funk JA, Fedorka-Cray PJ, Jones FT, 2004, The role of Contaminated Feed in the Epidemiology and Control of *Salmonella enterica* in Pork Production, *Foodborne pathogens and disease*, 1, 202-15.
6. EFSA and ECDC, 2017, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, *EFSA Journal*, 15, 1-228.
7. EFSA and ECDC, 2018, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017, *EFSA Journal*, 1, 1-262.
8. EFSA, 2016, <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files-zoocountryreport16ba.pdf>.
9. EFSA, 2017, <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files-zoocountryreport17ba.pdf>.
10. Ferens WA, Hovde CJ, 2011, *Escherichia coli* O157:H7: Animal reservoir and sources of human infection, *Foodborne Pathog Dis* 8, 465–87.
11. Holley RA, 2011, Animal Feed as a Source of Zoonotic Pathogens, In: Krause DO, Hendick S, editors, *Zoonotic Pathogens in Food Chain*, CAB International, 84-109.
12. Hsieh Y, Lee K, Poole T, Runyon M., Jones B, Herrman TJ, 2014, Detection and Isolation of *Salmonella* spp. in Animal Feeds from 2007-2011, *Journal of Regulatory Science*, 2, 14-27.
13. Jones FT and Richardson KE, 2004, *Salmonella* in Commercially Manufactured Feeds, *Poult Sci*, 83, 384-91.
14. Jones FT, 2011, A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed, *J Appl Poult Res*, 20,102–113.
15. Miller WG, Mandrell RE, 2005, Prevalence of *Campylobacter* in the food and water supply: incidence, outbreaks, isolation and detection. In: Ketley JM, Konkel ME, editors, *Campylobacter*, molecular and cellular biology, Horizon Bioscience, Great Britain.
16. Persad AK, LeJeune JT, 2014, Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*, *Microbiol Spectrum* 2, EHEC0027-2014.

ИСХРАНА КОЛОСТРУМОМ И МОГУЋИ РИЗИЦИ ПО ЗДРАВЉЕ ТЕЛАДИ

*FEEDING WITH COLOSTRUMS AND POSSIBLE HEALTH RISKS FOR CALVES*

*Миодраг Радиновић, Ивана Давидов, Зорана Ковачевић, Аннамариа Галфи,  
Марија Пајић, Михајло Ердељан, Милица Црногорац, Јован Станојевић*

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

**Кратак садржај**

Телад у постпарталном периоду представљају посебно ризичну категорију са становишта очувања доброг здравственог статуса. Обољења дигестивног тракта у овом периоду су најчешће дијагностиковани здравствени поремећај, који у великом проценту настаје због грешака у исхрани телади. Колострум има високу хранљиву вредност и вишеструко доприноси очување здравља телади, али може бити и узрок настанка здравствених поремећаја у случајевима када се телад хране на неадекватан начин или када садржи патогене, узрочнике обољења дигестивног тракта или системских обољења.

**Кључне речи:** телад, колострум, обољење

**Summary**

Postpartum calves are a particularly risky category from the point of maintaining good health status. Digestive diseases in this period are the most commonly diagnosed health disorder, which is largely due to errors in calf nutrition. Colostrum has high nutritional value and contributes to the maintenance of calves' health, but it can also cause health disorders in cases where calves are poorly fed or contain pathogens, causing digestive disorders or systemic diseases.

**Key words:** calves, colostrum, disease

**УВОД**

У постпарталном периоду здравствени статус телади је подложен утицају читавог низа фактора због специфичности функције дигестивног тракта и стања имуног система. Теле се рађа се неразвијеним имунитетом, а стиче пасивни имунитет од мајке уношењем колострума. Колострум је сложена биолошка течност која помаже у развоју пасивног имунитета новорођенчади и садржи значајне количине комплементарних састојака који делују као природни антимикробни агенси до сазревања имуног система новорођенчета. У саставу колострума су имуноглобулини, леукоцити, лактоферини, лизозими, цитокини (интерферон и интерлеукини), као и други имуномодулаторни чиниоци (фактори раста, хормони и слично). Конзумирање квалитетног колострума је битно за функцију имуног ситета и дигестивног тракта телета. Обољења дигестивног тракта у неонаталном периоду представљају најважнији здравствени проблем који изазива и највеће губитке, од укупног броја угинућа у прве две недеље пост партум готово 80% су последица поремећаја рада дигестивног тракта. Етиологија ових обољења је веома сложена и чине је пре свега грешке у исхрани и дејство инфективних фактора. Предиспозиција за настанак обољења је слаб локални имунитет на слузницама дигестивног тракта. Алиментарни проливи настају током млечне исхране, и последица су неразвијености дигестивног тракта телета, као и неадекватне исхране.

### ПРЕДИСПОЗИЦИЈЕ ЗА НАСТАНАК АЛИМЕНТАРНИХ ПРОЛИВА

Етиолошки фактори су искључиво везани за храну али постоје и фактори предиспозиције везани за плоткињу, теле и услове смештаја, као и за чињеницу да ли је теле на време унело колострум.

Слабовитално и хиповитаминозно теле, рођено од слабе мајке, неће много добити ни када му се да квалитетан колострум, јер му је смањена ресорптивна способност слузнице црева, а тиме искориштавање унетих материја. Слузница танких црева телади која пате од хиповитаминозе А, неспособна је да ресорбује заштитне и хранљиве материје, што представља тзв. слузнички блок. Истовремено, слузница сиришта је инсуфицијентна у секрецији лаб фермента, пепсина и хлороводоничне киселине. Таква телада пате од диспепсије. Пренагли прелаз са природног млека на замену за млеко погађа сириште, изазивајући абомазитис, као и стврдњавање садржаја у у колону и ректуму, или пролив, а понекад и чиреве на слузници сиришта. Упала сиришта је последица дражења слузнице нераствореним и недовољно свареним честицама млечног праха, нарочито ако обилује скробним, рибљим, зобеним или било којим брашном. Упалном надражају доприносе и прогутане длаке или простирка, из разлога што се телада која се храни само млечном исхраном често лиже или једе простирку уколико су велики размаци између оброка. Под наведеним условима кисели садржај сиришта доспева у бураг и са временом још више снижава рН вредност његовог садржаја (Forenbacher и сар., 2010.).

Ради постизања оптималног ефекта неопходно је да теле конзумира колострум непосредно након тељења. Слузница танког црева има способност ресорпције имуноглобулина током 36 сати након партуса, али већ након истека 6 сати та се способност рапидно смањује. Осим тога, опада и вредност колострума - већ за 48 сати након тељења у колоструму има 10 пута мање гамаглобулина. Оптимално време за прву конзумацију колострума је у оквиру два сата након тељења (Ћутук и сар., 2011).

#### Рефлекс једњачког жлеба

Рефлекс једњачког жлеба је веома битан у етиологији овог обољења. Њега покреће гутање течности, али се жлеб затвара потпуније и трајније под утицајем млека у односу на воду. Чврста храна, као и слина коју теле унесе са храном, га уопште не активира. Код телади старе неколико недеља, рефлекс потпуно ослаби за воду, а касније поступно и за млеко. Начин на који се телету даје млеко утиче на овај рефлекс. Сисање погодује затварању једњачког жлеба, док при напајању део млека може да заврши у бурагу и у капури. Рефлекс једњачког жлеба везан је и за састав млечне замене, јер су млечне беланчевине (лакталбумин) и минералне компоненте (бикарбонати, ацетати и сулфати) надражај који изазива рефлекс. Осим самог састава замене, битно је и да замена нема одбојан мирис и укус, да је теле пије својевољно, у малим гутљајима, као и да се за то време не узнемирава. При оваквим условима, код здравог телета у капуру и бураг одлази мање од 10% попијеног млека, односно замене за млеко. Ако се једњачки жлеб због технолошких разлога или због природне предиспозиције не затвара потпуно или довољно брзо, знатна количина течности завршава у оба преджелудца. Последица је заостајање већих количина млека или млечне замене у бурагу и развој акутне или хроничне ацидозе бурага, претежно код телади старе 3-4 недеље. Температура млека мора бити приближна телесној температури, јер уколико је нижа неће доћи до активације рефлекса и правилне перисталтике црева (Forenbacher и сар., 2010).

#### Стрес

У развоју болести значајну улогу има и стрес, коме је телада готово непрекидно извргнута при интензивном узгоју. Телада старости 1-2 недеље још није развила способност прилагођавања на промене околине. Одвајање од мајке и од средине у којој је телада рођена, транспорт у неповољним условима, узастопно премештање, вагање, мењање хране, дуго гладовање и жеђ, тешкоће при навикавању на напајање из канте, смештај у тесним решеткастим кавезима и грубо поступање су све надражаји који нервним путем инхибирају рефлекс једњачког жлеба. На неурохормонални систем неповољно утичу и промене спољне температуре и притиска (Forenbacher и сар., 2010).

**Слабовитална телад**

Слабовитално теле, рођено од слабе мајке, неће много добити ни када му се да квалитетан колострум, јер му је смањена ресорптивна способност слузнице црева, а тиме и искориштавање унетих материја. Слузница танких црева телаци која пате од хиповитамонизезе А, неспособна је да ресорбује заштитне и хранљиве материје, што представља тзв. слузнички блок. Истовремено, слузница сиришта је инсуфицијентна у секрецији лаб фермента, пепсина и хлороводоничне киселине. Таква телад пате од диспепсије. За постојање диспепсије говоре врло оскудни бактериолошки налази из измета код неких облика дијареје у неонаталном периоду, или се чак установе налази уобичајене микрофлоре. Висок рН желудачног садржаја (око четири и изнад), па и самог фецеса (8,5-9), некад указује на небактеријску етиологију пролива, односно на диспепсију. Ово потврђује и објашњава разлоге неуспеле превентиве и терапије пролива антибиотцима, хемотерапеутицима и цревним антисептицима, јер узрок пролива није био билошки фактор него дисфункција ресорптивно-секреторног система, односно инсуфицијенција слузнице. Појам диспепсије, са патолошко-физиолошког становишта, углавном се везује за моногастричне животиње, па се овај појам може и на телад односити само у раном узрасту, када се физиолошки понашају као моногастричне животиње – у раном постпарталном периоду и периоду искључиво млечне исхране.

**Време конзумације колострума**

Ради постизања оптималног ефекта неопходно је да теле конзумира колострум непосредно након телења. Слузница танког црева има способност ресорпције имуноглобулина током 36 након партуса, али већ након истека 6 сати та се способност рапидно смањује. Осим тога, опада и вредност колострума- већ за 48 сати након телења у колоструму има 10 пута мање гамаглобулина. Оптимално време за прву конзумацију колострума је у оквиру два сата након телења.

**Присуство патогена**

Патогени микроорганизми, узрочници обољења могу бити присутни у колоструму и теле конзумацијом колострума постаје инфицирано. Ови микроорганизми доспевају у колострум контаминацијом након муже, уколико нису испоштовани зоохигијенски услови или их путем колострума излучује сама животиња. Најзначајнији су узрочници паратуберкулозе, салмонелозе, микоплазмозе. У циљу превенирања инфекције колострумом предлаже се термичка обрада.

**Литература**

1. Bartlett K, McKeith FK, Drackley JK, 2002, Effects of Energy Source in Milk Replacers on Growth and Body Composition of Male Holstein Calves, Ilini Dairy, Net. <http://www.livestocktrail.illinois.edu/dairy/paperdisplay.cfm?contentid=360>. 2. Hill SR, Knowlton KF, Daniels KM, Jame RE, Pearson RE, Capuco AV, Akers RM, 2008, Effect of milk replacer composition on growth, body composition, and nutrient excretion in preweaned Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 91:3145-3155. 3. Quigley JD, Wolfe TA, Elsasser TH, 2006, Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *Journal of Dairy Science*, 89:207-216. 4. Zou Y, Wang Y, Deng Y, Cao Z, Li S, Wang J, 2017: Effects of feeding untreated, pasteurized and acidified waste milk and bunk tank milk on the performance, serum metabolic profiles, immunity, and intestinal development in Holstein calves, *J Anim Sci Biotechnol*. 5. Божич А, Звекуч Д, 2017, *Физиологија домаћих животиња*, Нови Сад. 6. Јовановић Р, Симовић Б, Милојић, М 2006, *Сточарство са исхраном*, Београд. 7. Стојић РВ, 2010, *Ветеринарска физиологија*, Београд. 8. Ћутук Р, Радојичић Б, Захировић А, Синановић Н, 2011, *Болести пробавног система преживара*, Сарајево. 9. Уремовић З, 2004, Говедарство, Загреб. 10. Радиновић М, 2019, *Болести подмлатка преживара*, Нови Сад.

ЗНАЧАЈ КОРИШЋЕЊА АМИЛАЗЕ У ИСХРАНИ БРОЈЛЕРА

AMYLASE IN BROILERS NUTRITION

Драган Шефер<sup>1</sup>, Дејан Перић<sup>1</sup>, Радмила Марковић<sup>1</sup>,  
Стамен Радуловић<sup>1</sup>, Мирослав Павловић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;

<sup>2</sup>Де Хеус доо, Шабац, Србија

**Кратак садржај**

Позитивни ефекти примене ензима у индустрији хране за животиње познати су годинама. Пажња стручне и научне јавности усмерена је на прихватање и масовнију употребу ензима због доказаног ефекта у побољшању хранљиве вредности оброка. Циљ додавања ензима је допуна активности ендогених ензима животиња, отклањање антинутритивних материја ( $\beta$ -гљукани, фитати, арабинозилани итд.) из појединих хранива, повећање енергетске и хранљиве вредности хранива на основу веће доступности појединих хранљивих материја за ресорпцију, као и смањивање излучивања неискоришћених хранљивих материја у спољашњу средину. Циљ испитивања био је да се утврди ефекат коришћења  $\alpha$ -амилазе, саме или у комбинацији са другим ензимима, у исхрани бројлера на здравствено стање и производно-економске резултате (прираст, конзумација и конверзија). Катедра за исхрану и ботанику организовала је оглед по групно-контролном систему на укупно 200 бројлера COBB 500 провенијенције подељених у 4 једнаке групе. Прва група бројлера (контролна) била је храњена потпуним смешама за исхрану пилића у тову стандардног сировинског и хемијског састава без додатка ензима. Друга група храњена је смешама у којима је садржај енергије умањен за 5% уз додатак ензима амилазе. Трећа група бројлера била је храњена смешама у којима је садржај енергије, фосфора и протеина, односно аминокиселина умањен за 7% уз додатак ензима протеазе и фитазе. Четврта група бројлера храњена је идентичним смешама као и претходна група уз додатак ензима амилазе. Добијени резултати указују на то да је огледна група храњена смешама у којима је садржај енергије умањен за 5% уз додатак ензима амилазе остварила најбоље производно-економске резултате, те да употреба ензима у храни за животиње има нутритивно, медицинско и економско оправдање.

**Кључне речи:** ензими, храна за животиње, производни резултати, бројлери

**Summary**

Positive effects of enzyme administration in feed have been known for years. The attention of the experts and scientific public is focused on the acceptance and massive use of enzymes due to the proven effect in improving the nutritional value of the meal. The aim of adding enzymes is to supplement the activity of endogenous enzymes, to remove antinutritive substances ( $\beta$ -glucans, phytates, arabinosylans, etc.) from certain nutrients, to increase the energy and nutritional value of nutrients on the basis of higher availability of certain nutrients for resorption and to reduce the excretion of unused nutrients in the outer environment. The aim of the study was to determine the effect of using  $\alpha$ -amylase, either alone or in combination with other enzymes, in nutrition of broilers on health condition and production-economic results (increase, consumption and conversion). The Department of Nutrition and Botany organized a group-control trial on 200 broilers of COBB 500 provenances divided into 4 equal groups. The first group of broilers (control) was fed with complete mixtures for feeding chickens in fates of standard raw and chemical composition without the addition of enzymes. The second group was fed with mixtures in which

### ***30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ***

---

the content of energy was reduced by 5% with the addition of enzyme amylase. The third group of broilers was fed with mixtures in which the content of energy, phosphorus and proteins, or amino acids decreased by 7% with addition of protease and phytase enzymes. The fourth group of broilers was fed with identical mixtures as well as the previous group with the addition of enzyme amylase. The obtained results indicate that the experimental group that was fed to mixtures in which the energy content decreased by 5% with the addition of amylase enzymes achieved the best production-economic results, and that the use of enzymes in feed has its nutritional, medical and economic justification.

**Key words:** enzymes, feed, production results, broilers



ЗНАЧАЈ УГЉЕНИХ ХИДРАТА У БИЉНОЈ ЋЕЛИЈИ

*THE IMPORTANCE OF CARBOHYDRATES IN A PLANT CELL*

*Светлана Грдовић, Радмила Марковић, Драган Шефер*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Биљна храна је веома заступљена у исхрани животиња, а угљени хидрати имају посебно важну улогу у биљној ћелији. Биљна ћелија је основна градивна и функционална јединица биљака. Представља малу савшену лабораторију у којој настаје стотине сложених једињења. Структурно је изграђена из протопласта који је обавијен ћелијским зидом. Протопласт се састоји из једра и цитоплазме у коју је уроњена вакуола и различите органеле: пластиди, митохондрије, цитозоми, рибозоми, ендоплазматични ретикулум и диктиозоми (Голџи комплекс).

По хемијском саставу, сваку биљну ћелију чине неорганска и органска једињења. Неорганска се јављају у облику воде и минералних соли, а органска у облику угљених хидрата, масних материја, протеина и нуклеинских киселина. Угљени хидрати у биљној ћелији се налазе у различитим облицима (моно-, олиго- и полисахариди) и присутни су у свим деловима ћелије. Ћелијски зид је изграђен од неколико различитих једињења угљених хидрата: средња ламела је од пектина, примарни зид је од целулозе, хемицелулозе, пектина и гликопротеина, док је секундарни зид сачињен од целулозе која је прожета другим врстама једињења (лигнин, хитин и суберин). У протопласту, највећа количина угљених хидрата сконцентрисана је у ћелијском соку вакуоле. Ту су ускладиштене гликоза, сахароза, инулин, гликозиди, и пектини. У једру, рибозомима и митохондријама угљени хидрати су присутни као веома значајне пентозе, рибоза и дезоксирибоза, незаменљиви састојци нуклеинских киселина. Пластиди, у којима се врши процес фотосинтезе, при коме настаје гликоза, богати су скробом, јер од настале гликозе настаје примарни скроб који се даље депонује у органе за складиштење. Голџијев комплекс је за биљну ћелију важан јер поседује ензиме за синтезу пектина, хемицелулозе и гликопротеина, а цитозоми (глиоксизоми) имају улогу да у семенима претварају уља у шећере. Може се закључити да угљени хидрати нису само резервне материје у ћелији, него испуњавају и многе друге специфичне функције. У последње време се испитује улога различитих поли и олигосахарида у исхрани животиња.

**Кључне речи:** биљна ћелија, ћелијски зид, угљени хидрати

**Summary**

Plant foods are highly represented in animal nutrition, and carbohydrates have a particularly important role in a plant cell. The plant cell is the basic structural and functional unit of a plant. It represents a small perfect laboratory in which hundreds of complex compounds originate. Structurally, it is made of the protoplast which is enclosed by the cell wall. The protoplast consists of the nucleus and cytoplasm in which the vacuole and various organelles are immersed: plastids, mitochondria, cytosomes, ribosomes, endoplasmic reticulum, and dyciosomes (the Golgi complex).

By chemical composition, each plant cell consists of inorganic and organic compounds. Inorganic compounds appear in the form of water and mineral salts, while organic compounds are in the form of carbohydrates, fatty materials, proteins and nucleic acids. Carbohydrates in a plant cell are found in various forms (mono-, oligo-, and polysaccharides) and are present in all parts of the cell. The cell wall is made of several different compounds of carbohydrates: the middle lamella is made of pectin, the primary

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

cell wall of cellulose, hemicellulose, pectin and glycoprotein, while the secondary cell wall is made of cellulose imbued by other types of compounds (lignin, chitin and suberin). In the protoplast, the highest amount of carbohydrates is concentrated in the cellular juice in the vacuole. This is where glucose, sucrose, inulin, glycosides and pectins are stored. In the nucleus, ribosomes and mitochondria, carbohydrates are present as very important pentoses, ribose and deoxyribose, which are irreplaceable components of nucleic acids. The plastids, in which photosynthesis takes place, producing glucose, are rich in starch, because the generated glucose turns into primary starch which is then deposited in organs for storing. The Golgi complex is very important for a plant cell because it has enzymes for the synthesis of pectin, hemicellulose and glycoproteins, while cytosomes (glycosomes) have a task to convert oils into sugars in seeds. In conclusion, carbohydrates are not only spare materials in a cell but have a number of other specific roles. Currently, the role of various poly- and oligosaccharides in animal nutrition is being investigated.

**Key words:** plant cell, cell wall, carbohydrates

---

**ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ V**  
**THEMATIC SESSION V**

**Хигијена и технологија**  
**намирница анималног порекла**

*Hygiene and food technology of*  
*animal origin*

---



**PH ВРЕДНОСТ МЕСА: ПРОЦЕНА ПРЕМОРТАЛНИХ ПОСТУПАКА  
И КВАЛИТЕТА МЕСА СВИЊА**

***PH VALUE OF MEAT: EVALUATION OF PREMORTAL PROCEDURES  
AND QUALITY OF PIG MEAT***

***Силвана Стајковић, Драган Василев, Владо Теодоровић, Неђељко Карабаси***

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Код животиња које се гаје у производне сврхе, лоши *pre mortem* услови доводе до ометања биолошких функција организма и смањења економских резултата производње. Поступање са овим животињама се састоји од низа процедура које нису уобичајене, и стога за њих стресне. Бројна истраживања су јасно показала да је квалитет меса блиско повезан са исправним и брижним опхођењем према животињама. Стресни услови за време транспорта, боравка у сточном депоу и операција клања негативно утичу на квалитет меса. Стрес доводи до убрзане гликолизе, која се рано *post mortem* одвија у анаеробним условима продукујући млечну киселину и брзо снижавајући рН вредност. Брзина и опсег пада рН вредности за време конверзије мишића у месо значајно утиче на развој особина квалитета свежег меса. Бледо, меко и воденасто и тамно, чврсто и суво свињско месо представљају две главне мане квалитета са којима се индустрија меса суочава. Ако се стресни услови јаве непосредно пре клања, присуство високе концентрације млечне киселине повећава брзину пада рН вредности у првом сату *post mortem*. Такво месо постаје бледо, меко и воденасто. Уколико су пре клања резерве гликогена животиње истрошене услед њиховог излагања хроничном стресу, мање млечне киселине ће се створити и пад рН вредности се неће нормално одвијати. У овом случају, месо је тамно, чврсто и суво. Један од циљева индустрије свињског меса је да развије производне стратегије за побољшање, предвиђање и смањење варијација у квалитету меса. Рано откривање мана квалитета меса смањује економске губитке, омогућава елиминацију свиња са генотипом повезаним са повећаном учесталашћу меса лошег квалитета. С обзиром да неки параметри квалитета меса, укључујући боју и способност везивања воде, зависе од рН вредности, његово мерење у различито време *post mortem*, може се користити у сврху предвиђања квалитета.

**Кључне речи:** рН вредност, квалите меса, свиње

ЗНАЧАЈ СПОСОБНОСТИ СТВАРАЊА БИОФИЛМА КОД СТАФИЛОКОКА

*IMPORTANCE OF ABILITY TO FORM BIOFILM IN STAPHYLOCOCCI*

*Радослава Савић Радвановић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Стафилококе се као убиквитарни микроорганизми налазе на кожи људи и животиња, а често колонизује *ductus papillaris* млечне жлезде музних животиња. Овај микроорганизам, први пут описан пре два века, заокупља пажњу научне јавности и често је незиван суперпатогеном због способности да ствара егзоцелуларне ензиме и токсине. На основу способности за стварање ензима коагулазе, разликују се коагулаза позитивне стафилококе (КПС) и коагулаза негативне стафилококе (КНС). КПС имају вишеструки значај. У контексту безбедности хране значај се огледа у могућности да изазову алиментарне интоксикације људи конзумирањем хране која садржи довољну количину ентеротоксина и здравствени значај, јер изазивају маститисе код музних животиња. Стафилококе имају способност да стварају високо организоване комплексе, који се називају биофилмови и који су препознати као важан фактор вируленције стафилокока. Ове комплексне бактеријске структуре пријањају на површине и уроњене су у екстрацелуларни матрикс. Улога матрикса је комплексна, укључујући снабдевање хранљивим материјама и заштита од стресног утицаја спољашње средине. У последње две деценије дефиниција биофилма се мењала, јер су се нова истраживања надограђивала на постојећа знања о формирању, структури, матурацији и резистенцији биофилма. Биофилм се данас дефинише као структурна заједница микроорганизама, који су ирверзибилно везани за супстрат и уклопљени у матрикс екстрацелуларне полимерне супстанце коју сами продукују, а који показују измењени фенотип услед промене брзине раста и транскрипције гена. Механизми стафилокока за стварање биофилмова су сложени и обухватају учешће различитих врста протеина и великог броја гена. Будући да се способност стварања биофилма истиче као значајан фактор вируленције за успостављање перзистентних инфекција млечне жлезде, што сам биофилм штити бактеријску заједницу од антимикробних лекова, на тај начин умањујући успех антимикробне терапије и што стварање биофилма на површинама, које долазе у контакт са храном током процеса добијања хране, представљајући извор конатминације циљ овог прегледног рада је да се укаже на значај способности стафилокока да стварају биофилм.

**Кључне речи:** биофилм, маститис, стафилококе

**Summary**

Staphylococci as ubiquitous microorganisms are found on the human and animals skin, and often colonize *ductus papillaris* in mammary glands of dairy animals. This microorganism, first described two centuries ago, occupies the attention of the scientific community and it is often named as a superpathogen due to its ability to form exocellular enzymes and toxins. Based on the ability for synthesis of the enzyme coagulase there are coagulase-positive staphylococci (CPS) and coagulase-negative staphylococci (CoNS). CPS are of multiple significance. In the context of food safety, importance is reflected to the possibility of causing food poisoning of people ingesting food that contains a sufficient amount of enterotoxins and health significance is due to the possibility of causing mastitis in dairy animals. Staphylococci are characterized by the ability to form highly organized complexes, called biofilms,

recognized as an important factor of the virulence of staphylococci. These complex bacterial structures adhere to the surfaces and are embedded in the extracellular matrix. The role of the matrix is complex, including the supply by nutrients and protection against environmental stress impacts. In the last two decades, the definition of biofilm had been changing, because the new research were upgrading the existing knowledge on the formation, structure, maturation and resistance of biofilm. The biofilm is currently defined as a structural community of microorganisms irreversibly attached to a substrate and embedded in a matrix of extracellular polymeric substances which themselves produce, and which exhibit modified phenotype due to changes in the growth rate and gene transcription. The mechanisms of biofilm formation in staphylococci are complex and include the participation of various proteins and a large number of genes. Since the ability to form biofilms represent a significant factor in virulence for the establishment of persistent infections of the mammary gland and biofilm protects the bacterial community of antimicrobial drugs, thereby reducing the success of antimicrobial therapy and the formation of biofilms on surfaces, that come into contact with food during the production process of food representing a source of contamination, the aim of this review paper is to highlight the importance of ability to form biofilm in staphylococci.

**Key words:** biofilm, mastitis, staphylococci

#### УВОД

Стафилококе су препознате као један од најчешћих узрочника инфекција, које се доводе у везу са стварањем биопилма. Ова особност стафилокока по којој се издвајају међу патогеним микроорганизмима, који имају способност да стварају биопилм је због чињенице да је овај микроорганизам чест коменсал на површини коже и слузокоже људи и животиња. Поред тога стафилококе се могу наћи на чврстим површинама хируршких инструмента, површинама, које долазе у контакт са храном током процеса производње хране, на прибору за мужу и другим чврстим површинама, које могу да представљају извор инфекције. Дуго времена истраживања у области стварања биопилма на молекуларној основи била су фокусирана на Грам-негативне микроорганизме, претежно *Pseudomonas aeruginosa*, који је лакше доступан за молекуларна/генетичка истраживања. У новије време, помаци у молекуларној биологији стафилокока су омогућили истраживачима да се поставе молекуларне основе стварања биопилма. Такође, формиран су и модели животиња за проучавање стафилококних инфекција праћених стварањем биопилма. Стога, можемо рећи да су стафилококе данас најбоље проучени микроорганизми, који стварају биопилм и посебно *S. epidermidis*. У овом прегледном раду ће бити указано на значај стварања биопилма код стафилокока и механизам стварања биопилма.

#### Значај стафилокока као узрочника маститиса и стварање биопилма

Маститис крава имају велики економски утицај на индустрију млека и могу бити проузроковани различитим микроорганизмима. Маститис се дефинише као запаљенски процес у млечној жлезди изазван интрамамарним инфекцијама. Род *Staphylococcus* је најчешће изолован узрочник (Seixas и сар., 2014), који може да проузрокује маститисе у супклиничкој и клиничкој форми. До данас је описано 50 врста и подврста стафилокока, које карактеришу различити фактори вируленције. На основу способности за стварање ензима коагулазе, разликују се коагулаза позитивне стафилококе (КПС) и коагулаза негативне стафилококе (КНС). Главни представник КПС је *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Као убиквитарни микроорганизам налази се на кожи људи и животиња, а често колонизује *ductus papillaris* млечне жлезде музних животиња. Док *Staphylococcus aureus* изазива супклиничке и клиничке маститисе код музних животиња, КНС обично изазивају супклиничке маститисе са повећањем броја соматских ћелија. Стафилококе изазивају инфекцију брзо, перзистирају у млечној жлезди и могу да остану дуго неоткривене, најчешће код супклиничких маститиса. Коагулаза позитивне стафилококе имају способност да стварају високо организоване комплексе који се називају биопилмови и који су препознати као важан фактор вируленције стафилокока (Oliveira и сар., 2007). Ове комплексне бактеријске структуре пријањају на површине и уроњене су у екстрацелуларни матрикс. Улога

овог матрикса је комплексна, укључујући снабдевање хранљивим материјама и заштита од стресног утицаја спољашње средине (Oliveira и сар., 2007). У последње две деценије дефиниција биофилма се непрестано мењала, јер се свако ново истраживање надограђивало постојеће знање о формирању, структури, матурацији и резистенцији биофилма. (Sabarika, 2015). Сажимањем знања о већ познатим карактеристикама, и новооткривеним физиолошким особинама, биофилм је данас дефинисан као структурна заједница микроорганизама, који су иреверзибилно везани за супстрат и уклопљени у матрикс екстрацелуларне полимерне супстанце коју сами продукују, а који показују измењени фенотип услед промене брзине раста и транскрипције гена. Механизми стафилокока за стварање биофимова су сложени и обухватају учешће различитих врста протеина и великог броја гена (Dargwish и Asfour, 2013). Сматра се да је то процес, који се одвија у два корака. Прво се бактерија адхерира за површину посредством капсуларног антигена, који се назива капсуларни полисахаридни адхезин (*PS/A*). Потом се бактерија умножава формирајући вишеслојни биофилм, који је у вези са стварањем полисахаридног интерцелуларног адхезина (*PIA*). Интерцелуларни адхезиони (*ica*) локус се састоји од гена *icaADB* и *C*, који кодирају протеине медијаторе синтезе *PIA* и *PS/A* код стафилокока. Способност стварања биофилма умањује ефекат терапије и повежава вероватноћу појаве антимикробне резистенције.

У хуманој медицини *S. aureus* и коагулаза негативне стафилококе (КНС) (на пример *S. epidermidis*) се наводе као најчешће изоловани микроорганизми у интрахоспиталним инфекцијама код пацијената на интензивној нези. Када се има у виду да је изузетно висок проценат ових изолата резистентан на метицилин (89% КНС у поређењу са 59,5% за *S. epidermidis*), а стафилококе немају специфичан механизам антимикробне резистенције, која се базира на преносу генетских фактора резистенције (хромозомска или чешће кодирана плазмидима), стварање биофилма је од несумњивог значаја.

Поред здравственог, значај овог микроорганизма са аспекта безбедности хране се огледа у томе што ствара термостабилне ентеротоксине, који унети у одређеној количини, путем хране у организам човека изазивају интоксикације.

#### Молекуларне основе стварања биофилма код стафилокока

У овом прегледном раду ће бити описано стварање биофилма у току инфекције. Испитивања микроорганизама, који имају способност да стварају биофилм су показала да стварање биофилма иде у два корака од којих је први почетно везивање и потом фаза матурације, фазе које се разликују у физиологији и захтевају деловање специфичних фазних фактора. Завршна фаза одвајања (или ширења) обухвата одвајање појединачних ћелија, или ћелијских кластера различитим механизмима и сматра се суштинском за ширење бактерија у току инфекције (Слика 1).

#### 1) Везивање

Фаза везивање у организму се одвија кроз везивање за протеине матрикса, што представља први корак у стварању биофилма. *S. epidermidis* и *S. aureus* карактерише велики број такозваних „микробних површинских компоненти које препознају адхезивне молекуле матрикса“ (MSCRAMMs - *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*) и имају способност да се везују за протеине матрикса као што су фибриноген или фибронектин, а често може бити комбинација различитих протеина матрикса. MSCRAMMs имају заједничку структуру која подразумева изложен домен за везивање, домен ћелијског зида који има понављајућу структуру и домен који је одговоран за ковалентно или нековалентно везивање за површину бактерија. Ковалентно везивање катализује група ензима званих сортазе, које везују сачувани мотив MSCRAMMs за пептидогликан. Најзначајнији ензим је сортаза А, која препознаје LPXTG мотив на „C“-терминалу на површини секвенце протеина. Сојеве *S. aureus* карактерише шири спектар типа LPXTG MSCRAMMs (~20), у поређењу са *S. epidermidis* (~12) (Gill и сар., 2005). Једина функционална сличност код ове две врсте микроорганизама је присуство неколико понављајућих серин аспартат протеина (*Sdr* протеини). Ова група протеина се састоји од површинских протеина који имају карактеристични домен серин-аспартат који се понавља у домену ћелијских зидова. Поред тога, обе врсте имају заједнички акумулациони протеин (*Aap*) и неколико нековалентно везаних површинских протеина, попут аутолизина (*Atl*). Механизам и силе које управљају причвршћивањем нековалентно везаних MSCRAMMs на површину стафилокока



још увек нису добро разјашњени. На површини ћелије стафилокока се налазе ензими аутолизини. Постоје докази који указују на то да су аутолизини нековалентно везани за теикоичну киселину (Peschel и сар., 2000). Ови ензими, поред своје примарне улоге у промету ћелијских зидова, олакшавају везивање за пластичне површине и протеине матрикса (Heilmann и сар., 2003). Тако, аутолизини имају суштинску функционалну улогу у везивању бактерија. Слично аутолизинима, липаза *GehD* има примарну каталитичку улогу, али постоје докази који указују на то да има додатну адхезивну улогу (Bowden и сар., 2002).

Стафилококе су познате по својој изузетној способности лепљења за пластичне површине. Иако је та способност била основа за већину *in vitro* истраживања биофилма спроведених код стафилокока (и код других патогена који стварају биофилм), није јасно да ли директно везивање за пластику има значајну улогу у патогенези инфекције насталих медицинским прибором. Протеини матрикса домаћина прекривају инструменте/прибор убрзо након убацивања и на тај начин настаје специфична интеракција између ових протеина и MSCRAMMs -а што је највероватније од велике важности за колонизацију. Класични тест на микротитар плочама за испитивање стварања биофилма на абиотским површинама представљао је драгоцено средство у испитивањима, посебно фактора повезаних са стварањем биофилма. Међутим, то је далеко од модела, којим се могу представити карактеристике инфекција повезаних са биофилмом *in vivo*.

#### 2) Матурација

Фаза матурације у процесу стварања биофилма се карактерише: а) интерцелуларном агрегацијом, која се може постићи различитим молекулима као што су адхезивни протеини или често полисахаридним ектополимерима, и б) силама структурирања биофилма, које доводе до појаве 3-димензионалног зрелог биофилма у облику печурке, који је окружен каналима испуњеним течностима.

##### 2.1) Адхезионе силе: агрегација

Код стафилокока главни молекул одговоран за интерцелуларну адхезију је полисахаридни интерцелуларни адхезин (*PIA*), који се још назива поли-N-ацетилглюкозамин (*PNAG*) према хемијској структури. То је делимично деацетилован полимер бета-1-6-везани N-ацетилглюкозамина, који заједно са другим полимерима, као што је теикоична киселина и протеинима ствара највећи део слузи, екстрацелуларног матрикса код стафилокока, које стварају биофилм. Присуство *PIA* је доказано и код других врста микроорганизама што указује да овај полимер има значајну улогу у настанку биофилма и инфекција повезаних са стварањем биофилма (Wang и сар., 2004). Деацетилација резидуа N-ацетилглюкозамина у *PIA* има биолошки значај. Доприноси настанку позитивног наелектрисања иначе у неутрално наелектрисаном молекулу, ослобађањем слободних амино група, које постају наелектрисане при неутралном, или киселом рН, што је природан хабитат за стафилококе на кожи. Када је површина бактеријске ћелије негативно наелектрисана, *PIA* се понаша као лепак који спаја ћелије електростатичком интеракцијом. Теикоична киселина може да представља негативно наелектрисане молекуле, који ступају у рекацију са *PIA* на површини ћелије. На количину теикоичне киселине и *PIA* утичу фактори средине што још увек није у потпуности разјашњено (Sadovskaya и сар., 2005).

Синтеза *PIA* је регулисана локусом *ica* гена, који садржи N-ацетилглюкозамина трансферазу (*icaA* и *icaD*), *PIA* деацетилазу (*icaB*), *PIA* експортер (*icaC*), и регулаторни ген (*icaR*). Експресију локуса *ica* гена регулишу различити фактори средине и протеини регулатори. Стварање и деацетилација *PIA* су препознати као кључни фактори вируленције код *S. epidermidis* (Fluckiger и сар., 2005). Иако, неколико модела на животињама потврђују ову чињеницу (Kristian и сар., 2004), стварање *PIA* нема општи значај за стварање биофилма и настанак инфекција, које се доводе у везу са биофилмом, јер је доказано стварање биофилма не зависи од *PIA* (Rohde и сар., 2005). У литератури су присутни подаци да неки сојеви изоловани у инфекцијама, које се доводе у везу са стварањем биофилма не садрже *ica* гене (Arciola и сар., 2006). У случајевима формирања биофилма независно од *PIA*, адхезиони протеини највероватније замењују *PIA*. Чини се да је *Aap* најважнији протеин укључен у стварање биофилма независно од *PIA*.

Код изолата *S. aureus* пореклом од животиња оболелих од маститиса протеин на површини ћелијског зида се назива „biofilm associated protein“ (*Bap*) и доводи се у везу са адхеренцијом на полистиренске површине, интерцелуларном адхезијом и стварањем биофилма. Постоје докази о

значају *Bap* током инфекције млечне жлезде (Cucarella и сар., 2004). Номологни облик *bap*, који се назива *bhp* је доказан код изолата *S. epidermidis* пореклом од људи (Gill и сар., 2005). *Bap* хомолози су такође доказани код других врста бактерија указујући на значај ове групе површинских протеина за стварање биофилма (Lasa и Penades, 2006).

*S. aureus* и *S. epidermidis* садрже теикоичну киселину (*TA*), која се уобичајено може наћи код многих Грам-позитивних бактерија. *TA* може да буде везана за ћелијски зид (*WTA*), или за ћелијску мембрану преко масти као липотеикоична киселина (*LTA*). *TA* код *S. epidermidis* значајно повећава адхезију за површине обложене фибронектином указујући на улогу ове киселине за вируленцију микроорганизма (Hussain и сар. 2001).

#### 2.2) Разарајуће силе: структурирање биофилма

Зрео бифилм има тродимензионалну структуру, која се описује као „куле“, или „печурке“. Између тих „кула“ се налазе канали испуњени течношћу, за које се претпоставља да имају виталну функцију у достављању хранљивих материја у дубље слојеве биофилма. Механизми који воде ка стварању канала и структурирању биофилма су слабије проучени од механизма који доводе до интерцелуларне адхезије. Првобитно су резултати истраживања код *Pseudomonas aeruginosa* показали учешће преношења сигнала са ћелију на ћелију (*quorum-sensing system*). Код стафилокока, диференцијална експресија егзополисахарида *PIA* може донекле допринети структурирању биофилма. У супротном, ензимска разградња *PIA* се јавља код других бактерија које карактеришу *PIA* хомолози и вероватно нису присутни код стафилокока.

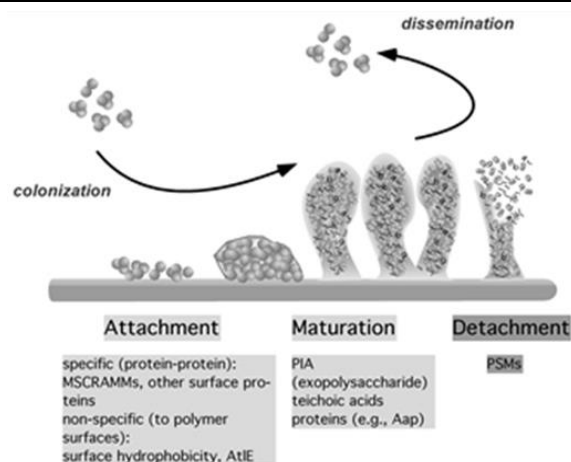
Истраживања Otto (2008) у САД показују да стафилококе користе *quorum-sensing* контролисане сурфактант пептиде за структурирање биофилма, слично као код *P. aeruginosa*, али базирано на хемијски различитим ефектор молекулима. Фенол-растворљиви модулини (*PSMs*) су класа пептида, која је први пут описана као про-запаљенска компонента код *S. epidermidis* (Mehlin и сар., 1999). Сви *PSMs* имају алфа-хеликоидну структуру и изразите карактеристике сурфактанта (смањују површински напон). Могу се поделити у две класе: 1. алфа тип са дужином ~20 аминокиселина и 2. бета тип са дужином ~40-45 аминокиселина. У условима постојања биофилма, експресија *PSM* се пребацује на бета тип пептида, што је кодирано опероном. Експресија *PSM* бета пептида има кључну улогу у развоју биофилма код *S. epidermidis*.

#### 3) Одвајање

Одвајање биофилма је суштинско за ширење бактерија на друга места колонизације. Може настати одвајањем појединих ћелија или кластера ћелија. Неколико фактора може да допринесе одвајању: 1) механичке силе, као што су проток у крвном суду, 2) престанак стварања градивне материје биофилма, као што је егзополисахарид, и 3) *sensu strictu* фактори одвајања, као што су ензими који разлажу матрикс, или површински активне материје. Због свега тога, наведени фактори се не разликују од оних о којима се говори као о агенсима за структурирање биофилма. Ако се стварају у великој количини, ови фактори могу да изазову одвајање, нарочито у пределу површине биофилма. Контролисано одвајање одржава дебљину биофилма и регулише специфичну стопу ширења биофилма. Код стафилокока овај механизам контролише *quorum-sensing* систем *agr*.

#### 4) Одумирање ћелија и екстрацелуларне ДНК

Подаци из литературе говоре да контролисана ћелијска смрт стафилокока допринноси развоју биофилма. Док је феномен контролисане ћелијске смрти и даље представља контроверзно питање, повећани степен лизе ћелија утиче на стварање биофилма. Неколико регулаторних система, који контролишу аутолизу као што је *CidR* утичу на бифилм (Yang и сар., 2006). Ослобађање ДНК код *CidR* муреин хидролаза регулатора је процес који прати лизу ћелија и допринноси стварању биофилма (Rice и сар., 2007). Молекули ДНК имају способност да се везују за друге молекуле у матриксу биофилма на сличан начин као теикоична киселина, укључујући катјонске полимере као што је горе помињани *PIA*. Због природе ДНК, може се очекивати да ће аутолиза имати сличан утицај на стварање биофилма по том механизму, који је опсервиран код *Atl* типа аутолизина.



Слика 1. Фазе стварања биофилма код стафилокока (Otto, 2008)

### ЗАКЉУЧАК

Механизми стафилокока за стварање биофимова су сложени и обухватају учешће различитих врста протеина и великог броја гена. Помааци у разумевању стварања биофилма код стафилокока показали да постоје кључни структурни и регулаторни фактори који одређују облик и физиологију биофилма стафилокока. Иако настанак биофилма не зависи од експресије ектополисахарида *PIA*, ипак се сматра суштинском компонентом потребном за настанак инфекција изазваних стафилококама, а вероватно и код других врста микроорганизама. Интензивна испитивања генома ће дати основу за боље разумевање физиологије биофилма и успостављање молекуларне основе за развој анистафилококних лекова и вакцина.

**Захвалница:** Рад је подржан од стране пројекта П 46009, који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

### Литература

1. Arciola CR, et al., 2006, Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections. Comparison of a PCR-method that recognizes the presence of *ica* genes with two classic phenotypic methods, *J Biomed Mater Res A*, 76, 425–30.
2. Bowden MG, Visai L, Longshaw CM, Holland KT, Speziale P, Hook M, 2002, Is the GehD lipase from *Staphylococcus epidermidis* a collagen binding adhesin? *J Biol Chem*, 277,43017–23.
3. Cucarella C, et al., 2004, Role of biofilm-associated protein *bap* in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*, *Infect Immun*,72, 2177–85.
4. Ćabarkapa Ivana, 2015, Sposobnost formiranja biofilma različitih sojeva *Salmonella enteritidis* i inhibitorni efekat etarskih ulja na inicijalnu adheziju i formirani biofilm. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
5. Darwish F Samah and Asfour A E Hanaa, 2013, Investigation of Biofilm Forming Ability In Staphylococci Causing Bovine Mastitis Using Phenotypic and Genotypic Assays, *The Scientific World Journal Volume*, Article ID 378492.
6. Fluckiger U, et al., 2005, Biofilm formation, *icaADBC* transcription, and polysaccharide intercellular adhesin synthesis by staphylococci in a device-related infection model, *Infect Immun*, 73, 1811–19.
7. Gill SR, et al., 2005, Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain, *J Bacteriol*, 187, 2426–38.
8. Heilmann C, Thumm G, Chhatwal GS, Hartleib J, Uekotter A, Peters G, 2003, Identification and characterization of a novel autolysin (*Aae*) with adhesive properties from *Staphylococcus epidermidis*, *Microbiology*,149, 2769–78.
9. Hussain M, Heilmann C, Peters G, Herrmann M, 2001, Teichoic acid enhances adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to immobilized

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

fibronectin, *Microb Pathog*, 31, 261–70. 10. Kristian SA, et al., 2004, The ability of biofilm formation does not influence virulence of *Staphylococcus aureus* and host response in a mouse tissue cage infection model. *Microb Pathog*, 36, 237–45. 11. Lasa I, Penades JR, 2006, Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. *Res Microbiol*, 157, 99–107. 12. Oliveira M Nunes, Carneiro SF, Bexiga C, Bernardo RF and Vilela CL, 2007, Time course of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates, *Vet. Microbiol*, 124,187-91. 13. Otto Michael, 2008, Staphylococcal biofilms, *Curr Top Microbiol Immunol*, 322, 207–28. 14. Peschel A, Vuong C, Otto M, Gotz F, 2000, The D-alanine residues of *Staphylococcus aureus* teichoic acids alter the susceptibility to vancomycin and the activity of autolytic enzymes, *Antimicrob Agents Chemother*, 44, 2845–47. 15. Rice KC et al, 2007, The *cidA* murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 8113–18. 16. Rohde H, et al., 2005, Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases, *Mol Microbiol*, 55,1883–95. 17. Sadovskaya I, Vinogradov E, Flahaut S, Kogan G, Jabbouri S, 2005, Extracellular carbohydrate-containing polymers of a model biofilm-producing strain, *Staphylococcus epidermidis* RP62A, *Infect Immun*,73, 3007–17. 18. Seixas R, Santos JP, Bexiga R, Vilela CL, Oliveira M, 2014, Short communication: Antimicrobial resistance and virulence characterization of methicillin-resistant staphylococci isolates from bovine mastitis cases in Portugal, *J Dairy Sci*, 97, 340–44. 19. Wang X, Preston JFI, Romeo T, 2004, The *pgaABCD* locus of *Escherichia coli* promotes the synthesis of a polysaccharide adhesin required for biofilm formation, *J Bacteriol*, 186, 2724–2734. 20. Yang SJ, Dunman PM, Projan SJ, Bayles KW, 2006, Characterization of the *Staphylococcus aureus* CidR regulon: elucidation of a novel role for acetoin metabolism in cell death and lysis, *Mol Microbiol*, 60,458–68.

**НОРМОНИ У НАМИРНИЦАМА АНИМАЛНОГ ПОРЕКЛА**

***HORMONES IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN***

*Владо Теодоровић, Мирјана Димитријевић, Невена Грковић, Данијела Кировски*

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

**Кратак садржај**

Сва храна која садржи компоненте животињског порекла (осим меда) садржи остатке стероидних хормона. Они су синтетисани у стероидним ткивима животиња од којих је храна произведена. Стероидни хормони су липосолубилни, па се углавном акумулирају у масном ткиву, а обзиром на то да су отпорни на високе температуре, термални третман минимално смањује њихову концентрацију у намирницама.

Концентрације стероидних хормона у храни зависе од животињске врсте, старости, пола, репродуктивног и метаболичког статуса; стога постоје значајне разлике између врсте и категорије животиња. Рибе садрже мање хормона од меса сисара, телетина садржи мање естрогена и тестостерона од говедине док је концентрација естрогена у млеку највећа код гравидних крава и то у трећем триместру гравидитета. Полни хормони се у највећој мери користе као анаболици при производњи меса током тога, с циљем повећања производње и смањења губитака, поспешују разградњу масти чиме се добијају органолептички (сензорски) прихватљивији производи. Са друге стране хормони у храни животињског порекла, посебно 17 $\beta$ -естрадиол и тестостерон, могу бити потенцијални фактори ризика за развој малигних болести. Индикација за терапијску употребу и примена терапијских доза хормона не представљају ризик за здравље потрошача када су испоштоване све стручне норме и када су под контролом стручног лица- доктора ветеринарске медицине. У Републици Србији је забрањена употреба хормона као промотера раста (анаболика). Због значајне корелације између конзумације меса и појаве колоректалног карцинома, WHO је сврстала црвено месо у Групу 2А намирница канцерогених за људе.

**Кључне речи:** намирнице анималног порекла, хормони, естрогени, анаболици

**Summary**

Every foodstuff that contains components of animal origin (except honey) contains residua of steroid hormones. These steroids were synthesized in steroidogenic tissues of the animals from which food was produced. Since steroids are highly fat-soluble, they are accumulated in tissues with high fat content, considering that steroid hormones are resistant to high temperature, and thermal treatment minimally decreases steroid hormone concentration in foodstuffs.

Concentrations of each steroid hormone in food depend on animal species, age, sex, and reproductive and metabolic status; thus, there are significant differences between species and categories of animals. Fish contain fewer hormones than the meat of mammals, and veal contains fewer estrogens and testosterone than beef. The concentration of estrogens is significantly higher in the milk of pregnant cows, in the third trimester of pregnancy. Hormones are mostly used as anabolics for meat production during fattening, with the aim of increasing production and reducing losses, stimulate fat degradation to obtain organoleptic (sensory) acceptable products. On the other hand, hormones in foods of animal origin, especially 17 $\beta$ -estradiol and testosterone, may be potential risk factors for the development of malignant diseases. Indication for therapeutic use and the use of therapeutic doses of hormones do not pose a risk to the health of consumers when all professional standards are respected and when they are under the control

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

of a professional person - a doctor of veterinary medicine. In the Republic of Serbia the use of hormones as growth promoters (anabolic) is prohibited. Due to significant correlations between meat consumption and the incidence of colorectal cancer, WHO classified red meat into Group 2A, as probably carcinogenic to humans.

**Key words:** food of animal origin, hormones, estrogens, anabolics

Намирнице анималног порекла (месо, млеко, јаја, мед, као и производи од њих) у свом саставу нормално не садрже материје штетне по здравље потрошача. Међутим, производња великих количина хране је захтевна и изискује високу технологију и контролисан узгој, где се примењују и неке хемијске супстанце које могу представљати здравствени ризик.

Немијски агенси у храни се дефинишу као остаци (резидуе) супстанци и/или њихових метаболита које имају фармаколошко дејство, а који су потенцијално опасни по здравље људи. Ове супстанце се углавном користе да побољшају конверзију хране и тиме убрзају раст и повећају прираст, или пак да контролишу болести у смислу превенирања. Поред тога, неке хемијске супстанце се додају у храну у циљу побољшања њених својстава или да се успори њено кварење. На тај начин, животиње у току гајења уносе у организам велики број различитих супстанци које се последично могу наћи у намирницама као резидуе (остаци). Поред супстанци које су, како је наведено, циљано додаване, у намирницама се могу наћи и хемикалије које се користе у пољопривреди или супстанце које су последица контаминације животне средине, односно потичу од индустријског загађења. Разликујемо више група хемијских агенаса који могу представљати потенцијални ризик по здравље људи, а могу наћи у намирницама као резидуе: индустријски загађивачи (токсични метали, халогеновани угљоводоници); хемикалије које се користе у пољопривреди (хербициди, фунгициди, инсектициди); ветеринарски лекови (антибиотици, антипаразитици, седативи, хормони); промотери (убрзавање) раста (хормони, бета-агонисти, неки антимицробни лекови); природне токсичне супстанце (микотоксини, токсини алги и токсини биљака); компоненте материјала за паковање (компоненте пластичних маса, боја, металних компонената амбалаже); адитиви хране (нитрити, полифосфати, антиоксиданси, конзерванси) и физички загађивачи.

#### **Нормони у намирницама анималног порекла**

Нормони су биолошко активне, органско хемијске супстанце које се природно стварају у организму људи и животиња. Стварају се у малим количинама, доминатно у жлездама са унутрашњим лучењем (ендокриним жлездама), али и у бројним другим ћелијама. По синтези ослобађају се директно у крвоток, где се слободно путем крви или у споју са специфичним носећим (*carrier*) протеинима транспортују до мета органа, односно „таргет ткива“. По приспећу на циљно место дати хормон се везује за специфични хормонски рецептор што узрокује карактеристични биолошки ефекат у виду измењених метаболичких реакција.

Сви хормони према својој хемијској структури могу се поделити у три основне групе: **хормоне протеинске природе**, као што је соматотропни хормон (хормон раста), инсулин, паратхормон; **хормоне деривате аминокиселина** (ароматични амини) где спада тироксин, тријодотиронин и адреналин; **хормони стероидне природе**, где спадају кортизол, тестостерон, естрадиол. Према својим физичко-хемијским својствима хормони се деле на оне који су **растворљиви у води** (хидросолубилни хормони), где спадају хормони протеинске природе и деривати аминокиселина и оне који су **растворљиви у мастима** (липосолубилни хормони) где спадају сви хормони коре надбубрежне жлезде, као и сви мушки и женски хормони. Такође треба напоменути да у природи постоје хемијска једињења која стимулишу продукцију хормона раста, тако да до њиховог повећања долази без накнадног апликовања хормона. Примери за то су аминокиселине Л-аргинин, глутамин и β-аланин. Л-аргинин најснажније стимулише продукцију хормона раста и уједно смањује проценат телесних масти. Соја, житарице и махунарке су одличан извор Л-аргинина.

### Полни хормони

Посебна пажња поклоњена је полним хормонима који су се у највећој мери користили као анаболици при производњи меса током това, с циљем повећања производње и смањења губитака. Дуго се сматрало да хормони код дивљачи немају неког значаја обзиром на њихов начин убоја. Међутим све већом комерцијализацијом одстрела трофејне и екстратрофејне дивљачи јавља се оправдана сумња да се хормони користе у ту сврху и да самим тим представљају озбиљан ризик по здравље потрошача. Полни хормони или сексуални хормони се доминатно стварају у полним жлездама (тестисима и оваријумима), а делимично и у кори надбубрега. Ови хормони контролишу примарне и секундарне полне карактеристике мужјака и женке. Сви полни хормони припадају групи липосолубилних стероида и у основи су липиди. Полазно једињење за њихову синтезу је холестерол или ацетил-коензим А, при чему се најпре од холестерола синтетишу мушки полни хормони (андрогени), од којих потом настају женски полни хормони (естрогени).

**Тестостерон** је главни мушки полни хормон (андроген). Синтетише се у интерстицијалним Лајдиговим ћелијама тестиса, а мањим делом у кори надбубрежне жлезде. Основна улога му је у развоју мушких полних органа код фетуса, полног нагона и свакако полагање сперматозоида у женку. Повећава либидо и свакако има велики утицај на понашање. Један од његових значајнијих ефеката је значајно повећање скелетне мускулатуре те тако да је могуће повећање мишићне масе код мужјака за око 50% више него код женки. Тестостерон такође утиче и на раст костију. Осим тестостерона значајну улогу заузима и андростерон.

**Естрогени** су женски полни хормони (естрадиол, естрон и естриол), који се синтетишу доминатно у оваријумима, али доста мање и у кори надбубрежне жлезде. Главни женски полни хормон је 17  $\beta$ -естрадиол, мада се физиолошки у организму сисара налази и у неактивном облику. Естрогени условљавају вишеструке метаболичке реакције на нивоу хипофизе, бубрега, црева, мускулатуре, коштаног система, панкреаса и свакако полних органа (Слика 1.)



Слика 1. Немијске формуле тестостерона и  $\beta$ -естрадиола

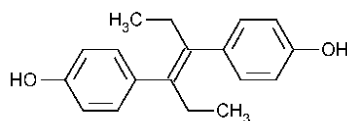
**Прогестерон** свакако припада групи женских полних хормона, али имајући у виду да га осим већ поменутих ткива ствара и жуто тело и плацента и да је превасходно одговоран за припрему утеруса за евентуални пријем и исхрану ембриона означава се као гестаген или прогестин. У основи делује као антагонист естрогеним хормонима, односно припрема полне органе женке за почетак и одржавање гравидитета. Немају дужевременски ефекат, јер само после неколико минута након секреције се метаболише на нивоу јетре у друге стероиде који немају прогестински ефекат.

### Хормони као промотери раста - анаболици

Анаболици су органске хемијске супстанце које стимулишу раст ткива активирајући метаболичке процесе одговорне за синтезу протеина тако што задржавају азот који се појачано уграђује у ћелије скелетне мускулатуре. Такође поспешују разградњу масти чиме се добијају органолептички (сензорски) прихватљивији производи. Коришћење појединих анаболика може поспешити раст животиња и више од 20%, мада то свакако зависи од врсте и расе животиње, старости, пола и начину апликавања хормона. Сматра се да најбоље резултате дају хормони који се апликују имплантирањем (субкутани ушни имплатати). Подаци о употреби полних хормона као анаболика указују да су по први пут коришћени тридесетих година прошлог века у САД код говеда. Најинтезивнија примена је била шездесетих година пошто је FDA (Food and Drug

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Administration) 1954. године одобрила коришћење диетилстилбестрола (DES) као промотера раста у тову стоке (Слика 2.). Истраживањима је утврђено да 1956. године две трећине говеда је у САД-у било третирано DES.



Слика 2. Немијска формула диетилстилбестрола (DES)

После низа доказа о штетном утицају на здравље животиња и потрошача, како за овај тако и за низ других препарата, у САД, ЕУ и у великом броју других земаља забрањена је употреба анаболика, за које је доказано да имају мутагено, тератогено и канцерогено деловање. Стероидни хормони у ЕУ могу се користити само у терапијске сврхе када за то постоје индикације (поремећај оплодње, одржавање гравидитета и др.). Значајно је напоменути да хормони индиковани за терапијску употребу, као и примена терапијских доза не представљају ризик за здравље потрошача када су испоштоване све стручне норме. Стога ове као и бројне друге лекове могу користити искључиво стручна лица. У Републици Србији је забрањена употреба хормона као промотера раста (анаболика).

Резидуе из групе средстава за убрзање (промотери) раста, чија је употреба у ту сврху забрањена у ЕУ, док у неким другим земљама није, укључују: природне хормоне (естрадиол, прогестерон, тестостерон), синтетичке хормоне (диетилстилбестрол), гљивичне естрогене (зеараленон), бета-агонисте (тренболон), тиреостатике и неке антимикробне лекове (виргинамицин, бацитрацин, полимиксин Б, сулфонамиди). Најчешће коришћени природни стероидни хормон је 17  $\beta$ -естрадиол. Синтетише се у оваријумима, жутом телу, али и у тестисима у мањем обиму. Утиче значајно на задржавање азота и утиче на повећани раст животиња и до 15%. Своје ефекте остварује директно и индиректно. Директни учинак настаје тако што врши директну стимулацију повећања мускулаторне масе везујући се за естрогене рецепторе, којих иначе код женских животиња има више. Индиректно деловање се остварује индукцијом стварања неких других хормона (хормона раста) или повећањем броја рецептора за које се касније веже. Ако се примењује у терапијској дози његови остаци су минимални и не представљају ризик по здравље потрошача. Осим тога технолошки процеси кроз које пролазе намирнице анималног порекла нису показале значајан утицај на поменути хормон. Користи се у терапији, али и као анаболик. Као анаболик користи се у комбинацији са тестостероном или прогестероном.

Полни хормони као промотери раста коришћени су код различитих врста животиња, али доминатно у говедарској производњи. Због значајне корелације између конзумације меса и појаве колоректалног карцинома, WHO је сврстала црвено месо у Групу 2А намирница канцерогених за људе. Врло тешко је у неким случајевима одредити да ли се ради о физиолошким вредностима или вредностима које су последица употребљених препарата. Наиме, различите категорије животиња првенствено у зависности од пола, узраста и исхране могу садржавати значајне количине, односно концентрације, полних хормона. Томе увелико доприносе нека физиолошка стања као што су еструс, гравидитет, партус, полна зрелост мужјака, припуст и др. Стога је дат табеларни приказ (Табела 1.) физиолошких вредности најчешће коришћених полних хормона у јестивим ткивима различитих категорија говеда, као и дневни унос природних хормона путем различитих врста хране (Табела 2.). Према томе налаз неких хормона у јестивим ткивима не значи по аутоматизму утврђивање илегално коришћених анаболика.

Највеће количине полних хормона утврђене су у бубрегу и масном ткиву код свих категорија наведених животиња. Подаци из литературе говоре да проценат масти у структури меса, а такође и у млеку је у позитивној корелацији са концентрацијом полних хормона пошто су сви они липосолубилни.

На основу свега претходно изнетог масно ткиво, бубрег и млеко могу бити репрезентативни узорци за утврђивање количина поменутих хормона. Свакако да треба надзирати



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

примарну производњу фармских животиња у погледу употребе хормона, али исто тако треба посебну пажњу поклонити и контроли хранива за животиње јер значајне количине хормонално активних супстанци потичу из биљака (фитоестрогени) и животне средине.

**Табела 1.** Физиолошке вредности полних хормона у јестивим ткивима различитих категорија говеда

Категорија/ јестива ткива	Естрон (pg/mL)	17 β--естрадиол (pg/mL)	Тестостерон (pg/g)	Прогестерон (g/kg)
<b>ТЕЛЕ</b>				
• мишић		< 100	70	
• јетра		< 100	47	
• бубрег		< 100	685	
• маст		< 100	340	5,8
<b>БИК</b>				
• мишић			335	
• јетра			749	
• бубрег			2783	
• маст			10950	2,5
<b>ВО (кастрат)</b>				
• мишић	6	14		
• јетра	20	14		
• маст	23	10		
<b>ЈУНИЦА</b>				
• мишић		12-13	92	
• јетра		38-71	193	
• бубрег	20-40	40-71	595	16,7
• маст		6	250	
<b>ГРАВИДНА КРАВА</b>				
• мишић	3870	370-860		
• маст		2500-5500		239,0-360,2

**Табела 2.** Дневни унос природних хормона у организам људи и њихов допринос путем различите врсте хране

Природни хормони	Месо и риба	Млечни производи	Јаја	Храна биљног пореkla
<b>17 β--естрадиол и естрон</b>				
*g/дан	0,01-0,02	0,05-0,06	0,01-0,02	0,00
Допринос сса. у %	15-20	60-70	15-20	<10
<b>Прогестерон</b>				
*g/дан	0,33-0,63	6,57-8,18	0,60-0,92	0,57-0,86
Допринос сса. у %	5	80	10	10
<b>Тестостерон</b>				
*g/дан	0,1-0,2	0,2	0,1	0,1-0,2
Допринос сса. у %	20-30	30-40	15-20	20-40

\* распони у зависности од старости – мушкарац, жена, дечак и девојчица

#### ***Токсични ефекти резидуа анаболика***

Већ у ранијем делу код разматрања деловања DES напоменуто је да овај препарат, али свакако и бројни други препарати могу имати мутагено, тератогено или канцерогено деловање како код животиња код којих се примењују, тако и код људи као крајњих потрошача намирница анималног порекла. Евентуално коришћени хормони оптерећују и животну средину у коју доспевају преко излучевина животиња, загађују и воде одакле их рибе и птице уносе и сасвим неочекивано постају извор поменутих хормона. Сматра се да значајан део супстанци са стероидним ефектима долази из биљног и микробиолошког света (гљивице). Највећи број података се односи на 17 $\beta$ -естрадиол који је јесте најчешће коришћени стероид од свих анаболика. Ако се узме да све што се зове намирница анималног порекла представља 100%, конзумирањем млека и млечних производа се уноси 60-70%, а конзумирањем меса, рибе и јаја око 15-20%. Зависно од количине унетог хормона и ефекти, односно последице су различите.

Утицај хормона у храни на људско здравље највероватније зависи од неколико фактора: осетљивост појединца (пол, старост, индивидуалне карактеристике), количину уноса и концентрације хормона у храни. Тако да као последице које се најчешће дешавају код људи су рано улажење у пубертет, ране менструације, развој секундарних полних карактеристика, бројни тумори како на полним тако и другим органима, док код животиња (фармских) врло често то прође без видљивих промена пошто кроз интезивни начин узгоја такве животиње не живе дуго и просто нема времена да се развију претходно поменути процеси. Мушки полни хормони имају много мањи канцерогени потенцијал од женских, међутим и једни и други могу да потенцирају канцерогени ефекат других хемијских једињења.

#### ***Методe одређивања присуства (детекција) и количина (квантификација) стероидних хормона***

Све методе које се могу користити можемо поделити на квалитативне и квантитативне. ELISA метода је сцреенинг метода која није високо поуздана, али зато је брза и релативно јефтина у односу на друге. Користи се као тријажна метода помоћу које се брзо уради велики број узорак и негативни су сигурно негативни, а узорци са граничним вредностима, или већим, иду на потврду (квантификацију) на LC (течну хроматографију) или GC (гасну хроматографију) у комбинацији са MS (спектофотометријом маса) или IR (инфрацрвеном спектометријском детекцијом). Често се квантификационе методе користе и као једине методе у лабораторији. Директивом 1996/22/EC су дефинисане максимално дозвољене вредности 17 $\beta$ -естрадиола, као најчешће коришћеног хормона у анаболичке сврхе, које се односе на плазму различитих категорија говеда, која су подељена по старости и полу. Тако за негравидна грла физиолошка граница је 40 g/L, док за гравидна говеда максимално 4000 g/L. Све вредности више од поменутих чине намирницу неупотребљивом.

#### ***Улога доктора ветеринарске медицине***

Апликацију хормона у терапијске сврхе и у терапијским дозама када за то постоје индикације, али и узимање анамнезе и могуће коришћење терапије од самих произвођача врше и контролишу искључиво стручна лица - доктори ветеринарске медицине. Добијене резултате концентрација хормона у јестивим ткивима такође врше искључиво доктори ветеринарске медицине, који осим терапије познају и физиологију животиња које су намењене за исхрану људи, могуће порекло фитоестрогена, микотоксине и др. Ова одредба би вероватно требала да буде на првом месту, а то је, да производња фармских животиња не треба само да буде контрола, јер је то скупа процедура са могућим пропустима, већ сваком производњом, па и овом треба управљати односно вршити стални надзор и елиминисати све могуће ризичне тачке. Спровођење ових процедура немогуће је вршити без доктора ветеринарске медицине. Сваки др.вет.мед. мора стално да се усавршава да би се бавио овом али и сваком другом специјализованом проблематиком. Будући да је безбедност хране део ветеринарске надлажности, процена ризика хормона у храни је значајан изазов.

**Литература**

1. Teodorović V., Dimitrijević M.(2011): Hemijski i fizički zagađivači namirnica animalnog porekla. Naučna, Beograd.
2. RS, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede (2009): Vodič za razvoj i primenu preduslovnih programa i principa HACCP u proizvodnji hrane., Beograd.
3. Koraćević D., Bjelaković G., Đorđević V., Nilolić J., Pavlović D., Kocić G. (1996): Biohemija, Savremena administracija, Beograd.
4. Pleadin J., Perši N., Antolović B., Šimić B., Kmetič I. (2011): Toksikološki aspekti anabolika u hrani životinjskoh porekla, *Croat.J.Food Sci.Technol.*, 3(1), 48-56.
5. Lone K.P.(1997): Natural sex steroids and their xenobiotic analogs in animal production: growth, carcass quality, pharmacokinetics, metabolism mode of action, residues, methods and epidemiology, *Crit.Rev.Food Sci.Nutr.* 37, 93-209.
6. Meyer H.D.(2001): Biochemistry and physiology of anabolic hormones used for improvement of meat production, *APMIS* 109, 1-8.
7. Swan S.H., Liu F., Overstreet J.W., Brazil C., Skakkebaek N.E.(2007): Semen quality of fertile US males in relation to their mothers beef consumption during pregnancy, *Hum.Reprod.* 22, 1497-1502.
8. Council Directive 88/146/EEC of 7 March 1988 prohibiting the use in livestock farming of certain substances having a hormonal action.
9. Hartmann.S., Lacorn M., Steinhart H.(1998): Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chem.* 62, 7-20.
10. Samardžija M., Vudrag B., Pleadin J. (2015): Spolni hormoni u farmskih životinja: fiziološke razine, terapijska i anabolička primena. *Vet.stn.* 46, 281-293.
11. Samardžija M., Đuričić D., Dobranić T., Herak M., Vince S. (2010): Rasplodivanje ovaca i koza. *Vet.fak., Zagreb.*
12. Heitzman R. (1994): *Veterinary Drug Residues, Residues in food producing animals and products: Reference Materials and Methods.* Oxford: Blackweill Science.
13. Teodorović V. (2007): Higijena mesa divljači i egzotičnih životinja. Naučna KMD, Beograd.
14. Teodorović V., Dimitrijević V., Karabasil N., Vasilev D. (2015): Higijena i tehnologija mesa, Naučna KMD, Beograd.
15. Ivanović S., Teodorović V., Baltić M. (2012): Kvalitet mesa, Naučna KMD, Beograd.
16. Baltić M., Teodorović V. (1997): Higijena mesa riba, rakova i školjki, Grafolik, Beograd.
17. Adolf T., Eberhardt.W., Hesecker H., Hartmann.S., Herwig A., Matiaske B., Moth K., Schneider R., Kiibler W. (1994): Lebensmittel- und Nahrstoffaufnahme in der Bundesrepublik Deutschland. In: VERA-Schriftenreihe, Band XII, Ktibler.W., Anders H.J., Heeschen W. (ed.), Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleckj, Niederkleen.
18. WHO: Agents classified by the IARC monographs, volumes 1-123. [<https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>].

МОГУЋНОСТИ ОЧУВАЊА НРАНЉИВЕ ВРЕДНОСТИ ПРОИЗВОДА  
ОД МЕСА У ТОКУ ПРОЦЕСА ПРЕРАДЕ

*POSSIBILITIES OF NUTRITIVE VALUE PRESERVATION DURING  
THE PRODUCTION OF MEAT PRODUCTS*

*Драган Василев, Силвана Стајковић, Неђељко Карабасил,  
Мирјана Димитријевић, Владо Теодоровић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Месо представља високовредну намирницу у погледу садржаја основних хранљивих састојака као и биоактивних материја које могу да остваре и додатни позитиван утицај на здравље конзумента. У току израде производа од меса, месо се подвргава различитим поступцима конзервисања у циљу постизања одговарајућих сензорских својстава, одрживости и безбедности производа. Поступци конзервисања у одређеној мери нарушавају хранљиву вредност меса. Део хранљивих материја из меса губи се у току поступка одмрзавања замрзнутог меса, где се ослобађањем месног сока у току дефростације губи део витамина и минералних материја. С друге стране, хранљиви састојци су поготово осетљиви на дејство високе температуре. У пракси, производи од меса бивају често сувише интензивно третирани тако да се постиже летални ефекат вишеструко већи од захтева дефинисаних прописима, чиме се непотребно троше енергетски ресурси, али и значајније смањује хранљива вредност. Из тог разлога је препоручљиво да се ради на модификацији режима стерилизације ради оптимизације којом би се осигурала безбедност, али и у што већој мери очувала хранљива вредност. Поред тога, могуће је и блажим поступцима топлотне обраде у комбинацији са другим антимикуробним параметрима, помоћу такозване технологије препрека, израдити производе који су одрживи на собној температури уз очување веће хранљиве вредности производа.

**Кључне речи:** хранљива вредност, конзервисање, месо, прерада, производи од меса

**Summary**

Meat represents a high valuable food in terms of the basic nutrients content as well as bioactive substances that can provide additional positive effects on the consumer's health. During processing, meat undergoes different preservation techniques in order to provide the appropriate sensory properties, shelf life and safety. Preservation methods to some extent affect the nutritional value of meat. Part of nutrients is lost during defrosting of frozen meat, where the release of meat juice during the process leads to the loss of vitamins and minerals. On the other hand, the nutrients are especially sensitive to high temperatures. In practice, meat products are often overheated so the achieved lethal effect is several times higher than the requirements defined by the regulations. Thereby, such treatments unnecessarily waste power resources, but also significantly reduce the meat nutritive value. For this reason, it is advisable to optimize the sterilization regime in order to ensure safety and at the same time preserve nutritional value as much as possible. In addition, it is possible by milder heat treatment in combination with other antimicrobial parameters, so-called hurdle technology, to ensure appropriate shelf life at room temperature and higher nutritional value of the product.

**Key words:** meat, meat products, nutritive value, preservation, processing.

#### Увод

Правилна и избалансирана исхрана, која се заснива на уносу свих есенцијалних хранљивих материја, игра значајну улогу у очувању здравља човека. При томе, месо представља значајан извор већине неопходних хранљивих материја, а пре свега протеина (есенцијалних аминокиселина), масти (есенцијалних масних киселина), минералних материја као што су гвожђе, цинк, селен и фосфор, као и витамина, пре свега Б комплекса (Prändl и сар., 1988). Поред основних хранљивих материја, мање је познато да месо садржи и такозване биоактивне материје, за које је потврђено да могу да остваре и низ повољних ефеката на људско здравље. Једна од њих је аминокиселина таурин, која је значајна за правилан развој нервног система и ретине, учествује у осмотској регулацији, регулисању калцемије и у функционисању имуног одговора, а у срчаном мишићу делује антиаритмично и позитивно инотропно. Масти пореклом од преживара садрже коњуговану линолну киселину (CLA) која у организму човека делује антикарциногено, антиоксидативно и имуностимулативно. L-карнитин учествује у метаболизму масти, помаже снижавање холестерола у крви, помаже изградњу мишићне масе и има улогу у превенцији миопатија. Коензим Q10, карнозин, ансерин, глутатион и алфа липонска киселина представљају снажне антиоксидансе пореклом из меса. Коензим Q10 (убихинон) спречава стварање слободних радикала, снижава повишен крвни притисак и помаже код неуродегенеративних обољења. Карнозин и ансерин поред антиоксидативног деловања уједно спречавају настајање AGE-а (*Advanced Glycoylation End – products*) који се сматра маркером за обољења која се доводе у везу са старењем. Глутатион представља значајан интрацелуларни антиоксиданс, а такође игра улогу и у детоксикацији ћелије. Алфа липонска киселина је значајна као антиоксиданс и „ловац“ на слободне радикале. Поред ових материја, значајну улогу имају и биоактивни пептиди - једињења која се добијају ензимским разлагањем протеина до нижих пептида и аминокиселина. Налазе се у зрелом месу и ферментисаним производима од меса, који се у току производње подвргавају процесу зрења. У организму човека биоактивни пептиди делују тако што снижавају крвни притисак, делују антиоксидативно, антитромботично, антимикробно и имуностимулативно (Schmid, 2009; Vasilev и сар., 2012).

Међутим, пошто је месо лако кварљива намирница, развијене су различите методе конзервисања ради постизања боље одрживости, с једне стране, као и ради добијања различитих производа од меса с друге стране. Ове методе укључују физичке (хлађење, замрзавање, сушење, топлотна обрада), хемијске (сољење, саламурење, димљење) и биолошке (стартер културе) поступке којима се постижу одговарајућа сензорска својстава, одрживост и безбедност производа од меса. У току обраде меса наведеним методама, у већој или мањој мери долази до нарушавања и губитка хранљивих и биоактивних материја меса (Teodorović и сар., 2015). Степен њиховог губитка зависи од методе конзервисања која је употребљена, као и од интензитета њеног деловања, при чему је потребно пронаћи оптималан однос између остварења конзервишућег ефекта и очувања хранљивих материја (Prochaska и сар., 2000). Циљ овог рада је да сагледа могућности очувања хранљиве вредности производа од меса у току процеса прераде, кроз различите методе конзервисања.

#### Нлађење и замрзавање

Нлађење и замрзавање меса представљају физичке методе конзервисања деловањем ниске температуре, при чему се стварају неповољни услови за умножавање патогених бактерија и узрочника квара, успоравају се ензимски процеси, као и физички процеси попут испаравања влаге из меса (Teodorović и сар., 2015).

Поступак хлађења не утиче значајније на губитак хранљивих материје меса, пре свега протеине и витамине, док у одређеном степену може доћи до губитка неких минералних материја (калијум, магнезијум, фосфор) приликом употребе влажних поступака хлађења меса (Mast и Clouser, 1988). Међутим, у току складиштења и зрења охлађеног меса долази до протеолитичких процеса под утицајем ендогених протеолитичких ензима ослобођених из лизозома, која резултира ослобађањем биоактивних пептида за које је потврђено да могу да остваре позитивно дејство на организам конзумента, а о којима је било речи у претходном поглављу (Schmid, 2009; Vasilev и сар., 2012).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Када је у питању замрзнуто месо, његова хранљива вредност је битније непромењена док год се месо налази у замрзнутом стању. Значајније нарушавање хранљиве вредности меса настаје у току поступка одмрзавања, када се са месним соком који месо отпушта услед смањене способности везивања воде, губи део хранљивих материја растворљивих у води (Teodorović и сар., 2015; Devi, 2015). Из тог разлога, док год је месо у замрзнутом стању, оно се према европским (Anon, 2004) и нашим прописима (Anon, 2011) сматра „свежим месом“. Након одмрзавања, такво месо се третира као „одмрзнуто месо“ и више се не може сматрати „свежим месом“, при чему, да би могло као такво да буде стављено у промет, мора бити на одговарајући начин декларисано, са наведеним датумом замрзавања, датумом одмрзавања, роком употребе и упутством да се одмрзнуто месо не сме поново замрзавати (Anon, 2015). У којој мери долази до отпуштања месног сока, и последично губитка хранљивих материја меса, у великој мери зависи од поступка замрзавања меса. При томе, спори поступци замрзавања доводе до стварања мањег броја центара кристализације и настајања већих кристала леда који у већој мери оштећују ћелијске мембране и денатуришу протеине, што резултира интензивнијим отпуштањем месног сока у току одмрзавања и последично већег губитка хранљиве вредности меса. Насупрот томе, брзи поступци замрзавања меса доводе до стварања мањих кристала леда, који у мањој мери нарушавају структуру меса, што омогућава да се у већој мери сачувају хранљиве материје меса. Исто тако, поступак одмрзавања меса треба да буде постепен, при температури која не сме да буде већа од 10°C, али тако да после одмрзавања температура меса буде од -0,5 до +4°C. У супротном, при већим температурама долази до интензивније денатурације протеина и последичног интензивнијег отпуштања месног сока, а поред тога може бити нарушена и безбедност таквог меса (Vuković, 2012; Anon, 2015; Teodorović и сар., 2015).

#### Сољење, саламурење и димљење

Сољење, саламурење и димљење меса представљају методе које су међусобно повезане, односно не могу појединачно да осигурају безбедност и одрживост производа. Пошто се ове методе надовезују једна на другу у току производње, како производа од меса који се суше (ферментисане кобасице и сувомеснати производи), тако и оних који се обрађују топлотом (барене и куване кобасице, конзерве од меса и др.), биће дискутоване заједно. Наиме, сољење, саламурење и димљење представљају хемијске методе конзервисања, код којих се додавањем одређених хемијских супстанци постиже безбедност и одрживост производа од меса (Vuković, 2012; Teodorović и сар., 2015).

Додавање кухињске соли, нитрита и/или нитрата, као ни компоненти дима чији је ефекат ограничен на површину производа, не утиче значајније на хранљиве материје меса, мада постоје подаци да кухињска со може да инхибира 12-69% тиамин (Mast и Clouser, 1988). Међутим, познато је да кухињска со уколико је додата у количини већој од 5% доводи до појачаног отпуштања воде из меса, услед дешаржирања поларних група аминокиселина, што је случај у производњи сувомеснаих производа. Наиме, након наношења кухињске соли на површину комада меса, месо се слаже на полице или у каде како би се одиграла дифузија соли која траје неколико недеља. У том периоду месо отпушта одређену количину воде (Vuković, 2012; Teodorović и сар., 2015) са којом се губи и део хранљивих материја растворљивих у води. С друге стране, када су у питању сољење, саламурење и димљење као методе конзервисања, већа пажња се придаје потенцијално штетном деловању већег садржаја натријума код сољених производа, затим могућности настајања потенцијално карциногених једињења као што су N-нитроزامини код саламурених производа, односно полициклични ароматични угљоводоници (безно[а]пирен и др.) код производа који се обрађују димљењем. Као могућности да се добију производи од меса са мањим садржајем наведених потенцијално штетних материја, наводе се примена одговарајућих замена за кухињску со (калијум хлорид, калцијум хлорид, калијум лактат и др.), смањена количина додатих нитрита или употреба потенцијалних замена за нитрите (полифеноли, есенцијална уља), као и регулисање процеса добијања дима и пречишћавање дима (Vasilev и сар., 2017). За ферментисане кобасице и сувомеснате производе, који се конзервишу сушењем након обраде меса солима и димом, сматра се да имају добро очувану хранљиву вредност јер се не обрађују топлотом (Vasilev и сар., 2012), а пошто се услед губитка воде у току сушења хранљиве материје

концентришу у производу, сматра се да то додатно доприноси њиховој високој хранљивој вредности (Devi, 2015). Поред тога, ферментисане кобасице и сувомеснати производи се подвргавају процесу зрења, у току кога се као последица протеолизе ослобађају и биоактивне материје као што су биоактивни пептиди (Schmid, 2009; Vasilev и сар., 2012).

#### Топлотна обрада

Топлотна обрада представља физичку методу конзервације деловањем високе температуре, при чему конзервишући (антимикробни) ефекат зависи од висине температуре и дужине његовог деловања. Разликују се три нивоа топлотне обраде: пастеризација, при чему се остварује најмање 70°C у центру производа; кување, при 96-98°C тако да  $F_0$  вредност износи најмање 0,4 и стерилизација, при температурама од 115 до 125°C тако да у термалном центру буде остварена леталност од  $F_0 \geq 3$  (Vuković, 2012; Teodorović и сар., 2015).

У току топлотне обраде месо постаје и погодније за конзумирање и боље сварљивије. Наиме, са повећањем температуре у месу долази до размотавања пептидних ланаца, што их чини доступнијим дигестивним ензимима (Nielsen, 2004). Међутим, при благој топлотној обради долази и до ослобађања редукујућих супстанци које се повезују са терминалним групама лизина, чинећи ову аминокиселину несварљивом у дигестивном тракту, односно губи се његова биодоступност што умањује хранљиву вредност меса. При интензивнијој топлотној обради, инактивишу се и друге аминокиселине, што се одиграва и независно од присуства редукујућих група. Наиме, аминокиселина цистин при температури од 115°C постаје веома осетљива на оксидацију, при чему настају дисулфиди. Са даљим повећањем температуре може доћи до потпуне деструкције аминокиселина или до њиховог повезивања у комплексе полиаминокиселина који су слабије сварљиви, а то се нарочито дешава при температурама од 180°C што је случај приликом пржења или печења (Dangado, 2009). На овај начин, при температури од 100°C губи се од 10 до 25% есенцијалних аминокиселина. Поред аминокиселина, у току топлотне обраде значајније се губе и витамини, поготово растворљиви у води. Најосетљивији су витамини Б1 и Б2, а укупан губитак витамина Б групе при 100°C износи од 50 до 80% (Vuković, 2012). Приликом печења меса, губи се око 40% тиамина. Витамини растворљиви у мастима су отпорнији, поготово витамини А и Д, док је витамин Е знатно подложнији оксидацији у току топлотне обраде (Dangado, 2009).

Када су производи од меса у питању, до највећег губитка хранљивих материја свакако долази код стерилисаних конзерви. Недавна истраживања Rašeta и сар. (2018) су показала да се  $F_0$  вредност у производњи стерилисане паштете у конзерви креће од 7,24 до 8,58, што је од 2,4 до 2,9 пута више од минималне прописане вредности ( $F_0 \geq 3$ ) која је неопходна да осигура безбедност и одрживост ових производа. Овако интензиван поступак стерилизације је непотребан из угла безбедности производа, а при томе доводи до значајнијег губитка хранљивих материја, као и непотребног трошења енергетских ресурса (Vasilev и сар., 2019). Сматра се да је оптмално да поступак стерилизације конзерви од меса буде такав да  $F_0$  вредност износи од 3 до 5 (Vuković, 2012), чиме се гарантује безбедност производа али и чува њихова хранљива вредност у прихватљивијој мери. Као показатељ губитка хранљиве вредности, који може да послужи у циљу поређења различитих поступака топлотне обраде, одређује се  $C_0$  вредност (*cooking value*, engl). На тај начин, Rašeta и сар. (2018) су уврдили да оптимизацијом поступка стерилизације јетрене паштете у конзерви скраћивањем деловања ефективне температуре за 10 минута може да се оствари леталност ( $F_0$  вредност) од 3,10 до 4,36 и  $C_0$  вредност смањи за 19,26%, чиме добијени производи имају готово 20% бољу хранљиву вредност од производа добијених уобичајним режимом стерилизације. На основу тога, одређивање  $F_0$  вредности и  $C_0$  вредности даје значајан допринос добијању производа од меса са бољом хранљивом вредности помоћу оптимизованих поступака стерилизације, а да при томе не буде угрожена њихова безбедност.

С друге стране, могуће је добити и добро одрживе производе од меса блажим поступцима топлотне обраде, чиме се њихова безбедност обезбеђује помоћу такозване технологије препрека, односно здруженим деловањем више антимикробних параметара. Pesck и сар. (2008) наводе да производи уколико су обрађени при 90°C у току 10 минута или 85°C 36 минута, односно при 80°C 129 минута, уз додаток нитрита, рН вредности мањој од 5,0 и концентрацији соли у води већој од 3,5%, односно  $a_w$ -вредности мањој од 0,97, могу бити одрживи до 42 дана при +8°C, или до 5 дана

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

при +10°C, без опасности да у њима евентуално присутне споре *Clostridium botulinum* могу да исклијају и створе токсин. Исто тако, SSP производи (*shelf stable products*, engl) могу бити добро одрживи и без примене хлађења, иако се обрађују пастеризацијом, кувањем или благом стерилизацијом ( $F_0 > 0,4$ ) чиме се обезбеђује боља хранљива вредност производа и сензорни квалитет, а одрживост и исправност производа почивају на комбинованим ефектима топлотне обраде и инхибицији преживелих спора кластридија неким од антимикробних параметара, као што су активност воде, рН вредност, количина кухињске соли и нитрита (Vasilev и Vuković, 2008).

#### Закључак

Нлађење и замрзавање меса не доводи до значајнијег губитка хранљивих материја меса, међутим, одмрзавање замрзнутог меса доводи до израженијег губитка хранљивих материја услед отпуштања месног сока. Сољење, саламурење и димљење не доводе до битнијег смањења садржаја хранљивих материја у месу, али услед повећања садржаја натријума и потенцијално карциногених метрија могу дати производе који се сматрају нутритивно неповољним. Применом одговарајућих замена за кухињску со и соли за саламурење, као и контролисањем поступка димљења, могу се добити производи са смањим садржајем штетних материја. Топлотна обрада у највећој мери може да умањи хранљиву вредност производа од меса, тако да поступак термичке обраде треба да буде на одговарајући начин спроведен и контролисан како би се спречило непотребно прегревање производа, а без опасности да буде угрожена њихова безбедност. То се најбоље може постићи одређивањем  $F_0$  вредности као показатеља леталног ефекта поступка топлотне обраде, као и  $C_0$  вредности као показатеља губитка хранљивих материја. Добрим познавањем антимикробних параметара и њиховог комбиновања и здруженог деловања кроз „технологију препрека“, могу се добити безбедни производи код којих је у већој мери очувана хранљива вредност.

**Захвалница:** овај рад је проистекао из пројекта ИИИ 46009 који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

#### Литература

1. Anon, 2004, Regulation EC 853/2004 of the European Parliament and of the Council, of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for on the hygiene of foodstuffs.
2. Anon, 2011, Pravilnik o veterinarsko-sanitarnim uslovima, odnosno opštini i posebnim uslovima za higijenu hrane životinjskog porekla, kao i o uslovima higijene hrane životinjskog porekla, *Sl. glasnik RS*, br 25/11.
3. Anon, 2015, Direktiva o načinu kontrole prometa i postupanja sa zamrznutim mesom, Uprava za veterinu, Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine republike Srbije, 25 mart 2015.
4. Dangado MA, 2009, Changes in nutrients during storage and processing of foods - a review, *Techno Science Africana Journal*, 3, 1, 24-7.
5. Devi R, 2015, Food Processing and Impact on Nutrition, *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 2, 4A, 304-11.
6. Mast MG, Clouser CS, 1998, Processing options for improving the nutritional value of poultry meat and egg products, In: *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace*, Washington: National Academy Press. Inc, 311-31.
7. Nielsen T, 2004, Underlying Principles and Actual Problems for the Processing Of Organic Meat Products, *Organic e-prints*. Denmark.
8. Peck MW, Goodburn KE, Betts RP, Stringer SC, 2008, Assessment of the potential for growth and neurotoxin formation by non-proteolytic *Clostridium botulinum* in short shelf-life commercial foods designed to be stored chilled, *Trends in Food Science and Technology*, 19, 207-16.
9. Prändl O, Fischer A, Schmiedhofer T, Sinell H, 1988, Fleisch – Technologie und Hygiene der gewinnung und Verarbeitung, Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
10. Prochaska JL, Nguyen TX, Donat N, Piekutowski VW, 2000, Effects of food processing on the thermodynamic and nutritive value of foods: literature and database survey, *Medical Hypotheses*, 54, 2, 254-62.
11. Rašeta M, Mrdović B, Dorđević V, Polaček V, Becskei Z, Branković Lazić I, Vasilev D, 2018, Determination of Co-value as an indicator of nutritive value of pate sterilised by regular and optimized regime, *Veterinarski glasnik*, 72, 2, 101-11.
12. Schmid VA, 2009, Bioaktive Substanzen in Fleisch und Fleischprodukten, *Fleischwirtschaft*, 7, 83-90.
13. Teodorović V, Karabasil N, Dimitrijević M, Vasilev D, 2015, Higijena i tehnologija mesa, Naučna KDM, Beograd.
14. Vasilev D, Vuković I, 2008, Analiza opasnosti i mogućnost sprečavanja botulizma iz



### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

proizvoda od mesa, *Veterinarski Glasnik*, 62, 5-6, 317-28. 15. *Vasilev D, Vuković I, Saičić S, Vasiljević N*, 2012, Funkcionalni proizvodi od mesa – savremeni pristup unapređenju nutritivne vrednosti i kvaliteta proizvoda od mesa, *Hrana i ishrana*, 53, 1, 18-27. 16. *Vasilev D, Glišić M, Janković V, Dimitrijević M, Karabasil N, Suvajdžić B, Teodorović V*, 2017, Perspectives in production of functional meat products, IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science*, 85, 012033. 17. *Vasilev D, Stajković S, Dimitrijević M, Karabasil N, Teodorović V*, 2019, Hranljiva vrednost toplotom obrađenih proizvoda od mesa, *Zbornik kratkih sadržaja 24. godišnjeg savjetovanja veterinarima Republike Srpske*, Stanišići, Bosna i Hercegovina, 12-15 jun, 2019. 18. *Vuković I*, 2012, Osnove tehnologije mesa, VKS, Beograd.

ТРЖИШТЕ ФУНКЦИОНАЛНЕ ХРАНЕ У СРБИЈИ КРОЗ ПРИЗМУ НОВИН ПРОПИСА  
*FUNCTIONAL FOOD MARKET IN SERBIA THROUGH THE PRISM OF NEW REGULATION*

Снежана Булајић, Тијана Ледина, Јасна Ђорђевић

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Функционална храна је новији тренд у исхрани, а односи се на храну која, поред задовољавања нутритивних потреба, позитивно утиче на здравље потрошача. Сегмент функционалне хране првенствено се развија услед „технолошког притиска“ усмереног на истраживање могућности тржишног позиционирања иновативних производа, а мање на захтев самих потрошача. Домаће тржиште функционалне хране је оперативно, али законски нерегулисано и такво окружење пружа могућност за манипулацију потрошача. Да ли се ситуација мења на боље увођењем Правилника о прехранбеним (нутритивним) и здравственим изјавама?

**Кључне речи:** функционална храна, Србија, Правилник о прехранбеним и здравственим изјавама

**Summary**

Functional food is a recent trend in nutrition and refers to the food, that in addition to meeting nutritional requirements, have a positive effect on consumer health. The functional food sector is primarily developing due to the "technological pressure" aimed at exploring the possibilities of market positioning of innovative products, much less at the request of consumers themselves. The national functional food market is operational but not regulated by law, and such an environment provides an opportunity for consumer manipulation. Is the situation changing for the better with the introduction of the Regulation on Nutrition and Health Claims made on foods?

**Key words:** functional food, Serbia, Regulation on Nutrition and Health Claims

**УВОД**

Разумевање повезаности начина исхране и здравља условило је стварање новог концепта функционалне хране. Функционална храна, у пракси, подразумева балансирање исхране у циљу постизања оптималног здравственог стања и редуковања ризика од развоја одређених обољења. Категорија функционалне хране није препозната у законодавству Европске уније, због чега постављање границе између конвенционалне и функционалне хране представља велики изазов чак и за нутриционисте и прехранбене технологе. Једини начин на који потрошач може да препозна функционални карактер хране, јесте истицање здравствене изјаве на декларацији. Здравствена изјава на научно утемељен начин доводи у везу храну, односно састојак хране са здрављем. Европска агенција за безбедност хране (*European Food Safety Authority, EFSA*) је одговорна за евалуацију научних доказа који поткрепљују здравствену изјаву. EFSA је потврдила повољно деловање бројних биолошки активних материја, природно присутних у храни или додатих у процесу производње, што је и озакоњено донешењем Уредбе Комисије Европске заједнице (ЕЗ) бр. 432/2012 (*Commission Regulation (EU) No 432/2012*). Уредба садржи листу дозвољених

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

здравствених изјава које смеју да се наводе на декларацији хране, осим оних које се односе на смањење ризика од одређених болести, као и оних које се односе на развој и здравље деце.

У циљу заштите потрошача од непоштене пословне праксе, у Србији је, на основу Закона о безбедности хране (Службени гласник РС бр. 41/09 и 17/2019), 2018. године донешен Правилник о прехранбеним и здравственим изјавама које се наводе на декларацији хране (Службени гласник РС бр. 51/2018, 103/2018). Овим правилником су прописани услови које морају да испуне прехранбене и здравствене изјаве које се наводе на декларацији хране, а како би било омогућено, не само ефикасно функционисање тржишта, већ и висок ниво заштите потрошача. Будући да се млеко и производи од млека традиционално позиционирају на тржишту као здравствено прихватљиви и нутритивно вредни производи, усклађивање са новим законодавством представља велики изазов за индустрију млека. Наиме, млеко и производи од млека су категорија хране која, због природног садржаја хранљивих састојака и огромног потенцијала за обогаћивање и модификацију, може садржати бројне прехранбене и здравствене изјаве. Тачне и недвосмислено наведене прехранбене и здравствене изјаве итекако помажу потрошачу, како у перцепцији „додате вредности” таквих производа, тако и у утемељењу одлуке о куповини. Опште правило које треба да се поштује јесте да изјаве истакнуте на декларацији хране не смеју доводити потрошача у заблуду, а посебно у погледу приписивања храни особина и својстава које не поседује. Поред тога, Правилник о декларисању, означавању и рекламирању хране (Сл. гласник РС бр. 19/2017, 16/2018) наглашава да се декларисање мора вршити на начин којим се храни не приписују особине превенције и лечења болести код људи. С друге стране, пракса нам говори другачије и изјаве о превенцији и лечењу болести на декларацији хране се протеклих неколико година често користе у маркетиншке сврхе.

#### ФУНКЦИОНАЛНА ХРАНА И ЗДРАВСТВЕНЕ ИЗЈАВЕ: ЗАКОНОДАВНИ ОКВИР

Концепт функционалне хране развио се у Јапану раних 1980-их година, као резултат великих истраживачких пројеката финансираних од стране владе Јапана, који су имали за циљ утврђивање везе између хране и здравља, а како би се смањили повећани трошкови болничког лечења. Напор истраживачке заједнице је уродио плодом и 1991. године Министарство здравља Јапана представило је правила за одобрење специфичне здравствене категорије хране (*Food for Specified Health Uses - FOSHU*). У САД, здравствене изјаве засноване на доказима дозвољене су при декларисању хране од 1990. године, када је усвојен Акт о нутритивном означавању и едукацији (*Nutrition Labelling and Education Act*). Ове изјаве морају бити одobreне од стране Администрације за храну и лекове (*Food and Drug Administration*). Водич *Codex Alimentarius* о употреби нутритивних и здравствених изјава усвојен је 2004, допуњен 2008. и 2009. године, након чега су уследиле и препоруке *Codex Alimentarius* о научној заснованости здравствених изјава (*Recommendations on the scientific basis of health claims*) (Grossklaus, 2009). У Европској унији, хармонизација је постигнута 2006. године, усвајањем Уредбе (ЕЗ) бр. 1924/2006 о нутритивним и здравственим изјавама истакнутим на декларацији хране. Уредба захтева ауторизацију свих здравствених изјава, пре уласка производа на тржиште. И ова, као и остале уредбе Европске Комисије, не сагледавају се самостално, већ у далеко ширем законском оквиру, пре свега у вези са општим принципима и захтевима Закона о храни (Regulation (EC) No 178/2002), општим одредбама о означавању и рекламирању хране (Directive 2000/13; Regulation (EU) No 1169/2011).

Иако се у научној литератури могу наћи бројне дефиниције функционалне хране, јединствено прихваћена дефиниција не постоји, нити је дат законски оквир ове категорије хране. Из овог разлога, израз „функционална храна“ многи сматрају, пре свега, маркетиншким термином који се примењује на храну чија привлачност лежи у томе што је потрошачи перципирају као храну са „додатом вредношћу“, односно поред обезбеђења хранљивих састојака, ова храна пружа бенефит по здравље потрошача (Crowe и Francis, 2013).

Ни европско законодавство не препознаје функционалну храну као засебну категорију хране, већ је, пре свега, сагледава као концепт (Bigliardi и Galati, 2013). Радне дефиниције функционалне хране подразумевају како једноставне – „Храна се сматра функционалном уколико се здравствена изјава може истаћи на декларацији такве хране“ или „Свака храна која носи поруку о повољном ефекту по здравље људи, сматра се функционалном“, тако и далеко сложеније

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

дефиниције. Према Доуп и Labrecque (2008), функционална храна јесте храна коју препознајемо као конвенционалну храну, део је уобичајене исхране и има доказани позитивни ефекат по здравље људи тако што повољно делује на једну или више физиолошких функција, или смањује ризик од специфичних хроничних обољења. Слична овој је и дефиниција Европске Комисије – „Функционална храна, поред одговарајућег нутритивног ефекта, повољно утиче на једну или више циљних функција организма на начин који је значајан било за одржавање здравља и благостања конзумента и/или за смањење ризика од одређених обољења.“ Део је уобичајеног обрасца исхране и никако није представљена у формату пилуле, капсуле или било какве форме дијететског суплемента (European Commission, 2010), а ефекат по здравље потрошача демонстрира се у количинама за које се оправдано може претпоставити да ће бити конзумиране у оквиру свакодневне, уобичајене исхране.

Нутритивне и здравствене изјаве припадају информацијама које субјект у пословању храном може користити (на добровољној бази) у комерцијалној комуникацији како би потрошачима омогућио информисани избор. Нутритивне изјаве указују (изјављују, сугеришу или наводе на мишљење) да храна има посебна хранљива својства и обично се односе на енергетску вредност и садржај пожељних хранљивих састојака, односно смањену количину или елиминацију непожељних састојака. У Прилогу 1 Правилника о прехранбеним и здравственим изјавама које се наводе на декларацији хране (Сл. гласник РС бр. 51/2018, 103/2018), наведене су нутритивне изјаве, као и захтевани услови њихове примене (количина енергије или хранљивог састојка и цитати који се могу истицати при навођењу одређених нутритивних изјава). У случају да произвођач жели да нагласи функционални карактер хране, тада се одређује за истицање здравствене изјаве. Здравствена изјава указује да постоји веза између категорије хране, одређене хране или састојка хране и здравља. Према европском закону, који и наше законодавство поштује, препознају се три врсте здравствених изјава:

1. здравствене изјаве које указују на улогу неке хранљиве материје („*general function health claims*“);
  - a. у расту, развоју и функционисању организма;
  - b. у психолошким функцијама или понашању;
  - c. у мршављењу или контролисању телесне масе, смањењу осећаја глади, повећању осећаја ситости, или смањењу доступне енергије, у складу са прописом којим се уређује област здравствене исправности дијететских производа намењених за особе на дијети за мршављење;
2. здравствене изјаве које се односе на смањење ризика од одређене болести;
3. здравствене изјаве које се односе на развој и здравље деце.

Поред наведених изјава, могу се користити и здравствене изјаве које се заснивају на новоразвијеним научним доказима и садрже укључен захтев за заштиту података.

Све здравствене изјаве морају бити ауторизоване и укључене у листу одобрених здравствених изјава. Процес одобравања здравствених изјава подразумева ауторизацију од стране Европске Комисије, након научне процене и верификације за коју је одговорна EFSA. У случају здравствених изјава које се односе на смањење ризика од развоја одређених болести, као и изјава које се односе на здравље и развој деце, те изјава које су утемељене на новим научним доказима, сву потребну документацију, која се захтева при апликацији захтева за ауторизацију, подносе субјекти који испоручују храну на тржиште. EFSA је, у циљу помоћи апликантима, припремила многе опште, научне и техничке водиче о припреми и презентацији апликација за ауторизацију здравствених изјава (European Food Safety Authority, 2011a, 2011b). У случају изјава утемељених на новоуспостављеним научним доказима, подносилац захтева за евалуацију изјаве тражи право ексклузивитета коришћења ауторизоване изјаве на пет година. Након истека тог периода, ауторизована здравствена изјава, уз испуњење услова који се на њу односе, може се користити од стране било којег субјекта у пословању који испоручује храну на тржиште. Изјаве које се темеље на новим научним доказима посебно се објављују у службеном листу ЕУ, те као такве постају одобрене за коришћење. Правилником о изменама и допунама Правилника о прехранбеним и здравственим изјавама које се наводе на декларацији хране (Сл. гласник РС бр. 103/2018) додат је Прилог 2а, који садржи изјаве које су утемељене на новим научним доказима и које укључују захтев за заштиту власничких података.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

По завршетку процеса евалуације, одобрене здравствене изјаве се објављују у Јавном регистру нутритивних и здравствених изјава ЕУ (Community (EU) Register of nutrition and health claims made on food) (European Commission, 2017), уз захтеване услове и предочавање цитата који се морају користити при истицању таквих изјава. Здравствене изјаве које указују на улогу хране или састојка у функционисању организма, тзв. опште здравствене изјаве имају засебну процедуру ауторизације. У сарадњи са индустријом, земље чланице ЕУ сачиниле су листу општих здравствених изјава (44.000 изјава) присутних на тржишту, што је представљало базу за процес евалуације од стране EFSA. Након сагледавања почетног стања и својеврсне тријаже, EFSA је оформила консолидовану листу изјава, са преко 4 600 изјава, које су ушле у процес евалуације. У мају 2012. године на нивоу Европске уније објављене су одобрене опште здравствене тврдње (укупно 222), које се већином односе на витамине и минерале, али и друге материје ( $\alpha$ -линоленска киселина, мононезасићене и/или полинезасићене масне киселине, пектини, биљни стероли и др). Листа ових одобрених општих здравствених изјава, које се као такве искључиво смеју наводити и цитирати, садржана је у анексу Уредбе Комисије (ЕЗ) бр. 432/2012. Прилог 2. српског Правилника о прехранбеним и здравственим изјавама које се наводе на декларацији хране садржи исту листу одобрених општих здравствених изјава. За коришћење општих здравствених изјава, које се као ауторизоване изјаве налазе на листи одобрених, субјекти који пласирају храну на тржиште нису у обавези да подносе апликацију за ауторизацију, већ само да задовоље прописане услове њихове примене.

Подаци о количини хране потребној за остваривање повољног ефекта по здравље конзумента, а за коју се оправдано може очекивати да ће бити конзумирана у контексту разноврсне и балансиране исхране, морају бити истакнути на декларацији хране која носи здравствену изјаву. Изјава мора бити специфична, заснована на опште прихваћеним научним доказима, недвосмислена и разумљива просечном потрошачу. Изјаве које се односе на уопштену, неспецифичну улогу састојка или хране у функционисању организма (пр. „добро за ваше здравље“) нису дозвољене, уколико таквим изјавама није придружена и специфична здравствена изјава. Поред тога, уколико се трговачки назив, назив бренда производа („робна марка“) или измишљени назив тумачи као здравствена изјава (пр. „Здрово“), тада је неопходно на декларацији производа истакнути и специфичну здравствену изјаву, која на недвосмислен начин доводи у везу производ или његов састојак и здравље људи. У противном, потрошач је доведен у заблуду, што није дозвољено.

#### НУТРИТИВНЕ И ЗДРАВСТВЕНЕ ИЗЈАВЕ КОЈЕ СЕ ОДНОСЕ НА МЛЕКО И ПРОИЗВОДЕ ОД МЛЕКА

##### Изјаве које се односе на садржај и функцију калцијума

Калцијум је природно присутан у млеку и производима од млека. Садржај калцијума се може истаћи кроз нутритивне изјаве као “садржи” или “извор” калцијума. Услов је да производ садржи најмању значајну количину, која према Правилнику о декларисању, означавању и рекламирању хране представља најмање 15% од нутритивне референтне вредности (НРВ), односно 120 mg. За изјаву “богат калцијумом” потребно је да производ садржи најмање двоструку количину “извора”, односно 30% од НРВ (240 mg).

На декларацији млека и производа од млека могу се истаћи и здравствене изјаве везане за калцијум. Примери су следећи:

1. калцијум доприноси нормалној функцији мишића;
2. калцијум доприноси нормалној неуротрансмисији (пренос нервних импулса);
3. калцијум доприноси нормалној функцији ензима за варење;
4. калцијум је потребан за одржавање нормалних костију;
5. калцијум има улогу у процесу деобе и диференцијације ћелија.

Наведене изјаве се могу користити само за производе у којима је калцијум садржан у количини захтеваној за задовољење нутритивне изјаве “извор”, односно 15% од НРВ (120 mg).

#### **Изјаве које се односе на садржај и функцију витамина Д**

Иако млеко природно садржи витамин Д, за разлику од калцијума, садржај витамина Д у млеку не задовољава потребе човека, те се примењује више начина за обогаћења млека. У овом случају, могуће је на декларацији производа истаћи нутритивне изјаве “садржи” или “извор” витамина Д, под условом да производ садржи најмање 15% од НРВ, односно 0,75 µg. За изјаву “богато витамином Д”, потребно је 30% од НРВ, односно 1,5 µg. Примери здравствених изјава везаних за витамин Д, уз задовољење основног услова да производи садрже 15% од НРВ, су следећи:

1. витамин Д доприноси нормалној функцији/искоришћењу калцијума и фосфора;
2. витамин Д доприноси нормалном нивоу калцијума у крви;
3. витамин Д има улогу у процесу деобе ћелија;
4. витамин Д доприноси нормалној функцији имуног система;
5. витамин Д доприноси одржању нормалних костију.

Све наведене тврдње одобрене су у складу са одредбама Уредбе (ЕЗ) 432/2012 и односе се искључиво на одрасле особе. Уколико се на производима намењеним искључиво деци жели истаћи здравствена изјава везана за витамин Д, тада је изјава прописана Уредбом (ЕЗ) бр. 983/2009 о одобрењу и ускраћивању одобрења за одређене здравствене изјаве наведене на храни које се односе на смањење ризика од болести и на развој и здравље деце (Commission Regulation (EC) No 983/2009). У овом случају изјава гласи: “Витамин Д је потребан за нормалан раст и развој костију код деце.”

#### **Изјаве које се односе на садржај и функцију протеина**

Због природног садржаја биолошки вредних протеина, на декларацији млека и производа од млека, могуће је истицање нутритивних и здравствених изјава које се односе на садржај, односно функцију протеина. Услов за навођење нутритивне изјаве “извор протеина” јесте да најмање 12% енергетске вредности производа потиче од протеина. Услов за истицање нутритивне изјаве “богато беланчевинама” јесте да најмање 20% енергетске вредности производа потиче из протеина.

Здравствене изјаве које се односе на протеине могу се наводити уколико производи задовољавају услов за истицање изјаве “извор протеина”. Одобрене здравствене изјаве које истичу улогу протеина у функционисању организма људи су следеће:

1. протеини доприносе одржавању нормалних костију;
2. протеини доприносе одржавању мишићне масе;
3. протеини доприносе повећању мишићне масе.

Наведене изјаве су одобрене у складу са одредбама Уредбе (ЕЗ) 432/2012 и односе се искључиво на одрасле особе. До данас нису одобрене здравствене изјаве о протеинима које би се односиле на децу.

#### **СЛУЧАЈ ФЕРМЕНТИСАНИН ПРОИЗВОДА ОД МЛЕКА СА ПРОБИОТСКИМ БАКТЕРИЈАМА**

Према Правилнику о квалитету производа од млека и стартер култура (Службени гласник РС бр. 33/10 са изменама и допунама 69/10, 43/13 и др. правилник 34/14) ферментисани производи од млека са пробиотским бактеријама су производи добијени ферментацијом млека деловањем пробиотских стартер култура или комбинацијом пробиотских стартер култура са другим бактеријама млечне киселине (БМК). Пробиотици су живи микроорганизми, односно микробни састојци хране који, уколико се примене у одговарајућем броју, имају повољно деловање на здравље домаћина (World Health Organization и Food and Agriculture Organization, 2002). О популарности производа са додатком пробиотика говори и податак да ови производи представљају 60-70% глобалног тржишта функционалне хране (Kołodziej-Krajewska и Dolatowski, 2012). Ферментисани производи од млека у типу јогурта са додатком пробиотика представљају најпопуларније производе у овој категорији и чине 43% од глобалног тржишта функционалне хране (Özer і Kırması, 2010). Овакав успех пробиотских ферментисаних производа од млека на тржишту

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

функционалне хране тумачи се, с једне стране, генералним позитивним имицом ових производа међу потрошачима, а с друге стране, успехом истраживачке заједнице и индустрије, чиме је омогућена научно-технолошка имплементација пробиотског концепта. Бактерије млечне киселине, пре свега врсте рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, у великој мери се примењују као пробиотски сојеви у формулацији функционалних ферментисаних производа од млека. Један од основних критеријума селекције пробиотских сојева јесте и одрживост у довољно високом броју ( $>10^6$  CFU/g) током рока употребе производа (Shah, 2007). Захтев за вијабилношћу пробиотских култура препознат је и у нашем законодавству. Према члану 16. Правилника о квалитету производа од млека и starter култура, пробиотски ферментисани производи у производњи и промету морају да садрже живе ћелије пробиотских starter култура не мање од  $10^6$ /ml/g.

Пробиотско деловање, уколико говоримо о клинички доказаним ефектима, искључиво карактеристика појединих сојева најчешће *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* spp. Тиме, ознака не само врсте, већ и соја, обавезно мора да стоји на декларацији производа. Различите ситуације имамо на декларацији испитиваних узорка ферментисаних млека са додатком пробиотика: ознака врсте, али не и соја (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*); ознака рода, али не и врсте, уз ознаку соја (*Bifidobacterium* BB-12); неправилна ознака врсте што је врло чест случај приликом означавања комерцијално широко примењиваног пробиотског соја BB-12 (*Bifidobacterium bifidum* BB-12 или *Bifidobacterium lactis* BB-12). Сој BB-12 је власништво Christiana Hansena и од 1983. депонован је банци млекарских култура ове фирме. У време изолације, сматрано је да сој припада врсти *Bifidobacterium bifidum*. Модерне молекуларне технике рекласификовале су BB-12 као *Bifidobacterium animalis*, а потом као *Bifidobacterium lactis*. Касније се показало да *B. lactis* не испуњава у потпуности захтеве врсте, те је сој рекласификован као *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. И поред промене имена, сој је фенотипски и генотипски остао исти (Jungersen и сар., 2014). Поред тога, од 14. децембра 2012. године, на нивоу ЕУ постоји забрана коришћења термина „пробиотик” на декларацијама производа. Забрана је произашла као резултат интерпретације ЕУ водича о нутритивним и здравственим изјавама, где се сматра да сама реч „пробиотик” указује на физиолошке функције, те је изјава „садржи пробиотик” здравствена, а не нутритивна. Како EFSA до данас није одобрила ниједну здравствену изјаву везану за пробиотике, потрошач је навођењем ове изјаве доведен у заблуду и из тог разлога стоји забрана. На декларацијама нема места ни навођењу неспецифичних здравствених изјава (добро варење, доприноси бољем варењу, подржава боље варење), које се доводе у везу са пробиотицима, будући да ове изјаве нису одобрене од стране EFSA, нити се налазе на листи одобрених здравствених изјава према Уредби (ЕЗ) 432/2012. Једина одобрена здравствена изјава је она која се односи на живу јогуртну културу и гласи: ”Живе културе у јогурту или ферментисаном млеку побољшавају варење лактозе из тог производа код особа које имају проблем са варењем лактозе.” Изјава може да се користи ако јогурт или ферментисано млеко садрже најмање  $10^8$  Colony Forming Unit (CFU) starter микроорганизама (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*) по граму производа.

Забраном навођења речи „пробиотик” и одбацивањем свих изјава о утицају пробиотика на здравље, произвођачи пробиотских производа су доведени у неповољан положај у смислу маркетиншког позиционирања производа. Будући да су дуги низ година такви производи пласирани на тржишту уз комуникацијске поруке усмерене на имунолошки систем, односно нормалну функцију црева, произвођачи су нашли решење тако што су реформулисали производ, додатком витамина, односно прехранбених влакана и инулина из цикорије. За витамине Ц, Д и Б6, уз задовољење услова количине од најмање 15% од НРВ, одобрена је здравствена изјава „доприноси нормалној функцији имуног система”. Додатком прехранбених влакана, чија количина и врста мора бити јасно наведена на декларацији, могуће је истаћи и изјаву везану за нормалну функцију црева. Изјава која се односи на природни инулин из цикорије припада категорији здравствених изјава које су утемељене на научним доказима новијег развоја и које укључују захтев за заштитом власничких података. Изјава гласи: ”Инулин из цикорије доприноси нормалном раду црева повећањем учесталости столице.” Ова изјава се може користити само за храну која омогућава дневни унос од најмање 12 g природног инулина из цикорије.

### ЗАКЉУЧАК

Функционална храна представља веома динамични сектор индустрије хране. Успешно маркетиншко позиционирање функционалне хране условљено је правилном комуникацијом са потрошачима. Нови законодавни оквир, доношењем Правилника о прехрамбеним и здравственим изјавама, делује обећавајуће. Како према прелазним и завршним одредбама правилника стоји да субјекти у пословању храном требају да ускладе своје пословање са одредбама овог правилника најкасније до 31. децембра 2020. године, остаје нам да видимо како ће индустрија хране, пре свега индустрија млека, одговорити на изазов.

**Захвалница:** Писање овог рада финансирано је од стране пројеката Министарства просвете, науке и технолошког развоја бр. 46009 и бр. 46010.

### Литература

1. *Bigliardi B, Galati F*, 2013, Innovation trends in the food industry: The case of functional foods, *Trends Food Sci Technol*, 31, 118-29.
2. *Crowe K, Francis C*, 2013, Position of the academy of nutrition and dietetics: Functional foods, *J Acad Nutr Diet*, 113, 8, 1096-103.
3. *Doyon M, Labrecque J*, 2008, Functional foods: a conceptual definition, *Br Food J*, 110, 11, 1133-49.
4. *European Commission (EC)*, 2000, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labelling, presentation and advertising of foodstuffs.
5. *European Commission (EC)*, 2002, Regulation (EC) No 178/2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.
6. *European Commission (EC)*, 2006, Commission Regulation No 1924/2006 on nutrition and health claims made on food.
7. *European Commission (EC)*, 2009, Commission Regulation (EC) No 983/2009 on the authorisation and refusal of authorisation of certain health claims made on food and referring to the reduction of disease risk and to children's development and health.
8. *European Commission (EC)*, 2011, Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers.
9. *European Commission (EC)*, 2012, Commission Regulation (EU) No 432/2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health.
10. *European Commission (EC)*, 2017, European Union Register of nutrition and health claims made on foods <http://ec.europa.eu/food/safety/labelling-nutrition/claims/register/public/?event=register.home>.
11. *European Commission (EC), Directorate - General for Research*, 2010, Functional Foods. <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/238407ee-0301-4309-9fac-e180e33a3f89>.
12. *European Food Safety Authority (EFSA)*, 2011a, General guidance for stakeholders on the evaluation of Article 13.1, 13.5 and 14 health claims, *EFSA J*, 9, 4, 2135.
13. *European Food Safety Authority (EFSA)*, 2011b, Scientific and technical guidance for the preparation and presentation of an application for authorisation of a health claim (revision 1), *EFSA J*, 9, 5, 2170.
14. *Grossklaus R*, 2009, Codex recommendations on the scientific basis of health claims, *Eur Journal Nutr*, 48, 15-22.
15. *Jungersen M, Wind A, Johansen E, Christensen JE, Stuer-Lauridsen B, Eskesen D*, 2014, The science behind the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12(®), *Microorganisms*, 282, 2, 92-110.
16. *Kolozyn-Krajewska D, Dolatowski ZJ*, 2012, Probiotic meat products and human nutrition, *Process Biochem*, 47, 1761-72.
17. *Özer BH, Kirmaci HA*, 2010, Functional milks and dairy beverages, *Int J Dairy Technol*, 63, 1-15.
18. Правилник о декларisanju, označavanju i reklamiranju hrane, Službeni glasnik RS br. 19/2017, 16/2018.
19. Правилник о изменama i dopunama Pravilnika о prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane, Službeni glasnik RS br. 103/2018.
20. Правилник о kvalitetu proizvoda od mleka i starter kultura, Službeni glasnik RS br. 33/10 sa izmenama i dopunama 69/10, 43/13 i dr. pravilnik 34/14.
21. Правилник о prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane, Službeni glasnik RS br. 51/2018, 103/2018.
22. *Shah NP*, 2007, Functional cultures and health benefits, *Int Dairy J*, 17, 1262-77.
23. *World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO)*, 2002, Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002, FAO Food and Nutrition Paper 85.
24. Закон о bezbednosti hrane, Službeni glasnik RS br. 41/09 i 17/2019.



КОНТРОЛА ЗООНОТСКИН ПАРАЗИТА КОД СЛАТКОВОДНИН РИБА

CONTROL OF ZOONOTIC PARASITES IN FRESHWATER FISH

Николина Новаков<sup>1</sup>, Драгана Љубојевић Пелић<sup>2</sup>, Милош Пелић<sup>2</sup>, Ненад Стојанац<sup>1</sup>,  
Ивана Давидов<sup>1</sup>, Душан Лазич<sup>2</sup>, Мирослав Ђирковић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“ у Новом Саду

**Кратак садржај**

Рибље месо представља једну од најкомплетнијих и најздравијих намирница које се користе у исхрани људи. Приликом стављања у промет и прегледа рибљег меса и производа од рибе треба обратити пажњу на присуство зоонотских паразита који могу довести до инфицирања људи нарочито ако се риба конзумира сирова или термички недовољно обрађена. Паразитска оболења која се преносе месом рибе дуго времена су била везана за земље тропског и суптропског појаса а нарочито азијске земље. Данас ова оболења представљају претњу на глобалном нивоу захваљујући пре свега климатским и демографским променама. Велики утицај имају и промене кулинарских навика и популаризација одређених кухиња, где је честа припрема и конзумација сирове, мариниране, сушене и на други начин недовољно обрађене рибе и производа од рибе. Најзначајнији зоонотски парзит код слатководних риба је *Eustrongylides excisus*, и на њега треба обратити посебну пажњу са аспекта епидемиологије и контроле. Како не би дошло до заражавања људи зоонотским паразитима риба неопходно је спроводити сталну контролу и мониторинг. Свеже месо рибе и традиционални рибљи производи пре него што се нађу у промету морају бити прегледани на присуство паразита. С обзиром да долази до појаве нових зоонотских паразита који нису били присутни на одређеним географским локалитетима, прописе везане за контролу треба ревидирати.

**Кључне речи:** контрола, *Eustrongylides excisus*, паразити, слатководне рибе, зоонотски

**Summary**

Fish meat is one of the most complete and healthy foods used in humans. When placing on the market and examining fish meat, attention should be paid to the presence of zoonotic parasites that can lead to the infection of humans, especially if the fish is consumed raw or thermally insufficiently processed. Parasitic diseases transmitted by fish meat for a long time were related to the countries of the tropical and subtropical belts, and especially for Asian countries. Today, these diseases pose a threat to the global level, primarily due to climate and demographic changes. Changing culinary habits and popularization of certain kitchens which promote preparation and consumption of raw, marinated, dried and otherwise insufficiently processed fish are often influenced. The most important zoonotic parasite in freshwater fish species is *Eustrongylides excisus*. Special attention should be paid to its epidemiology and control strategies. In order to avoid infecting humans with zoonotic fish parasites it is necessary to conduct constant control and monitoring. Fresh fish meat before is placed on the market must be inspected for the presence of parasites. Since there are new zoonotic parasites that have not been detected at certain geographical locations, the control regulations should be revised.

**Key words:** control, *Eustrongylides excises*, freshwater fish, parasites, zoonotic

#### Увод

Аквакултура је једна од најбрже растућих привредних грана у сектору производње хране. У последње три деценије (1980–2010), укупна светска производња хране пореклом из аквакултуре се повећала готово 12 пута, са просечним годишњим растом од 8,8% (FAO, 2012). Више од 67,7% гајених риба у светским оквирима отпада на слатководне рибе, укључујући шарана, рибе кинеског комплекса, тилапију, афричког сома и др. (De Silva, 2003). Србија спада у земље са традиционалном производњом шаранских риба и као таква заузима треће место по производњи шарана по глави становника у свету, иза Републике Чешке и Кине, са производњом од 1,3 kg по глави становника (Марковић и сар., 2013). Због пораста производње и потражње за рибљим месом као изузетно здравом намирницом постоје озбиљни безбедносни проблеми који се односе на паразитске зоонозе које се преносе рибљим месом. Приликом стављања у промет и прегледа рибљег меса и производа од рибе треба обратити пажњу на присуство зооноотских паразита који могу довести до инфицирања људи нарочито ако си риба комзумира сирова или недовољно обрађена. Од нематода које паразитирају код слатководних риба и које имају зооноотски карактер најзначајнија је *Eustrongylides excisus*, док се *Phylometroides cyprini* и *Contracaecum spp.* јављају спорадично. *Eustrongylides excisus* јавља се најчешће код племенитих грабљивица као што су смуђ, сом, штука, бандр и др. Код нас је смуђ једна од омиљених риба, због укусног меса са високим садржајем протеина и често је на трпези (Новаков и сар., 2015). Проблем је у чињеници да се смуђ често мање термички обрађује, у односу на ципринидне рибе, те постоји могућност да паразити остану вијабилни, на шта треба обратити пажњу приликом примреме и термичке обраде ове врсте рибе.

Како не би дошло до заражавања људи зооноотским паразитима риба неопходно је спроводити сталну контролу и мониторинг. То подразумева редован преглед меса риба које се ставља у промет како из рибњака тако и из отворених вода, које често предсављају већу опасност с обзиром да такве рибе не потичу из контролисаних услова гајења.

Основни циљ овог истраживања је да се да преглед најзначајнији паразитских хазарда у месу слатководних риба, те укаже на адекватну контролу и ризике повезане са конзумацијом меса која у себи садржи вијабилне паразитске хазарде.

#### *Eustrongylides excisus*

Еустронгилидоза је оболење изазвано паразитима из рода *Eustrongyloides* који паразитирају код птица као адулти и код разних врста риба у ларвалном облику. Њен значај је првенствено усмерен на чињеницу што је у питању оболење које има зооноотски карактер. Установљено је да ови паразити имају успешну стратегију развоја, с обзиром да јаје остаје инфективно и до две године у спољној средини, а у прелазном домаћину може бити и преко годину дана. Имају веома брз развој када доспевају у крајњег домаћина. Развојни циклус подразумева четири стадијума од јајета до полно зрелог стадијума. Први ступањ ларве развија се у јајету које птице избацују са фецесом. Ова јаја бивају поједена од стране акватичне олигохете *Lumbriculus variegatus*, *Tubifex tubifex* и *Limnodrilus sp.*, које су први прелазни домаћин. У олигохетама се развијају ларве другог и трећег степена. Други прелазни домаћин су планктофагне и бентофагне рибе нпр. *Fundulus* или *Gambosa*, *Neogobitus*, али и неке врсте из породице *Cyprinidae* које када поједу инфицирану олигохету постају други прелазни домаћин. Трећи стадијум ларве се развије у четврти унутар рибе и чека да буде поједен од стране птице, односно крајњег домаћина (Cole, 2009). Грабљиве врсте рибе какав је смуђ, сом, штука и др. када поједу инфицирану рибу постају паратеични домаћини док њих не поједу птице (Bagos, 2004). Овакву улогу могу имати водоземци и гмизавци, и људи могу имати улогу акциденталног домаћина. Када дођу до крајњег домаћина паразити из рода *Eustrongyloides* веома брзо постају полно зрели и већ након 10-17 дана легу јаја (Moravec, 1994; Cole, 2009).

Присуство паразита *Eustrongyloides sp.* забележено је код различитих слатководних врста у Италији, Финској, Јапану, Ирану, Папуа Новој Гвинеји, Канади, Бангладешу, Румунији и др. (Branciari и сар., 2016). Ларве *Eustrongyloides* су констатоване код риба врсте *Negobius melanostomus* на различитим дионицама Дунава (Francova и сар., 2011).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

У Србији је овај паразит забележен код грабљивих врста риба сома и смуђа у каналском систему Дунав-Тиса Дунав (Љубојевић и сар., 2012; Новаков и сар., 2013).

Током пролећа 2012. године је ухваћено 52 узорка сома (*Silurus glanis*), тежине 250-450 грама и 21 узорак смуђа (*Sander lucioperca*), тежине 250-500 грама. Узорци су сакупљени са осам локација на подручју Дунав-Тиса-Дунав канала у оквиру територије града новог сада. Прегледом риба установљено је присуство нематоде у трбушној дупљи, мишићима, лумену желуца и у зиду желуца где су биле инкапсулиране. Нематодe су биле присутне код 3 јединке смуђа и 6 јединки сома што представља преваленцу од 14.26%, односно 11.54%. Број паразита по јединки се кретао од неколико па све до 256 (Новаков и сар., 2013; Бјелић Чабрило и сар., 2013).

Када се нађу код риба ове ларве су дугачки црвени паразити најчешће лоцирани у телесној дупљи и мишићима. У студији проведеној у нашој земљи ларве које су нађене код смуђа имале су дужину од 27-40 милиметара, а код сома 50-60 милиметара.

Рибе често инфицира велики број релативно великих дугих ларви нематоде те им је услед тога стомак надут (Новаков и сар., 2015). Када грабљивица поједе инфицирану рибу, веома брзо и сама бива заражена. Ларве из дигестивног тракта пролазе у мишиће или друге органе, где могу изазвати лезије (Новаков и сар., 2015).

Дијагноза овог оболења поставља се на основу налаза карактеристичних нематоде у поменути деловима тела риба. Ради потврде врсте паразити се микроскопски морају идентификовати тако што се најпре конзервирају у 70% алкохолу, а затим се просветљавају у млечној киселини.

Човек није типичан домаћин за врсте овога рода али може бити случајно заражен уколико конзумира недовољно термички обрађену рибу (Mohammad и сар., 2011). Нематодe код човека не достижу полну зрелост, већ остају у стадијуму ларве четвог степена. Симптоми који указују на зараженост су гастритис, перфорације црева. Једини начин лечења је хируршко отклањање ларви (Cole, 2009).

#### Превенција и контрола

Најважнији фактор ризика за све паразитске зоонозе које се преносе рибљим месом, је потрошња сирове или недовољно куване рибе. Важно је да се напомене да је број случајева болести изазван са конзумацијом рибљих производа генерално мали у односу на оне које су изазвани са потрошњом производа од живине, млечних и производа од меса (Newell и сар., 2010).

Према регулативи Европске уније произвођачи рибе морају да осигурају визуелну инспекцију рибе и рибљих производа ради детекције паразита пре него што се ставе у промет (ЕС, 2004). FDA (2011) указује да су ефикасне мере за уништавање паразита смрзавање, загревање или адекватна комбинација садржаја соли и времена складиштења или сушења топлим ваздухом. С друге стране, саламурење или хладно сушење може смањити ризик од паразита али их они не елиминишу или га минимизују на прихватљив ниво.

Ефикасност замрзавања да елиминише паразите зависиће од неколико фактора, укључујући температуру замрзавања, дужину времена замрзавања која је потребна да се замрзне ткиво рибе, дужина времена да се риба одржава замрзнута, извор и врста рибе и врста паразита. Тип паразита је изгледа најважнији фактор. Цестодe су подложније замрзавању него нематодe док су метиљи најотпорнији на замрзавање. Смрзавањем и складиштењем рибе на амбијенталној температури од -20 степени или ниже 7 дана, или замрзавање на температури од -35 степени или ниже и складиштење при температури -35 или ниже 15 сати, или замрзавање на температури од -35 степени или ниже и складиштење при температури од -20 степени или ниже 24 сата су довољни да убију паразите. Треба напоменути да ови услови замрзавања не могу бити погодни за замрзавање посебно великих риба. Саламурење и стављање у киселине може да умањи паразитске хазарде код риба али их не елиминише нити их минимизира на прихватљив ниво. Нематодe могу да преживе 28 дана у саламури са 21% соли по килограму. Тримовање делова где су паразити видљиви је ефикасан метод за смањење броја паразита. Међутим он не елиминише у потпуности опасност нити је минимизира на прихватљив ниво (FDA, 2011).

Купање је термичка обрада која се обично обавља пре стављања производа у промет. Врши се на рибљим производима који ће се дистрибуирати у фрижидеру или замрзнати. После купања

рибљи производи се декларишу као производи спремни за конзумацију „ready to eat“. Овом методом се елиминишу паразитски хазарди из рибљих производа (FDA, 2011).

Пастеризација је топлотни третман који се примењује да се елиминишу патогени хазарди из производа. Пастеризација се код рибљих производа обично обавља након што је он херметички затворен. Она се врши на производима који ће се дистрибуирати до потрошача у фрижидеру или замрзнути (FDA, 2011).

Murrell (2002) је такође предложио неколико мера контроле за спречавање паразитских инфекција као што је контрола животне средине површинских вода где се рибе хватају, хигијенски третмани у аквакултури, контрола и елиминација првих прелазних домаћина (пужева, олигохета). Треба да се процени и колики је ризик од паразитских инфекција. Рибе код којих постоји висок ризик од паразитских хазарда су оне које су конзумирале заражени плен, док рибе које су одгајане у аквакултури на пелетираној храни немају исти ризик од паразитских хазарда. Треба да се узме у обзир да ли су рибе у аквакултури храњене отпадом из прераде, свежем рибом или планктоном, и да ли код њих може постојати опасност од паразитских хазарда, чак и онда кад код тих врсте које су ухваћене у дивљини до сада нису детектовани паразитски хазарди (FDA, 2011).

Препорука да се избегне потрошња сировог или слабо куваног рибљег меса је још увек најбољи превентивни поступак. Иако су *Eustrongyloide spp.* дијагностиковани у Републици Србији још увек нису утврђени као проузроковачи болести код људи. Даље истраживање ових паразита и њихових прелазних домаћина (олигохета, риба), паратеичних домаћина (амфибија, рептила) и коначних домаћина (птица) су неопходни.

Стварање и одржавање дијалога и сарадња између јавног здравства, ветеринарских стручњака и стучњака из безбедности хране је од суштинског значаја за праћење промена трендова, и познатих патогена који се преносе храном (FDA, 2011).

#### **Закључак**

Како не би дошло до заражавања људи зооноским паразитима риба неопходно је спроводити сталну контролу и мониторинг. Свеже рибље месо и традиционални рибљи производи пре него што се нађу у промету морају бити прегледани на присуство паразита. Континуирана едукација је кључни фактор у борби са зоонозама а избегавање конзумирања сировог или термички слабо обрађеног рибљег меса и даље је најсигурнија превентивна процедура. С обзиром да долази до појаве нових зооноских паразита који нису били присутни на одређеним географским локалитетима, прописе везане за контролу одређених паразитских хазарда треба повремено ревидирати.

#### **Захвалница**

Приказани резултат део је рада на пројекту TP 31011, који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

#### **Литература**

1. Barros LA, Tortelly R, Pinto RM, Gomes DC, 2004, Effects of experimental infections with larvae of *Eustrongylides ignotus* Jägerskiöld, 1909 and *Contracaecum multipapillatum* (Drasche, 1882) Baylis, 1920 in rabbits, *Arq Bras Med Vet Zootec*, 56, 325-32. 2. Bjelić-Čabrilo O, Novakov N, Ćirković M, Kostić D, Popović E, Aleksić N et al, 2013, The first determination of *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909—larvae (Nematoda: Dioctophymatidae) in the pike-perch *Sander lucioperca* in Vojvodina (Serbia), *Helminthologia*, 50, 291-4. 3. Branciani R, Ranucci D, Miraglia D, Valiani A, Veronesi F, Urbani E et al, 2016, Occurrence of Parasites of the Genus *Eustrongylides* spp (Nematoda, Dioctophymatidae) in Fish Caught in Trasimeno Lake Italy, *Ital J Food Saf*, 55, 6130. 4. Cole RA, 2009, (Internet): In: Field Manual of Wildlife Disease—General Field Procedures and Diseases of Birds, Chapter 29: *Eustrongylidosis*. 5. De Silva, SS, 2003, In: Aquaculture, Farming Aquatic Animals and Plants, Lucas, J.S., and Southgate, PC, (Eds) *Fishing News Books*, Blackwell Publication, 276-94. 6. EC, 2004, Corrigendum to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004. Laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Section VIII. L226/67. 7. FAO, 2012, Demand and supply of aquafeed and feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and future

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

prospects. In: *The State of World Fisheries and Aquaculture*, 172-81. 8. FDA, 2001, Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance, 3rd Edition. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, DC, USA. 9. FDA, 2011, Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 4th Edition, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, DC, USA. 10. Francova K, Ondračkova M, Polačik M, Jurajda P, 2011, Parasite fauna of native and non-native populations of *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Gobiidae) in the longitudinal profile of the Danube River. *J. Appl. Ichthyology*, 27, 879-886, 2011. 11. Ljubojevic D, Bjelic Cabrilo O, Novakov N, Cirkovic M, Davidov I, Jovanovic M, et al, 2012, Eustrongylides sp. in freshwater fish species as a potential hazard for humans. The International Conference Biological Food Safety and Quality BFSQ 2012, Belgrade, Serbia 4-5 October 2012, Proceedings of the International Conference, 90-2. 12. Marković Z, Stanković M, Dulić Z, Rašković B, Živić I, Spasić M et al, 2013, Carp production in service of reinforcement of Serbian agriculture, VI International Conference „Water & Fish“, Conference Proceedings, 33-8. 13. Mohammad R, Iraj M, Mahzad AM, Behyar J, Bagher AF, Saeed SS, 2011, Occurrence and intensity rate of internal Metazoan parasites in *Rutilus frisii kutum* and the first report of *Diocotophyma renale* (Nematoda: Diocotophymidae), *Iran World J Zool*, 6, 91-7. 14. Moravec F, 1994, Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe, Kluwer Academic Publishers. 15. Murrell KD, 2002, Fishborne zoonotic parasites: epidemiology, detection and elimination, Lactic acid bacteria in fish preservation. In: HA Bremner (Ed), *Safety and quality issues in fish processing*, Woodhead Publishing Ltd, CRC press, New York: 114-41. 16. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H et al, 2010, Food-borne diseases—the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol*, 139, S3-S15. 17. Novakov N, Bjelic-Cabrilo O, Cirkovic M, Ljubojevic D, Lujic, J, Davidov I et al, 2013, Eustrongylidosis of European catfish (*Silurus glanis*), *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19, 72-6. 18. Novakov N, Radosavljević V, Čirković M, 2015, Bolesti slatkovodnih riba, Feljton, Novi Sad. 1-167.

САСТАВ МЛЕКА И САДРЖАЈ УРЕЕ У ПОЈЕДИНАЧНИМ УЗОРЦИМА ОВЧИЈЕГ МЛЕКА

*CHEMICAL COMPOSITION AND UREA IN EWE'S INDIVIDUAL MILK SAMPLES*

*Мирјана Симоновић<sup>1</sup>, Марија Пајић<sup>1</sup>, Душан Симоновић<sup>2</sup>,  
Зоран Рашић<sup>2</sup>, Миодраг Радиновић<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Департаман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;  
<sup>2</sup>Ветеринарски специјалистички институт Јагодина

**Кратак садржај**

Овчије млеко се најчешће среће прерађено у овчији сир или кисело млеко, због чега је одабир сировине за прављење ових производа од изузетног значаја. С обзиром да бројни фактори утичу на промену хемијског састава и хигијенске исправности млека, ово истраживање имало је за циљ утврђивање промена хемијског састава млека и садржаја уреје у млеку у току лактације. Узорковање је спроведено на газдинству са девет музних грла, и то 10. и 40. дана лактације. Узимани су појединачни узорци из обе половине вимена оваца. Утврђивање хемијског састава млека и садржаја уреје вршено је методом инфрацрвене спектрофотометрије на Пољопривредном факултету у Новом Саду. Резултати су показали пад садржаја масти у сваком појединачном узорку код свих јединки у узорцима који су прикупљени 40. дана у односу на 10. дан лактације, као и пад садржаја суве материје. Истовремено, нису запажене уочљиве варијације у садржају лактозе и протеина између 10. и 40. дана лактације. Садржај уреје био је знатно виши у узорцима који су прикупљени 10. дана у односу на 40. дан лактације.

**Кључне речи:** лактација, овчије млеко, састав млека, уреја у млеку

**Summary**

Ewe's milk is usually processed into cheese or sour milk, which makes the selection of raw milk for this products of great importance. Many factors influences the chemical composition and the hygienic correctness of milk, so this research is aimed to determine the changes in the chemical composition of milk and the content of milk urea during ewe's lactation. Sampling was carried out at the farm with nine ewes, on the 10th and 40th day of lactation. Individual samples were taken from both halves of ewes's udder. The determination of the chemical composition and the content of milk urea was carried out on the MilkoScan<sup>FT</sup> apparatus. The results showed a decrease in fat content in each individual sample collected on the 40th day compared to 10th day of lactation, and there was a decrease of dry matter too. At the same time, there was not noticeable variation in the content of lactose and protein between the 10th and 40th day of lactation. The content of milk urea was significantly higher in the samples collected on the 10th day compared to the 40th day of lactation.

**Key words:** ewe's milk, lactation, milk composition, milk urea

**УВОД**

Овчије млеко се најчешће среће у промету прерађено у овчији сир или кисело млеко. Како се овчије млеко знатно ређе налази на рафовима у односу на кравље млеко, одатле је јасан разлог за мању посвећеност самом хемијском саставу истог.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Принос овчијег млека и хемијски састав млека зависе од бројних фактора: расе, начина држања животиње (интензивно, екстензивно), исхране, старости, броја јагњења, итд. У интензивним условима уздгоја оваца, принос млека може да достигне и 1000 L, док у екстензивним условима и код мање продуктивних раса принос млека износи у просеку 50 L по лактацији. Лактациони период код оваца траје око шест месеци, док колострална фаза узима учешће од око 3-4 дана од почетка лактације. Хемијски састав овчијег млека знатно је различит у односу на хемијски састав крављег и козијег млека који су по саставу релативно слични. На основу учешћа казеина у односу на укупне беланчевине у млеку, овчије млеко спада у казеинска млека млеку (заступљеност казеина више од 75%), као и кравље и козије млеко. У овчијем млеку су заступљеније беланчевине и масти, а самим тиме је и богатије сувом материјом од крављег и козијег млека. Због високог процента беланчевина и масти, овчије млеко спада у енергетски веома хранљива млека.

Просечан састав овчијег млека подразумева заступљеност воде у 80,50%, масти 7,20%, беланчевина 5,70% (казеин 4,50%, лакталбумин и лактоглобулин 0,98%), лактозе 4,30% и пепела 0,90% (Stojanović и Katić, 2004).

Према Правилнику о квалитету сировог млека (Сл. гласник РС, 106/2017), овчије сирово млеко при откупу треба да има најмање 4,0% млечне масти, најмање 3,8% протеина, најмање 9,5% суве материје без масти. Густина сировог овчијег млека треба да буде 1,034–1,042 g/cm<sup>3</sup> при температури од 20°C, киселост 8,0–12,0°SH, рН 6,5–6,8 и тачка мржњења да не буде виша од –0,560°C.

Немијски састав млека један је од показатеља квалитета млека што је од основног значаја за одабир сировине приликом прављења производа од млека.

Циљ овог истраживања био је да се упореди хемијски састав млека и садржај урее у млеку оваца у току лактације.

Садржај урее у млеку нема значаја при откупу млека, као ни при одабиру сировине за прављење овчијег сира, већ се узима у обзир као показатељ правилно избалансиране исхране. Међутим, Bendelja и сар. (2009) наводе да се садржај урее мења кроз различите стадијуме лактације, те је поред утврђивања хемијског састава млека, истраживање обухватило и утврђивање садржаја урее током лактације.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У моменту узорковања, газдинство на чијем стаду је спроведено испитивање имало је 9 музних оваца. Узорковање је спроведено у два наврата, и то 10. и 40. дана од почетка лактације. Узимани су појединачни узорци из обе половине вимена од сваке овце. Испитано је укупно 36 узорка млека.

Узорци су прикупљани у чисте и суве пластичне бочице од 50 mL и у ручном фрижидеру транспортовани у Лабораторију за испитивање квалитета млека, Пољопривредног факултета у Новом Саду.

Одређивање хемијског састава и урее вршено је на апарату *MilkoScan<sup>FT</sup>* који применом инфрацрвене спектрофотометрије са Фуријеровом трансформацијом одређује тачку мржњења и садржај: млечне маст, беланчевина, лактозе, суве материје, суве материје без масти, урее, масних киселина, казеина.

Пре анализе, узорци се загревају на температуру од 40±2°C, затим апарат хомогенизује узорке и узима око 5 mL узорка млека за анализу.

#### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Из Табеле 1 може се уочити да је 10. дана лактације садржај масти био у просеку 5,11% (садржај масти у узорцима је варирао од 2,46% до 12,67%). Такође, 40. дана примећује се нижи садржај масти у сваком појединачном узорку (у просеку 2,42%), као и пад садржаја суве материје (Табела 2). Истовремено, нису запажене значајне варијације у садржају лактозе и протеина између 10. и 40. дана лактације.

Pavić и сар. (2002) наводе значајно нижи садржај масти, протеина и суве материје на почетку лактације у односу на средину и на крај лактације, док је садржај лактозе највиши на почетку лактације. Такође, Gonzalo и сар. (1994) показују да је садржај масти и протеина био најнижи на почетку лактације. Manfredini и сар. (1993) наводе значајно нижи садржај протеина на почетку лактације.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Табела 1. – Приказ садржаја масти, протеина, лактозе, суве материје и уреје 10. дана лактације

ИД	Маст %	Протеин %	Лактоза %	Сува материја %	Уреа mg/dl
1Л	5,10	4,18	5,07	15,60	38,4
1Д	5,26	4,70	4,71	15,37	37,7
2Л	5,16	4,27	5,19	15,61	29,4
2Д	3,07	4,36	5,37	13,70	28,6
3Л	7,32	4,46	4,63	17,54	13,4
3Д	5,72	4,69	4,85	16,28	20,5
4Л	8,03	4,28	4,92	18,48	30,5
4Д	8,03	4,28	4,91	18,51	28,1
5Л	2,75	4,68	4,98	13,38	44,4
5Д	2,65	4,77	4,96	13,34	46,1
6Л	3,70	4,39	4,76	13,84	32,0
6Д	2,46	4,46	4,80	12,67	31,7
7Л	2,81	4,91	4,91	13,54	30,8
7Д	3,42	4,90	4,88	14,15	28,6
8Л	5,97	4,89	5,06	16,91	48,9
8Д	12,67	5,28	4,08	23,82	51,0
9Л	3,41	6,24	4,95	15,38	41,5
9Д	4,44	5,95	4,90	16,11	41,8
$\bar{x}$	5,11	4,76	4,89	15,79	34,63
СД	2,62	0,57	0,26	2,68	9,89
КВ	0,51	0,12	0,05	0,17	0,29

Легенда: ИД = редни број овце, Л – лева, Д – десна половина вимена;  $\bar{x}$  = средња вредност;  
СД = стандардна девијација; КВ = коефицијент варијације

Табела 2. – Приказ садржаја масти, протеина, лактозе, суве материје и уреје 40. дана лактације

ИД	Маст %	Протеин %	Лактоза %	Сува материја %	Уреа mg/dl
1Л	2,56	4,53	5,06	13,16	20,3
1Д	3,37	4,62	4,94	13,96	20,1
2Л	3,38	4,27	5,15	13,80	17,6
2Д	3,04	4,22	5,16	13,40	17,8
3Л	2,76	4,64	4,83	13,16	16,5
3Д	3,01	4,48	4,75	13,21	17,3
4Л	2,84	4,33	5,11	13,23	13,4
4Д	3,81	4,27	5,02	14,10	16,9
5Л	1,31	4,06	5,23	11,66	20,6
5Д	1,22	4,12	5,20	11,62	19,1
6Л	1,93	4,54	4,73	12,14	15,9
6Д	1,93	4,48	4,68	12,03	13,7
7Л	2,93	4,86	4,85	13,66	16,1
7Д	2,75	4,86	4,83	13,46	15,8
8Л	2,38	4,09	5,34	12,80	20,5
8Д	2,12	4,21	5,37	12,71	18,7
9Л	1,35	4,54	5,17	11,99	14,9
9Д	0,95	4,67	5,15	11,69	16,3
$\bar{x}$	2,42	4,43	5,03	12,88	17,31
СД	0,83	0,25	0,21	0,83	2,23
КВ	0,34	0,06	0,04	0,06	0,13

Легенда: ИД = редни број овце, Л – лева, Д – десна половина вимена;  $\bar{x}$  = средња вредност; СД = стандардна девијација; КВ = коефицијент варијације



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Млечна маст је најваријабилнији састојак млека и на њен садржај утиче велики број фактора. Потребна су даља истраживања како би се искључили остали фактори који би могли да доведу до варирања млечне масти. Значајно је узети у обзир и количину млека, јер садржај млечне масти изражен у процентима није прави показатељ приноса млечне масти, који се изражава у килограмима.

Знатно већи садржај урее у млеку запажен је 10. дана лактације када је износио 34,63 mg/dl, у односу на 40. дан лактације када је износио 17,31 mg/dl (Табела 1 и 2). Изузетак је узорак „ЗЛ“ где се примећује пораст урее 40. дана у односу на 10. дан лактације, са 13,4 mg/dl на 16,5 mg/dl што је пораст од само 2%.

Како је познато да садржај урее у млеку представља показатељ правилно избалансиране исхране и директно зависи од концентрације урее у крви, потребна су даља истраживања да би се утврдило у којој мери и како варира садржај урее у млеку у току лактације што су Bendelja и сар. (2009) установили у свом истраживању.

#### ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата може се закључити следеће:

- у узорцима млека који су прикупљени 10. дана лактације, садржај масти је знатно већи него у узорцима који су прикупљени 40. дана лактације;
- садржај протеина и лактозе не показује знатно варирање између 10. и 40. дана лактације;
- садржај урее је знатно већи у узорцима који су прикупљени 10. дана у односу на 40. дан лактације;
- неопходна су даља и опсежнија истраживања где би се утврдили и други фактори који могу да утичу на промену хемијског састава овчијег млека и садржаја урее у њему, чиме би се допринело постизању што бољег квалитета овчијег млека.

**Захвалница:** Рад је резултат пројекта „Одабране биолошке опасности за безбедност/квалитет хране анималног порекла и контролне мере од фарме до потрошача“ (ГР-31034) који је финансиран од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

#### Литература

1. Bendelja D, Antunac N, Mikulec N, Vnučec I, Makeš T, Mikulec Ž et al, 2009, Urea concentration in sheep's milk, *Mljekarstvo*, 59,1, 3-10.
2. Gonzalo C, Carriedo JA, Baro JA, san Primitivo F, 1994, Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat, and protein in dairy sheep, *J Dairy Sci*, 77,6, 1537-42.
3. Manfredini M, Stipa S, Nanni N, Boattini B, 1993, Variazioni annuali dei principali caratteri qualitativi del latte ovino di massa in alcuni allevamenti dell'Emilia Romagna, *Scienza e tecnica lattiero-casearia*, 44, 407-22.
4. Pavić V, Antunac N, Mioč B, Ivanković A, Havranek JL, 2002, Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk, *Czech J Anim Sci*, 47,2, 80-4.
5. Pravidnik o kvalitetu sirovog mлека, Sl. glasnik RS, 106/2017.
6. Stojanović L, Katić V, 2004, Higijena mлека, Udžbenik, Veterinarska komora Srbije.

УТВРЂИВАЊЕ ПРИСУСТВА РЕЗИДУА АНТИБИОТИКА У МЛЕКУ

*ESTABLISHING THE PRESENCE OF RESIDUES OF ANTIBIOTICS IN MILK*

*Драгана Љубојевић Пелић<sup>1</sup>, Сузана Видаковић Кнежевић<sup>1</sup>, Милош Пелић<sup>1</sup>,  
Јелена Вранешевић<sup>1</sup>, Никола Пувача<sup>1</sup>, Сандра Јакшић<sup>1</sup>,  
Јасна Курељушић<sup>2</sup>, Милица Живков-Балош<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Научни институт за ветеринарство “Нови Сад”, Нови Сад;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство Србије, Београд

**Кратак садржај**

Млеко представља изузетно важну намирницу у исхрани људи. Појава резидуа антибиотика у млеку је најчешће последица лечења упале вимена. Присуство резидуа антибиотика у млеку има изузетно велики значај са гледишта безбедности хране, али и са гледишта квалитета млека и мечних производа. Како би се поуздано утврдило присуство резидуа антибиотика у млеку, неопходно је коришћење поуздане методе одговарајуће осетљивости. Циљ рада је био да се испита учесталост појаве резидуа антибиотика у комерцијалним узорцима млека које се налази у промету. Истраживање је спроведено коришћењем комерцијалног теста Delvotest® SP-NT. Испитано је 14 узорака крављег сировог млека, 7 узорака пастеризованог млека и 64 узорка стерилизованог млека. На основу добијених резултата утврђено је да у испитаним узорцима није детектовано присуство резидуа антибиотика. Свакако су неопходна опсежнија истраживања како би се стекла шира слика о безбедности млека у промету. Потребно је континуирано указивати на неопходност константне примене свих неопходних мера како би се спречила појава резидуа антибиотика у млеку.

**Кључне речи:** резидеуе антибиотика, микорбиолошки скрининг тест, млеко, безбедност хране, квалитет

**Увод**

Млеко и млечни производи представљају изузетно важне намирнице у исхрани људи. Млеко је веома цењено због свог састава, првенствено због садржаја протеина, масти и шећера, али и због високог садржаја калцијума и других минералних материја и витамина (1). Са друге стране, постоје одређени ризици везани за конзумирање млека у које свакако спада присуство резидуа антибиотика. Употреба антибиотика у сточарској производњи довела је до тога да су многе заразне болести сузбијене или да су њихове последице значајно ублажене (2). Проблем представља и чињеница да су се антибиотици дуго користили и као промотери раста (3). Врста примењеног антибиотика, дата доза, начин апликације, старост лечене животиње, здравствено стање, стадијум лактације, али и индивидуалне особине животиње су фактори који утичу на време излучивања антибиотика (4). Коришћење антибиотика код музних крава довело је до многих проблема у индустрији млека (5). Појава резидуа антибиотика у млеку може бити последица лечења од било које болести или било какве употребе или злоупотребе антибиотика, али се најчешће јавља након лечења упале вимена, након интраамарне примене лека (3). Након лечења упале вимена потребно је испоштовати каренцу и млеко не употребљавати за исхрану људи у том периоду. Проблем настаје уколико се произвођачи не придржавају прописане каренце и као последица тога резидеуе антибиотика се налазе у млеку и последично у производима од млека. Присуство резидуа антибиотика у млеку има изузетно велики значај са гледишта безбедности хране и млеко намењено за исхрану људи не сме да садржи резидеуе антибиотика. Резидеуе антибиотика у

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

млеку и млечним производима могу довести до алергијских реакција код људи (6). Такође, познато је и њихово потенцијално токсично, али и мутагено, канцерогено и тератогено деловање (7). Поред тога, не треба занемарити ни неповољно дејство резидуа антибиотика на технолошка својства млека, као и на квалитет млека и млечних производа (5). Микробиолошки инхибиторни тестови имају широку примену за откривање резидуа антибиотика у млеку. Њихове добре стране су што су брзи, једноставни за примену и релативно су јефтине (8). Циљ овог рада је био да се испита учесталост појаве резидуа антибиотика у узорцима млека у промету и да се укаже на неопходност одржавања менаџмента квалитета како би се спречила појава резидуа антибиотика у млеку.

#### Материјал и методе

Истраживање је спроведено коришћењем комерцијалног теста Delvotest® SP-NT. Delvotest® SP-NT кит садржи микроорганизам *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* који служи као индикатор. Испитивање и читавање резултата је извршено према упутству произвођача. Испитано је 14 узорака крављег сировог млека, 7 узорака пастеризованог млека и 64 узорка стерилизованог млека. Укупно је прегледано 85 узорака млека.

#### Резултати и дискусија

На основу добијених резултата утврђено је да у испитаним узорцима није детектовано присуство резидуа антибиотика. Осетљивост коришћеног теста читаног у контролном времену за пеницилин је 0,002 mg/kg, амоксицилин је 0,0025 mg/kg, ампицилин - 0,003 mg/kg, цефепим - 0,0058 mg/kg, а за сулфадиазин 0,1 mg/kg. Према законским прописима који су на снази у Републици Србији није дозвољено присуство резидуа антибиотика у узорцима млека. Према Правилнику о квалитету сировог млека (9) сирово млеко не може да садржи резидуе хемиотерапеутика изнад максимално дозвољених количина, у складу са посебним прописима, а према Правилнику о количинама пестицида, метала и металоида и других отровних супстанција, хемиотерапеутика, анаболика и других супстанција које се могу налазити у намирницама (10) млеко и производи од млека се не могу стављати у промет ако садрже антибиотике у количинама које се могу доказати референтним методама. Због изузетне важности за безбедност хране контрола резидуа антибиотика у храни, па самим тим и у млеку је у оквиру Европске уније строго регулисана. Коришћење ветеринарских лекова у Европској унији је регулисана Уредбом број 2377/90 (11) у којој је описан поступак за утврђивање максимално дозвољене количине остататка (МДК) ветеринарских лекова у храни животињског порекла, укључујући и млеко. Максимално дозвољене количине (МДК) антибиотика у млеку у оквиру Европске уније су прописане у регулативи Европске комисије број 37/2010 (12). На озбиљност појаве резидуа у млеку указује и чињеница да су антибиотици у млеку активни и након што се изврши термичка обрада млека, тако да се резидуе антибиотика могу наћи и у производима од млека (13). Последица су, осим оних по здравље људи и велике економске штете. Присуство резидуа антибиотика у млеку је обухваћено и мониторингом чија је сврха да се утврди разлог присуства резидуа у храни животињског порекла на фармама, млекарима. Познато је да присуство резидуа антибиотика у млеку доводи до развоја резистенције бактерија на антибиотике (14). Све наведено наноси огромне економске штете млекарској индустрији, али и сточарима. Са аспекта безбедности хране, неопходно је напоменути и да је велики проблем преосетљивост људи на пеницилин, али и на друге антибиотике, што доводи до алергијских реакција које се могу манифестовати у виду осипа, астме, па чак и анафилактичког шока (6). Такође, познато је и њихово потенцијално токсично, али и мутагено, канцерогено и тератогено деловање (7). Поред тога, не треба занемарити ни неповољно дејство резидуа антибиотика на технолошка својства млека, као и на квалитет млека и млечних производа (5). Познато је да резидуе антибиотика доводе до инхибирања раста и биохемијске активности бактерија млечне киселине које улазе у састав чистих култура и на тај начин онемогућују производњу или значајно смањују квалитет оних производа у чијој технологији производње је неопходна примена чистих култура као што су јогурт, кисело млеко, сир и други производи (13). Несумњиво је да је веома важно да резидуе антибиотика нису присутне у сировом млеку да не би долазило до проблема током производње, али и да би се заштитили потрошачи. Према подацима

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

ФДА (15) за лечење музних животиња се најчешће користе шест бета лактама: пеницилин, цефтиофур, флоксацелин, цефепим, амоксицилин и ампицилин. Уколико се ови лекови не користе правилно, доводе до појаве резидуа антибиотика у млеку. Нао и сар. (2) наводе да су резидуе антибиотика најчешће присутне инхибиторне сустанце у млеку због раширене, али и врло често оправдане употребе антибиотика приликом лечења животиња. Упале млечне жлезде су веома честе у савременој интензивној производњи млека. Познато је да су високопроизводне млечне краве по својој конституцији предиспонирани за настанак различитих метаболичких поремећаја (16). Такви поремећаји метаболизма доводе до смањења опште отпорности организма, а последично и до појаве секундарних инфекција проузрокованих факултативно патогеним микроорганизмима. Честа појава обољења млечне жлезде настаје јер је млечна жлезда орган који је највише изложен деловању штетних фактора у односу на друге органе. Примена лекова код музних крава може бити имтрамамарна, што је и најчешћи начин примене, затим парентерлана, интравагинална или се антибиотици додају у храну. Досадашња истраживања су показала да је неправилна употреба антибиотика у контроли маститиса најважнији разлог за појаву антибиотика у млеку (17). Важно је напоменути да се резидуе антибиотика могу наћи и у пастеризованом и стерилизованом млеку и то независно од количине млечне масти, јер се неки антибиотици растварају у води, неки у млечној масти, док се поједини везују за протеине (18). Несумњиво је да ће антибиотици и у будућности бити део менаџмента у производњи млека. Коришћење антибиотика за лечење инфекција вимена крава је саставни део контроле маститиса широм света. Потрошачи су све више свесни постојања опасности од присуства резидуа антибиотика у храни, па самим тим и у млеку. Присутна је и повећана забринутост јавности везана за присуство резидуа антибиотика у млеку. Примена прописа значајно доприноси унапређењу производње, обраде, прераде и промета млека и производа од млека, али и заштити потрошача. Контролу млека раде или лабораторије у склопу млекара или института са којима те млекарске склопе уговор о сарадњи. Такође контрола се врши и од стране ветеринарске инспекције у свим фазама производње и промета млека и производа од млека. Како би се обезбедила ефикасна и стална заштита потрошача од резидуа антибиотика не само у млеку, него уопште у храни анималног порекла, неопходна је континуирана ситематска контрола сировог млека, процеса производње, готових производа и свих фактора који утичу на безбедност финалног производа. Када је у питању службена контрола млека, у Републици Србији није прописана метода за откривање резидуа антибиотика у млеку, тако да је дозвољено коришћење комерцијалних тестова који су доступни на тржишту, при чему је потребно водити рачуна о њиховој осетљивости, али и о цени и једноставности примене таквих тестова.

#### **Закључак**

Када се узме у обзир значај који млеко заузима у исхрани људи, а посебно осетљивих категорија становништва, веома је важно указати на неопходност примене менаџмента квалитета како би се спречила појава резидуа антибиотика у сировом млеку, а последично и у млеку које се налази у промету. Потребно је континуирано указивати на неопходност константне примене контроле млека и производа од млека. Како би се поуздано утврдило присуство резидуа антибиотика у млеку, неопходно је коришћење поуздане методе одговарајуће осетљивости. Растућа пажња је усмерена на евакуацију ризика од појаве антибиотика, али и резидуа других ветеринарских лекова у млеку, као и на налажење и спровођење одговарајућих мера за смањивање ризика и на националном и интернационалном нивоу. Најефикаснији начин да се спречи присуство резидуа антибиотика у млеку које је у промету је забрана промета млека музних грла које су лечене антибиотикима, тј. поштовање прописане каренце.

**Захвалница:** Истраживања су реализована у оквиру Пројекта технолошког развоја ТР31071 финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

**Литература**

1. Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, 6(1), 25.
2. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., ... & Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in microbiology*, 5, 288.
3. Sawant, A. A., Sordillo, L. M., & Jayarao, B. M. (2005). A survey on antibiotic usage in dairy herds in Pennsylvania. *Journal of dairy science*, 88(8), 2991-2999.
4. Knappstein, K., Suhren, G., & Walte, H. G. (2003). Influence of milking frequency on withdrawal period after application of  $\beta$ -lactam antibiotic-based drugs. *Analytica Chimica Acta*, 483(1-2), 241-249.
5. Adetunji, V. O. (2011). Effects of processing on antibiotic residues (streptomycin, penicillin-G and tetracycline) in soft cheese and yoghurt processing lines. *Pakistan journal of nutrition*, 10(8), 792-795.
6. Santos, S. M., Henriques, M., Duarte, A. C., & Esteves, V. I. (2007). Development and application of a capillary electrophoresis based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples. *Talanta*, 71(2), 731-737.
7. Beyene, T. (2016). Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health. *J Vet Sci Technol*, 7(1), 1-7.
8. Cháfer-Pericás, C., Maquieira, A., & Puchades, R. (2010). Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9), 1038-1049.
9. Pravilnik o kvalitetu sirovog mleka (Sl. glasnik RS, 106/2017).
10. Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama (Sl. list SRJ, br. 5/92, 11/92 – ispr. i 32/2002 i Sl. glasnik RS, br. 25/2010 –dr. pravilnik i 28/2011 – dr. pravilnik).
11. Council Regulation (EEC) No 2377/90 of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin.
12. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin.
13. Berruga, M. I., Noves, B., Molina, M. P., Roman, M., & Molina, A. (2008). Influence of cephalosporins on the coagulation time of yogurt made from ewes' milk. *International journal of dairy technology*, 61(4), 372-378.
14. Zanella, G. N., Mikcha, J. M. G., Bando, E., Siqueira, V. L. D., & Machinski Jr, M. (2010). Occurrence and antibiotic resistance of coliform bacteria and antimicrobial residues in pasteurized cow's milk from Brazil. *Journal of food protection*, 73(9), 1684-1687.
15. FDA (2015). Milk drug residue sampling survey. <https://www.fda.gov/media/91217/download>.
16. Obućinski, D., Soleša, D., Kučević, D., Prodanović, R., Tomaš Simin, M., Ljubojević Pelić, D., ... & Puvača, N. (2019). Upravljanje lipidnim profilom i oksidacijskim statusom kod krava holstein i simentaskе pasmine tijekom laktacije. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 69(2), 116-124.
17. Lago, A., Godden, S. M., Bey, R., Ruegg, P. L., & Leslie, K. (2011). The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *Journal of dairy science*, 94(9), 4441-4456.
18. Zhang, Y. D., Zheng, N., Han, R. W., Zheng, B. Q., Yu, Z. N., Li, S. L., ... & Wang, J. Q. (2014). Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, sulfamethazine and quinolones in pasteurized milk and UHT milk in China's market. *Food Control*, 36(1), 238-242.



---

**ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VI**  
**THEMATIC SESSION VI**

**Клинички преглед и  
зазимљавање пчела**

*Clinical examination and  
wintering of bees*

---





**КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И ЗАЗИМЉАВАЊЕ ПЧЕЛА**

**CLINICAL EXAMINATION AND WINTERING OF BEES**

*Зоран Станимировић, Марко Ристанић, Урош Главинић, Немања Јовановић,  
Елмин Тарић, Невенка Алексић, Јевросима Стевановић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Саставни део добре пчеларске праксе чине редовни клинички прегледи пчелињих заједница, које треба спроводити најмање два пута годишње. Пре клиничког прегледа заједница обавља се разговор са власником пчелињака и узимају анаместички подаци који пружају увид о стању у кошницама. Након тога се приступа општем прегледу пчелињака у целини, а потом и појединачном прегледу самих пчелињих заједница. Општи преглед пчелињака подразумева утврђивање локације пчелињака и његовог положаја у односу на саобраћајнице, индустријска постројења, складишта органског и неорганског отпада, али се процењује и близина и разноврсност пчелиње паше. Након тога, приступа се појединачном прегледу суспектних кошница, при чему се обавља адспекција спољашњости кошнице, затим отварање кошнице и детаљни преглед како одраслих пчела и легла, тако и делова кошница. При сваком прегледу, анализира се пчелиње легло, укључујући његову површину, изглед и квалитет, као и однос отвореног и затвореног легла. При прегледу одраслих пчела, прво треба проценити да ли је присутна матица и да ли нормално функционише, а преглед радилица треба да обухвати испитивање присуства морфолошких промена на њиховим телима, промена у њиховом понашању и узрасној структури. За очување здравља пчелињих заједница неопходно је поштовање свих принципа добре пчеларске праксе, што укључује правилно зазимљавање пчела. Припреме за правилно зазимљавање треба започети већ крајем јула након одузимања меда. Како би пчеле имале оптималне услове у зимским данима, у кошницама би требало обезбедити минималну залиху од 15 кг меда и 2-3 рама са пергом. Почетком августа треба спровести третман против пчелињег крпеља, али искључиво са регистрованим препаратима. Током септембра обавља се јесењи преглед кошница, у оквиру кога се утврђује здравствени статус, стање и спремност пчелињих заједница за зимовање. При овом прегледу је потребно утврдити јачину пчелиње заједнице, присуство и квалитет матице, али и количину и квалитет хране. Уколико пчеле немају довољну залиху хране, прихрана се мора завршити најкасније у првој половини септембра. Најбоље је да се пчелиња заједница зазими на полифлорном (ливадском) меду.

**Кључне речи:** болести пчелињег легла, болести одраслих пчела, инапаратне инфекције, исхрана, клинички знаци болести

**Summary**

Being integral part of good beekeeping practice, regular clinical examinations of honey bee colonies should be carried out at least twice a year. Before clinical examination a conversation with the owner of the apiary takes place and taking an anamnesis that provides an insight into the condition in hives. Thereafter, a general inspection of the whole apiary is done, followed by the examination of individual colonies. The general overview of the apiary implies the determination of the apiary location and its position in relation to the roads, industrial plants, storage of organic and inorganic waste, and the proximity and diversity of bee pasture. After that, an examination of the susceptible hives is performed,

whereby the exterior of the hive is observed, then the hive is opened and both adult bees and the brood are evaluated in detail, and hive parts examined. At each inspection, bee brood is analyzed including its surface, appearance and quality, as well as the ratio of open and sealed brood. When adult bees are examined, it is first necessary to evaluate whether the queen is present and whether she works properly. The assessment of worker bees should include examination of the presence of morphological changes on their bodies, and alterations in their behavior and the proportion of young to old bees. To preserve the health of bee colonies, it is necessary to respect all the principles of good beekeeping practice, which includes proper overwintering of colonies. Preparations for proper overwintering should begin at the end of July after the honey harvest. To enable optimum conditions for bees during winter, the beekeeper should provide a minimum stock of 15 kg of honey and 2-3 frames with bee bread to each hive. At the beginning of August, treatment against bee mite should be carried out, but exclusively with registered preparations. During September, autumn inspection of hives is carried out, when the health status, condition and preparedness of the colonies for wintering is determined. During this inspection, it is necessary to determine the strength of the bee colony, the presence and quality of the queen, as well as the quantity and quality of the food storage. If the bees do not have enough food, supplemental feeding must be completed no later than the first half of September. It is best to overwinter the colonies on multifloral (meadow) honey.

**Key words:** honey bee brood diseases, adult bee diseases, inapparent infections, nutrition, clinical signs of diseases

Детаљни клинички преглед омогућава или непосредно утврђивање присуства узročника болести (превасходно када је у питању ектопаразит *Varroa destructor*) или уочавање симптома на основу којих се поставља сумња на присуство одређених обољења изазваних микроорганизмима (вирусима, бактеријама, гљивицама и др.) након чега се узима узорак ради обављања лабораторијских анализа и постављања тачне дијагнозе.

Важно је нагласити да се код пчела веома често јављају инапаратне инфекције, односно појава да су пчелиња друштва у почетним фазама болести без симптома обољења. Та друштва су заражена патогеним организмима (што се може открити само лабораторијским анализама правилно узетог узорка, при чему PCR дијагностика има велики значај), док при клиничком прегледу пчелиње друштво изгледа здраво. Наиме, јако друштво, захваљујући бројним механизмима одбране, успева неко време да маскира право стање унутар кошнице, јер функционише заправо као целина (тзв. „суперорганизам“), те компензује евентуалне промене које присутни патогени изазивају на нивоу јединки (ларви, лутки или одраслих пчела). Инапаратна фаза може потрајати дуже или краће, а након ње следи или фаза испољавања клиничких симптома или оздрављење, зависно од имуног капацитета самог друштва, али и од интервенције пчелара. Да би интервенција пчелара била благовремена и одговарајућа, неопходно је редовно узимање узорака и слање на анализе ради утврђивања присуства/одсуства вирусних, бактеријских, протозоарних и гљивичних патогена, екто- и ендопаразита.

**Поступак клиничког прегледа пчелињег друштва.** Редовни клинички прегледи пчелињих заједница су саставни део добре пчеларске праксе, јер представљају основу за постављање дијагнозе и спречавање губитака у пчеларству. Најмање два пута у току сезоне неопходно је обавити детаљан и правилан преглед свих кошница на пчелињаку у циљу раног откривања и правовременог реаговања у случају појаве знакова обољења. Особа која обавља клинички преглед мора бити ветеринар, а приликом обављања клиничког прегледа обавезно је присуство власника пчелињака и по потреби пчелара-прегледача одређеног од стране локалног удружења пчелара. Особе које обављају преглед или томе присуствују морају бити смирене, неутралног мириса и обучене у опрему светлије боје како не би дошло до узнемиравања пчела, јер ако су агресивне, оне могу довести до маскирања неких од знакова болести (Ћирковић и Станимировић, 2018).

Пре клиничког прегледа заједница обавља се разговор са власником пчелињака и узимају анаместички подаци који се односе на зазимљавање, тип пчелиње паше која је пчелама била на

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

располагању, али и све остале информације до којих је пчелар дошао приликом редовних прегледа. Након тога, приступа се општем прегледу пчелињака и појединачном прегледу пчелињих друштава. Општи преглед пчелињака подразумева испитивање локације пчелињака, положаја у односу на саобраћајнице, индустријска постројења, складишта органског и неорганског отпада, близину и разноврсност пчелиње паше (Станимировић и сар. 2000). Затим се приступа појединачном прегледу одређених кошница. Најпре се приступа адспекцији спољашности кошнице, при чему је најбитније запазити каква је активност пчела на улазу у кошницу (слаба или јака) и да ли има знакова (пре свега фекалних мрља) који би указивали на постојање дијареје. Након тога следи отварање кошнице и детаљни преглед друштва који обухвата адспекцију како одраслих пчела и легла, тако и делова кошнице. При отварању кошнице, делови се скидају почев од њеног врха, односно од горњих ка доњим елементима. Након скидања крова, препоручује се смиривање пчела благим надимљавањем полетаљке (лѐта) и преко збега. Затим се скида збег чиме се обезбеђује приступ рамовима са леглом и залихама хране. Независно са које стране се крене, сваки рам треба појединачно извадити и прегледати, а запажања забележити. На рамовима треба проценити квалитет и квантитет хране, присуство, површину и квалитет легла, однос отвореног и затвореног легла, као и стање рамова и саћа, све у циљу благовременог уочавања сваке појаве која указује на одступање од стања карактеристичног за здраво друштво (Stanimirović и сар. 2019).

При прегледу одраслих пчела, прво треба проценити да ли је присутна матица и, уколико јесте, треба проверити да ли нормално функционише. При томе не треба тражити матицу, него закључке о њој доносити на основу посредних знакова који недвосмислено указују на њено присуство и рад. Присуство свих ступњева развића радиличког легла и правилно положена јаја (по једно јаје у центру дна сатне ћелије) указује да у том друштву постоји матица која нормално функционише. На одсуство нормалне матице указују други посредни знаци, на пример поремећен однос младих и старих пчела. Наиме, ако се у рано пролеће у пчелињем друштву уочавају само старе радилице без радиличког подмлатка и присутно је знатно више трутовског легла и трутова него што треба, знамо да у друштву не постоји права матица, него је присутна тзв. трутуша или су се развиле лажне матице.

Клинички преглед одраслих пчела подразумева и испитивање присуства морфолошких промена на пчелама (закржљала крила, надут абдомен, промена боје и недостатак длачица итд.) и промена у њиховом понашању (дрхтање, немогућност летења, скупљање у гомиле итд.), али и промена у бројчаном односу младих и старих пчела. Наиме, ако је однос броја младих (тзв. кућних пчела) и старијих (тзв. излетница) поремећен, то може бити рани симптом неког обољења, на пример ноземозе или инфекције вирусом деформисаних крила (DWV) у време када још увек нема клиничких симптома наведених инфекција. Наиме, кућне пчеле оболеле од ноземозе или инфициране вирусом DWV превремено прелазе у стадијум излетница, чиме се популација кућних пчела знатно смањује. Проблем се временом погоршава јер превремено настале излетнице нису ефикасне као типичне (здраве) излетнице и имају краћи животни век (Natsopoulou и сар. 2016). Осим тога, ако су и лутке инфициране DWV вирусом, радилице које се из њих излежу имају смањену активност, повећан морталитет и никад не пређу у стадијум излетница (Annoscia и сар. 2015). Последично, смањује се популација излетница, чиме се опет изазива превремено регрутовање кућних пчела у излетнице, што онда драстично дестабилизује „демографију“ (узрастну структуру) пчелињег друштва (јер се број кућних пчела смањи толико да не могу да одгаје макар онолико легла колико је потребно да се надокнаде губици кућних пчела) и коначно, води његовом колапсу (Waggon, 2015). Поремећај узрастне структуре може бити и обрнут, у смислу да се примарно смањи број излетница, најчешће због њиховог тровања на паши, што даље доводи до ланчане реакције ремећења узрастне структуре исто као у претходном случају и, на крају, до истог исхода (колапса).

За разлику од симптома болести легла, симптоми већине болести одраслих пчела су дискутабилни. Ако је друштво довољно јако, индискретне промене на одраслим пчелама неће бити уочљиве. Уз то, клинички знаци различитих болести могу бити заједнички, односно неспецифични (немогућност летења, скраћење абдомена, дизентерија). Због тога је изузетно велики значај клиничких прегледа пчелињих заједница, нарочито у циљу превенције појаве колапса. Непознавање биолошких механизма функционисања пчелиње заједнице као суперорганизма,

неправилан клинички преглед и честе грешке при дијагностиковању могу довести до пропуста чије су последице непоправљиве. Пчелиње заједнице у интензивном пчеларењу морају бити слободне од америчке куге пчелињег легла, европске куге, акарозе, тропилелозе и етинозе (Ћирковић и Станимировић, 2018). У даљем тексту наведена су детаљнија упутства за откривање и тумачење најчешћих поремећаја и обољења у пчелињој заједници.

**Препознавање друштва без матице.** Уколико се након скидања збегаче пчеле које узнемирено трепере крилима, дижу абдомен и склоне су убадању, треба посумњати да је друштво без матице, односно да има лажну матицу. Лажне матице су заправо радилице које добију способност да легу јаја. Ова појава се дешава када друштво (из било ког разлога) остане без матице, отвореног легла и матичњака, па у њему неке од радилица бивају изабране и интензивније храњене квалитетнијом храном и почну полагати неоплођена јаја. Лажна матица у току живота може да положи 20-30 јаја, а у једном „отрутелом“ друштву више од половине пчела постају лажне матице. За разлику од нормалних, лажне матице полажу јаја свуда: у радиличке, трutowске, медишне, понекад и у ћелије саћа са поленом. Лажне матице се при прегледу друштва потврђују на основу следећих знакова: присуство већег броја јаја (обично 3-4) по сатној ћелији (јер у исту ћелију јаја полаже више лажних матица) и њихов неправилан положај у истој (јаја су или нагомилана на дну или су залепљена по зидовима ћелије, због кратког абдомена радилице-лажне матице).

Већи број јаја у истој сатној ћелији може се наћи и када је присутна добра, веома плодна матица (у нуклеусу, односно када јој пчеле радилице нису „обезбедиле“ довољно простора за полагање јаја), али су у том случају јаја положена правилно (на дну ћелије) и из њих се развијају и радилице и трутови, а пчеле су мирне. У случају присуства лажне матице, када се у ћелији са више јаја излегне првоположено, пчеле избацују остала јаја, хране ларву, а затим запечаћују ћелију испупченим поклопчићем и стварају тзв. грбаво легло. Из тог легла се излежу ситни, физиолошки слаби трутови. Инстинктивно, у циљу одржавања, отрутела друштва теже да одгоје своје матице изграђујући матичњаке на трутовим ларвама. Одмах након што се запечате, те ларве угињавају, а лажне матице уништавају матичњаке.

Међутим, може се десити да се у друштву појаве матице-трутуше. У том случају пчеле су спокојне због феромона које матица лучи. Трутуша је неоплођена матица која полаже само неоплођена јаја из којих се партеногенетски развијају трутови. Ако је у друштву присутна трутуша, јаја су положена исправно, по једно на средини дна сатне ћелије, али затворено легло има испупчене поклопце, који су знак да друштво нема нормалну матицу, те постојећу (трутушу) треба заменити, а рамове са њеним леглом претопити (Ћирковић и Станимировић, 2018).

**Компактно и шарено легло у кошници.** При сваком прегледу пчелар анализира пчелиње легло, његову површину, изглед и квалитет. Уколико је затворено легло компактно, односно поклопљене ћелије су збијене једна уз другу (нема празних или отворених ћелија које прекидају континуитет), а у делу са непоклопљеним леглом ларве су приближно исте старости и боје, закључујемо да је легло доброг квалитета, као и матица која га је положила. Међутим, могућа су одступања у изгледу легла у смислу да је на средишњим рамовима или прошарано празним ћелијама (без легла) или уочавамо легло различите старости (међу ћелијама са млађим непоклопљеним леглом може бити понека заостала сатна ћелија са старијим поклопљеним леглом, тј. легло садржи ларве и лутке различите старости). Ако се наведена ситуација уочи на свим рамовима са леглом, закључујемо да у том друштву постоји шарено (раштркано) легло и ту кошницу треба посебно обележити. У зависности од доба године, временских прилика, квалитета матице и саћа, наведени симптоми могу представљати основ за постављање сумње да је пчелиње друштво оболело од европске или америчке трулежи, да је инфицирано грињама рода *Tropilaelaps*, да је прехлађено или да постоји проблем са матицом. При томе, за доказивање постојања болести, неопходна је лабораторијска анализа адекватно узетих узорака из кошнице (Ћирковић и Станимировић, 2018).

**Дијагностиковање вароозе.** Варооза је ектопаразитска болест пчела и пчелињег легла изазвана пчелињим крпељом *Varroa destructor*. Недавно је доказано да се *V. destructor*, осим хемолимфом, у већој мери хране масним ткивом ларви, лутки и одраслих пчела (Ramsey и сар. 2019). Масно ткиво пчелама је неопходно за адекватно функционисање имуног система,

детоксификацију од пестицида и преживљавање током зимског периода, те је јасно зашто овај крпељ наноси велике директне штете пчелама и пчеларству. Ова акарина паразитира током целе године у пчелиној заједници. На одраслим пчелама паразитирају тзв. форетски облици који се ту задржавају око 7 дана пре уласка у непоклопљену ћелију са ларвом. Релативно мали број крпеља бива уклоњен са пчела радилица, при чему проценат отпалих крпеља на овај начин умногоме зависи од изражености неговатељског понашања пчела (Stanimirović и сар. 2002; 2005; Ћирковић, 2011).

У случају вароозе, клиничке промене постоје на свим члановима пчелиње заједнице и свим развојним ступњевима, односно на леглу и одраслим пчелама. Одрасле пчеле инфициране крпељима су исцрпљене, са знацима апатије и слабости и имају скраћен животни век, а најлакше их је препознати по томе што тешко полећу са лета, падају на земљу, врте се у круг и на крају угињавају испред кошнице (а често угињавају негде на паши и тада је то тешко уочити). Промене на леглу могу се најпре уочити на сатним поклопчићима, који постају улегнути и беличасте боје, док се инвадиране ларве могу пре времена испружити и измилети из ћелија и пасти на подњачу, због чега легло постаје раштркано. Инфициране лутке губе на тежини, те се као последица излежу ситне пчеле, често са деформитетима крила и других делова тела.

За детекцију *Varroa* крпеља и дијагностику вароозе постоји више метода, при чему избор зависи од трошкова, времена и степена поузданости који је потребан. По препорукама светске организације за здравље животиња (OIE, 2018a) користе се следеће методе: визуелни преглед одраслих пчела и/или легла, преглед отпада на улошку „анти-*Varroa*“ жичане подњаче, метода испирања сапуницом или алкохолом, метода роловања са етром, метода напращивања прах шећером. Ове методе су детаљно описане у раду Ћирковић и сар. (2013). У пракси се дијагноза вароозе најчешће поставља на основу налаза одраслих облика *V. destructor* на пчелама или на подњачи, односно на основу налаза развојних облика овог ектопаразита у поклопљеним сатним ћелијама трутовског и, ређе, радиличког легла. Ради провере стања инвадираности вароом на читавом пчелињаку, неопходно је узети узорак из 10% кошница. Контролне прегледе и третман против вароозе треба обавити у пролеће и јесен. Када је у питању третман, за сада не постоји метода која ће обезбедити потпуну елиминацију *V. destructor* из пчелиње заједнице. Ипак, број паразита може се држати под контролом применом биотехничких метода у комбинацији са хемијским средствима (синтетским акарицидима и алтернативним еколошким средствима). Било која метода појединачно примењена неће обезбедити адекватну контролу вароо, те је неопходно комбиновање метода ради међусобног допуњавања њихове ефикасности. Од алтернативних препарата (еколошки прихватљивих) на нашем тржишту, добру ефикасност испољава препарат „Argus Ras“ (Stanimirović и сар. 2017), мада он није регистрован као лек, већ као суплемент. Далеко бољи ефекат, према најновијим истраживањима, показује препарат на бази литијумових соли (пре свега литијум цитрата) који испуњава и све услове еколошке контроле вароо (Stanimirović и сар., 2019), с обзиром да после његове примене количина резидуа литијума у плодишном меду и саћу из плодишта не прелази природне нивое који се у меду крећу у опсегу 0.225 - 1.56 mg/100 g (Bogdanov, 2016). На основу тога Матични научни одбор за биотехнологију и пољопривреду МПНТР РС одобрио је „Ново техничко решење примењено на међународном нивоу (категорије М81) под називом „VaroLiTom - еколошка формулација суплемента за пчеле са изразитим акарицидним ефектом на пчелињег крпеља *Varroa destructor*“ и комерцијализован истоимени препарат „VaroLiTom“ произвођаћа „ЕВРОТОМ д.о.о“ из Руме.

**Дијагностиковање инфестације грињама *Tropilaelaps spp.*** За *Apis mellifera* патогене су врсте *Tropilaelaps clareae* и *T. mercedesae*. Реч је о ектопаразитима који се хране ларвама и луткама пчела, због чега настаје раштркано легло. Услед инфестације пчелињег друштва наведеним грињама, дешава се да младе пчеле угињавају или имају деформисана крила, те се тешко крећу око улаза у кошницу, а уочавају се и деформитети на одраслим пчелама. Развиће гриња *Tropilaelaps spp.* траје око 6-7 дана (од момента полагања јајета до ступња одрасле јединке), а ширење инфестације се обавља директним контактом или током манипулација пчелињим леглом. Дијагноза се поставља на основу налаза дугуљастих гриња смеђе-бордо боје (дужина тела до 1 мм, ширина до 0,5 мм), које се брзо крећу по саћу или прегледом отпада на подњачи (најбоље је уколико постоји лепљиви уложак на подњачи). Рана дијагноза поставља се отварањем

поклопљених сатних хелија, у којима се налазе развојни или одрасли облици гриња, а развијена је и PCR дијагностика (ОЕ, 2018b).

**Дијагностиковање инфестације малом кошничком бубом *Aethina tumida*.** *A. tumida* је тврдокрилац, паразит пчелињих друштава, али може да се храни и практично било каквом храном. Реч је о врсти која потиче из Африке, али се проширила у САД, Египат, Канаду, Аустралију, па и у Европу (Португалија, Италија). И ларве и одрасли облици хране се пчелињим леглом, поленом и медом. Женке полажу јаја у кошници, ларва се након излегања храни у кошници, а затим је напушта је да би се улуткала на тлу. Одрасли инсекти траже нове кошнице и при томе се брзо шире, јер могу да лете неколико километара даље од места где су настали. Ширењу инфестације погодује топло и влажно време. У случају присуства веома великог броја ових тврдокрилаца, пчеле могу да напусте кошницу. Дијагноза се поставља индиректно, на основу штета насталих у кошници, или на основу налаза јаја, ларви и одраслих јединки *A. tumida*. Рана дијагноза може се поставити отварањем кошнице и налазом етина (одрасле јединке су димензија око 5x3 мм) испод поклопаца, на подјачи или скривених у саћу (нарочито периферном). Дефинитивна дијагноза поставља се након доношења узорка у лабораторију и прегледа стереомикроскопом. Међутим, недавно је развијена је и *real-time* PCR метода која омогућава да се анализом радилица поуздано утврди присуство *A. tumida* у кошници, те се препоручује за рутински надзор кошница у високоризичним подручјима (Ouessou Idrissou и сар. 2018).

**Дијагностиковање ноземозе.** Ноземозу изазивају врсте микроспоридија рода *Nosema*, при чему *N. ceranae* доминира у већини држава укључујући Србију и све земље из окружења (Stevanović и сар. 2011, 2013, 2016), а *N. apis* преовладава само у северним регионима Европе (Forsgren и Fries, 2013). До недавно се сматрало да узрочници ноземозе паразитирају искључиво у одраслим пчелама, те да новоизлежене пчеле не могу бити инфициране ноземом (тј. да су „*Nosema-free*“), али недавно је откривено да је *N. ceranae* паразит који у друштвима медоносних пчела може инфицирати све ступњеве развоја пчела, што је од великог значаја за ветерину, односно епизоотиологију ноземозе (Urbieta-Magro и сар. 2019). Сумња се поставља на основу клиничког прегледа, а дијагноза на основу резултата лабораторијских анализа (микроскопских и молекуларно-генетичких). Клиничку слику ноземозе карактерише дизентерија са последичним фекалним мрљама браон боје по рамовима, саћу и предњим странама тела кошнице. Дизентерија је изузетно битан чинилац у процесу ширења инфекције јер се њеном појавом узрочник инфекције ефикасније преноси. Промене у виду фекалних мрља које се могу приметити на сатношама и површини тела кошница, дуго су се сматрале специфичним знаком инфекције са *N. apis* у пролеће и јесен, међутим, наша истраживања показују појаву идентичних промена код инфекције са *N. ceranae* током читаве сезоне (Stevanović и сар. 2013). Промене на нивоу друштава одражавају се и кроз смањење продуктивности и слабљење развоја друштва са последичном депопулацијом, што заједно са скраћењем животног века пчела код тешко инфицираних друштава може довести до губитка друштва. Промене на индивидуалном нивоу су промене у понашању радилица, које се манифестују кроз њихово дрхтање, немогућност летења и последично гомилање пчела у трави испред кошница (ОЕ, 2013). Утврђивање присуства узрочника ноземозе обавља се детекцијом спора у мацерату пчелињих абдомена применом светлосног микроскопа при увећању 400x, док се путем анализе DNK обавља истовремена детекција и специјска идентификација *N. apis* / *N. ceranae* (Stevanović и сар. 2011; ОЕ, 2013). У терапији ноземозе јако дуго се као лек избора препоручивао фумагилин. Међутим, у Србији и многим другим земљама не постоји регистровани препарат на бази фумагилина, те се прибегава алтернативним средствима, пре свега суплементима од којих најбоље ефекте дају „*Nozevit*“, „*BeeWell amino plus*“, „*B+*“ и „*Medenko forte*“ (Plak Gajger и сар. 2009; Glavinic и сар. 2017; Jovanović и сар. 2019). Императив у борби против ноземозе представља спровођење хигијенско-санитарних мера: дезинфекција и опаљивање кошница, рамова и друге опреме; топљење саћа из заражених друштава на температурама стерилизације; уклањање влаге из кошница; исхрана друштва медом и поленом и, ако је могуће, увођење младе оплођене матице.

**Детекција пчелињих трипанозома.** У новије време, разматра се претпоставка да су трипанозоме које паразитирају код пчела (*Crithidia mellificaе* и *Lotmaria passim*) могући узроци губитка пчелињих друштава (Williams и сар. 2019). Корелација између инфекције трипанозомама и угинућа пчелињих друштава забележена је у Америци, Белгији и Шпанији. Значајно је и откриће

да је вероватноћа да пчелиње друштво угине током зиме већа уколико је истовремено инфицирано трипанозомама и микроспоридијама *Nosema ceranae*, на основу чега се сматра да ови ендопаразити имају негативно синергистичко дејство (Ravoet и сар. 2013). Утврђен је један од механизма негативног дејства истовремене инфекције овим ендопаразитима, а то је њихово супресивно деловање на ћелијски и хуморални имуни одговор домаћина, с обзиром да у великој мери ремете транскрипцију гена значајних како за локални, тако и за системски имунитет медоносне пчеле (Ravoet и сар. 2013). *C. mellificaе* је описана пре више од пет деценија (Langridge и McGhee, 1967) и сматрала се превалентном код медоносне пчеле широм света. Друга, новоописана врста *Lotmaria passim* Schwarz, 2014 (Schwarz и сар. 2015) је недавно описана и након тога је убрзо утврђено да она преовлађује код *A. mellifera*. Наиме, након успостављања рутинске молекуларно-генетичке методе за специјску идентификацију и разликовање *C. mellificaе* и *L. passim* (Stevanovic и сар. 2016), утврђено је да је већина трипанозома раније налажених код пчела (у Америци, Кини, Јапану, Швајцарској, Шпанији и Турској), погрешно означавана као *C. mellificaе*, јер се заправо радило о *L. passim*. Све анализе које су након тога спроведене, потврдиле су да је *L. passim* доминантна трипанозоматида код *A. mellifera* (Stevanovic и сар. 2016; Arismendi и сар. 2016; Williams и сар. 2019). Када је реч о ситуацији у нашој земљи, обављена је ретроспективна анализа узорака који су у лабораторију Катедре за биологију примљени у периоду 2007-2015 и то помоћу прајмера специфичних за врсту и PCR методологије осмишљене и публиковане од стране Stevanovic и сар. (2016). У 62,3% анализираних узорка потврђено је присуство врсте *L. passim*, док *C. mellificaе* није детектована ни у једном узорку. Интересантно је да је већина узорака (просечно 60,5% за период 2007-2015) била ко-инфицирана са *N. ceranae* и *L. passim*. У наредном истраживању везаном за ове ендопаразите пчела у Србији, Vejnovic и сар. (2018) утврдили су да инфекције *L. passim* и *N. ceranae* показују сличну годишњу динамику, као и сличну сезоналност (врхунац инфекције обема врстама забележен је током зиме, а најнижи ниво током лета, односно у јулу, када је у нашој земљи највиша амбијентална температура). Међутим, потребна су даља истраживања да би се прецизно утврдило које су последице лотмариозе, односно паразитизма трипанозоме *L. passim* (самостално и при ко-инфекцији са *N. ceranae*) на здравље пчела и виталност пчелиње заједнице.

**Дијагностиковање америчке трулежи пчелињег легла.** Америчка трулеж је заразно бактеријско обољење пчелињег легла. Почиње и одржава се као ензоотија, али као веома контагиозна, временом доводи до инфицирања читавог пчелињака и пчелињака у окружењу, те може достићи размере панзоотије. Америчка трулеж се може пренети на друга друштва преко ектопаразита *V. destructor*, лептира восковог мољца, инфицираног саћа, меда и инфициране пчеларске опреме, односно прибора. Сумња на ову болест је обавезна за пријављивање у нашој, као и у земљама Европске уније. Изазивач обољења је *Penibacillus larvae*, грам-позитивна спорогена бактерија која се јавља у два облика, вегетативној (у форми штапића-бацила) и спорогеној (у форми непокретних, изузетно отпорних спора). До инфекције долази ингестијом спора које се могу наћи у полену, меду, перги и унутрашњости кошнице, а ту доспевају дисперзијом инфективног материјала из угинулих ларви и сасушених красти. Клиничка слика америчке трулежи подразумева искључиво промене на леглу. Један од првих знакова при отварању кошнице најчешће је непријатан, оштар мирис који се шири из рамова са леглом. Пажљивим клиничким прегледом затвореног легла могу се уочити промене боје, конфигурације и интегритета сатних поклопаца због чега легло изгледа раштркано. Воштани поклопци су тамнији него у случају здравог легла и најчешће долази до њиховог улегнућа и перфорације. Након угинућа у ћелији, ларва мења боју и конзистенцију, од бисерно беле, преко светло браон до растељивог садржаја боје чоколаде. Након дужег времена (некада је потребно да прође чак 2 месеца) ларва се осуши и остаје на дну ћелије у виду сасушене красте (De Graaf и сар. 2013). Промене на поклопцима легла дају повод за додатно испитивање применом *ropiness* теста, који подразумева увлачење дрвеног штапића (палидрвца или чачкалице) у унутрашњост затворене ћелије. Уколико се при томе могу извући дуге растељиве нити боје чоколаде, може се основано сумњати на присуство америчке трулежи, али се сигурна дијагноза добија у лабораторији анализом послатог инфективног материјала (парчета саћа са оболелим леглом димензија 10x10cm или 10x15cm увијеног у обичан папир). Пчелиња заједница се проглашава зараженом ако се

клиничким прегледом утврде промене карактеристичне за болест и лабораторијским испитивањем утврде споре *P. larvae*. У тој ситуацији, надлежни ветеринарски инспектор доноси решење о уништавању (спаљивању) заражених пчелињих заједница јер лечење ове болести није дозвољено (осим у неким земљама, на пример Канади и САД), зато што антибиотици (окситетрацилин и тилозин) који делују на *P. larvae* остављају резидуе у пчелињим производима. Након спаљивања, приступа се детаљном прегледу свих пчелињих друштава у пречнику од 1,5 км од уништеног. Редовним и темељним клиничким прегледом кошница, добром способношћу за препознавање клиничких симптома болести и правилном бригом можемо превентивати настанак и ширење болести.

**Дијагностиковање европске трулежи пчелињег легла.** Европска трулеж је озбиљна болест пчелињег легла коју изазива грам-позитивна бактерија *Melissococcus plutonius* која, за разлику од узročника америчке трулежи, не образује споре. Болест се преноси контаминираним храном, пчеларским алатом или опремом. При клиничком прегледу, на европску трулеж треба посумњати уколико легло није компактно (него су отворене и поклопљене сатне ћелије разбацане без икаквог реда), младе угинуле ларве су провидне, са видљивим трахејама и залепљене за дна сатних ћелија, док су угинуле старе ларве измештене, у смислу да су или увијене уз зидове сатних ћелија или испружене и вире ван ћелије. У раним стадијумима инфициране ларве су беле до светло жуте и најчешће већ тада губе сегментацију; са напредовањем болести, ларве постају браон до сиво-црне и некад се осуше и од њих остаје само тамна краста која је мекша него у случају америчке трулежи (Forsgren и сар. 2013).

У оболелом леглу могу се наћи ларве у различитим фазама распадања, некада и у ћелијама које нису поклопљене. И у овом случају, материјал за преглед је део промењеног саћа (са видљивим симптомима) површине 10x10cm или 10x15cm. У случају европске трулежи из оболелог легла се шири непријатан мирис који је киселкаст и блажи него код америчке трулежи. Специфична терапија у случају европске трулежи не постоји јер нису дозвољени антибиотици, те се препоручују апитехичке мере, у смислу замене матице, као и пребацивање пчела у чисте и дезинфиковане кошнице са новим саћем. Европска трулеж у неким крајевима може представљати већи проблем од америчке трулежи, јер се често јавља у тренутку када друштва доживљавају врхунац у развоју.

**Трубасто легло** се јавља код слабих пчелињих друштава, на пример након додавања нових рамова са сатним основама у које се угнездио восков мољца. То легло се не сматра отрутелим, јер се из њега развијају и радилице и трутови. Сатне ћелије добијају трубаст изглед јер у њима ларве воштаног мољца стално узнемиравају пчелиње ларве које се због тога повлаче пузећи уз зид сатне ћелије навише. Пчеле надграђују те воштане ћелије, које незапечаћене штрче изнад осталих ћелија, а кроз отвор трубастих ћелија се могу видети лутке. Из оваквих сатних ћелија излежу се пчеле патуљци и пчеле са аномалијама. Феномен трубастог легла, као и феномен “ћелаваог легла” уско су повезани са сигурном дијагностиком восковог мољца.

**Вирусне инфекције пчела.** Постављање дијагнозе вирусних инфекција само на основу клиничких симптома је прилично тешко. Разлог томе је инапаратност инфекције, где снага друштва маскира промене на пчелама и леглу. Када је имуни систем пчелињег друштва компромитован, долази до клиничких манифестација вирусних инфекција. Промене које се могу запазити, у већини случајева нису патогномоничне за сваки од поменутих вируса, мада на основу промена на пчелама у виду дрхтања, скупљања у гомиле, деформитета крила, односно промена на леглу у виду промена у конфигурацији и интегритету поклопаца, угинућу и врећастом изгледу ларви и променама на матичњацима, можемо основано сумњати да је у питању вирусна или мултипла вирусна инфекција пчелиње заједнице. У таквим случајевима, пчеле и легло се адекватно узоркују и шаљу у лабораторију на испитивање присуства вируса у материјалу.

На основу тежине последица вирусних инфекција по пчелиње друштво, следећи вируси имају потенцијал да доведу до озбиљнијих промена на нивоу појединачних пчела и пчелињег друштва: вируси деформисаних крила (DWV-A и DWV-B), *V. destructor* вирус-1 (VDV-1), вирус акутне парализе пчела (ABPV), кашмирски пчелињи вирус (KBV), израелски вирус акутне парализе пчела (IAPV), вирус мешинастог легла (SBV), вирус црних матичњака (BQCV) и вирус хроничне парализе пчела (CBPV), при чему је за DWV, VDV-1, ABPV, KBV и IAPV забележена



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

већа преваленција и вирулентност у односу на остале, што је повезано са њиховим преношењем путем биолошког вектора *V. destructor* (McMenamin и Genersch, 2015).

За потребе детекције присуства RNK било ког пчелињег вируса користе се савремени молекуларно-генетички поступци (изолација RNK и RT-PCR), док се за квантификацију степена инфекције користи real-time PCR (Ćirković и сар. 2018). Борба против пчелињих вируса огледа се у превентиви која подразумева правилну технологију пчеларења, мониторинг здравља пчела и сузбијање пчелињег крпеља *V. destructor*, који је биолошки и механички вектор пчелињих вируса. Недавно су објављени резултати скрининга пчелињих вируса у Србији и анализе повезаности јачине друштава, појаве вируса и степена вирусне инфекције (Ćirković и сар. 2018).

У новије време молекуларно-генетичким анализама (RT-PCR) је утврђено да постоји значајна разлика у заступљености узročника пчелињих болести у зависности од типа пчеларења, комерцијалог и традиционалног (у тзв. *трмка* кошницама). Тако је за вирусе утврђено да су, како у леглу (SBV), тако и у одраслим пчелама (DWV, CBPV и ABPV) статистички значајно више заступљени у комерцијално гајеним пчелињим друштвима него у онима која су традиционално гајена (Tašić и сар. 2019). DNK *M. plutonius* није детектована ни у једном узорку (независно од типа пчеларења), док су DNK *Penibacillus larvae* и DNK *Ascosphaera apis* утврђене само узорцима из комерцијалних друштава, што значи да је од узročника болести легла у у трмкама био присутан само SBV (Tašić и сар. 2019). Није било ниједног комерцијално гајеног друштва у коме ниједан узročник није детектован, док је заступљеност таквих друштава међу традиционално гајеним била веома висока (66.66%). На основу свих наведених резултата закључено је да традиционалан начин пчеларења обезбеђује значајно боље услове за одржавање здравља пчела и њихову отпорност на патогене (Tašić и сар. 2019).

**Зазимљавање.** Да би се адекватно обавило зазимљавање пчелињих друштава потребно је започети припреме већ крајем јула, после вртања меда, када треба у кошници обезбедити минималну залиху од 15 кг меда и 2-3 рама са пергом, истовремено водећи рачуна да се пчелињем друштву остави довољно слободног простора, тј. да се не блокира легло. Почетком августа, одмах после скидања медних наставака, пчеле треба третирати против варое. Пре зазимљавања пчелињих заједница треба обавити јесењи преглед на болести пчела, којим се процењује стање и спремност пчелињих заједница за зимовање. Уколико пчеле немају довољну залиху хране, прихрана се мора завршити до краја августа, најкасије до половине септембра због присуства летњих пчела (Stanimirović и сар. 2019). Касније прихрањивање доноси више штете него користи, јер неговање касног легла исцрпљује пчеле које ће зимовати, а уколико није обављена замена матице, старе матице већ крајем септембра престају са полагањем, те прихрана нема ефекта (Stanimirović и сар. 2019). Код допуне залиха хране за зиму, предност треба дати природној храни пчела, тј. меду. При томе, треба водити рачуна о врсти меда. Није добро зазимити пчеле на меду који брзо кристалише (као што је мед од уљане репице или питомог кестена), нити на медљиковцу (који садржи веће количине несварљивих материја које се зими нагомилавају у задњем цреву пчела и могу изазвати затвор, труљење и на крају јак пролив, а у тежим случајевима угинуће целе пчелиње заједнице). Зато је најбоље зазимити пчеле на полифлорном (ливадском) меду који има најбољи нутритивни састав и не кристалише брзо (Stanimirović и сар. 2019).

Главни јесењи преглед пчелињих заједница треба урадити када је матица престала са полагањем јаја, а последње легло је изведено или су остале јако мале површине поклопљеног легла на неким средишњим рамовима. При том прегледу, потребно је утврдити јачину пчелиње заједнице, присутност матице, количину и квалитет хране. Када се утврди да нема више легла, за време топлог и сунчаног дана приступа се једнократно третирању пчела против варое, затим из наставака треба уклонити крајње рамове ради сужавања плодишта и боље аерације кошнице, уз истовремено сужавање лета, а у циљу спречавања уласка мишева, волукарица и других штеточина у кошницу. Пчелама не треба давати ни „зимске погаче”, нити масне погаче са антибиотцима, под условом да је све остало урађено како треба, јер су пчелама од тада потребни само заштита од ветра, доста чистог ваздуха и мир. Заштита од ветра је готово неопходна, јер хладни и снажни удари ветра продиру кроз лето и пукотине незаштићене кошнице и нагло расхлађују зимско клубе, које нема способност брзе и адекватне реакције у кратком периоду, па је надокнада изгубљене топлоте слаба и спора, што може имати и фатални исход по друштво. Осим тога, ветрови, посебно

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

источни, могу кроз отворе кошнице нанети снег који каснијим топљењем ствара велику влажност, што неповољно утиче на нормално зимовање пчела. Због тога, уколико пчелињак нема природне заштите од ветра, кошнице се могу заштитити појединачно, на пример обавијањем терпапиром. Пчелама пријају зимски топли сунчеви зраци, па лета кошнице треба окренути југу или југозападу, ради дефекације. Пчеле у клубету релативно добро и лако подносе велику хладноћу. Зато утопљавању кошнице не треба придавати велику важност, али га не треба ни потцењивати, већ је неопходно обавити добру изолацију кошнице (Stanimirović и сар., 2000). Изолациони материјал (хартију или стиропор) неопходно је поставити преко унутрашњег покривача да успори расхлађивање топлот и влажног ваздушног омотача око пчелињег гнезда, да га апсорбује, или пропусти ван кошнице, пре него што се кондензује у простору око клубета пчела и тако га учини још хладнијим. Влага која се ствара кондензацијом паре је велика опасност за узимљену пчелињу заједницу. У савременом пчеларству за зимску аерацију кошнице најчешће се користи нормално отворено веће доње и мање горње лето. Уколико је пчелињак постављен у долинама поред река, где је влажност спољашњег ваздуха посебно повећана, уместо горњег лета, боље је одвод паре из кошнице регулисати кроз збег преко хигроскопног изолационог материјала (хартија, односно новине).

Зимовање пчела обухвата два периода: период зимовања у клубету без легла, кад пчеле одржавају просечну температуру 19-21°C у центру клубета где је матица, и период зимовања пчела у клубету са гајеним леглом, када температура мора имати просечну вредност 33,5-34,5°C. Овај други период настаје кад се дани продуже (већ у јануару) и најкритичнији је у развоју пчелиње заједнице, јер током њега у најтежим условима почиње нов живот. Колико ће пчелиња заједница бити у могућности да одржи константну температуру за развој првог јануарског легла, зависи пре свега од снаге пчелиње заједнице, резерви и квалитета хране. Наиме, у овом периоду се нарочито испољава значај врсте хране на којој су пчеле зазимљене. Природни полифлорни мед са раствореним поленом у плодишним рамовима је најбоље избалансирана енергетско-протеинска храна за презимљавање и развој зимског легла (Stanimirović и сар. 2019). За разлику од меда, шећер је искључиво енергетска храна који пчелама буди апетит и глад (енергетски стрес) и нагони их да се хране све више и више, што им даје вишак енергије коју немају где да истроше (обзиром да је зима), тако да вишак енергије избацују у виду топлоте, те долази до повећања температуре клубета и његовог ширења (настаје „растресито” или „меко клубе”). Осим тога, пчеле које су у јесен храњене шећерним сирупом, принуђене су да у току зиме своје ново потомство хране шећером, па су тако одгајене младе пчеле мање способне од пчела одгајених на природном меду, а самим тим и мање рентабилне. Због тога треба избегавати јесењу прихрану пчела шећерним сирупом, а поготову додавање шећерних погача са појавом првог легла, јер за прераду сахарозе пчеле троше много више енергије него за прераду меда и зато их не треба оптерећивати још и прерадом сахарозе у периоду који је иначе за њих најтежи (Stanimirović и сар. 2019).

Конечно, ради постизања најбољих резултата у гајењу пчела, спречавања колапса, односно превенирања обољења и очувања доброг здравља и кондиције пчела препоручује се (Stanimirović и сар. 2019):

- Придржавање принципа добре пчеларске праксе и примена хигијенско-санитарних мера, како на пчелињаку, тако и у кошницама и у објектима где се чува пчеларска опрема, материјал и пчелињи производи;
- Постављање пчелињака на места са довољно медоносног биља и чисте воде;
- Избегавање подручја на којима се интензивно користе пестициди, који, уколико су присутни у нектару и полену, доспевају у кошницу и нарушавају здравље пчела и остављају резидуе у пчелињим производима;
- Узгој здравих аутохтоних пчелињих друштава са младим и здравим матицама;
- Обезбеђивање довољне количине меда, полена и перге за презимљавање друштава;
- Преостали мед, полен и перга из друштава која су претрпела губитке не сме се користити за исхрану здравих друштава. Ако пчеле не обезбеде довољно хране, недостатак треба

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

надокнадити медно-шећерним сирупом, или шећерним сирупом са додатком суплемената, али најкасније до половине септембра због присуства летњих пчела;

• Имајући у виду да је пчеларење данас немогуће без акарицида којима се уклањају крпељи *Varroa destructor*, третман против варое треба да се обавља регистрованим препаратима у складу са упутством произвођача. Могу да се користе и комбинације препарата да би се повећала њихова ефикасност, али треба имати на уму њихове интеракције.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (МПНТР РС) за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

#### Литература:

1. Amoscia D, Del Piccolo F, Covre F, Nazzi F, 2015, Mite infestation during development alters the in-hive behaviour of adult honeybees, *Apidologie*, 46, 306–14.
2. Arismendi N, Bruna A, Zapata N, Vargas M, 2016, PCR-specific detection of recently described *Lotmaria passim* (Trypanosomatidae) in Chilean apiaries, *J Invertebr Pathol*, 134, 1–5.
3. Barron AB, 2015, Death of the bee hive: understanding the failure of an insect society, *Curr Opin Insect Sci*, 10, 45–50.
4. Bogdanov S, 2011, Honey composition, In: Bogdanov S, editor, *The honey book*, 27–36. [www.bee-hexagon.net/honey/](http://www.bee-hexagon.net/honey/)
5. Ђурковић Д, 2011, Испитивање ефекта шећера у праху на степен инвадираности пчела са *Varroa destructor*, докторска дисертација, Универзитет у Београду.
6. Ђурковић Д, Симеуновић П, Милошевић И, Гајић Б, Станишић ЈБ, Станимировић З, 2013, Вароза – клиничка слика, дијагностика и терапија, Зборник радова и кратких садржаја, 24. Саветовање ветеринара Србије, Септ. 12-15, пп. 91-95. Златибор.
7. Ђурковић Д, Станимировић З (2018) Практикум из пчеларства, Универзитет у Новом Пазару, Нови Пазар, 1-241.
8. Ćirkovic D, Stevanovic J, Glavinic U, Aleksic N, Djuric S, Aleksic J et al., 2018, Honey bee viruses in Serbian colonies of different strength, *Peer J*, 6, e5887.
9. De Graaf DC, Alippi AM, Antúnez K, Aronstein KA, Budge G, De Koker D et al., 2013, Standard methods for American foulbrood research, In: Dietemann V, Ellis JD, Neumann P, editors, *The COLOSS BEEBOOK, Volume II: Standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research*, *J Apicult Res*, 52(1) <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.11>
10. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Lakic N i sar., 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*, *PLoS ONE*, 12, e0187726.
11. Forsgren E, Fries I, 2013, Temporal study of *Nosema* spp. in a cold climate, *Environ Microbiol Rep*, 5, 78–82.
12. Forsgren E, Budge GE, Charrière J-D, Hornitzky MAZ, 2013, Standard methods for European foulbrood research, In: Dietemann V, Ellis JD, Neumann P, editors, *The COLOSS BEEBOOK: Volume II: Standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research*, *J Apicult Res*, 52(1) <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.12>
13. Јовановић Н, Главинић У, Вејновић Б, Млађан В, Станимировић З, 2019, Протективни ефеката суплемента В+ у инфекцији са ноземом, *Српски пчелар*, 3, 153-6.
14. McMenamin AJ, Genssch E, 2015, Honey bee colony losses and associated viruses, *Curr Opin Insect Sci*, 8, 121–9.
15. Natsopoulou ME, McMahon DP, Paxton RJ, 2016, Parasites modulate within-colony activity and accelerate the temporal polyethism schedule of a social insect, the honey bee, *Behav Ecol Sociobiol*, 70, 1019–31.
16. OIE, 2013, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.2.4. Nosemosis of honey bees, [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.02.04\\_NOSEMOSIS\\_FINAL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.02.04_NOSEMOSIS_FINAL.pdf)
17. OIE, 2018a, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.2.7. Varroosis of honey bees (infestation of honey bees with *Varroa* spp.), [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.02.07\\_VARROOSIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.02.07_VARROOSIS.pdf).
18. OIE, 2018b, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.2.6. Infestation of honey bees with *Tropilaelaps* spp. ([http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng-Health\\_standards/tahm/3.02.06\\_TROPILAEELAPS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng-Health_standards/tahm/3.02.06_TROPILAEELAPS.pdf)).
19. Ouessou Idrissou F, Huang Q, Yañez O, Akinwande K, Neumann P, 2018, PCR diagnosis of small hive beetles, *Insects*, 9, 24.
20. Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, 2019, *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph, *P Natl Acad Sci USA*, 116, 1792-801.
21. Ravoet J, Maharramov J, Meeus I,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

- De Smet L, Wenseleers T, Smaghe G et al., 2013, Comprehensive bee pathogen screening in Belgium reveals *Crithidia mellifica* as a new contributory factor to winter mortality, *PLoS ONE*, 8, e72443. 22. Schwarz RS, Bauchan G, Murphy C, Ravoet J, de Graaf DC, Evans JD, 2015, Characterization of two species of Trypanosomatidae from the honey bee *Apis mellifera*: *Crithidia mellifica* Langridge and McGhee, 1967 and *Lotmaria passim* n. gen., n. sp., *J Eukaryot Microbiol* 62, 567–83. <http://dx.doi.org/10.1111/jeu.12209>. 23. Станимировић З, Солдатовић Б, Вучинић М, 2000, Биологија пчела. Медоносна пчела. Факултет ветеринарске медицине, Медицинска књига-Медицинске комуникације, Београд. 24. Stanimirovic Z, Pejovic D, Stevanovic J, Vucinic M, Mirilovic M, 2002, Investigations of hygienic behaviour and disease resistance in organic beekeeping of two honeybee ecogeographic varieties from Serbia, *Acta Vet-Beograd*, 52, 169-80. 25. Stanimirovic Z, Stevanovic J, Cirkovic D, 2005, Behavioural defenses of the honey bee ecotype from Sjenica – Pester against *Varroa destructor*, *Acta Vet-Beograd*, 55, 69-82. 26. Stanimirović Z, Glavinic U, Lakic N, Radovic D, Ristanic M, Taric E et al., 2017, Efficacy of plant-derived formulation “Argus Ras” in *Varroa destructor* control, *Acta Vet-Beograd*, 67, 191-200. 27. Stanimirović Z, Glavinic U, Ristanic M, Aleksić N, Jovanović N, Vejnović B et al., 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses, *Acta Vet-Beograd*, 69, 1-31. 28. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Genersch E, Kovacevic RS, Ljubenkovic J, Radakovic M et al., 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. 29. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I et al., 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies, *Apidologie*, 44, 522-36. 30. Stevanovic J, Schwarz RS, Vejnovic B, Evans JD, Irwin RE, Glavinic U et al., 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: a nine-year survey (2007-2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees, *J Invertebr Pathol*, 139, 6-11. 31. Taric E, Glavinic U, Stevanovic J, Vejnovic B, Aleksić N, Dimitrijević V et al., 2019, Occurrence of honey bee (*Apis mellifera* L.) pathogens in commercial and traditional hives, *J Apicult Res*, 58, 433-43. 32. Tlak Gajger I, Vugrek O, Pinter L, Petrinc Z, 2009, “Nozevit patties” treatment of honey bees (*Apis mellifera*) for the control of *Nosema ceranae* disease, *Am Bee J*, 149, 1053-6. 33. Urbietamagro A, Higes M, Meana A, Gómez-Moracho T, Rodríguez-García C, Barrios L et al., 2019, The levels of natural *Nosema* spp. infection in *Apis mellifera iberiensis* brood stages, *Int J Parasitol* 49, 657-67. 34. Vejnovic B, Stevanovic J, Schwarz RS, Aleksić N, Mirilovic M, Jovanovic NM et al., 2018, Quantitative PCR assessment of *Lotmaria passim* in *Apis mellifera* colonies co-infected naturally with *Nosema ceranae*, *J Invertebr Pathol*, 151, 76-81. 35. Williams MKF, Tripodi AD, Szalanski AL, 2019, Molecular survey for the honey bee (*Apis mellifera* L.) trypanosome parasites *Crithidia mellifica* and *Lotmaria passim*, *J Apicult Res*, 58, 553-8.

МОНИТОРИНГ ЗИМСКИН ГУБИТАКА ПЧЕЛИЊИХ ЗАЈЕДНИЦА  
У СРБИЈИ ПУТЕМ *COLOSS* АНКЕТЕ

*MONITORING OF WINTER COLONY LOSSES  
IN SERBIA THROUGH THE COLOSS SURVEY*

*Јевросима Стевановић, Немања Јовановић, Бранислав Вејновић, Елмин Тарић,  
Урош Главинић, Невенка Алексић, Зоран Станимировић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

У Србији се од 2016. године спроводи анкета међународног удружења *COLOSS* чији је најважнији циљ превенција губитака пчела *Apis mellifera*. Анкета је анонимна и садржи 27 питања, од којих је 14 обавезних и 13 опционих. У обавезним питањима од пчелара се тражи број, локација и међусобна удаљеност пчелињака (ако их има више), број изгубљених друштава (класификованих на основу узрока губитка), информације о сељењу, медоносном биљу са ког су друштва имала значајан унос нектара, праћењу степена инфестираности пчелињим крпељима рода *Varroa* и спроведеним третманима у претходних годину дана. У овом раду наведени су најважнији резултати анкете за претходне три године, односно сезоне 2016/2017, 2017/2018 и 2018/2019. Наиме, на основу анкете, проценат угинулих пчелињих заједница у Србији је у сезони 2016/2017 износио 24,1%, у сезони 2017/2018 свега 7,4%, а у сезони 2018/2019 чак 31,4%. Пчелари најчешће нису знали разлог угинућа, а ређе су као узрок угинућа наводили проблеме са матицом и природне непогоде. Заступљеност селећих пчелара у Србији у сезони 2016/2017 била је занемарљива, док је у сезонама 2017/2018 и 2018/2019 била преко 50%. Није утврђена повезаност између типа паше и губитака пчелињих друштава. Утврђено је да већина пчелара прати степен инфестираности са *Varroa destructor* и спроводи третман неким од регистрованих синтетских акарицида или оксалном киселином. У раду је дискутовано о релевантности добијених података јер је одзив пчелара у Србији био мали (<1-2%).

**Кључне речи:** *COLOSS* анкета, релевантност података, зимски губици пчелињих друштава

**Summary**

From 2016 in Serbia the beekeepers have been asked to participate in the survey conducted by the international organisation *COLOSS*, whose most important goal is to prevent the losses of the honeybee *Apis mellifera*. The survey is anonymous and consists of 27 questions: 14 compulsory and 13 optional ones. The beekeepers are obliged to tell the number, location and distance between their apiaries (if they own more than one), the number of lost colonies (classified according to the causes of loss), information on migration, melliferous plants from which the colonies took in considerable quantities of nectar, monitoring of infestation levels with *Varroa* mites and treatments completed in the previous year. In the current paper, the most important results of the survey regarding the last three years, that is the seasons 2016/2017, 2017/2018 and 2018/2019, were presented. According to the survey, the percentage of dead bee colonies in Serbia in 2016/2017 was 24.1%, in 2017/2018 as low as 7.4%, but in 2018/2019 as high as 31.4%. Most frequently the beekeepers did not know the cause of the deaths, and less commonly they accused problems with queens and natural disasters. The ratio of migratory beekeepers in Serbia in 2016/2017 was negligible, whilst in 2017/2018 and 2018/2019 was beyond 50%. No relation between the type of forage and bee colony losses was detected. It was revealed that the majority of beekeepers

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

monitor the levels of infestation with *Varroa destructor* and treat the bees with some of the registered synthetic acaricides or with oxalic acid. The relevance of the data obtained is discussed, given that the responsiveness of the beekeepers was low (<1-2%).

**Key words:** COLOSS survey, data relevance, winter losses of bee colonies

Гајење медоносне пчеле врсте *Apis mellifera* значајно је са еколошког и економског аспекта. У нашој земљи, економски аспект пчеларства некада се првенствено огледао у заради на пчелињим производима, пре свега меда. Међутим, по угледу на пчеларску праксу у многим другим земљама, гајење медоносне пчеле сада и у Србији налази економско оправдање у непосредном искоришћавању пчела као полинатора пољопривредних култура, чиме се значајно повећавају производни резултати у пољопривреди. Наиме, економска вредност медоносних пчела као произвођача меда је минорна у односу на њихов, како економски, тако и еколошки значај који постижу као полинатори гајених биљака и дивље флоре (De la Rua и сар., 2009). Нажалост, већ дуже од деценије, сведоци смо повећаних губитка гајених пчелињих друштава за које се, упркос бројним напорима истраживача, још увек се не зна тачан разлог (ревијално описано у Stanimirović и сар. 2019). Наиме, пошто ниједан фактор појединачно није потврђен као једини или примарни узрок овог феномена, у научном свету и даље важи став да се у основи губитака пчелињих друштава налази хронична изложеност мултиплим стресорима који међусобно интерагују или делују синергистички (патогени микроорганизми, паразити и штеточине пчела, изложеност пестицидима, смањена пчелиња паша и лоша пчеларска пракса). Због тога је 2008. године основан *COLOSS*, међународно непрофитно удружење чији назив представља акроним изведен од енглеских речи *COlony LOSSes* јер је превенција губитака пчела најважнији циљ удружења. Наведено удружење према актуелним подацима броји 1235 чланова из 95 земаља, а *COLOSS* анкету о губицима пчелињих заједница сваке године спроводе национални координатори у земљама које су заинтересоване за стање пчелињих заједница својих пчелара. Активности чланова *COLOSS* удружења базирају се на волонтерском раду научних радника и стручних лица (углавном биолога, ветеринара и агронома) који имају довољно искуства у истраживачком и педагошком раду, али искуство у гајењу пчела, те су квалификовани да резултате научних истраживања преносе пчеларима на терену, односно помогну им да те научне резултате искористе за решавање проблема у пчеларској пракси. Од 2016. године *COLOSS* анкета о губицима пчелињих заједница спроводи се и у Србији, а резултати се објављују у специјализованим међународним научним часописима (Brodtschneider и сар. 2018; Gray и сар. 2019) и стручним националним часописима из којих се информишу пчелари.

С обзиром да је потребно да се подаци о пчелињим друштвима сакупе након изимљавања, односно у периоду када пчелари могу да одговоре како су им пчеле презимеле, анкетање се стандардно спроводи у периоду фебруар-јун, а питања се односе на ситуацију у претходном периоду (од зазимљавања до изимљавања пчелињих друштава). Међутим, пре објављивања анкете, сваке године почетком фебруара чланови одбора за мониторинг губитака пчела састају се како би решили евентуалне примедбе и проблеме настале током претходног анкетања и на основу донешених одлука и закључака, анкета се коригује и допуњава, а затим дистрибуира националним координаторима за спровођење анкете.

Анкета се у Србији у првој години анкетања (за сезону 2016/2017) могла попунити само класично (на одштампаним примерцима подељеним на пчеларским скуповима). Међутим, тај начин анкетања није био ни ефикасан ни економичан (одговорило је мање од 1% пчелара, а трошкови штампе били су велики, тим пре ако се има у виду одсуство било какве финансијске подршке за штампање, путовања на скупове и друге облике дистрибуције папирне форме анкете. Због тога је већ од наредне године (за сезону 2017/2018) успостављена електронска верзија анкете (која је универзална за све државе чланице *COLOSS* удружења, с тим што се преводи на језик државе у којој се објављује). Електронска анкета на српском језику постављена је на сајту Савеза пчеларских организација Србије (СПОС) и Ветеринарске коморе Србије (ВКС), а линк за анкету дељен је преко друштвених мрежа. Међутим, обзиром да међу пчеларима има доста старијих

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

чланова који нису вични електронској комуникацији, руководство SPOS-а и уредништво њиховог часописа Српски пчелар, одлучило је да, поред електронске анкете, за сезону 2018/2019 пружи могућност попуњавања анкете и на класичан начин. То је остварено тако што је на одвојивом омоту часописа штампана *COLOSS* анкета, са упутством како пчелар треба да је попуни и пошаље поштом националном координатору.

Анкета је анонимна и садржи 27 питања, од којих је 14 обавезних и 13 опционих. Основни циљ анкете је мониторинг зимских губитака пчелињих заједница, те се у оквиру обавезних питања тражи број изгубљених друштава, али и мишљења пчелара о узроцима губитака, ради њихове класификације. У обавезна питања спадају и она у којима се од пчелара тражи број, локација и међусобна удаљеност његових пчелињака (ако их има више), информације о сељењу, медоносном биљу са ког су друштва имала значајан унос нектара, праћењу степена инфестираности пчелињим крпељима рода *Varroa* и спроведеним третманима у претходних годину дана.

Резултати анкете спроведене у Србији током претходне три сезоне показали су следеће: удео изгубљених пчелињих заједница у Србији у сезони 2016/2017 износио је у просеку 24,1%, што је било изнад просечне вредности губитака (20,9%) у 30 земаља које су те сезоне учествовале у анкети (Brodtschneider и сар., 2018). Значајно је рећи да је веома сличан проценат губитака те године утврђен и у суседним земљама које су учествовале у анкети, 23,1% у Хрватској и 22,5% у Македонији (Brodtschneider и сар. 2018), чији су губици такође били већи од просека, али далеко мањи од губитака у Немачкој у којој су те године забележена највећа угинућа (чак 44,5%). У сезони 2017/2018 просек губитака у Србији био је свега 7,4%, што је знатно мање како у односу на губитке у Србији претходне године, тако и односу на просечну вредност губитака (16,4%) у 36 земаља обухваћених анкетом те сезоне (Grau и сар., 2019), али и у односу на губитке у Хрватској (13,7%) и Македонији (13,2%). За сезону 2018/2019 анкета је показала да је чак 31,4% друштава страдало у Србији, док за друге државе немамо податке јер је до краја јуна трајало достављање података централној бази *COLOSS* удружења, тако да се тек крајем године очекује завршетак обраде података и објављивање како просечне вредности губитака, тако и осталих резултата.

У све три сезоне (2016/2017, 2017/2018 и 2018/2019) пчелари најчешће нису знали разлог угинућа, а ређе су као узрок угинућа наводили проблеме са матицом (у 6,6%, 1,7%, односно 1,6% случајева) и природне непогоде (код 2,9%, 0,6%, односно 0,2% друштава). Међутим, када је у питању ова сезона (2018/2019), 30 пчелара (14,7% од укупног броја анкетираних) у коментару је огорчено навело да су уверени да је узрок угинућа тровање агрохемикалијама (које по закону нису дозвољене и које су илегално коришћене), мада то анализе нису потврдиле.

Заступљеност селећих пчелара током 2016/2017 била је занемарљива, док је у сезонама 2017/2018 и 2018/2019 била преко 50%. Није утврђена повезаност између типа паше и губитака пчелињих друштава. Утврђено је да већина пчелара прати степен инфестираности са *Varroa destructor* и спроводи третман неким од регистрованих синтетских акарицида или оксалном киселином.

На крају, треба нагласити да је одзив пчелара био мали. Наиме, број пчелара у Србији креће се од 10.000 до 12.000, а број кошница од 1.100.000 до 1.300.000, али анкету за зиму 2016/2017 попунило је мање од 1% пчелара за мање од 1% кошница; за зиму 2017/2018 на анкету је одговорило 2% пчелара за 1,5% кошница, а слично се десило и када је у питању ова сезона 2018/2019, јер је анкету попунило 2% пчелара у чијем је поседу 1,3% кошница. Одзив испод 1% у неким земљама одржава се већ неколико година (Шпанији, Италији, Пољској, Украјини, Мексику, Француској, Немачкој, Алжиру), док је у нашој земљи већ од друге године анкетања одзив повећан на 2%, што је случај већ неколико година уназад у Словачкој, Чешкој, Хрватској и Естонији (Brodtschneider и сар. 2018; Grau и сар. 2019). Ипак, мишљења смо да наведени одзив није довољан за реално сагледавање проблема губитака пчела, поуздано утврђивање узрока губитака и коначно, за адекватно реаговање у циљу смањења губитака. Сматрамо да би велику помоћ могли да учине ветеринари, на пример анкетањем пчелара у априлу сваке године када они регуларно пријављују бројчано стање својих пчелињих друштава.

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

**Литература:**

1. Brodschneider R, Gray A, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière JD et al., 2018, Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey, *J Apicult Res*, 57, 452-7. 2. De la Rua P, Jaffe R, Dall'Olio R, Munoz I, Serrano J, 2009, Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees, *Apidologie*, 40, 263-84. 3. Gray A, Brodschneider R, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière JD et al., 2019, Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources, *J Apicult Res*, 58, 479-85. 4. Stanimirović Z, Glavinić U, Ristanić M, Aleksić N, Jovanović N, Vejnović B et al., 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses, *Acta Vet-Beograd*, 69, 1-31.



УЗОРКОВАЊЕ ПЧЕЛА И МОЛЕКУЛАРНО ГЕНЕТИЧКА ДИЈАГНОСТИКА ПЧЕЛИЊИХ БОЛЕСТИ

*BEE SAMPLING AND MOLECULAR GENETIC DIAGNOSTICS OF BEE DISEASES*

*Урош Главинић, Марко Ристанић, Немања Јовановић, Бранислав Вејновић,  
Милан Рајковић, Јевросима Стевановић, Зоран Станимировић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

У раду је приказано како се обавља правилно узорковање, паковање, чување и слање материјала за молекуларно генетичке анализе у циљу обезбеђивања адекватног типа узорка, количине материјала и спречавања њихове деградације и контаминације. Приказани су детаљи и појединости везане за најзначајније болести пчела. Осим тога истакнуте су предности савремених молекуларно генетичких анализа у дијагностици пчелињих болести у односу на традиционалне методе. Савремене лабораторијске анализе базирају се на детекцији и анализи ДНК и/или РНК патогена и пружају знатно већу осетљивост, специфичност и брзину у поређењу са конвенционалним дијагностичким методама. Користећи ове методе могуће је детектовати и инфекције ниског степена, инапаратне инфекције као и присуство ДНК свих развојних облика, који се конвенционалним методама не могу утврдити (нпр. вегетативне форме микроспоридија из рода *Nosema*). Могуће је пратити и одговор организма на инфекције, мерењем нивоа експресије гена, као и утицаја спроведене терапије на експресију тих гена. Молекуларне методе омогућавају и генотипизацију узрочника болести, као и квантификацију степена инфекције. Утврђивање врсте, соја, генотипа или хаплотипа пчелињих патогена значајно је због тога што између њих често постоје разлике у вируленцији, односно инфективности и патогеном потенцијалу. Традиционалним методама, није могуће обавити генотипизацију пчелињих патогена, стога је оваква едукација ветеринара од великог значаја како за дијагностиковање обољења, тако и за доношење одлуке о третману.

**Кључне речи:** болести пчела, ДНК/РНК анализе, PCR дијагностика, правилно узорковање

**Summary**

In this paper it is presented how to properly obtain, pack, store and transport samples for molecular genetic analyses in order to obtain an adequate sample type and quantity, and preserve them from degradation and contamination until analysis. In addition, specific details of sampling material for the diagnosis of the most important honey bee diseases. The advantages of contemporary molecular genetic analyses over traditional honey bee disease detection methods are highlighted. Modern laboratory analyses of honeybee disease are based on the detection and analysis of the pathogens' DNA and/or RNA detection; in comparison to conventional methods, they are more specific and sensitive and faster. With this method it is possible to detect low levels of infection, inapparent infections and DNA from all developmental stages of pathogens (e.g. vegetative forms of *Nosema* species). By measuring gene expression levels, it is possible to follow the host's response to infection as well as the influence of therapy on their expression. Molecular methods enable the genotyping and quantification of bee pathogens. Proper determination of bee pathogen species, strain, genotype or haplotype is important because they often vary in virulence level, that is in infectiveness and pathogenic potential. Given that traditional methods are incapable of genotyping bee pathogens, it is of key importance for veterinarians to

receive education of this type both for diagnostic purposes and for deciding on the treatment of a number of diseases.

**Key words:** bee diseases, DNA/RNA analyses, PCR diagnostics, proper sampling

Узимање узорка из пчелињих друштава обавља се ради анализе присуства пчелињих патогена и паразита, односно ради дијагностике вирусних, бактеријских, гљивичних, протозоарних и паразитских болести. Узорковање је битна фаза у процесу детекције, а потом и генотипизације патогена, како у случају болести легла, тако и случају болести одраслих пчела. Правилно узети узорци могу се анализирати на присуство ДНК и/или РНК свих пчелињих патогена, чиме је омогућено: 1) постављање дијагнозе; 2) праћења тока инфекције; 3) одређивања терапије; 4) праћење тока терапије. За узорковање треба користити чисту (неконтаминирану) опрему и прибор. Пошто се најчешће обавља узорковање из већег броја кошница, треба запамтити да је при сваком узорковању потребно користити чист и дезинфикован пчеларски нож, како не би дошло до унакрсне контаминације узорка.

Циљ узорковања је да се узме репрезентативни део пчелиње заједнице. Приликом узорковања пчелињег легла треба водити рачуна шта желимо да испитујемо, тј. да ли нам треба затворено или отворено легло. Даље, када је у питању испитивање присуства узрочника болести легла, веома је важно узети део легла на коме се виде патолошке промене. Уколико узорковање није правилно урађено, добијени резултати неће бити адекватни. Узорковање из кошница могу обављати ветеринари, ветеринарски инспектори или пчелари у присуству ветеринара.

#### ЕНДОПАРАЗИТИ ПЧЕЛА

**Микроспоридије рода *Nosema*.** Примарни разлог увођења PCR метода у дијагностици ноземозе био је специјска идентификација узрочника, односно разликовање врста *N. apis* и *N. ceranae*, обзиром да се то може поуздано обавити само анализом ДНК. Одређивање врсте ноземе постало је изузетно значајно након објављивања да *N. ceranae* може да доведе до колапса пчелињих друштава, нарочито у топлијим областима Европе, односно повезаности овог патогена са глобалним феноменом нестајања пчелињих заједница (Martín-Hernández и сар. 2007; Higes и сар. 2008, 2013, Stanimirovic и сар. 2019). Због тога су у Србији још 2006. године уведене PCR анализе пчела на Катедри за Биологију Факултета ветеринарске медицине. За идентификацију врсте ноземе најпре смо користили duplex-PCR методу (Martín-Hernández и сар. 2007) у којој се истовремено користе два пара прајмера специфичних за врсту, а затим је осмишљена и публикована и друга метода PCR-RFLP након дизајнирања нових прајмера (nos-16S-fw/rv), секвенционирања ампликона и утврђивања рестрикционих места која омогућавају диференцијацију *N. apis* од *N. ceranae* (Stevanović и сар. 2011). Резултати наших анализа неколико хиљада узорка показали су да је у Србији током последњих година присутна само врста *N. ceranae* (Stevanovic и сар. 2013; Glavinic и сар. 2013, 2014; Stanimirovic и сар. 2019) а међу узорцима сакупљеним од 2006. до 2008. године био је само један налаз *N. apis* у узорку из 2008. године (Stevanović и сар. 2011). У старим (архивским) узорцима пчела из периода 2000-2005, идентификована је искључиво *N. ceranae* што отвара питање да ли је *N. apis* икада била доминантна на територији Србије. Осим тога, *N. ceranae* апсолутно доминира и у земљама окружења, Македонији, Црној Гори, Босни и Херцеговини, Хрватској, Мађарској и Грчкој (Stevanovic и сар. 2011, 2013).

PCR методе у дијагностици ноземозе, осим за потребе идентификације врсте ноземе, имају предност и када је у питању детекција узрочника ноземозе. Традиционално, утврђивање присуства микроспоридија рода *Nosema* се обавља микроскопским прегледом суспензије добијене мацерирањем најмање 60 абдомена пчела излетница у 2-3 ml воде, што представља релативно мало разблажење и омогућава откривање 5% оболелих пчела са 95% сигурности (OIE, 2013). Међутим, прегледањем густог мацерата без префињавања споре могу да се "превиде" јер су маскиране разним контаминентима. Поузданост детекције се може повећати ако се суспензија пречисти (филтрирањем и/или центрифугирањем), тако што се разблажи додавањем воде (до 30

или 60 ml), а талог центрифугирања ресуспендује у 1ml воде и онда прегледа под микроскопом. Ипак, ни тада не значи да ће узročник бити сигурно откривен, нарочито када је у питању почетни стадијум инфекције. Друга метода коју ОИЕ препоручује примарно за потребе квантификације степена инфекције ноземом, јесте мацерирање 10 абдомена пчела у 10ml воде и прегледање капи добијене суспензије под микроскопом у хемоцитометру. Недостатак ове методе је мали (нерепрезентативан) узорак, велико разблажење (1:1) и праг детекције 10.000 спора по пчели, па самим тим непоузданост, првенствено када је реч о slabим инфекцијама или инфекцијама легла у којима је она у почетним стадијумима (Urbiceta-Magro и сар. 2019) и није могуће доказати је традиционалним методама. Због тога ОИЕ налаже да, уколико се не уочи ниједна спора, не треба извести закључак да у узорку нема ноземе, него да „нозема није детектована“, чиме се ограђују због недовољне осетљивости методе. Треба имати у виду и чињеницу да се за детекцију ноземе препоручује узорковање пчела излетница (ОИЕ, 2013) јер је у тој категорији пчела највећа преваленца инфицираних јединки (Higes и сар. 2008), при чему се излетнице сакупљају са лета кошнице након његовог затварања у трајању од 20-30 минута (Higes и сар. 2008). Међутим, утврђено је да пчеле које су највише инфициране врстом *N. ceranae* не враћају у кошницу, него угину далеко од кошнице (Higes и сар. 2008) чиме се повећава шанса добијања лажно-негативних резултата коришћењем традиционалних метода. Осим тога, при узорковању у пролећним месецима постоји велики број ново-излежених пчела које нису инфициране ноземом, што такође може имати за последицу лажно-негативне резултате због мале шансе да се сакупе инфициране пчеле и могућности да се микроскопом превиди мали број спора у узорку (Botías и сар. 2012). Ови недостаци превазиђени су увођењем метода PCR дијагностике, које имају далеко већу сензитивност, прецизност и сигурност у односу на микроскопске методе, јер је доказано да PCR може детектовати врло низак степен инфекције (и до 100 спора по пчели, односно само једну спору у узорку). Стога је оправдано препоручити коришћење PCR метода у дијагностици ноземозе, поготову када је реч о почетним или slabим инфекцијама. Осим тога, за PCR детекцију није неопходно да постоје споре, јер PCR детектује и вегетативне облике *Nosema* паразита, што је битно, јер су излетнице (које се сакупљају на лету након повратка са паше) велики проценат спора управо избациле путем фецеса, тако да је битно што PCR у њима сигурно може детектовати нозему, што не мора да важи за микроскопске анализе. Истраживања су показала да се путем PCR детектује присуство ноземе у великом броју узорака у којима под микроскопом није уочена ниједна спора (Glavinic и сар. 2013, Stevanovic и сар. 2013). Због тога препоручимо да се PCR као обавезна метода избора за праћење стања пчелињих друштава на терену са циљем што раније детекције и благовремене превенције ширења инфекције ноземом (пре појаве било каквих симптома). При избору PCR методе треба знати да је duplex-PCR једноставнија и јефтинија метода од PCR-RFLP, али је њена поузданост мања, јер даје лажно-негативне резултате у 16-18% случајева, за разлику од PCR-RFLP методе чија је поузданост 100% (Stevanovic и сар. 2011, Glavinic и сар. 2013). Употреба молекуларних метода омогућава и детаљне анализе утицаја многих других фактора. Недавна истраживања нашег тима (Tarić и сар. 2019) помоћу молекуларних метода доказала су корелацију између типа пчеларења (традиционално и комерцијално) и количине патогена у кошницама, идући у прилог традиционалном, односно доказујући да је за пчеле повољно што мање узнемиравање и исцрпљивање какво постоји у традиционалним условима пчеларења.

Предност PCR метода да детектују и вегетативне облике ноземе је нарочито битна код инфекције са *N. ceranae* јер ова врста увек има већи проценат вегетативних облика (чак 70%) у односу на *N. apis*, где је учешће вегетативних облика 50% (Martín-Hernández и сар. 2009). Значајно је поменути и да се *N. ceranae*, осим у ћелијама цревног епитела, налази и у другим ткивима, као на пример у хипофарингеалним и пљувачним жлездама, Малпигијевим судовима, масном ткиву и мозгу пчела (Chen и сар. 2009; Gisder и сар. 2010), хемолимфи (Glavinic и сар. 2014) у којима је присуство ноземе откривено управо методама ДНК амплификације. Путем PCR методе могу се открити и нови вектори ноземе. На тај начин је утврђено присуство ДНК *Nosema* паразита у пчелињим крпељима *Varroa destructor*, што је дало нови увид у патогени потенцијал вароа као механичког, а могуће и биолошког вектора у ширењу ноземозе (Glavinic и сар. 2014).

Осим тога, real-time PCR је једина метода која омогућава мерење степена експресије гена. Праћењем нивоа експресије одређених гена код пчела инфицираних ноземом могуће је анализирати утицај исхране и ефикасност примењене терапије (лекова, суплемената, биљних екстраката и др.) код пчела и њихових развојних стадијума (Glavinic и сар. 2017, 2019).

**Трипанозоме пчела.** Две врсте трипанозома паразитирају код европске медоносне пчеле. Прва је описана пре скоро пет деценија (*Criethidia mellifica*) и сматрала се превалентном код *A. mellifera* широм света. Друга врста је *Lotmaria passim* која је недавно описана и након тога је убрзо утврђено да она преовлађује код *A. mellifera*, а да је већина трипанозома раније налажених код пчела арбитрарно означавана као *C. mellifica*. Разлог томе је што се наведене врсте трипанозома, *C. mellifica* и *L. passim*, могу разликовати само применом опсежних молекуларних анализа (секвенционирањем) и проучавањем њихове ултраструктуре путем скенирајуће електронске микроскопије (SEM) и трансмисионе електронске микроскопије (ТЕМ). Другим речима, микроскопске технике нису довољне за поуздано разликовање трипанозома *C. mellifica* и *L. passim* због велике сличности у њиховој морфологији. Поред тога PCR методе до скоро такође нису биле довољно специфичне за ову анализу већ је након њих била неопходна и додатна анализа њихове ДНК секвенционирањем. Међутим, захваљујући сарадњи са доц. др Рајаном Шварцом из Америке (Универзитет у Мериленду) који је ангажован у америчком Министарству пољопривреде, у Лабораторији Катедре за биологију ФВМ осмишљена је, тестирана и имплементирана методологија за молекуларну детекцију и идентификацију наведених трипанозома (Stevanović и сар. 2016) која је врло брзо опште прихваћена широм света.

Успостављање описане методе и богата архива пчелињих узорака Катере за биологију (која датира још од 2007. године) омогућила нам је ретроспективну анализу присуства обе врсте трипанозома (*C. mellifica* и *L. passim*). У архиви смо имали 1192 изолата ДНК пчела који су добијени од пчелара који су узорке слали на анализе још од 2007. године. Из архиве насумично је за сваку годину од 2007. до 2015. године одабрано по 18 узорка. На тај начин смо дошли до цифре од 162 узорка са 57 локалитета на територији Србије. Анализом узорка на присуство трипанозома (укупно 162), код 101 је потврђено присуство врсте *L. passim* (62,3%), а ни у једном узорку није детектована *C. mellifica* (Stevanović и сар. 2016). Од укупно 162 узорка, 98 (60,5%) је било ко-инфицирано са *N. ceranae* и *L. passim*. Анализа 18 узорка по години омогућила нам је да откријемо годишњу учесталост инфекције са *L. passim* која је била следећа: 13 узорка (72,2%) у 2007, 7 (38,9%) у 2008, 13 (72,2%) у 2009, 11 (61,1%) у 2010, 15 (83,3%) у 2011, 15 (83,3%) у 2012, 7 (38,9%) у 2013, 12 (66,7%) у 2014 и 8 (44,4%) у 2015. години. Ови резултати објављени од стране Stevanović и сар. (2016) открили су најстарији случај инфекције пчела са *L. passim* у свету (који потиче из 2007. године) и обезбедили први научни рад који се односи на истраживања овог пчелињег паразита у Србији у претходном деветогодишњем периоду (2007-2015).

**Узорковање пчела за анализу присуства ДНК ендопаразита** одраслих пчела (детекција микроспоридија *Nosema* sp. и идентификација врсте *N. ceranae/N. apis*, трипанозома *L. passim* и *C. mellifica*) подразумева прикупљање око 60-100 живих пчела са лета кошнице (по друштву) водећи рачуна да у том збирном узорку преовладавају излетнице, те је најбоље сакупљати их са лета (полетно-слетне даске испред улаза у кошницу). Сакупљене пчеле треба затворити у неку чисту кутију или пластичну бочицу (најбоље стерилне купљене у апотеци), а затим замрзнути на -18°C до -20°C. Након што су пчеле провеле у замрзивачу један дан (и угинуле), могу се допремити до лабораторије у истом паковању.

#### АМЕРИЧКА ТРУЛЕЖ ПЧЕЛИЊЕГ ЛЕГЛА (AFB)

Значај генотипизације узрочника америчке трулежи пчелињег легла *Paenibacillus larvae* је у томе што између различитих генотипова ове бактерије постоје разлике у вируленцији и клиничким симптомима. Због тога се ток болести разликује у зависности од генотипа изазивача, тако да неки од генотипова најчешће не буду откривени традиционалним методама. Због тога предност има молекуларна дијагностика, јер омогућава не само сигурну детекцију *P. larvae*, него и идентификацију генотипа узрочника, процену његове патогености и прогнозу тока болести (Ashiralieva и Genersch, 2006). Актуелном методом „repetitive-element PCR“ (rep-PCR) описано је 4 ERIC-генотипа *P. larvae*. При томе, генотипови који су високо вирулентни на нивоу ларве (ERIC III

и ERIC IV) су мање вирулентни на нивоу друштва и не доводе до избијања болести, тј. до појаве класичних клиничких знакова, јер већина инфицираних ларви угине пре затварања сатне ћелије, због чега их пчеле хигијеничарке лако пронађу и очисте. Насупрот њима, генотипови ERIC I и ERIC II доводе до класичног избијања болести и клиничке слике AFB. Ти генотипови су много опаснији по друштво, јер су мање вирулентни на нивоу јединке (у поређењу са ERIC III и ERIC IV), односно изазивају угинуће након затварања сатне ћелије (стадијум лутке), чиме се знатно смањује могућност да пчеле хигијеничарке очисте инфицирано и угинуло легло. Генотипизација *P. larvae* је битна и због тога што између генотипова те бактерије постоје значајне разлике у стопи клијавости на подлози, у отпорности спора на високе температуре и у очувању вијабилности спора током времена. Због тога је неопходно да се приликом процене стандардних лабораторијских протокола за *P. larvae* увек укључе различити генотипови (Forsgren и сар. 2008). На овај начин би благовремена реакција била могућа и подразумевала би потребно уништавање друштава у далеко ранијим стадијумима тј. пре ширења болести на остале кошнице, док би са друге стране било избегнуто непотребно уништавање неких кошница у којима не постоје патогени генотипови и смањење великих економских губитака, како за пчеларе тако и за државу.

**Узорковање материјала за детекцију AFB.** Треба нагласити да је америчка трулеж пчелињег легла као заразна болест од посебног значаја обухваћена Правилником о утврђивању програма мера здравствене заштите животиња Републике Србије у коме је детаљно описан поступак активности у случају сумње на ову заразну болест. Узорак за анализе узима искључиво ветеринар у присуству надлежног ветеринарског инспектора који узети материјал доставља на анализу у надлежну лабораторију. Ветеринар и ветеринарски инспектор у комуникацији са пчеларом/власником пчелињака даље предузимају све неопходне мере у зависности од резултата лабораторијских анализа.

При узорковању пчелињег легла ради анализе присуства ДНК других бактерија (нпр. узрочника европске трулежи) али исто тако и ДНК/РНК гљивица и вируса изазивача болести пчелињег легла (кречног легла, каменог легла, мешинастог легла неопходно је узети парче саћа минималних димензија око 10x10 cm на коме се јасно види да је легло промењено, обмотати га обичним папиром (не користити најлон кесе) и ставити у замрзивач на -18°C до -20°C. Након тога узорак у лабораторију донети лично или послати поштом (опет само обмотано папиром или стављено у картонску кутију, без коришћења било каквог најлона).

#### **ВИРУСНЕ БОЛЕСТИ ПЧЕЛА**

У дијагностици вирусних болести пчела PCR методе немају алтернативу. За детекцију вируса довољан је „end-point“ PCR, при чему се за РНК вирусе мора користити PCR коме претходи реверзна транскрипција (RT-PCR). Међутим, највећу сензитивност и специфичност има квантитативни real-time PCR који омогућава одређивање степена вирусне инфекције. Осим прецизности, ова метода омогућава и велику уштеду у времену, јер омогућава истовремену детекцију већег броја вируса. Имајући на уму да вирусне инфекције углавном почињу као инапаратне и слабе имунитет, а касније у комбинацији са другим пчелињим болестима врло брзо доводе до фаталног исхода, од великог је значаја што ранија и тачнија дијагностика. Посебна предност је могућност multiplex реакције у којој се у узорку истовремено детектује већи број вируса.

**Узорковања пчела за анализу присуства РНК вируса одраслих пчела** подразумева прикупљање 60-100 живих пчела са лета кошнице (по друштву) водећи рачуна да у том збирном узорку преовладавају излетнице, те је најбоље сакупљати их са лета (полетно-слетне даске испред улаза у кошницу). Када је реч о вирусима легла (мешинасто легло SBV – Sacbrood virus) неопходно је узети парче саћа (минималних димензија око 10x10 cm) на коме се јасно види да је легло промењено, обмотати га обичним папиром (не користити најлон кесе). Сакупљене пчеле/легло треба затворити у чисту кутију, картон или папир а затим замрзнути на -18°C до -20°C. Након што су пчеле провеле у замрзивачу један дан (и угинуле), могу се допремити до лабораторије у истом паковању.

**ЕКТОПАРАЗИТИ ПЧЕЛА**

**Пчелињи крпељ *Varroa destructor*.** Анализе митохондријалне ДНК откриле су постојање више хаплогрпа *V. destructor*, што није било могуће пре открића молекуларних маркера. Ван територије Азије, крпеље *V. destructor* карактерише екстремно одсуство варијабилности митохондријалне ДНК. Међутим, у Србији је ситуација другачија, јер је анализама 4 гена (*cox1*, *atr6*, *cox3* и *cytb*), осим раније описаног К хаплогрпа, утврђено постојање два нова хаплогрпа заведених у међународној банци гена као „Serbia 1“ и „Peshter 1“ (Gajić и сар. 2013). Варијабилност је утврђена у генима *cox1* и *cytb*, а у току су даља истраживања која треба да утврде разлике у њиховој вируленцији и односу са домаћином.

PCR дијагностиком се могу потврдити и други ектопаразити пчела као што су **грињ *Tropilelaps spp*** и **мала кошничка буба *Aethina tumida*** који могу представљати озбиљне претње пчеларству. Од посебног је значаја недавно развијена real-time PCR метода која омогућава да се анализом радилица поуздано утврди присуство *A. tumida* у кошници (Ouessou Idrissou и сар. 2018), која је изузетно корисна за рутински надзор кошница у високоризичним подручјима.

**Узорковање за анализу присуства ектопаразита.** Узорковање пчелињег крпеља рода *Varroa*, гриња *Tropilaelaps spp* и мале кошничке бубе *A. tumida* подразумева сакупљање целокупног материјала (дегритуса) са подњаче кошнице и његово паковање у папир. За анализу присуства пчелињег крпеља као узорак може послужити и исечак трutowског легла димензија 10x15 центиметара који треба упаковати у папир. Узорка за анализу присуства *A. tumida* могу бити јединке сакупљене испод поклопаца кошнице, на подњачи или скривение у саћу, нарочито периферном.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

**Литература**

1. Ashiralieva A, Genersch E, 2006, Reclassification, genotypes and virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees – a review, *Apidologie*, 37, 411-20.
2. Botías C, Martín-Hernández R, Garrido-Bailón E, González-Porto A, Martínez-Salvador A, De La Rúa et al., 2012, Critical aspects of the *Nosema* spp. diagnostic sampling in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies, *Parasitol Res*, 110, 2557-61.
3. Forsgren E, Stevanovic J, Fries I, 2008, Variability in germination and in temperature and storage resistance among *Paenibacillus larvae* genotype, *Vet Microbiol*, 129, 342-9.
4. Gajić B, Radulovic Z, Stevanovic J, Kulisic Z, Vucicevic M, Simeunovic P et al. 2013, Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia based on mtDNA analysis. *Exp Appl Acarol*, 61, 97-105.
5. Glavinic U, Stanković A, Stevanović J, Simeunović P, Aleksić N, Stanimirović Z, 2013 Comparison of methods for detection of microsporidia species of the genus *Nosema* in honey bees (*Apis mellifera*), *Arhiv Vet Med*, 6, 19-27.
6. Glavinic U, Stevanovic J, Gajić B, Simeunovic P, Đuric S, Vejnovic B et al., 2014, *Nosema ceranae* DNA in honey bee haemolymph and honey bee mite *Varroa destructor*, *Acta Vet-Beograd*, 64, 349-57.
7. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Lakic N, et al., 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*, *PLoS One*, 12, e0187726.
8. Glavinic U, Tesovnik T, Stevanovic J, Zorc M, Cizelj I, Stanimirovic Z, Narat M, 2019, Response of adult honey bees treated in larval stage with prochloraz to infection with *Nosema ceranae*, *PeerJ* 7, e6325.
9. Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Garrido Bailón E, González-Porto AV, Barrios L, et al., 2008, How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse, *Environ Microbiol*, 10, 2659–69.
10. Higes M, Meana A, Bartolomé C, Botías C, Martín-Hernández R, 2013, *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21<sup>st</sup> century honey bee pathogen, *Env Microbiol Rep* 5, 17–29.
11. Martín-Hernández R, Meana A, Prieto L, Salvador AM, Garrido-Bailón E, Higes M, 2007, Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*, *Appl Environ Microbiol*, 73, 6331-8.
12. Martín-Hernández R, Meana A, García-Palencia P, Marin P, Botías C, Garrido-Bailón E et al., 2009, Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia, *Appl Environ Microbiol*, 75, 2554–7.
13. OIE, 2013, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.2.4. Nosemosis

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

of honey bees, [http://www.oie.int/fileadmin-Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.02.04\\_NOSEMOSIS\\_FINAL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin-Home/eng/Health_standards/tahm/3.02.04_NOSEMOSIS_FINAL.pdf). 14. Ouessou Idrissou F, Huang Q, Yañez O, Akinwande K, Neumann P, 2018, PCR diagnosis of small hive beetles, *Insects*, 9, 24. 15. Stanimirović Z, Glavinić U, Ristanić M, Aleksić N, Jovanović N, Vejnović B, et al., 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses, *Acta Vet-Beograd*, 69, 1-31. 16. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Genersch E, Kovacevic RS, Ljubenkovic J, Radakovic M, 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. 17. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I et al., 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies. *Apidologie*, 44, 522-536. 18. Stevanovic J, Schwarz RS, Vejnovic B, Evans JD, Irwin RE, Glavinic U et al., 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: a nine-year survey (2007-2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees, *J Invertebr Pathol*, 139, 6-11. 19. Taric E, Glavinic U, Stevanovic J, Vejnovic B, Aleksić N, Dimitrijević V et al., 2019, Occurrence of honey bee (*Apis mellifera* L.) pathogens in commercial and traditional hives, *J Apicult Res*, 58, 433-43. 20. Urbietta-Magro A, Higes M, Meana A, Gómez-Moracho T, Rodríguez-García C, Barrios L et al., 2019, The levels of natural *Nosema* spp. infection in *Apis mellifera iberiensis* brood stages, *Int J Parasitol* 49, 657-67.

КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И МЕТОДЕ ТЕРЕНСКЕ ДИЈАГНОСТИКЕ  
АМЕРИЧКЕ И ЕВРОПСКЕ КУГЕ ПЧЕЛИЊЕГ ЛЕГЛА

*CLINICAL EXAMINATION AND METHODS OF FIELD DIAGNOSTICS OF  
AMERICAN AND EUROPEAN FOULBROOD*

Драган Бацић<sup>1</sup>, Соња Обреновић<sup>1</sup>, Марко Стољковић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београд;

<sup>2</sup>ВЦИ „Ниш“, Ниш

**Кратак садржај**

Америчка куга је веома контагиозно обољење легла, епизоотског карактера које се ланчасто шири и упорно одржава у пчелињацима. Узрочник болести је спорулишућа бактерија *Paenibacillus larvae*. Европска куга легла је бенигно, слабо контагиозно обољење отвореног и ређе затвореног пчелињег легла чији је примарни узрочник *Melissococcus plutonius*. Сумња на присуство америчке куге легла се може поставити на основу клиничких промена које се јављају на поклопцима и оболелим ларвама. Поклопци на ћелијама су проквашени и благо улегнути. На њиховој површини се уочавају тамне мрље, као и ситне рупице, неправилних ивица, распоређене обично по ободу ћелије. Тело угинуле ларве које је тамно смеђе боје се претвара у полужитку, лепљиву и растегљиву масу која поприма непријатан мирис туткала. Приликом извлачења езом или палидрвцетом шибице из ћелије, маса се растеже у виду нити, некада дуге и по неколико центиметара (матцх-стицк тест). За теренску дијагностику америчке куге пчелињег легла развијени су брзи тестови који могу да се користе на пчелињацима и једноставни су за извођење. Принцип брзог дијагностичког теста се састоји у реакцији антитела и антигена (*P. larvae*) из испитујућег материјала, а резултати се читавају након неколико минута. Европска куга се углавном манифестује променама на отвореном леглу. Пре него што угину ларве мењају боју, облик, омлитаве и превремено се исправе. Мртве ларве су пастозне конзистенције и често се осећа киселкаст и одбојан мирис, а у каснијем току болести изгледају као краста на дну ћелије. Када у леглу доминира *P. alvei*, јављају се сличне промене као и код америчке куге легла, ларве постају растегљиве и развлаче се у виду дугих смеђих нити. У леглу не оболевају све ларве, тако да могу да се уоче здраве, оболеле и угинуле ларве.

**Кључне речи:** америчка куга, европска куга, дијагностика



ВИРУСНЕ ИНФЕКЦИЈЕ ПЧЕЛА У ДРУШТВИМА РАЗЛИЧИТЕ ЈАЧИНЕ

*VIRUS INFECTIONS IN BEES IN COLONIES OF DIFFERENT STRENGTH*

Марко Ристанић<sup>1</sup>, Драган Ђирковић<sup>2</sup> Урош Главинић<sup>1</sup>, Јевросима Стевановић<sup>1</sup>,  
Изгор Крњић<sup>1</sup>, Милан Рајковић<sup>1</sup>, Зоран Станимировић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;

<sup>2</sup>Департаман за хемијско-технолошке науке, Државни Универзитет у Новом Пазару

**Кратак садржај**

Вирусне инфекције пчела добијају на епизототиолошком значају последњих година услед све учесталијих појава масовних губитака пчелињих друштава широм света чија етиологија је још увек неразјашњена. Претпоставља се да су ови губици мултифакторијалне природе, са тиме да је важан фактор појаве овог проблема комбиновани синергистички негативни утицај на здравље пчела од стране вируса пчела и пчелињег крпеља *Varroa destructor*. Иако поједини вируси могу изазвати специфичну клиничку слику, присуство вирусних инфекција у пчелињим друштвима је тешко установити само прегледом кошница јер карактеристични симптоми често изостају, а акутна угинућа пчела и слаба пчелиња друштва која настају као последица ових инфекција често буду приписана другим узроцима. Сумња на присуство вирусне инфекције мора се потврдити лабораторијски, употребом метода за изолацију и детекцију вируса. Специфичан третман вирусних инфекција не постоји, и стога је превентива која се огледа у правилној технологији пчеларења, мониторингу здравља пчела и контроли пчелињег крпеља *V. destructor*, од суштинског значаја у борби против вируса пчела.

**Кључне речи:** клиничка слика, пчеле, *Varroa destructor*, вируси.

**Summary**

The epizootic importance of viral diseases has grown in importance over last few years due to a substantial increase of worldwide massive bee colony losses with unknown etiology. It is assumed that these losses are caused by multiple factors, with combined synergistic effects of bee viruses and bee mite *V.destructor* as one of the main factors. Although some bee viral diseases can display a number of specific symptoms, it can be difficult to detect them solely by a routine beehive examination. Because virus infected hives are not guaranteed to possess any of the specific aforementioned symptoms at all, acute bee mortality and weakened bee colonies tend to be attributed to different causes. Every suspicion of a specific viral disease in bee colony has to be confirmed in laboratory conditions with specific isolation and detection methods. Since there is no specific treatment for viral infections it is of utmost importance that beekeepers apply proper apitechnic methods, regular bee health monitoring and *V.destructor* mite population control.

**Key words:** bees, clinical signs, *Varroa destructor*, viruses.

Медоносна пчела представља економски веома корисног инсекта због својих производа, али највише због своје улоге као опрашивача (Venturini и сар. 2017). Последњих неколико година, широм света су дијагностиковани масовни губици пчелињих друштава, са тиме да ниједан засебан фактор није потврђен као директан узрок ових губитака, осим често спомињаног пчелињег крпеља

*Varroa destructor* и вирусних инфекција у вези са њим (McMenamin и Flenniken, 2018; Stanimirovic и сар. 2019). Идентификовано и класификовано је више од 22 пчелиња вируса који се могу наћи унутар пчелињих заједница (Genersch, 2010), од којих се 7 сматра нарочито значајним за утицај на здравље пчела. То су: вирус акутне парализе пчела (ABPV), вирус деформисаних крила (DWV), вирус хроничне парализе пчела (CBPV), вирус мешинастог легла (SBV), вирус црних матичњака (BQCV), Израелски вирус акутне парализе пчела (IAPV) и Кашмирски пчелињи вирус (KBV). Иако постоје разлике у географској распрострањености појединих вируса пчела, они су присутни у пчелињим друштвима широм света и могу се сматрати убиквитарним патогенима пчела. Већина откривених пчелињих вируса може да егзистира у организму пчела и пчелињем друштву, не проузрокујући видљиве промене. Примена савремених, осетљивих дијагностичких молекуларних техника, указала је на високу учесталост поменуте појаве. Вируси пчела спадају у групу једноланчаних РНК вируса, а сврстани су у две фамилије реда *Picornavirales*. Изузетак је вирус хроничне парализе пчела (CBPV) који је још увек неklasификован због специфичне морфологије и заједничког паковања више ланаца РНК унутар истог вириона.

**ПУТЕВИ ИНФЕКЦИЈЕ И ТРАНСМИСИЈЕ.** Вируси пчела могу се преносити хоризонталним и вертикалним путем (Chen и Siede, 2007; Chen и сар. 2006 a, b), а у пчелињим друштвима могу дуго егзистирати у виду латентних инфекција. Да ли ће се вирусна инфекција у неком тренутку испољити са специфичним или неспецифичним симптомима и довести до слабљења или чак угинућа пчела и читавог друштва, зависи од бројних фактора међу којима начин трансмисије вируса има посебан значај. Вертикално преношење вируса пчела са матице на јаја, омогућава дуготрајно одржавање вируса у популацији пчела, али сматра се да није довољно за симптоматску појаву обољења и овај вид трансмисије преовлађује када се пчелиња друштва налазе у уравнотеженим и некомпетитивним околностима. Са друге стране, када су пчеле изложене у већој мери различитим стресорима (неадекватна исхрана, паразити и други патогени, пестициди и др.), услед слабљења природног имунитета пчела, вируси се активирају, почињу репликацију и преовлађује хоризонтални тип трансмисије (путем хране, међусобног контакта, вектора и др.), који омогућава брзо ширење и размножавање вируса унутар пчелињег друштва. Сматра се да је најважнији и по пчелиња друштва најпогубнији пут трансмисије вируса преко пчелињег крпеља *V. destructor* који делује као механички или биолошки вектор (Abbo и сар. 2017), а који доприноси ширењу другог паразита *Nosema ceranae* (Glavinic и сар. 2014; Glavinic и сар. 2017).

**КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОЈДИНИХ ВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА ПЧЕЛА.** Само неколико вирусних инфекција пчела може довести до појаве болести са специфичним симптомима на основу којих се може поставити сумња на одређеног вируса као узрочника. Вируси који могу изазвати карактеристичне симптоме болести су DWB, SBV и CBPV. Међутим, и они су веома често присутни унутар пчелињих друштава у виду латентних инфекција или изазивају неспецифична обољења са краћим животним веком или акутним морталитетом пчела као јединим видљивим симптомима.

**Вирус деформисаних крила (*Deformed Wing Virus-DWV*)** је један од најзаступљенијих пчелињих вируса у свету, а и код нас. Болест деформисаних крила најчешће је везана за инфестацију пчела пчелињим крпељем *V. destructor* који је изузетно ефикасан механички и биолошки вектор DWV. Осим преко *V. destructor*, могући су и други начини хоризонталног преноса DWV, као и вертикалан пут трансмисије. Хоризонтално ширење DWV-а се најчешће одвија путем хране и фецеса, као и преко инфицираних лутки које пчеле радилице убијају и извлаче из ћелија саћа. Вертикални пренос се може посматрати двојачко: директно – оплођењем јаја са семеном пореклом од инфицираних трутова, и индиректно – најпре венералном инфекцијом репродуктивних органа матица, а затим и последичном вертикалном трансмисијом вируса преко инфицираних јајника на потомство. Као и други пчелињи вируси, и DWV може бити присутан у пчелињем друштву у виду латентне инфекције и може довести до скраћења животног века пчела, као и до колапса друштава без претходног испољавања карактеристичних знакова овог обољења. Специфични симптоми се јављају само ако су пчеле инфициране у ларвеном стадијуму путем *V. destructor* (Bowen-Walker, 1999; Gisder и сар. 2009; Yue и Genersch, 2005, Wilfer и сар. 2016). Уколико инфициране ларве преживе и развију се до младих адултних пчела код њих се могу запазити деформисана и скраћена крила, скраћен и надут абдомен и промењена боја тела. Ако се

приликом рутинског прегледа пчелињег друштва запазе пчеле са наведеним симптомима, оправдано је поставити сумњу на присуство болести деформисаних крила. Живот младих радилица и трutowa са овим симптомима је кратак и обично угину за два до три дана. Треба узети у обзир и недавну карактеризацију DWV „master” варијанти (DWV-A, DWV-B и DWV-C) и њихов утицај на здравље пчела (McMenamin и Flenniken, 2018). На основу последица вирусних инфекција по пчелиње друштво, варијанте вируса DWV (DWV-A, DWV-B) и *V. destructor virus-1* (VDV-1), имају потенцијал да доведу до озбиљнијих промена на нивоу појединачних пчела и пчелињих заједница, а њихова већа преваленција и вирулентност у односу на остале вирусе је повезана са биолошком векторском трансмисијом путем пчелињег крпеља *V. destructor* (McMenamin и Genersch, 2015).

**Вирус мешинастог легла (*Sackbrood Virus-SBV*)** је етиолошки агенс болести мешинастог легла. Унутар пчелињег друштва, SBV се осим код одраслих пчела и унутар легла може наћи и у пчелињој храни (полену, перги, меду и матичном млечу) и сматра се да је исхрана пчела један од значајних путева инфекције и преношења вируса. Осим исхраном, SBV се може преносити и преко *V. destructor*, као и са матице на потомство (Shen и sar, 2005 a, b). Болест мешинастог легла се јавља најчешће у пролеће, током рапидне експанзије пчелињег друштва када је у њему присутан велики број ларви и младих пчела. SBV напада пчелиње легло и доводи до појаве карактеристичне клиничке слике. Услед инфекције пчела у стадијуму ларви изостаје формирање лутки, а течност богата вирусним честицама се акумулира испод кутикуле тако да ларва добија изглед мешине. Боја инфицираних ларви се мења од бисерно беле до бледо жуте. Долази до угињавања ларви, оне се суше, постају браонкасте и образују специфичан овалан облик (облик гондоле). Диференцијално дијагностички је важно имати у виду да болест мешинастог легла може на основу симптома да подсећа на америчку трулеж пчелињег легла јер долази до сличних промена на поклопцима и формирања масе боје чоколаде у сатним ћелијама. У одраслим пчелама SBV не изазива специфичне симптоме, али потенцијално може довести до скраћења животног века.

**Вирус хроничне парализе пчела (*Chronic Bee Paralysis Virus-CBPV*)** је распрострањен широм света и један је од неколицине пчелињих вируса који изазива обољење са карактеристичним симптомима. Хронична парализа пчела је контагиозна болест одраслих радилица, с тим да вирус може бити присутан у свим развојним облицима. Навјажнијим путем преноса CBPV сматра се међусобни блиски телесни контакт пчела и инфекција преко оштећене кутикуле. Мада је присуство и умножавање CBPV дијагностиковано и унутар *V. destructor*, није сасвим јасан степен значајности пчелињег крпеља у трансмисији овог вируса. На хроничну парализу у пчелињем друштву се може посумњати ако су присутни следећи симптоми: тремор, збијање у гомилице, немогућност летења, пузање по земљи испред кошнице или на сатоношама. Пчеле се пресијавају, масне су и црне услед губитка длачица, па се болест назива и „синдром црних пчела без длака“. Често се симптоми хроничне парализе јављају само у појединим кошницама у целом пчелињаку, иако су сва друштва изложена истим условима спољашње средине, штавише јака друштва најпре страдају (Ribiere и sar, 2010). Ток болести је најчешће акутан, те пчеле обично угињавају у року од неколико дана од појаве симптома. Као последица свега наведеног, јављају се значајни губици пчелињих заједница. Као и код других вируса пчела, инфекција друштва са CBPV може остати непримећена, не доводећи до појаве карактеристичних клиничких знакова (инапаратна инфекција).

**Вирус акутне парализе пчела (*Acute Bee Paralysis Virus-ABPV*)** први пут је случајно детектован у узорцима наизглед здравих пчела. Дуго се сматрало да присуство овог вируса не представља значајан ризик по пчелиња друштва јер се могао веома често наћи и у потпуно здравим пчелама. Међутим, услед раста преваленце пчелињег крпеља *V. destructor* у последњих неколико деценија (у свету а и код нас), ABPV се све чешће помиње као битан фактор колапса пчелињих заједница које су инфициране поменутиим крпељем (Ball и Allen, 1988; Bekesi и sar., 1999). Осим преко пчелињег крпеља *V. destructor*, ABPV се шири преко хране или директним контактом, али сматра се да овакви путеви преноса углавном доводе до инапаратних инфекција. Уколико дође до испољавања болести, симптоми наликују онима који се јављају код хроничне парализе пчела: дрхтање, губитак длачица са тела, пчеле су тамније и сјајне, не могу да лете и угину за неколико дана. Разлика у клиничким симптомима између вируса хроничне и акутне

парализе пчела је у томе што се код инфекције са СВРВ карактеристични симптоми могу уочити код већег броја пчела у једном друштву, док се инфекција са АВРВ најчешће испољава само код појединачних пчела или се не запажа уопште чак и када се лабораторијским анализама потврди да је овај вирус узрок масовног угинућа пчела или колапса целокупне пчелиње заједнице.

**Вирус црних матичњака (*Black Queen Cell Virus-BQCV*)** је добио име по тамном пребојавању зидова сатних ћелија у којима се налазе лутке матица инфицираних овим вирусом. Овај вирус се најчешће проналази у храни пчелињег друштва, у младом леглу, као и у пчелињем крпељу *V.destructor*. Вирус црних матичњака се често може дијагностиковати у пчелињим друштвима заједно са микроспоридијом из рода *Nosema*, те се сматра да присуство BQCV у пчелињем друштву потенцира патогено дејство ноземе, међутим досадашња истраживања нису недвосмислено потврдила ову хипотезу. Болест црних матичњака се јавља најчешће током пролећа или почетком лета. Иако примарно изазива инфекцију матичњака, BQCV се може наћи у трутовском или радиличком леглу, али и одраслим радилицама. Најупадљивији симптоми овог обољења су тамно браон или црно обојене ћелије матичњака, док лутке матица постају бледо жуто пребојене, те се у њима накупља велика количина вирусних партикула.

**Израелски вирус акутне парализе (*Israel Acute Paralysis Virus-IAPV*)** је од стране неких аутора издвојен као један од главних узрочника губитка пчелињих заједница (Сох-Foster и сар. 2007). CCD синдром се испољава као изненадни нестанак већине одраслих пчела из наизглед здравих друштава, при чему у кошници остају само матица и мали број радилица, док је легло нетакнуто као и залихе хране. Улога IAPV као маркера или етиолошког агенса CCD није потврђена, али и поред тога је несумњиво да овај вирус може изазвати значајан губитак пчела (Маог и сар. 2009). Симптоми Израелске парализе пчела су слични онима описаним код инфекције са АВРВ. Пчелама је отежано кретање, губе способност летења и јавља се карактеристично дрхтање. Међутим, за разлику од инфекције са АВРВ и СВРВ, тамна пребојеност тела пчела се ређе уочава. IAPV такође може довести до асимптоматског угинућа пчела и читавих друштава.

**Кашмирски вирус пчела (*Kashmir Bee Virus-KBV*)** је у почетку посматран заједно са АВРВ, због њихове серолошке симилярности и чињенице да инфицирају одрасле пчеле на сличан начин. Кашмирски вирус пчела први пут је детектован код азијских пчела из Кашмира по чему је и добио име. Неколико блиских сојева овог вируса идентификовано је и код *A. mellifera*, у различитим регионима Аустралије, где је вирус изазвао велике губитке пчелињих друштава. Битно је напоменути да као и АВРВ, одређени сојеви кашмирског пчелињег вируса перзистирају као инапаратна инфекција одраслих пчела, услед чега се он може активирати и посредством пчелињег крпеља *V. destructor* раширити по целом друштву и изазвати масовно угинућа. Сви сојеви кашмирског пчелињег вируса су високовирулентни и изазивају угинуће пчела у року од три дана. Одређени сојеви кашмирског вируса пчела су широко распрострањени у САД-у, различитим деловима Азије и неким деловима Европе (Neuman и Carreck, 2010).

**ВИРУСНЕ ИНФЕКЦИЈЕ ПЧЕЛА У ДРУШТВИМА РАЗЛИЧИТЕ ЈАЧИНЕ У СРБИЈИ.** Лабораторија за генетику домаћих животиња, дивљачи и пчела (Катедра за биологију, Факултет ветеринарске медицине у Београду), према наводима Stanimirovic и сар. (2019) у петогодишњем периоду је на захтев пчелара из Србије из узорак оболелих и угинулих друштава извршила велики број анализа на присуство пчелињих вируса и установила следећу преваленцу: DWV 73.12-87.16%, АВРВ 61.54-81.45% и СВРВ 58.82-64.22%. Овако високи проценти не изненађују, узимајући у обзир чињеницу да су сви узорци сакупљени из друштава која су показивала клиничке знакове болести. Интересантно је и истраживање Tagic и сар. (2019) који су у свом раду испитивали присуство различитих патогена (међу којима и вирусе) у пчелињем леглу и одраслим пчелама гајеним у традиционалним (трмке) и комерцијалним кошницама. Резултати везани за одрасле пчеле које су потицале из традиционалних кошница, показали су да је 33.33% друштава било позитивно на један од испитиваних вируса (SBV, АВРВ, СВРВ или DWV), док су узорци пчела из комерцијалних кошница показали следећу преваленцу вируса: DWV 100.00%, СВРВ 100.00%, SBV 96.67% и АВРВ 83.33%. Cirkovic и сар. (2018) су вршили испитивање преваленце DWV, SBV, АВРВ и СВРВ у пчелињим друштвима различитих јачина широм Србије као и испитивање разлика између вирусне преваленце/интензитета инфекције и јачине друштава. Анализе су

показале да су у испитиваним узорцима одраслих пчела присутна сва четири вируса. Преваленца вируса се разликовала у зависности од места узорковања. Од 150 узорака пчела (кошница), преваленца вируса је била следећа: 74% за DWV, 49.30% за ABPV, 24.00% за SBV и 6.70% за CBPV. Узорци који су били негативни на сва четири испитивана вируса чинили су 12.67% од свих испитиваних друштава. У 87.33% испитиваних узорака, детектован је макар један вирус. Инфекција друштава са само једним вирусом уочена је у 28.67% пчелињих заједница (DWV, ABPV, SBV и CBPV у 21.33%, 4.00%, 2.67% и 0.67% друштава, респективно). У већини испитиваних друштава (58.66%) детектована је инфекција са више различитих вируса. Највишу преваленцу у свим регионима показао је DWV (66.70-83.30%), док је најнижу преваленцу имао CBPV (0-19%). Истраживања нису показала корелацију између јачине друштава (слаба, средње јака и јака друштва) и нивоа инфекције са DWV, ABPV, SBV и CBPV (и њиховим комбинацијама), а што је у сагласности са истраживањем Simeunovic и сар. (2014). Веома ниски проценти мултиплих инфекција у поређењу са простим инфекцијама уоченим у истраживању Cirkovic и сар. (2018), указују на везу између мултиплих инфекција са јаким инфестацијом са *V. destructor* које су честе на пчелињацима у Србији (Stanimirovic и сар. 2017).

**ПОСТАВЉАЊЕ ДИЈАГНОЗЕ ВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА ПЧЕЛА.** Сумња на постојање појединачне или вишеструке вирусне инфекције пчелиње заједнице, може се поставити тек онда када се уоче неки од следећих симптома: деформисана или скраћена крила код пчела, дрхтање, промена боје тела, парализа одраслих пчела и немогућност летења, деформисани поклопци легла и врећаст изглед ларвица. Међутим, с обзиром да већина вирусних инфекција пчела може проћи неопажено и довести до слабења друштва и асимптоматског угинућа пчела, сваки пораст морталитета пчела без јасне етиологије може индиковати на присуство вирусне инфекције у друштву. Ако се има у виду да је патогени потенцијал пчелињих вируса у великој мери везан за присуство пчелињег крпеља *V.destructor*, висок степен инфестације овим паразитом представља значајан фактор ризика за активацију вирусних инфекција унутар инфестираног друштва. У случају сумње на вирусне инфекције пчела, за постављање тачне дијагнозе, од изузетног значаја је правилно сакупљање узорака и њихово правовремено слање на лабораторијске анализе. У савременој дијагностици вирусних болести пчела PCR методе се готово искључиво користе. За детекцију вируса довољан је „end-point“ PCR, при чему се за РНК вирусе мора користити метода реверзне транскрипције (RT-PCR). Међутим, највећу сензитивност и специфичност има квантитативни real-time RT-PCR који омогућава одређивање степена вирусне инфекције.

**СУЗБИЈАЊЕ И КОНТРОЛА.** Опште је познато да специфичан третман против вирусних инфекција пчелињих друштава не постоји. За контролу вирусне инфекције у пчелињим друштвима, потребно је, колико је год то могуће, смањити утицај различитих стресогених фактора који слабе пчелиње друштво и чине их подложним вирусним инфекцијама. Такође, путем правилне примене апитехничких метода пожељно је да се пчелама омогући квалитетна исхрана и одговарајући хабитат у којем ће моћи да развијају адекватне механизме одбране од патогена, с обзиром да се они никада не могу сасвим елиминисати из друштава. Замена саћа и замена матице такође могу помоћи у сузбијању вирусних инфекција. Превасходно, контрола популације пчелињег крпеља *V.destructor* у кошници је од суштинског значаја у борби против вирусних инфекција, а редовни акарицидни третмани који обарају степен инфестације овим паразитом, истовремено представљају и начин смањења титра и вируленце пчелињих вируса у друштвима.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

#### Литература

1. Abbo PM, Kawasaki JK, Hamilton M, Cook SC, DeGrandi-Hoffman G, Li WF et al, 2017, Effects of imidacloprid and *Varroa destructor* on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*, *Insect Sci*, 24, 467-77.
2. Ball BV, Allen MF, 1988, The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*, *Ann Appl Biol*, 113, 237-44.
3. Békési LV, Ball B, Dobos-Kovács M, Bakonyi T, Rusvai M, 1999, Occurrence of acute paralysis virus

of the honey bee (*Apis mellifera*) in a Hungarian apiary infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*, *Acta Vet Hung*, 47, 319-24. 4. Bowen-Walker PL, Martin SJ, Gunn A, 1999, The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud, *J Invertebr Pathol*, 73, 101- 6. 5. Chen Y, Evans J, Feldlaufer M, 2006b, Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*, *J Invertebr Pathol*, 92, 152-9. 6. Chen YP, Siede R, 2007, Honey bee viruses, *Adv Virus Res*, 70, 33-80. 7. Chen YP, Pettis JS, Collins A, Feldlaufer MF, 2006a, Prevalence and transmission of honeybee viruses, *Appl Environ Microbiol*, 72, 606-11. 8. Cirkovic D, Stevanovic J, Glavinic U, Aleksic N, Djuric S, Aleksic J, et al., 2018, Honey bee viruses in Serbian colonies of different strength, *PeerJ*, 6, e5887. 9. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA et al., 2007, A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder, *Science*, 318, 283-7. 10. Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Buechler R et al., 2010, The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies, *Apidologie*, 41, 332-52. 11. Gisder S, Aumeier P, Genersch E, 2009, Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*), *J Gen Virol*, 90, 463-467. 12. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Lakic N, et al., 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*, *PLoS ONE*, 12, e0187726. 13. Glavinic U, Stevanovic J, Gajic B, Simeunovic P, Djuric S, Vejnovic B, et al., 2014, *Nosema ceranae* DNA in honey bee haemolymph and honey bee mite *Varroa destructor*, *Acta Vet-Beograd*, 64, 349-57. 14. Maori E, Paldi N, Shafir S, Kalev H, Tsur E, Glick E et al., 2009, IAPV, a bee-affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion, *Insect Mol Biol*, 18, 55-60. 15. McMenamin AJ, Flenniken ML, 2018, Recently identified bee viruses and their impact on bee pollinators, *Curr Opin Insect Sci*, 26, 120-9. 16. McMenamin AJ, Genersch E, 2015, Honey bee colony losses and associated viruses. *Curr Opin Insect Sci*, 8, 121-9. 17. Neumann P, Carreck NL, 2010, Honey bee colony losses, *J Apicult Res*, 49, 1-6. 18. Ribière M, Olivier V, Blanchard P, 2010, Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other?, *J Invertebr Pathol*, 103, 120-31. 19. Shen M, Cui L, Ostiguy N, Cox-Foster D, 2005, Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite, *J Gen Virol*, 86, 2281-9. 20. Shen M, Yang X, Cox-Foster D, Cui L, 2005, The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees, *Virology*, 34, 141-9. 21. Simeunovic P, Stevanovic J, Vidanovic D, Nisavic J, Radovic D, Stanistic Lj, et al., 2014, A survey of deformed wing virus and acute bee paralysis virus in honey bee colonies from Serbia using real-time RT-PCR, *Acta Vet-Beograd*, 64, 81-92. 22. Stanimirovic Z, Glavinic U, Lakic N, Radovic, D, Ristanic M, Taric E, et al., 2017, Efficacy of plant-derived formulation "Argus Ras" in *Varroa destructor* control, *Acta Vet-Beograd*, 67, 191-200. 23. Stanimirovic Z, Glavinic U, Ristanic M, Aleksic N, Jovanovic N, Vejnovic B, et al., 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses, *Acta Vet-Beograd*, 69, 1-31. 24. Taric E, Glavinic U, Stevanovic J, Vejnovic B, Aleksic N, Dimitrijevic V, et al., 2019, Occurrence of honey bee (*Apis mellifera* L.) pathogens in commercial and traditional hives, *J Apicult Res*, 58, 433-43. 25. Venturini EM, Drummond FA, Hoshida AK, Dibble AC, Stack LB, 2017, Pollination reservoirs in lowbush blueberry (Ericales: Ericaceae), *J Econ Entomol*, 110, 333-46. 26. Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, et al., 2016, Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites, *Science*, 351, 594-7. 27. Yue C, Genersch E, 2005, RT-PCR analysis of Deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*), *J Gen Virol*, 86, 3419-4.

ДИНАМИКА КОИНФЕКЦИЈЕ ЕНДОПАРАЗИТИМА *Lotmaria passim* И  
*Nosema ceranae* У ПЧЕЛИЊИМ ДРУШТВИМА

DYNAMICS OF COINFECTION WITH ENDOPARASITES *LOTMARIA PASSIM* AND  
*NOSEMA CERANAE* IN BEE COLONIES

Бранислав Вејновић, Јевросима Стевановић, Урош Главинић, Невенка Алексић,  
Милорад Мириловић, Споменка Ђурић, Зоран Станимировић

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Код европске медоносне пчеле (*Apis mellifera*) у дигестивном систему веома често паразитирају микроспоридија *Nosema ceranae* и недавно откривена трипанозома *Lotmaria passim* Schwarz, 2014, чија динамика инфекције при коинфекцији није позната. Праћење годишње динамике инфекције ендопаразитима *N. ceranae* и *L. passim* спроведено је на укупно десет LR кошница у којима су друштва била природно инфицирана са оба паразита. Све кошнице су се налазиле на истом пчелињаку у Вишњићеву (Срем). Током трајања експеримента (од марта 2016. до марта 2017. године) сваког месеца, изузев зимских, из сваке кошнице је узроковано по најмање 60 живих одраслих пчела са лета кошнице. *Real-time* PCR метода је развијена како би се омогућила истовремена детекција и квантификација *L. passim*, док је степен инфекције врстом *N. ceranae* одређиван бројањем спора. Степен инфекције врстом *N. ceranae* био је значајно већи у односу на степен инфекције врстом *L. passim*. Значајна позитивна корелација између нивоа инфекције обема врстама указала је на њихову сличну годишњу динамику, док разлике у нивоима инфекције сваком од врста понаособ указују на сезоналност у интензитету инфекције обема врстама паразита. Метода која је развијена и валидирана у овом истраживању омогућава детаљно истраживање динамике инфекције трипанозомом *L. passim* и разумевање интеракције при истовременој инфекцији и другим врстама ендопаразита.

**Кључне речи:** *Apis mellifera*, коинфекција, *Lotmaria passim*, *Nosema ceranae*, qPCR

**Summary**

The digestive system of the western honey bee (*Apis mellifera*) is frequently parasitized by the microsporidium *Nosema ceranae* and the recently recognised trypanosoma *Lotmaria passim* Schwarz, 2014, whose infection dynamics in cases of coinfection is unknown. The annual dynamics of infection with endoparasites *N. ceranae* and *L. passim* was monitored on ten LR hives, in which the colonies were naturally infected with the two parasites. All the hives were located on the same apiary in Višnjićevo (Srem). Throughout the experiment, from each hive a minimum of 60 live adult bees were sampled from the hive entrance (from March 2016 to March 2017), every month, with the exception of winter months. Real-time PCR method was developed to enable concurrent detection and quantification of *L. passim*, whilst the infection level with *N. ceranae* was determined by spore counting. The infection level with *N. ceranae* was significantly higher than the one with *L. passim*. Significant positive correlation between the infection levels with both parasites pointed to their similar annual dynamics, whilst the differences in the infection level within each species suggest that there is seasonality in the parasite burdens they impose. The method which was developed and validated in this research enables in depth insight into the

dynamics of *L. passim* infection and the understanding of interaction in concurrent infection with some other species of endoparasites.

**Key words:** *Apis mellifera*, coinfection, *Lotmaria passim*, *Nosema ceranae*, qPCR

#### Увод

Европска медоносна пчела *Apis mellifera* изложена је бројним патогенима од којих преовладавају цревни паразити микроспоридије рода *Nosema* (*N. ceranae*, *N. apis* и *N. neumannii*) и две врсте трипанозома: *Crithidia mellificae* Langridge и McGhee, описана пре више од пет деценија у Аустралији (Langridge и McGhee, 1967) и друга, недавно описана *Lotmaria passim* Schwarz, 2014 (Schwarz и сар. 2015). Трипанозоме су једноћелијски еукариоти, облигатни интрацелуларни паразити, веома чести код одраслих пчела (Runckel и сар. 2011; Cornman и сар. 2012; Schwarz и Evans, 2013). *N. ceranae* скоро увек паразитира код пчела заједно са трипанозомама, како у пчелињем друштву (Ravoet и сар. 2013; Stevanovic и сар. 2016; Hubert и сар. 2017) тако и на индивидуалном нивоу (Tritschler и сар. 2017). Од три врсте нозема *N. ceranae* је најчешћа и географски најраширенија (Fries, 2010; Higes и сар. 2013), док *N. apis* преовладава у хладнијим климатским подневљима (Gisder и сар. 2010; Forsgren и Fries, 2013), а недавно описана *N. neumannii* је ендем у Уганди, где пчелиња друштва одржавају инфекцију на ниском нивоу (Chemurot и сар. 2017). У Србији је већина пчелињих друштава инфицирана врстом *N. ceranae* (Stevanovic и сар. 2011; Stevanovic и сар. 2013; Stevanovic и сар. 2016).

Ретроспективна анализа архивских узорака пчела из Србије открила је да је *L. passim* присутна још од 2007. године, док *C. mellificae* још није била позната (Stevanovic и сар. 2016). Трипанозоме из Италије, Кине, Шпаније, Јапана, Турске, Швајцарске и САД које су примарно биле идентификоване као *C. mellificae* заправо су биле *L. passim* (Schwarz и сар. 2015). *L. passim* је тренутно доминантна врста трипанозома у популацијама *A. mellifera* широм света (Schwarz и сар. 2015).

За разлику од микроспоридија о чијој се распрострањености и утицају на пчеле доста зна (Fries, 2010; Higes и сар. 2010, 2013; Stevanovic и сар. 2011, 2013; Botías и сар. 2013), о значају трипанозома за пчеле постоји веома мало информација (Cornman и сар. 2012; Schwarz и Evans, 2013; Ravoet и сар. 2013). У овом истраживању циљ рада је био развијање *real-time* PCR методе која би омогућила истовремену детекцију и квантификацију *L. passim*, као и утврђивање годишње динамике коинфекције *N. ceranae* и *L. passim* у пчелињим друштвима која су природно заражене овим врстама паразита. Поред тога, квантитативни однос између двеју врста паразита је процењиван на месечном нивоу.

#### Материјал и методе

Са једног пчелињака у месту Вишњићеву (44°57'26.8"N 19°17'25.0"E) насумице је одабрано 10 LR кошница. Критеријум при одабиру пчелињака био је присуство *L. passim* и *N. ceranae*.

За потребе детекције, односно квантификације *L. passim* и *Nosema* spp. током трајања експеримента (март 2016. - март 2017) сваког месеца изузев зимских месеци од сваке кошнице је узорковано по најмање 60 живих одраслих пчела са лета. Узорковане пчеле су смештене у стерилне пластичне посуде и на леду транспортоване до лабораторије. Сакупљени узорци су чувани на -20°C до тренутка анализирања. Такође, током периода истраживања бележена је и просечна месечна температура (<https://www.accuweather.com>).

Абдомени 60 пчела по узорку су хомогенизовани у стерилном тарионику уз додатак 60 мл редестилизоване воде (ддН<sub>2</sub>О). Десет микролитара добијеног хомогената пренето је на хемоцитометар како би се утврдио ниво инфекције ноземом израчунавањем просечног броја спора по пчели (ОИЕ, 2013). Преостали хомогенат је центрифугиран 6 минута на 3000 грт. Након центрифугирања, супернатант је уклоњен, а талог је ресуспендован у 20 мл ддН<sub>2</sub>О. Из суспензије, 1000 µl је пренето у епрувету и центрифугирано на 13000 грт током 4 минута. Након одбацивања супернатанта, талог је преливен течним азотом и мацериран ради разарања зида евентуално



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

присутних *Nosema* врста и ослобађања њихове ДНК. Изолација ДНК је урађена помоћу комерцијалног сета „Quick-gDNA™ MiniPrep” (Zymo Research, Orange, CA) у складу са упутством произвођача. Након екстракције ДНК, на спектрофотометру (UV-Vis Biospec Nano Micro-volume, Shimadzu, Kyoto, Japan) је извршена квантификација ДНК. У циљу контроле ефикасности изолације, упоредо са изолацијом испитиваног материјала, обављана је изолација сигурно позитивног материјала и редестиловане воде (ддН<sub>2</sub>О). Изолована ДНК је чувана у замрзивачу на -20°C до амплификације.

Специфичан *forward* прајмер је оптимизован за *real-time* PCR и дизајниран да умножи 146 бп из региона *citohrom b* гена (*Cytb*, GenBank KJ684960). Мала слова у секвенци прајмера означавају разлике у полиморфним позицијама између *L. passim* и *C. mellificaе* (Табела 1). За амплификацију и квантификацију ДНК *L. passim* коришћен је комерцијални сет (KAPA SYBR® FAST Universal qPCR Kit, Капа Biosystems). Запремина *real-time* qPCR реакције износила је 20 µl и састојала се од 8 µl „nuclease-free“ воде, 10 µl 2X KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix, по 0,5 µl *CytbSF\_F2* и *CytbSF\_R1* концентрације 10 µM и 300 ng изоловане ДНК. Реакције су изведене на *real-time* PCR апарату (Rotor-Gene Q 5plex, Qiagen, Валенсија, СА). Реакције су изведене иницијалном денатурацијом у трајању од 10 минута на 95°C, а затим у 40 циклуса денатурације од 10 секунди на 95 °C и 60 секунди хибридикације и екстензије на 54 °C (Veјnovic и сар. 2018). Визуелизација амплификованих продуката је омогућена бележењем нивоа флуоресценције у виду специфичних дијаграма.

Табела 1. Коришћени прајмери за амплификацију ДНК *L. passim* у *real-time* PCR

Назив прајмера	Секвенца прајмера (5'-3')	Трипанозома	Циљани ген	Величина PCR продукта (бп)
LpCytb_F2 LpCytb_R	AGTaTGAGCaGTaGGtTTTaTTATa gcCAaAcACCaATaACtGGtACT	<i>L. passim</i>	citohrom b (Cytb)	146

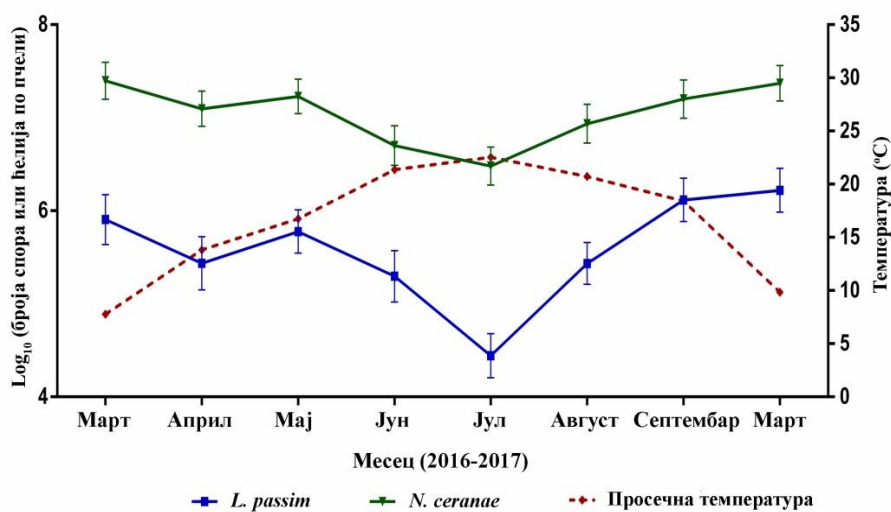
У свакој *real-time* PCR реакцији поред испитујућих узорака коришћена је плазмидна ДНК познате концентрације за формирање стандардних крива, као и негативна контрола и β-актин као референтни ген (Scharlaken и сар. 2008). Све *real-time* PCR анализе урађене су у трипликату. Ефикасност амплификације *real-time* PCR (E) је израчуната из нагиба стандардних крива помоћу једначине:  $E = 10^{-1/\text{slope}} - 1$  (Rasmussen, 2001). Број *L. passim* по пчели је добијен коришћењем једначине описане у раду Veјnovic и сар. (2018).

Нормална расподела података је тестирана користећи Shapiro - Wilk тест нормалности. Пошто су подаци били нормално дистрибуирани (Shapiro - Wilk тест  $p > 0,05$ ), за поређење група коришћена је двофакторска ANOVA, а накнадна поређења су урађена са Tuckey тестом. За израчунавање повезаности две променљиве коришћен је Spearman коефицијент корелације. Сви подаци су приказани као средња вредност ± стандардна девијација. Статистичка обрада података је урађена помоћу софтвера GraphPad Prism верзија 6 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

#### Резултати

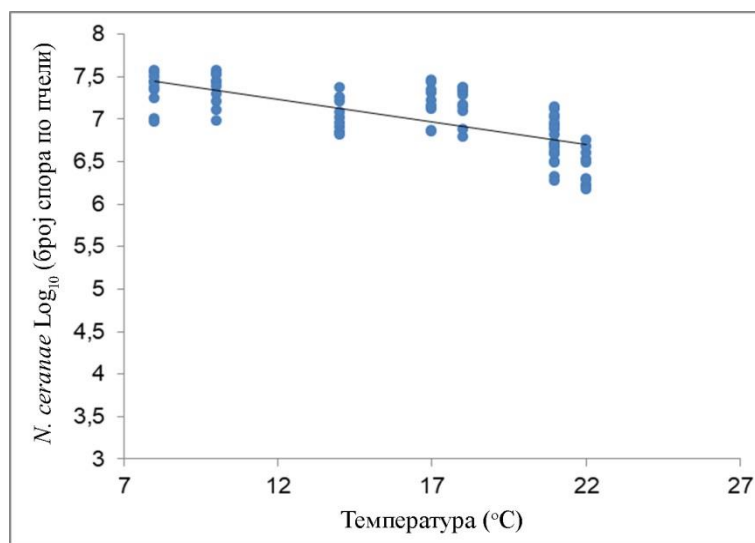
У анализираним узорцима није детектована ни *C. mellificaе* ни *N. apis*. Просечне месечне температуре од марта 2016. до марта 2017. године изузев зимских месеци (октобар-фебруар) приказане су на слици 1.

Анализе пчела излетница указале су да *N. cearane* и *L. passim* највећи ниво инфекције достижу током зимских месеци, а најнижи у јулу, када је просечна месечна температура била највиша (Слика 1).

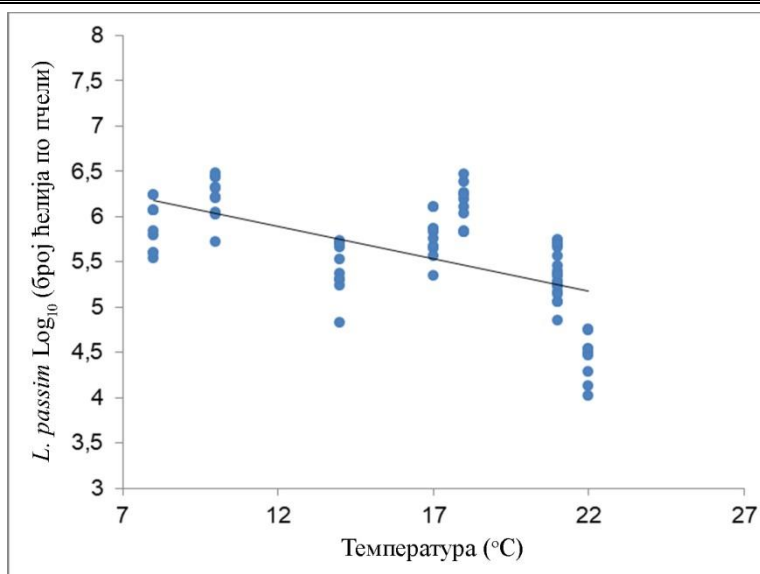


Слика 1. Просечна месечна температура и нивои инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim*

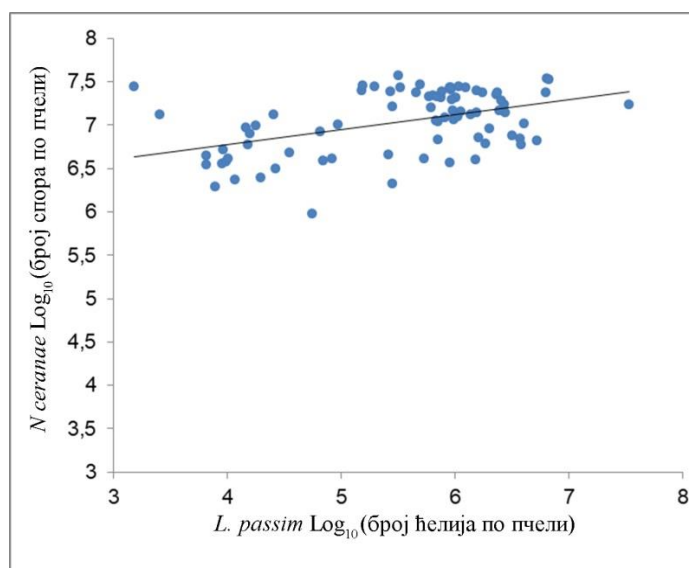
Анализом односа између температуре и ова два патогена, установљена је негативна корелација између сваког од њих понаособ и температуре (за *N. ceranae* Spearman  $|r| = -0,76$ ,  $p < 0,01$ , за *L. passim* Spearman  $|r| = -0,64$ ,  $p < 0,01$ , Слика 2 и 3). Позитивна корелација (Spearman  $|r| = 0,66$ ,  $p < 0,01$ ) је установљена између нивоа инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim* (Слика 4).



Слика 2. Дијаграм распршености нивоа инфекције *N. ceranae* ( $\log_{10}$  броја спора по пчели) у односу на температуру (°C). Негативна корелација између  $\log_{10}$  броја спора по пчели и температуре је значајна ( $n = 80$ , Spearman  $|r| = -0,76$ ,  $p < 0,01$ ).



Слика 3. Дијаграм распршености нивоа инфекције *L. passim* ( $\log_{10}$  броја ћелија по пчели) у односу на температуру ( $^{\circ}\text{C}$ ). Негативна корелација између  $\log_{10}$  броја ћелија по пчели и температуре је значајна ( $n = 80$ , Spearman  $|r| = -0,64$ ,  $p < 0,01$ ).



Слика 4. Дијаграм распршености нивоа инфекције *N. ceranae* ( $\log_{10}$  броја спора по пчели) у односу на *L. passim* ( $\log_{10}$  броја ћелија по пчели). Негативна корелација  $\log_{10}$  броја спора по пчели и  $\log_{10}$  броја ћелија по пчели била је значајна ( $n = 80$ , Spearman  $|r| = 0,66$ ,  $p < 0,01$ ).

Установљене су значајне разлике у нивоима инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim* током године (Табела 2).

Табела 2. Месечни нивои инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim*.

Година	Месец	n	Број спора по пчели (log <sub>10</sub> просечног броја±SD)	
			<i>N. ceranae</i>	<i>L. passim</i>
2016	Март	10	7,40±0,20 <sup>ABC</sup>	5,91±0,27 <sup>ABCD</sup>
	Април	10	7,10±0,19 <sup>DE</sup>	5,44±0,29 <sup>ADEFG</sup>
	Мај	10	7,23±0,18 <sup>FG</sup>	5,78±0,23 <sup>HI</sup>
	Јун	10	6,70±0,21 <sup>ADFGHI</sup>	5,30±0,28 <sup>BHIJKL</sup>
	Јул	10	6,48±0,20 <sup>BEGJKL</sup>	4,44±0,24 <sup>CELMNO</sup>
	Август	10	6,94±0,21 <sup>CJM</sup>	5,43±0,22 <sup>DMPR</sup>
	Септембар	10	7,20±0,21 <sup>HK</sup>	6,12±0,23 <sup>FKNP</sup>
2017	Март	10	7,37±0,19 <sup>ILM</sup>	6,22±0,23 <sup>GLOR</sup>

n - број кошница; Ниво инфекције *N. ceranae* је изражен као log<sub>10</sub> броја спора/пчели; Ниво инфекције *L. passim* је изражен као log<sub>10</sub> броја ћелија/пчели; Вредности са istim словима унутар исте колоне се значајно разликују<sup>A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, R</sup> (p≤05)

### Дискусија

*Real-time* PCR метода која је развијена у овом раду омогућава детекцију и квантификацију *L. passim* у истој реакцији (Vejnovic и сар. 2018). Применом новоразвијене методе омогућено је прецизно праћење динамике инфекције паразитом *L. passim* као и процена квантитативног односа између ове трипанозоме и других патогена који истовремено могу бити присутни код медоносне пчеле. Специфични прајмери за *L. passim* коришћени у реакцији *real-time* PCR омогућавају добијање квалитативних и квантитативних резултата лакше, брже и јефтиније у односу на друге методе (Ravoet и сар. 2015; Tritschler и сар. 2017), код којих је потребна накнадна анализа PCR продукта секвенционирањем. Ови специјес-специфични *real-time* PCR прајмери такође обезбеђују прецизну квантификацију *L. passim* нарочито зато што ни једна друга ДНК врста која се налази код пчела неће бити амплификована (Vejnovic и сар. 2018).

Метода која је овде развијена утврдила је да су сва пчелиња друштва током целог испитиваног периода била позитивна на *L. passim*, а микроскопским прегледом је установљено присуство спора *N. ceranae* у свим друштвима током испитиваног периода. Установљена је позитивна корелација између нивоа инфекције паразитима *N. ceranae* и *L. passim*, што је у складу са налазима Tritschlera и сар. (2017). Међутим, наш налаз о константно већем броју спора *N. ceranae* него *L. passim* је у супротности са подацима из Швајцарске (Tritschler и сар. 2017). Ово се може објаснити различитим методолошким приступима: наши резултати су добијени анализом пулованих узорка пчела, док су Tritschler и сар. (2017) анализирали појединачне радилице. Осим тога, треба узети у обзир и разлике у климатским условима између Србије и Швајцарске, као и преваленцију *Nosema* spp. у овим земљама. У Србији је чак 95,7% пчелињих друштава инфицирано овим врстама (Stevanović и сар. 2016), док је у Швајцарској инфекција забележена у 46,7% друштава (Retschnig и сар. 2017). Недавни докази указују на доминацију исте врсте *Nosema* у Србији (Stevanovic и сар. 2011, 2013, 2016) и у швајцарским пчелама (Dainat и сар. 2012; Retschnig и сар. 2017). Генерално гледано, већа преваленција *N. ceranae* у односу на *N. apis* може бити последица веће ефикасности алтернативних третмана у контроли *N. apis* (Michalczyk и сар. 2016). Међутим, *N. ceranae* је осетљивија на ниске температуре (Fries, 2010; Gisder и сар. 2010), због чега се очекује да буде боље прилагођена клими у Србији него у Швајцарској. Штавише, двоструко већа преваленција *N. ceranae* у српским пчелама може бити последица пчеларске праксе, односно куповине матица и пакетних ројева од локалних узгајивача матица који немају потврду о здравственом стању. Ова пракса, заједно са селећим пчеларењем, може допринети брзој експанзији *N. ceranae* и *L. passim*, што је већ доказано за *N. ceranae* (Traunог и сар. 2016). Иако

генетичка разноврсност доприноси смањењу преваленције паразита и патогена међу члановима пчелињских друштава (Liersch и Schmid-Hempel, 1998; Targu, 2003), висок генетски диверзитет који је доказан код српских пчела (Muñoz и сар. 2012) очигледно није могао надоместити неповољне факторе и смањити преваленцију *N. ceranae*. Учесталост паразитизма *L. passim* у српским пчелама је такође била велика и износила је у деветогодишњем периоду (2007-2015) у просеку 62,3% (Stevanović и сар. 2016). Ови подаци и налаз значајне позитивне корелације између нивоа инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim* доводе нас до хипотезе да *L. passim* у српским пчелама прати "судбину" *N. ceranae* када је у питању динамика инциденције (њихова годишња динамика је слична), вероватно зато што оба паразита колонизују дигестивни систем пчеле. Такође је могуће да на оба паразита утичу сви микро и макроеколошки фактори (исхрана, микроклима, годишње доба, пчеларска пракса). Међутим, док *N. ceranae* инфицира епителне ћелије средњег црева (Fries, 2010), *L. passim* преферира цревни епител задњег црева (Schwarz и сар. 2015), те самим тим не постоји разлог за њихову компетицију, тако да у њиховој динамици инфекције нема никакве препреке за међусобно позитивну корелацију. С обзиром на недостатак адекватних епидемиолошких података о истовременим инфекцијама пчела са ова два паразита у другим земљама, потребна су додатна истраживања како би се потврдила ова хипотеза.

На основу значајних разлика у нивоима инфекције током одређених месеци, може се закључити да је у овом истраживању утврђена сезоналност код *N. ceranae*, слична онима који су претходно примећени у Србији (Stevanović и сар. 2013; Vejnović и сар. 2018) и североисточној Немачкој (Gisder и сар. 2017). Слична сезоналност је примећена и код *L. passim*. Варијабилност нивоа инфекције је много већа у случају *L. passim* у поређењу са *N. ceranae*, што је вероватно последица разлике у биологији паразита и осетљивости домаћина. Варијабилност *L. passim* у пчелињим друштвима већ је била приписана разликама у генетичком пореклу домаћина и квалитету његовог микробиома (Schwarz и сар. 2016).

Ово истраживање је открило да између интензитета инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim* и просечне спољашње температуре постоји негативна корелација. Високи пикови *N. ceranae* и *L. passim* били су забележени у свим хладним месецима, па се може закључити да је зима идеалан период за развој оба паразита (Vejnović и сар. 2018). Најнижи ниво инфекције обема врстама забележени су у јулу, када су просечне температуре биле највише. На основу овога се може стећи утисак да високе летње температуре негативно утичу на паразите. Међутим, истина је да је оптерећење паразитима најниже у летњем периоду због флукуације густине популације пчела (Vejnović и сар. 2018). Заправо, највеће смањење интензитета инфекције у лето код пчела је одраз великог повећања броја новоизлежених пчела (Higes и сар. 2010, 2013). Подаци о нивоу инфекције врстом *N. ceranae* су у сагласности са онима добијеним на Тајвану, где је забележена слична појава (Chen и сар. 2012). Највећи пад интензитета инфекције ноземом у овом истраживању забележен је у лето, такође је у сагласности са ранијим налазима (Stevanović и сар. 2013) где је најмањи проценат инфицираних друштава забележен у овом периоду године.

У анализираним друштвима није доказано присуство ни *C. mellificaе*, нити *N. apis*. Ови налази су у складу са истраживањима која нису открила да је *N. apis* замењена врстом *N. ceranae* (Stevanović и сар. 2011, 2013, 2016; Martín-Hernández и сар. 2012; Forsgren и Fries, 2013; Gisder и сар. 2017).

#### **Закључак**

Дизајнирани прајмери и оптимизирана *real-time* PCR метода обезбеђују истовремену детекцију и квантификацију *L. passim*, односно утврђивање њене раширености и интензитета инфекције. Значајна позитивна корелација ( $p < 0,01$ ) између нивоа инфекције врстама *L. passim* и *N. ceranae* указује на сличну годишњу динамику инфекције овим паразитима. Значајне разлике ( $p < 0,05$ ) у нивоима инфекције овим паразитима током године указују на њихов сезонски карактер. Највиши интензитет инфекције врстама *N. ceranae* и *L. passim* забележен је у зимским месецима, а најмање током лета, у јулу, при највишим температурама.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

#### Литература

1. Botías C, Martín-Hernández R, Barrios L, Meana A, Higes M, 2013, *Nosema* spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level, *Vet Res*, 44, 25.
2. Chemurot M, De Smet L, Brunain M, De Rycke R, de Graaf DC, 2017, *Nosema neumannii* n. sp. (Microsporidia, Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, *Apis mellifera* in Uganda, *Eur J Protistol*, 61, 13-9.
3. Chen Y, Chung WP, Wang CH, Solter LF, Huang WF, 2012, *Nosema ceranae* infection intensity highly correlates with temperature, *J Invertebr Pathol*, 111, 264-7.
4. Cornman RS, Tarry DR, Chen Y, Jeffreys L, Lopez D, Pettis JS et al., 2012, Pathogen webs in collapsing honey bee colonies, *PLoS One*, 7, e43562.
5. Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P, 2012, Predictive markers of honey bee colony collapse, *PLoS One*, 7, e32151.
6. Forsgren E, Fries I, 2013, Temporal study of *Nosema* spp. in a cold climate, *Env Microbiol Rep*, 5, 78-82.
7. Fries I, 2010, *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*), *J Invertebr Pathol*, 103, 73-9.
8. Gisder S, Hedtke K, Möckel N, Frielitz M-C, Linde A, Genersch E, 2010, Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*?, *Appl Environ Microb*, 76, 3032-8.
9. Gisder S, Schüler V, Horschler LL, Groth D, Genersch E, 2017, Long-term temporal trends of *Nosema* spp. infection prevalence in Northeast Germany: continuous spread of *Nosema ceranae*, an emerging pathogen of honey bees (*Apis mellifera*), but no general replacement of *Nosema apis*, *Front Cell Infect Mi*, 7, 301.
10. Higes M, Martín-Hernández R, Meana A, 2010, *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis, *Apidologie*, 41, 375-92.
11. Higes M, Meana A, Bartolomé C, Botías C, Martín-Hernández R, 2013, *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen, *Env Microbiol Rep*, 5, 17-29.
12. Hubert J, Bicianova M, Ledvinka O, Kamler M, Lester PJ, Nesvorna M et al., 2017, Changes in the bacteriome of honey bees associated with the parasite *Varroa destructor*, and pathogens *Nosema* and *Lotmaria passim*, *Microb Ecol*, 73, 685-98.
13. Langridge DF, McGhee RB, 1967, *Crithidia mellificae* n. sp. an acidophilic trypanosomatid of the honey bee *Apis mellifera*, *J Protozool*, 14, 485-7.
14. Liersch S, Schmid-Hempel P, 1998, Genetic variation within social insect colonies reduces parasite load, *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 265, 221-5.
15. Martín-Hernández R, Botías C, Bailón EG, Martínez-Salvador A, Prieto L, Meana A et al., 2012, Microsporidia infecting *Apis mellifera*: Coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*?, *Environ Microbiol*, 14, 2127-38.
16. Michalczyk M, Sokół R, Koziatek S, 2016, Evaluation of the effectiveness of selected treatments of *Nosema* spp. infection by the hemocytometric method and duplex PCR, *Acta Vet-Beograd*, 66, 115-24.
17. Muñoz I, Stevanovic J, Stanimirovic Z, De la Rúa P, 2012, Genetic variation of *Apis mellifera* from Serbia inferred from mitochondrial analysis, *J Apic Sci*, 56, 59-69.
18. OIE – World Organisation for Animal Health, 2013, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.2.4. Nosemosis of honey bees, Dostupno na: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health-standards/tahm/2.02.04\\_NOSEMOSIS\\_FINAL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health-standards/tahm/2.02.04_NOSEMOSIS_FINAL.pdf).
19. Rasmussen R, 2001, Quantification on the LightCycler. In *Rapid Cycle Real-Time PCR*, Springer Press, Berlin, Heidelberg, 21-34.
20. Ravoet J, Maharramov J, Meeus I, de Smet L, Wenseleers T, Smagghe G et al., 2013, Comprehensive bee pathogen screening in Belgium reveals *Crithidia mellificae* as a new contributory factor to winter mortality, *PLoS One*, 8, e72443.
21. Ravoet J, Schwarz RS, Descamps T, Yañez O, Tozkar CO, Martín-Hernández R et al., 2015, Differential diagnosis of the honey bee trypanosomatids *Crithidia mellificae* and *Lotmaria passim*, *J Invertebr Pathol*, 130, 21-7.
22. Retschnig G, Williams GR, Schneeberger A, Neumann P, 2017, Cold ambient temperature promotes *Nosema* spp. intensity in honey bees (*Apis mellifera*), *Insects*, 8, 20.
23. Runckel C, Flenniken ML, Engel JC, Ruby JG, Ganem D, Andino R et al., 2011, Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia*, *PLoS One*, 6, 20656.
24. Scharlaken B, de Graaf DC, Goossens K, Brunain M, Peelman LJ, Jacobs FJ, 2008, Reference gene selection for insect expression studies using quantitative realtime PCR: the head of the honeybee, *Apis mellifera*, after a bacterial challenge, *J Insect Sci*, 8, 33.
25. Schwarz RS, Bauman GR, Murphy CA, Ravoet J, de Graaf DC, Evans JD, 2015, Characterization of Two Species of Trypanosomatidae from the Honey Bee *Apis mellifera*: *Crithidia mellificae* Langridge

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

and McGhee, and *Lotmaria passim* n. gen., n. sp, *J Eukaryot Microbiol*, 62, 567-83. 26. Schwarz RS, Evans JD, 2013, Single and mixed-species trypanosome and microsporidia infections elicit distinct, ephemeral cellular and humoral immune responses in honeybees, *Dev Comp Immunol*, 40, 300-10. 27. Schwarz RS, Moran NA, Evans JD, 2016, Early gut colonizers shape parasite susceptibility and microbiota composition in honey bee workers, *Proc Natl Acad Sci*, 113, 9345-50. 28. Stevanovic J, Schwarz RS, Vejnovic B, Evans JD, Irwin RE, Glavinic U et al., 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: A nine-year survey (2007-2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees, *J Invertebr Pathol*, 139, 6-11. 29. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I et al., 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies, *Apidologie*, 44, 522-36. 30. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Genersch E, Kovacevic R S, Ljubenkovic J, Radakovic M et al., 2011, Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder, *Apidologie*, 41, 49-58. 31. Tarpay DR, 2003, Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth, *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 270, 99-103. 32. Traynor KS, Rennich K, Forsgren E, Rose R, Pettis J, Kunkel G et al., 2016, Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees, *Apidologie*, 47, 325-47. 33. Tritschler M, Retschnig G, Yañez O, Williams GR, Neumann P, 2017, Host sharing by the honey bee parasites *Lotmaria passim* and *Nosema ceranae*, *Ecol Evol*, 7, 1850-7. 34. Vejnovic B, Stevanovic J, Schwarz RS, Aleksic N, Mirilovic M, Jovanovic NM et al., 2018, Quantitative PCR assessment of *Lotmaria passim* in *Apis mellifera* colonies co-infected naturally with *Nosema ceranae*, *J Invertebr Pathol*, 151, 76-81.

УТИЦАЈ АПИТЕННИКЕ И ТИПА ПЧЕЛАРЕЊА НА ЗАСТУПЉЕНОСТ ПЧЕЛИЊИХ ПАТОГЕНА КОД МЕДОНСОНЕ ПЧЕЛЕ

*THE INFLUENCE OF APICULTURE TECHNIQUE AND THE TYPE OF BEEKEEPING ON THE OCCURRENCE OF BEE PATHOGENS IN HONEY BEES*

*Елмин Тарић, Урош Главинић, Јевросима Стевановић, Бранислав Вејновић, Невенка Алексић, Владимир Димитријевић, Зоран Станимировић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Циљ рада је био да се утврди да ли постоје разлике у присуству патогена између традиционално и комерцијално држаних пчела у присуству патогена, да би се проценио антропогени утицај на њихово ширење. Ово је прво истраживање које даје информације о здравственом стању пчела гајених у трмкама, као и о утицају апитехничких поступака на ширење патогена. Теренски део истраживања је обављен на простору Пештерске висоравни на 144 пчелиње заједнице без симптома инфекције. Узорци су узети из свих испитујућих кошница (ДВ и трмки) како би се утврдила заступљеност патогена легла (*Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius*, *Ascospaera apis* и вирус мешинастог легла – SBV) и патогена одраслих пчела (вирус деформисаних крила – DWV, вирус хроничне парализе пчела – CBPV и вирус акутне парализе пчела – ABPV).

Детекција патогена је обављена изолацијом бактерија као и употребом PCR и real-time PCR, у складу са стандардима ОИЕ. Међу комерцијално гајеним друштвима *P. larvae* је утврђена у 16,67% узорака, *A. apis* у 15,83% узорака и SBV у 96,67% узорака, док је код традиционално гајених пчела у трмкама детектован само SBV у 33,33% узорака. Што се тиче узрочника болести одраслих пчела у комерцијално и традиционално гајеним друштвима детектован је генетички материјал сва три вируса (ABPV, CBPV и DWV) с тим што је њихова појава била статистички значајно већа ( $p < 0,001$ ) у комерцијалним друштвима (83,33%, 100,00%, 100,00%, редом) у односу на друштва из трмки (по 33,33% за сваки вирус). Сва комерцијално гајена друштва била су инфицирана макар једним од испитујућих патогена, за разлику од традиционално гајених пчела у трмкама међу којима је 66,66% било без патогена. Рарефракционом анализом установили смо да број патогена по друштву у трмкама не би био промењен повећањем броја анализираних друштава.

Из овога можемо закључити да су пчеле које се гаје на традиционалан начин самоодрживе и отпорније на пчелиње патогене од комерцијалних и да апитехнички поступци негативно утичу на здравље пчела.

**Кључне речи:** патогени пчелињег легла, пчелињи вируси, комерцијално пчеларење, традиционално пчеларење, трмка, апитехнички поступци, PCR дијагностика.

**Summary**

The aim of this study was to decide whether there are differences in the occurrence of pathogens in traditionally and commercially kept bee colonies in order to determine the anthropogenic influence on the spreading of bee pathogens. This is the first research which provides information on the health status of bees kept in trmka hives, as well as on the influence of beekeeping practices on the spread of bee pathogens. The field experiment was conducted in the Pester plateau, on 144 seemingly healthy bee



colonies. In order to determine the prevalence of bee brood pathogens (*Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius*, *Ascosphaera apis* and sacbrood virus – SBV) and adult bee pathogens (deformed-wing virus– DWV, chronic bee paralysis virus – CBPV and acute bee paralysis virus – ABPV). Bee brood samples were taken from all the hives tested (DB and trmka hives).

Pathogen detection was done by isolation of bacteria and by the use of PCR and real-time PCR assays, in accordance with the OIE standards. In commercially kept colonies *P. larvae* was detected in 16.67% of samples, *A. apis* in 15.83% and SBV in 96.67%, whilst in those kept in traditionally in trmka hives only SBV was detected in 33.33% of the samples. As for adult bee diseases, in both commercially and traditionally kept colonies the genetic material of all of the three viruses (ABPV, CBPV и DWV) was detected, their prevalence being significantly higher ( $p < 0.001$ ) in commercial colonies (83.33%, 100.00% and 100.00%, respectively) in comparison with those in trmka hives (33.33% for each virus). All commercially kept colonies were infected at least with one of the pathogens tested, unlike traditionally kept bees in trmka hives, out of which 66.66% were free from pathogens. Rarefaction analysis determined that the number of pathogens detected per colony in trmka hives would not have been different had the number of analysed colonies been increased.

It can be concluded that the bee population kept traditionally is self-sustaining and more resistant to bee pathogens, and that beekeeping practices negatively influence the bees' health.

**Key words:** bee brood pathogens, bee viruses, beekeeping practices, commercial beekeeping, PCR diagnostics, traditional beekeeping, trmka hives.

#### Увод

Пчелиње заједнице налазе се под утицајем многобројних фактора: патогена, пестицида, фактора животне средине и апитехничких мера који нарушавају и слабе одбрамбене механизме пчела. Целокупни пчеларски менаџмент може се сматрати значајним фактором који утиче на виталност и здравствено стање пчела, а кључну улогу има у ширењу и контроли болести (Neumann и Blacquièrre, 2017). Штеточине и патогени представљају најважнији узрок губитака друштава (Genersch, 2010). Лечење болести пчелињег друштва представља користан поступак, али спречава природну селекцију пчела која би могла да побољша њихову природну отпорност, као и толеранцију на патогене (Neumann и Blacquièrre, 2017). С друге стране, познато је да дивље пчелиње заједнице развијају уравнотежен однос са својим „непријатељима“, али и са осталим факторима окружења (Seeley и сар. 2015).

Наиме, „дивља“ пчелиња друштва се гаје у посебном типу кошница - *трмкама*, које су сачињене од природног материјала и много се не разликују од природног станишта, у којима пчеле имају оптималан развој усаглашен са факторима средине. Недавни докази потврђују да „дивље“ пчеле поседују способност локалне адаптације која доприноси њиховом опстанку (Büchler и сар. 2014), а тиме и већој отпорности на патогене. За сада постоји недовољно литературних података о присуству болести пчелињег легла и одраслих пчела у друштвима са традиционалним начином пчеларења. Стога је било значајно испитати таква друштва на присуство пчелињих патогена. Посебно је интересантан податак да пчеле узгајане на простору Сјеничко пештерске висоравни припадају специфичном екотипу, што је доказано на основу анализе митохондријалне DNA (Stanimirović и сар. 2011; Muñoz и сар. 2012), као и на основу испитивања специфичних бихејвиоралних механизма одбране од патогена (Ћирковић, 2002; Стевановић, 2007; Stanimirović и сар. 2011).

Циљ нашег истраживања био је да се испита да ли између традиционално и комерцијално гајених пчелињих друштава постоје разлике у погледу присуства патогена пчелињег легла и одраслих пчела. У ту сврху обављена је детекција узрочника болести легла (*Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius*, *Ascosphaera apis* и вирус мешинастог легла – SBV) и патогена одраслих пчела (вирус деформисаних крила – DWV, вирус хроничне парализе пчела – CBPV и вирус акутне парализе пчела – ABPV) помоћу класичних микробиолошких и молекуларно генетичких метода (PCR и real-time PCR).

**Материјал и методе**

**Узимање узорка.** Узорци пчела узети су из 144 наизглед здрава пчелиња друштва (од тога су 24 друштва гајена у традиционалним кошницама - трмкама и 120 друштава гајених у комерцијалним кошницама) са 18 различитих пчелињака Сјеничке висоравни (43°16'14"N, 19°59'35"E). Истраживање је обављено на уједначеним пчелињим друштвима која су припремљена за зимовање (Delarplane и сар. 2013). Комерцијалне кошнице припадале су пчеларима који не селе кошнице. На основу изјаве пчелара матице су купљене и биле су старе 1-3 године. Традиционално гајена друштва у трмакама нису манипулисана на било који начин тј. нису третирана ни једним ветеринарским препаратом, нити су се додатно оптерећивала вештачком прихраном (шећером и / или медом). Смена матица се обављала природним путем. Из одабраних пчелињих друштава узорковано је легло минималне величине 10x10 cm и прописно упаковано у одговарајућу амбалажу (ОИЕ, 2016; Сл. гласник РС, бр. 25/2016), како би испитали присуство узрочника болести пчелињег легла (узрочници америчке трулежи легла - AFB, европске трулежи легла - EFB, вирус мешинастог легла – SBV и болести кречног легла - CHB). Додатни узорци од најмање 60 одраслих пчела сакупљени су са периферних сатних основа плодишта или из медишта и анализирани на присуство RNA вируса пчела ABPV, CBPV и DWV. Узорци су стављени у посуде намењене за једнократну употребу, које су чуване у сувом леду до транспорта у лабораторију, где су складиштени на -70°C до даље обраде.

**Иzolација и real time-PCR детекција пчелињих вируса.** Из сваког узорка узето је 30 ларви које су хомогенизоване у стерилним посудама уз додатак 5 ml 1x PBS раствора. Екстракција вирусне RNA је извршена у складу са препорукама произвођача (Quick-g RNA™ MiniPrep, Zymo Research), а потом претворена у cDNA коришћењем FastGene 55-Scriptase cDNA Synthesis сета (Nippon Genetics). Примењен је PCR протокол аутора Chantawannakul и сар. (2006) уз минималне модификације Simeonovic и сар. (2014).

**Иzolација и PCR детекција узрочник болести легла.** Из затвореног легла је узето 30 ларви у циљу детекције узрочника AFB, EFB и CHB. Култивација и изолација *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius* и *Ascosphaera apis* је обављена према ОИЕ (2016a,b) и према протоколима које су описали Dobbelaere и сар. (2001), Vudge и сар. (2010) и James и Skinner (2005) ,уз коришћење специфичних прајмера наведених аутора.

**Статистичка анализа.** За поређење разлика учесталости патогена код пчелињих заједница гајених у комерцијалним и у традиционалним кошницама коришћен је Фишеров тест. Статистичка анализа је обављена применом апликације GraphPad Prism version 6 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

**Резултати**

Већина пчелињих заједница (66,66%) гајених у трмкама је потпуно слободна од праћених агенаса. Узрочници болести пчелињег легла (AFB, EFB и CHB) нису доказане у сваком узорку. Уочен је само један патоген пчелињег легла и то SBV, што је потврђено у 33,33% узорка. Што се тиче болести одраслих пчела, 33,33% трмки било је позитивно на један или више испитујућих вируса, које потичу из једног од три традиционална пчелињака, а који је био у непосредној близини једног комерцијалног пчелињака. Сва друштва гајена у комерцијалне сврхе била су заражена неким вирусима. Пчелињи вируси DWV, CBPV, SBV и ABPV су статистички значајно више заступљени ( $p < 0,001$ ) код комерцијално гајених пчела у односу на традиционално гајене (Табела 1). Док је сваки вирус детектован у већини друштава, узрочници бактеријских и гљивичних болести су детектовани ређе (Табела 1). Узрочник EFB није доказан ни у једном узорка пчела без обзира на тип пчеларења (Табела 1).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

**Табела 1.** Преваленца пчелињих патогена код пчела гајених на комерцијалан и традиционалан начин

Genetski materijal uzročnika bolesti pčela		Košnice		P value
		Koмерцијалне n=120	Традиционалне- Трмка n=24	
Bolesti legla	AFB <sup>1</sup>	16.67%	0%	<0.001
	EFB <sup>2</sup>	0%	0%	1
	CHB <sup>3</sup>	13.33%	0%	<0.001
	SBV <sup>4</sup>	96.67%	33.33%	<0.001
Bolesti odrasih pčela	ABPV <sup>5</sup>	83.33%	33.33%	<0.001
	CBPV <sup>6</sup>	100.00%	33.33%	<0.001
	DWV <sup>7</sup>	100.00%	33.33%	<0.001

**Legenda:** 1. American foulbrood 2. European foulbrood 3. Chalk brood 4. Sacbrood virus 5. Acute bee paralysis virus 6. Chronic bee paralysis virus 7. Deformed wing virus

#### Дискусија

Литературни подаци указују да здравље комерцијално гајене медоносне пчеле све више угрожавају различити патогени (Genersch, 2010; vanEngelsdorp и Meixner, 2010). Ово је прво истраживање које се односи на компаративну анализу присуства најважнијих пчелињих патогена гајених у комерцијалним и традиционалним кошницама - трмкама. Поређењем резултата добијене су корисне информације о утицају човека на пчелу и њено здравље, као и о постојању друштава отпорних на патогене. Наши резултати показују да је знатно већа преваленца патогена у пчелињим заједницама гајених комерцијално у односу на друштва гајена у трмкама. Већа преваленца патогена у комерцијалним друштвима може се објаснити чињеницом да су пчеле гајене у трмкама мање изложене негативном антропогеном утицају и апитехничким поступцима (замена матица, манипулације воском и пчелама, неадекватна исхрана, непотребно узнемиравање пчела, често и непотребно отварања кошница итд., Таџи и сар. 2019).

Пчеле гајене у трмкама хране се природном, избалансираном енергетско-протеинском храном - медом и пергом, који су еквивалент најбољој енергетски избалансираној храни у комерцијалним кошницама, тј. плодишном меду (Stanimirović и сар. 2019). Комерцијална друштва често добијају енормне количине шећерног сирупа, који фаворизује репродукцију патогена, а посебно ноземе, која због недостатка митохондрија, енергетски паразит (Mayack и Naug, 2009) и користи енергију пчеле, условљавајући енергетски и оксидативни стрес пчела и већу потрошњу резерви хране (Glavinic и сар. 2017; Stanimirović и сар. 2019). Наши резултати о присуству пчелињих вируса DWV (100.00%), CBPV (100.00%), SBV (96.67%) и ABPV (89,33%) у комерцијално гајеним друштвима у сагласности је са налазима радова Simeunović и сар. (2014), Семеуновић (2015), Ћиrković и сар. (2018) и Таџи и сар. (2019), који су пратили вирусне инфекције на комерцијалним пчелињацима широм Србије. Детекцију генетичког материјала пчелињих вируса у узорцима осам трмки са једног од три традиционална пчелињака објашњавамо чињеницом да је он био у непосредној близини комерцијалног, па је највероватније дошло до мешања пчела и преноса вируса. Међутим, пчелињи вируси нису детектовани у остала два изолована традиционална пчелињака. Мало је литературних података који говоре о присуству патогена у традиционалним пчелињацима, али истраживање које је спровео Malfroy и сар. (2016) сугерише постојање дивљих, изолованих друштава, код којих су патогени изузетно ретки, јер је у конкретном случају пронађен само један вирус LSV1 (*Lake Sinai virus 1*). Наши налази су потврдили присуство варое у комерцијалним друштвима, док у трмкама није откивена ни једна, што је вероватан разлог за већу преваленцу пчелињих патогена у комерцијалним заједницама. Ови резултати, као и вишеструке инфекције различитим патогенима у комерцијалним друштвима у

складу су са многобројним истраживањима (Simeunovic и сар. 2014; Plak-Gajger и сар. 2014; Симеуновић, 2015; Stevanovic и сар. 2016; Vejnovic и сар. 2018; Taric и сар. 2019; Stanimirovic и сар. 2019). Треба имати на уму да је присуство вируса, посебно DWV и ABPV уско повезано са присуством варое (Genersch, 2010; vanEngelsdorp и Meixner, 2010; Simeunović, 2015; Stanimirovic и сар. 2017; Ćirković и сар. 2018; Stanimirović и сар. 2019), која је чест физички и биолошки вектор многих пчелињих патогена. Молекуларно генетичким анализама детектовали смо присуство DNA *P. larvae* и *A. apis* у комерцијалним друштвима, док су трмке потпуно биле слободне. Интезивно одузимање „вишка“ меда из комерцијалних пчелињих заједница доприноси исцрпљивању и слабењу пчелињег организма, паду имуног система и ствара услове за ширење патогена (Genersch, 2010; Sealey и Smith, 2015). Међутим, у комерцијалним кошницама увек остаје одређена количина неискоришћене, могуће контаминираних хране, која се поново користи и представља извор инфекције за неинфицирана друштва, а додатно оптерећење за већ инфицирана (Mattila и сар. 2012; de Guzman и сар. 2017). У традиционалном пчеларству производња меда не оптерећује друштво, а приступ пчелињим производима је могућ само уништавањем целе заједнице. На тај начин се прекида животни циклус и пчела и патогена. Интезивним радом пчелар фаворизује одређене кошнице формирајући јака друштва у циљу добијања веће количине пчела, како би се створили услови за брзу репродукцију, а тиме уједно доприноси ширењу патогена унутар кошнице, између кошница на шчелињаку, и између суседних пчелињака (Neumann и Blacquiere, 2017). Присуство узрочника СНВ у комерцијалним друштвима, а одсуство у трмакама објашњавамо чињеницом да лоша пчеларска пракса и неодговарајућа конструкција кошница погодују развоју *A. apis* (Ruottinen и сар., 2014). Влажност је често присутна у комерцијалним кошницама са лошом вентилацијом (Vorum и Ulgen, 2008). Код друштава гајених у трмакама сама конструкција кошница и врста материјала не дозвољавају појаву влаге, те су услови за појаву патогени у трмакама неповољни (Тарић и сар. 2019). Узрочник ЕТЛ није откривен ни у једном узорку, без обзира на начин пчеларења, што није изненађујуће, јер су приликом узорковања ларве пчела изгледале здраво, без знакова болести, а познато је да је *M. plutonius* углавном присутан у ларвама са видљивим клиничким симптомима (Forsgren и сар. 2005).

#### Закључак

Може се закључити да традиционални, природни начин пчеларења обезбеђује знатно боље услове за одржавање здравља пчела и њихове отпорности на патогене. Антропогени утицај је пресудан за ширење вирусних инфекција, што је повезано са њиховим вектором *Varroa destructor*. Резултати овог истраживања могу представљати добру основу за даљу активност и предузимање одговарајућих мера за надлежна тела задужена за националне програме у пољопривреди, у циљу предузимања бољег надзора и контроле над овим генетским ресурсом (дивља друштва сјеничко-пештерског екогенотипа медоносне пчеле) који није битан само за нашу земљу, већ за регион и свет у целини, јер представља изузетно вредан и потенцијан реликтни материјал (Станимировић и сар. 2005а,б). Уколико човек модификује животну средину пчела дужан је да предузме мере заштите, како би спречио губитак ових пчела гајених на традиционалан начин.

**Захвалница:** Научноистраживачки рад су подржали *Eastern Apicultural Society of North America* (Grant EAS- Елмин Тарић), Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије у оквиру Пројекта III46002 (руководилац проф. др Зоран Станимировић), као и пчеларска удружења југозападне Србије (Сјеница, Нови Пазар, Тутин, Рашка, Пријепоље и Прибој).

#### Литература:

1. Vorum AE, Ulgen M, 2008, Chalkbrood (*Ascosphaera apis*) infection and fungal agents of honey bees in North-West Turkey, *J Apicult Res*, 47, 170–1.
2. Büchler R, Costa C, Hatjina F, Andonov S, Meixner MD, Conte YL et al., 2014, The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe, *J Apicult Res*, 53, 205–14.
3. Budge GE, Barrett B, Jones B, Pietravalle S, Marris G, Chantawannakul P et al., 2010, The occurrence of *Melissococcus plutonius* in healthy colonies of *Apis mellifera* and the efficacy of European

- foulbrood control measures, *J Inverteb Pathol*, 105, 164-70. 4. Chantawannakul P, Ward L, Boonham N, Brown M, 2006 A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Tai honeybee (*Apis mellifera*) apiary, *J Inverteb Pathol*, 9, 69–73. 5. Ђурковић Д, 2002, Репродуктивно-продуктивна и хигијенско-неговатељска карактеризација сјеничко-пештерског екотипа медоносне пчеле (магистарска теза), Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду. 6. Ćirković D, Stevanović J, Glavinic U, Aleksic N, Djuric S, Aleksic J et al., 2018, Honey bee viruses in Serbian colonies of different strength, *Peer J*, 6, e5887. 7. deGuzman LI, Frake MA, Simone-Finstrom M, 2017, Comparative flight activities and pathogen load of two stocks of honey bees reared in gamma-irradiated combs, *Insects*, 8, 127. 8. Delaplane KS, van der Steen J, Guzman-Novoa E, 2013, Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies, In: Dietemann V, Ellis JD & Neumann P, editors, The COLOSS Beebook, Volume I: Standard methods for *Apis mellifera* research, *J Apicult Res*, 52(1) doi:10.3896/IBRA.1.52.1.03. 9. Dobbelaere W, De Graaf CD, Peeters EJ, 2001, Development of a fast and reliable diagnostic method for American foulbrood disease (*Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*) using a 16S rRNA gene based PCR, *Apidologie*, 32, 363-70. 10. Forsgren E, Lundhagen AC, Indorf A, Fries I, 2005, Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood, *Microb Ecol*, 50, 369-74. 11. Genersch E, 2010, Honey bee pathology: Current threats to honey bees and beekeeping, *Appl Microbiol Biot*, 87, 87-97. 12. James RR, Skinner JS, 2005, PCR diagnostic methods for *Ascosphaera* infections in bees, *J Inverteb Pathol*, 90, 98-103. 13. Malfroy SF, Roberts JM, Perrone S, Maynard G, Chapman N, 2016, A pest and disease survey of the isolated Norfolk Island honey bee (*Apis mellifera*) population, *J Apicult Res*, 55, 202-11. 14. Mattila HR, Rios D, Walker-Sperling VE, Roeselers G, Newton IL, 2012, Characterization of the active microbiotas associated with honey bees reveals healthier and broader communities when colonies are genetically diverse, *PLoS One*, 7, e32962. 15. Mayack C, Naug D, 2009, Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection, *J Invertebr Pathol*, 100, 185–8. 16. Muñoz I, Stevanović J, Stanimirović Z, De la Rúa P, 2012, Genetic variation of *Apis mellifera* from Serbia inferred from mitochondrial analysis, *J Apic Sci*, 56, 59-69. 17. Neumann P, Blacquière T, 2017, The Darwin cure for apiculture? Natural selection and managed honeybee health, *Evol Appl*, 10, 226–230. 18. OIE, 2016a, Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.2.2. American foulbrood of honey bees, [http://www.test.oie.int/fileadmin/Home/fr/Healthstandards/tahm/2.02.02\\_AMERICAN\\_FOULBROOD.pdf](http://www.test.oie.int/fileadmin/Home/fr/Healthstandards/tahm/2.02.02_AMERICAN_FOULBROOD.pdf). 19. OIE, 2016b, Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.2.3. European foulbrood of honey bees, [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.02.03-EUROPEANFOULBROOD.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.02.03-EUROPEANFOULBROOD.pdf). 20. Pravilnik o utvrđivanju programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2016. godinu, Sl. glasnik RS, br. 25/2016. 21. Ruottinen L, Berg P, Kantanen J, Kristensen TN, Præbel A, 2014, Status and conservation of the Nordic brown bee, Norway, The Nordic Genetic Resource Center (NOR). 22. Seeley TD, Smith ML, 2015, Crowding honeybee colonies in apiaries can increase their vulnerability to the deadly ectoparasite *Varroa destructor*, *Apidologie*, 46, 716–27. 23. Seeley TD, Tarpay DR, Griffin SR, Carcione A, Delaney DA, 2015, A survivor population of wild colonies of European honeybees in the northeastern United States: Investigating its genetic structure, *Apidologie*, 46, 654–66. 24. Симоновић П, 2015, Молекуларна детекција и идентификација микроспоридија и вируса у пчелињим друштвима у Србији, докторска дисертација, Универзитет у Београду. 25. Simeunović P, Stevanović J, Vidanović D, Nisavić J, Radović D, Stanisić Lj et al., 2014, A survey of deformed wing virus and acute bee paralysis virus in honey bee colonies from Serbia using real-time RT-PCR, *Acta Vet-Beograd*, 64, 81-92. 26. Stanimirović Z, Aleksic N, Stevanović J, Ćirković D, Mirilović M, Djelic N et al., 2011, The influence of pulverised sugar dusting on the degree of infestation of honey bee colonies with *Varroa destructor*, *Acta Vet-Beograd*, 61, 309–25. 27. Stanimirović Z, Glavinic U, Lakić N, Radović D, Ristanić M, Tarić E et al., 2017, Efficacy of plant-derived formulation “Argus Ras” in *Varroa destructor* control, *Acta Vet-Beograd*, 67, 191-200. 28. Stanimirović Z, Stevanović J, Andjelković M, 2005a, Chromosomal diversity in *Apis mellifera carnica* from Serbia, *Apidologie*, 36, 31-42. 29. Stanimirović Z, Stevanović J, Ćirković D, 2005b, Behavioural defenses of the honey bee ecotype from Sjenica – Pester against *Varroa destructor*, *Acta Vet-Beograd*, 55, 69-82. 30. Стевановић Ј, 2007, Еколошко-етолошки одбрамбени механизми *Apis mellifera carnica* према ектопаразиту *Varroa destructor* на подручју Србије, Докторска дисертација, Универзитет у Београду. 31. Stevanović J, Schwarz RS, Vejnović B, Evans JD,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

- Irwin RE, Glavinic U et al., 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: A nine-year survey (2007-2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees, *J Inverteb Pathol*, 139, 6-11.
32. Taric E, Glavinic U, Stevanovic J, Vejnovic B, Aleksic N, Dimitrijevic V et al., 2019, Occurrence of honey bee (*Apis mellifera* L.) pathogens in commercial and traditional hives, *J Apicult Res*, 58, 433-43.
33. Tlak Gajger I, Kolodziejek J, Bakonyi T, Nowotny N, 2014, Prevalence and distribution patterns of seven different honeybee viruses in diseased colonies: A case study from Croatia, *Apidologie*, 45, 701-6.
34. vanEngelsdorp D, Meixner MD, 2010, A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them, *J Inverteb Pathol*, 103, S80-S95.
35. Vejnovic B, Stevanovic J, Schwarz RS, Aleksic N, Mirilovic M, Jovanovic NM et al., 2018, Quantitative PCR assessment of *Lotmaria passim* in *Apis mellifera* colonies co-infected naturally with *Nosema ceranae*, *J Invertebr Pathol*, 151, 76-81.
36. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Latic N i sar., 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*, *PLoS One*, 12, e0187726.

ЗНАЧАЈ ДИЈЕТЕТСКИХ СУПЛЕМЕНАТА У ЗАЗИМЉАВАЊУ ПЧЕЛА

THE IMPORTANCE OF DIETARY SUPPLEMENTS IN BEE WINTERING

Немања Јовановић<sup>1</sup>, Урош Главинић<sup>1</sup>, Јевросима Стевановић<sup>1</sup>, Бранислав Вејновић<sup>1</sup>,  
Марко Ристанић<sup>1</sup>, Владимир Млађан<sup>2</sup>, Зоран Станимировић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду;

<sup>2</sup>Висока пољопривредна школа струковних студија Шабац

**Кратак садржај**

Дефицитарна исхрана у погледу квалитета, квантитета и разноврсности има негативне последице на пчеле у смислу смањења кондиције пчелињих заједница и повећања њихове осетљивости на патогене и пестициде. Нутритивни дефицит је најчешће узрокован тиме што пчелари одузимају прекомерне количине меда. Поред тога, прихрана пчела чистим шећерним сирупом изазива нутритивни/енергетски и оксидативни стрес, али је и додатни фактор који води ка развоју ноземозе. У одсуству адекватне хране у пчелињим заједницама, често се прибегава употреби суплемената. Имајући то у виду, испитивали смо ефекат суплемента „В<sup>+</sup>“ на јачину пчелињег друштва (проценом површине отвореног и затвореног легла, количине меда и полена/перге и бројности одраслих пчела) и његов потенцијал у контроли ноземозе. Додатно, праћени су параметри оксидативног стреса, активност антиоксидативних ензима: супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и глутатион С-трансферазе (GST), као и концентрација малон-диалдехида (MDA), маркера липидне пероксидације. У поређењу са контролом групом (пчелињим заједницама које су хранене чистим шећерним сирупом), пчелиње заједнице које су кроз исхрану носиле тестирани суплемент имале су сигнификантно мањи ( $p < 0,01$ ) број спора микроспоридија *Nosema ceranae*. На основу анализе активности антиоксидативних ензима и нивоа липидне пероксидације закључено је да пчелиње заједнице третиране суплементом „В<sup>+</sup>“ показују већу отпорност према оксидативном стресу. У закључку, наши резултати указују на позитиван ефекат суплемента „В<sup>+</sup>“ на кондициони статус пчелињих заједница током припреме за зазимљавање.

**Кључне речи:** суплемент „В<sup>+</sup>“, *Nosema ceranae*; производно-репродуктивне особине; антиоксидативни ензими; липидна пероксидација.

**Summary**

Diet deficient in quality, quantity and negatively impacts honeybees by decreasing the condition of bee colonies and increasing their susceptibility to pathogens and pesticides. Nutritive deficit is most frequently caused by beekeepers, who deprive bees from ample quantities of honey. In addition, feeding bees on pure sugar syrup causes nutritive/energetic and oxidative stress, but is also an additional factor which contributes to the development of nosemosis. Due to the absence of adequate food in bee colonies, supplements are frequently used. Thus, the effects of „В<sup>+</sup>“ supplement were tested on colony strength (by assessing the areas of open and sealed brood, honey and pollen/bee bread quantities and the numbers of adult bees) and its ability to control nosemosis. Moreover, the parameters of oxidative stress were measured: the activities of antioxidative enzymes: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST), and the concentrations of malonyl dialdehyde (MDA), the marker of lipid peroxidation. Bee colonies which ingested the supplement tested had significantly lower ( $p < 0.01$ ) numbers of *Nosema ceranae* spores compared to the control group (colonies fed on pure sugar syrup). Based on the analyses of the activities of antioxidative enzymes and the levels of lipid peroxidation it was

concluded that bee colonies treated with „B<sup>+</sup>“ supplement exhibit higher resistance to oxidative stress. To conclude, our results demonstrated the positive effect of „B<sup>+</sup>“ supplement on the condition of bee colonies at the time of preparation for wintering.

**Key words:** antioxidative enzymes, lipid peroxidation, *Nosema ceranae*, productive and reproductive traits, supplement „B<sup>+</sup>“.

Неадекватна исхрана у погледу квалитета, квантитета и разноврсности има негативне последице по пчеле у смислу повећања њихове осетљивости на патогене и пестициде (Di Pasquale и сар., 2016). Нутритивни дефицит може имати више узрока. Најчешћи јесте тај што пчелари одузимају превелике количине меда, нарочито мед пореклом из плодишта, који садржи знатно више раствореног полена у односу на мед из медишта (Stanimirovic и сар., 2019). Поред тога, прихрана пчела чистим шећерним сирупом изазива енергетски (Mayack и Naug 2009) и оксидативни стрес, што последично води ка смањењу отпорности пчела на патогене, првенствено на ендопаразита *N. ceranae* (Di Pasquale и сар., 2013; Stanimirovic и сар., 2019). У данашње време, велика распрострањеност монокултура ниске нутритивне вредности уз истовремено смањење разноврсности и количине медоносног биља (Di Pasquale и сар., 2016), као и пренасељеност одређених подручја кошницама, представљају додатне факторе који повећавају ризик настајања, пре свега, протеинске глади код пчела (Stanimirovic и сар., 2019). Код неадекватно исхрањених пчелињих заједница често се запажа смањење броја пчела радилица и трутова, као и смањење виталности и отпорности на патогене (Di Pasquale и сар., 2016).

У одсуству адекватне хране у пчелињим заједницама, често се прибегава употреби суплемената. У описаним ситуацијама додатак у исхрани може помоћи у одржавању доброг кондиционог статуса пчелињих заједница (Stanimirovic и сар., 2019). На тржишту се налази велики број суплемената намењених прихрани пчелињих заједница који имају за циљ подизање и одржавање доброг кондиционог статуса пчела. Међутим, резултати научних истраживања ефеката постојећих суплемената нису конзистентни. Највише су анализирани биљни протеински суплементи BeePro<sup>®</sup>, TLS Bee Food<sup>®</sup> (на бази соје), затим FeedBee<sup>®</sup> и MegaBee<sup>®</sup> (без соје), као и вештачки протеински суплемент Virgen<sup>®</sup>, и дали различите резултате у зависности од праћених параметара. На одгој легла, раст друштва и производњу меда само је Feed-Bee<sup>®</sup> показао добре ефекте, слично полену, док је ефекат BeePro<sup>®</sup> и TLS Bee Food<sup>®</sup> био слабији у односу на полен (Saffari и сар., 2010). Интересантно, код пчела којима је додаван суплемент BeePro<sup>®</sup>, забележени су виши степени инфекције ноземом и пчелињим вирусима, као и већи губици матица него код пчела храњених поленом, док се титар протеина хемолимфе није разликовао између пчела којима су давани суплементи BeePro<sup>®</sup> и MegaBee<sup>®</sup> и пчела којима је даван само полен уљане репице (DeGrandi-Hoffman и сар., 2016). Мањи степен инфекције, али и слабије преживљавање утврђено је код пчела којима је додаван вештачки протеински суплемент Virgen<sup>®</sup> у односу на пчеле храњене пергом (Basualdo и сар., 2014). Код нас су такође испитани ефекти разних суплемената, па је за минерално-витамински суплемент (BeeWell AminoPlus<sup>®</sup>) утврђено да има корисне ефекте у борби против *N. ceranae* (Glavinic и сар., 2017), док је један биљни суплемент (Argus Ras<sup>®</sup>) показао значајан ефекат у контроли пчелињег крпеља *V. destructor* (Stanimirovic и сар., 2017).

Приликом инфекције врстом *N. ceranae* и/или другим патогенима, у организму пчела продукују се реактивни облици кисеоника (*reactive oxygen species* - ROS) као одговор на инфекцију (Alaux и сар., 2011). Постоје истраживања у којима је утврђено да патогени, пестициди и тешки метали могу изазвати оштећења молекула ДНК, индуковати оксидативни стрес и реметити експресију гена код пчела и других врста животиња (Nikolic и сар., 2015; Radakovic и сар., 2013; 2016; Orčić и сар. 2017; Glavinic и сар., 2019). Прекомерно стварање ROS може довести до оштећења ћелијских липида, протеина и нуклеинских киселина. Резултат њиховог повећаног присуства јесте и активација антиоксидативних механизма одбране, која се може пратити преко антиоксидативних ензима (SOD, CAT и GST), чија активност се користи као маркер нивоа оксидативног стреса, самим тим и здравственог стања и кондиције пчела (Nikolic и сар., 2015; Orčić и сар. 2017). Међутим, крајњи продукт липидне пероксидације је MDA, један од главних



маркера оксидативног стреса, преко чије концентрације се региструје поремећај функције ћелијске мембране, у којој су незасићене масне киселине главне мете пероксидације.

У циљу бољег разумевања деловања суплемената и њихове улоге у зазимљавању пчела, изабрали смо испитивање ефеката суплемента „В<sup>+</sup>“ у кошничким условима праћењем параметара јачине пчелињих заједница и оксидативног стреса, и квантификацијом микроспориције *N. ceranae*.

#### Материјал и методе

Суплемент на бази мешавине биљних састојака под комерцијалним називом „В<sup>+</sup>“ (Ветеринарски контролни број: РС30242) испитиван је у овом експерименту. Раствор суплемента је припремљен према препоруци произвођача (концентрација: 1 g суплемента/1 L шећерног сирупа).

#### Експериментални дизајн

За теренски експеримент, пчелиње заједнице су одржаване у кошницама типа Алберт-Жнидаршич. За потребе извођења експеримента, у мају 2018. године формиране су заједнице, чије су матице водиле порекло од исте матице родоначелнице. Експеримент је одрађен у августу и септембру 2018. године, током припреме пчела за зазимљавање и трајао је 21 дан. За тестирање суплемента изабране су заједнице са ниским степеном инфестације *Varroa* крпељем. Двадесет пчелињих заједница је распоређено у две експерименталне групе од по 10 заједница: третман група (ТГ) - заједнице прихрањиване суплементом „В<sup>+</sup>“ и контролна група (КГ) - заједнице прихрањиване 40% (w/v) шећерним сирупом. На почетку експеримента, заједнице су уједначене у погледу параметара јачине друштава: површина отвореног легла (ОЛ), површина затвореног легла (ЗЛ), резерве меда (РМ), резерва полена/перге (РП) и бројности адултних пчела (АП), у складу са методологијом описаном у раду Stevanović и сар. (2018). На почетку и крају експеримента измерени су сви параметри јачине друштава. Мерења су извршена помоћу рама конструисаног за потребе експеримента, са транспарентним пољима величине 5 x 5 cm. Процењене вредности ОЛ, ЗЛ, РМ и РП изражене су у cm<sup>2</sup>, док је АП изражена бројем пчела.

#### Процена степена инфекције врстом *N. ceranae*

*N. ceranae* је потврђена молекуларном методом према Stevanović и сар. (2013). За процену степена инфекције микроспоридијом *N. ceranae*, узорковано је по 60 пчела радилица по заједници, које су заједно хомогенизоване у 60 ml воде. Број спора је одређен хемоцитометром, а њихов просечан број према техници описаној у истраживању Mendoza и сар. (2016).

#### Испитивање нивоа параметара оксидативног стреса

Одређивање активности антиоксидативних ензима (SOD, CAT и GST) и мерење концентрације MDA урађено је према модификованој методологији Nikolić и сар. (2015), односно Orčić и сар. (2017).

#### Резултати

##### Параметри јачине пчелињих заједница

На почетку експеримента статистичком обрадом података потврђена је уједначеност пчелињих заједница у погледу параметара њихове јачине (Табела 1). Пратећи динамику развоја пчелињих заједница у обе експерименталне групе утврђено је значајно смањење ( $p < 0,01$ ) вредности ОЛ, ЗЛ и АП, односно значајно повећање ( $p > 0,01$ ) у вредностима РМ и РП на крају експеримента у односу на његов почетак (Табела 1). Поређењем параметара јачине пчелињих заједница између експерименталних група које су прихрањиване суплементом „В<sup>+</sup>“ (ТГ) и оних које га нису добиле (КГ), уочено је сигнификантно ( $p > 0,01$ ) повећање вредности неких параметара (РМ, РП и АП) на крају експеримента (Табела 1).

##### Степен инфекције ендопаразитом *N. ceranae*

Статистичком обрадом података о степену инфекције ендопаразитом *N. ceranae*, на почетку експеримента, након уједначавања заједница, није забележено значајно варирање просечног броја спора *N. ceranae* између експерименталних група (Табела 1). До значајног повећања ( $p > 0,01$ ) дошло је у КГ која је у исхрани користила шећерни сируп. Пчелиње заједнице које су користиле суплемент „В<sup>+</sup>“ (ТГ), на крају експеримента су имале значајно мањи ( $p < 0,01$ ) просечан број спора у односу на КГ (Табела 1).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Табела 1. Просечне вредности параметара јачине пчелињих заједница и броја спора *N. ceranae*

	Површина отвореног легла (cm <sup>2</sup> )	Површина затвореног легла (cm <sup>2</sup> )	Површина меда (cm <sup>2</sup> )	Површина полена/перге (cm <sup>2</sup> )	Број адултих пчела	Просечан број спора (log10)
КГ почетак експеримента	1387,00±62	2881,40±79	4022,45±176	547,00±57	13376,70±279	5,50±0,2
КГ крај експеримента	956,65±52	2055,65±186	4772,00±342	748,40±110	10248,80±431	6,14±0,1
ТГ почетак експеримента	1421,50±67	2899,95±90	4035,95±162	551,25±68	13330,70±231	5,46±0,1
ТГ крај експеримента	1004,50±52	2114,00±238	5638,80±149	883,70±67	11292,60±334	5,69±0,1

#### Параметри оксидативног стреса

На крају експеримента, утврдили смо значајно повећање ( $p > 0,01$ ) активности антиоксидативних ензима и концентрације MDA у КГ у односу на почетак експеримента (Табела 2). Такође, на крају експеримента утврдили смо значајно смањење активности антиоксидативних ензима и концентрације MDA у третираним пчелињим заједницама у односу на контролну групу пчела (Табела 2).

Табела 2. Просечне вредности параметара оксидативног стреса

	CAT (U/mg prot)	SOD (U/mg prot)	GST (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
КГ почетак експеримента	22,1±0,4	37,8±1,8	321,0±23,8	13,1±0,7
КГ крај експеримента	43,9±1,7	52,1±3,8	413,8±37,3	18,3±1,9
ТГ почетак експеримента	24,0±0,5	39,2±2,1	315,1±25,6	13,3±0,8
ТГ крај експеримента	30,0±0,6	39,6±2,2	358,3±27,6	12,7±1,1

#### Дискусија

Губици пчелињих заједница, забележени широм света, повезују се са негативним ефектом разних стресора који реагују међусобно и могу деловати синергистички. Међу њима, као водећи узрок наводи се лоша исхрана. Имајући у виду негативне ефекте по здравље пчела, који произилазе из њихове неадекватне исхране, све више пажње се посвећује пчелињој дијететици. Најбоља исхрана за пчеле је разноврсна природна паша, која је све мање присутна због монокултуре и смањења сточног фонда. Због недостатка адекватне хране, већина пчелара зазимљава своја друштва уз додатак чистог шећерног сирупа, који представља извор енергије без

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

градивних и биорегулаторних хранљивих материја, неопходних за изградњу и регенерацију ћелија, ткива и имунитета пчела. Сходно томе, као једино решење намеће се употреба дијететских суплемената који могу надоместити одређене супстанце, есенцијалне у пчелиној исхрани, доприносећи јачању здравља пчела (Stanimirović и сар., 2019).

Доступност хране адекватне у погледу квалитета, квантитета и разноврсности, може утицати на смањење отпорности пчела према патогенима. У нашем истраживању, у заједницама које су прихрањиване шећерним сирупом дошло је до значајног повећања ( $p > 0,01$ ) развоја микроспориције *N. ceranae*, која води ка настанку енергетског и оксидативног стреса. Нозема је метаболички-енергетски паразит који није способан да ствара енергију у виду АТФ, већ га користи из тела пчела, условљавајући њихово слабење због енергетског стреса (Mauck и Naug 2009; Dussaubat и сар., 2012). Као клиничку манифестацију оваквог стања запажамо већу потрошњу хране у таквим друштвима и повећану смртност услед дављења пчела у додатом шећерном сирупу (Stanimirović и сар., 2019). Код заједница које биле оптерећене овим паразитом, запажено је повећање нутритивних захтева са нутритивним/енергетским стресом, што се на крају нашег експеримента и негативно одразило на резерве меда и полена и утицало на смањење бројности адултних пчела. Међутим, нису уочене значајне разлике у површини отвореног и затвореног легла, два значајна параметра јачине пчелиње заједнице, између група, што се може тумачити повећаном активношћу матица у контролној групи, којом надокнађују губитке интензивирањем продукције јаја. Ово је у складу са налазима Higes и сар. (2008), који су утврдили да у дугом инкубационом „асимптоматском периоду“, који претходи колапсу заједница, матица надокнађује губитке пчела полагањем много већег броја јаја него обично, што даје криву слику о стварним губицима. Према овим истраживачима, знаци болести постају видљиви када матица „губи битку“, односно, када више не може да компензује губитке, а што изгледа као изненадни колапс у јесен, а заправо је последица нормалног смањења полагања јаја у то доба године.

Значајно повећање активности свих антиоксидативних ензима (SOD, CAT и GST) и концентрације MDA у контролној групи у односу на третман групу пчела указује на чињеницу да је *N. ceranae* на крају експеримента изазивала и оксидативни стрес са повећаном продукцијом ROS. Ови налази повећања параметара антиоксидативних ензима у складу су са ранијим истраживањима у којима је забележен сличан ефекат (Alaux и сар., 2011; Dussaubat и сар., 2012; Di Pasquale и сар., 2013). Прекомерно стварање ROS доводи до активације антиоксидативних механизма одбране и нарушавања здравственог стања и кондиције пчела (Nikolic и сар., 2015; Orčić и сар., 2017). Повећање концентрације MDA, као последица инфекције ноземом, представља маркер за идентификацију оштећења компоненти ћелијске мембране, којима је нарушена њена липопротеинска структура, а самим тим онемогућено нормално варење и метаболизам хранљивих материја (Dussaubat и сар. 2012; Di Pasquale и сар., 2013, Broadrup и сар., 2019).

Током трајања експеримента, забележен је позитиван ефекат код пчелињих заједница које су прихрањиване суплементом „B<sup>+</sup>“. Изостанак значајне разлике у броју спора ноземе у третман групи на крају и на почетку експеримента, указује на протективан ефекат суплемента. Слични резултати су постигнути у заједницама које су користиле разноврсну пашу у односу на оне које су користиле монокултуру (DeGrandi-Hoffman и сар., 2016; Ricigliano и сар., 2019). Протективна улога суплемента „B<sup>+</sup>“ је доказана и у лабораторијским условима (Jovanović и сар., 2019), што је у складу и са резултатима истраживања Glavinic и сар. (2017). Код третман групе забележене су ниже вредности активности антиоксидативних ензима (SOD, CAT и GST) и концентрације MDA у односу на контролну групу. Ови резултати говоре о бенефиту суплемента „B<sup>+</sup>“ у контроли оксидативног стреса код третираних пчела. Повећана отпорност према оксидативном стресу је запажена и у заједницама које су користиле разноврсну пашу у односу на оне које су користиле монокултуру (Ricigliano и сар., 2019). Поред тога, у заједницама ТГ дошло је до значајног повећања резерви меда и полена, што се може тумачити изостанком енергетског/нутритивног стреса због дејства овог суплемента које је слично полену (Li и сар., 2019). Такође код заједница из ТГ, забележен је значајно већи број адултних пчела, што се може повезати са знатно нижим степеном инфекције ноземом и ефикасном борбом са другим стресорима (Simeunović и сар., 2014; Stanimirović и сар., 2019).

У закључку, резултати овог истраживања указују на чињеницу да је употреба суплемента „В<sup>тс</sup>“ у шећерном сирупу оправдана, јер се на тај начин обезбеђују есенцијалне аминокиселине, пептиди, микро- и макроелементи, којих нема у чистом шећерном сирупу. Коришћењем овог суплемента у јесењој прихрани пчела, спречава се настанак нутритивног, енергетског и оксидативног стреса, чиме се пчелиње заједнице знатно боље зазимљују и успешније презимљавају, и превенирају масовни губици и колапс пчелињих заједница.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић

#### Литература

1. Alaux C, Folschweiller M, McDonnell C, Beslay D, Cousin M, Dussaubat C et al., 2011, Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*), *J Invertebr Pathol*, 106, 380-385.
2. Basualdo M, Barragán S, Antúnez K, 2014, Bee bread increases honeybee haemolymph protein and promote better survival despite of causing higher *Nosema ceranae* abundance in honeybees, *Environ Microbiol Rep*, 6, 396-400.
3. Broadrup RL, Mayack C, Schick SJ, Eppley EJ, White HK, Macherone A, 2019 Honey bee (*Apis mellifera*) exposomes and dysregulated metabolic pathways associated with *Nosema ceranae* infection, *PLoS One*, 14, e0213249.
4. DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Rivera R, Carroll M, Chambers M, Hidalgo G et al., 2016, Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements, *Apidologie*, 47, 186-96.
5. Di Pasquale G, Alaux C, Le Conte Y, Odoux JF, Pioz M, Vaissière BE et al., 2016, Variations in the availability of pollen resources affect honey bee health, *PLoS One*, 11, e0162818.
6. Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A et al., 2013, Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? *PLoS One*, 8, e72016.
7. Dussaubat C, Brunet JL, Higes M, Colbourne JK, Lopez J, Choi JH et al., 2012, Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*, *PLoS One*, 7, e37017.
8. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Latic N et al., 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*, *PLoS One*, 12, e0187726.
9. Glavinic U, Tesovnik T, Stevanovic J, Zorc M, Cizelj I, Stanimirovic Z et al., 2019, Response of adult honey bees treated in larval stage with prochloraz to infection with *Nosema ceranae*, *PeerJ*, 7, e6325.
10. Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Garrido-Bailón E, González-Porto AV, Barrios L et al., 2008, How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse, *Environ Microbiol*, 10, 2659-69.
11. Jovanović N, Glavinic U, Vejnović B, Mladan V, Stanimirović Z, 2019, Protektivni efekata suplementa B<sup>+</sup> u infekciji sa nozomom, *Srpski pčelar* 3, 153-6.
12. Li J, Heerman MC, Evans JD, Rose R, Li W, Rodríguez-García C, Hamilton M, 2019, Pollen reverses decreased lifespan, altered nutritional metabolism and suppressed immunity in honey bees (*Apis mellifera*) treated with antibiotics, *J Exp Biol*, 222, jeb202077.
13. Mayack C, Naug D, 2009, Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection, *J Invertebr Pathol*, 100, 185-8.
14. Mendoza Y, Diaz-Cetti S, Ramallo G, Santos E, Porrini M, Invernizzi C, 2016, *Nosema ceranae* winter control: study of the effectiveness of different fumagillin treatments and consequences on the strength of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies, *J Econ Entomol*, 110, 1-5.
15. Nikolić TV, Purać J, Orčić S, Kojić D, Vujanović D, Stanimirović Z et al., 2015, Environmental effects on superoxide dismutase and catalase activity and expression in honey bee, *Arch Insect Biochem Physiol*, 90, 181-94.
16. Orčić S, Nikolić, T, Purać J, Šikoparija B, Blagojević DP, Vukašinović E et al., 2017, Seasonal variation in the activity of selected antioxidant enzymes and malondialdehyde level in worker honey bees, *Entomol Exp Appl*, 165, 120-8.
17. Radakovic M, Davitkov D, Borožan S, Stojanovic S, Stevanovic J, Krstic V et al., 2016, Oxidative stress and DNA damage in horses naturally infected with *Theileria equi*, *Vet J*, 217, 112-8.
18. Radakovic M, Stevanovic J, Djelic N, Latic N, Knezevic-Vukcevic J, Vukovic-Gacic B et al., 2013, Evaluation of the DNA damaging effects of amitraz on human lymphocytes in the Comet assay, *J Biosci*, 38, 53-62.
19. Ricigliano VA, Mott BM, Maes PW, Floyd AS, Fitz W, Copeland DC et al., 2019, Honey bee colony performance and health are enhanced by apiary proximity to US Conservation Reserve Program (CRP) lands, *Sci Rep*, 9, 4894.
20. Saffari A, Kevan PG, Atkinson JL, 2010, Palatability

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

and consumption of patty-formulated pollen and pollen substitutes and their effects on honeybee colony performance, *J Apic Sci*, 54, 63-71. 21. Simeunovic P, Stevanovic J, Cirkovic D, Radojicic S, Lakic N, Stanisic L et al., 2014, *Nosema ceranae* and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony, *J Apic Res*, 53, 545-54. 22. Stanimirović Z, Glavinić U, Lakić N, Radović D, Ristanić M, Tarić E et al., 2017, Efficacy of plant-derived formulation “Argus Ras” in *Varroa destructor* control, *Acta Vet-Beograd*, 67, 191-200. 23. Stanimirović Z, Glavinić U, Ristanić M, Aleksić N, Jovanović N, Vejnović B et al., 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses, *Acta Vet-Beograd*, 69, 1-31. 24. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I et al., 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies, *Apidologie*, 44, 522-36. 25. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Simeunovic P, Lakic N, Radovic I, Sokovic M et al., 2018, The effect of *Agaricus brasiliensis* extract supplementation on honey bee colonies, *An Acad Bras Cienc*, 90, 219-29.

ПЧЕЛАРСТВО И ЗАКОНСКА РЕГУЛАТИВА У РЕПУБЛИЦИ СРБИЈИ

*BEEKEEPING AND LEGAL REGULATIONS IN THE REPUBLIC OF SERBIA*

*Невенка Алексић, Јевросима Стевановић, Елмин Тарић, Марко Ристанић,  
Урош Главинић, Зоран Станимировић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

Године 2018. у Србији је било 25.830 регистрованих пчелара, који воде бригу о скоро 1,3 милиона кошница у којима се произведе 6.000-10.000 t меда. Девизни прилив од извоза око 2.000 t меда годишње креће се око 15 милиона евра. Држање и брига о здравственој заштити пчела регулисани су Законом о ветеринарству и бројним подзаконским актима, којима се жели постићи регулатива ове гране привреде на начин близак оном како је то постигнуто у Европској унији. У раду је разматрана права и обавезе пчелара у вези са држањем и бригом о пчелама, у складу са Законом о ветеринарству, Законом о сточарству и подзаконским актима донетим у складу са њима. Скренута је пажња на Стандард добра пчеларска пракса, који се односи на поступке у вези са држањем пчела, и производњи и промету меда и других пчелињих производа.

**Кључне речи:** Закон о ветеринарству, Закон о средствима за заштиту биља, Закон о сточарству, медоносна пчела, прописи, пчеларство, Стандард квалитета добре пчеларске праксе

**Summary**

There were 25,830 registered beekeepers in Serbia in 2018, who kept almost 1.3 million hives, in which 6,000 to 10,000 t of honey were produced. The annual income from the export of about 2,000 t of honey is around €15 million. Apiculture and bees' health care are governed by the Law on veterinary medicine and several regulations, which intend to be similar to those in the European Union. The beekeepers' rights and obligations related to apiculture, in compliance with the Law on veterinary medicine, Law on animal husbandry and the related regulations are discussed. Attention has been driven to the Standard of good beekeeping practice, which relates to the activities in beekeeping, and the production and trade in honey and other bee products.

**Key words:** beekeeping, honeybee, Law on animal husbandry, Law on plant protection products, Law on veterinary medicine, regulations, Quality standard Good beekeeping practice

Пчеле уживају посебну заштиту у српском законодавству. У складу са кодексом Међународне организације за заштиту здравља животиња (ОИЕ), Закон о ветеринарству у заразне болести пчела сврстава акарозу (узрочник *Acarapis woodi*), америчку кугу легла (*Paenibacillus larvae*), европску трулеж легла (*Melissococcus plutonius*), ноземозу (*Nosema ceranae*, *N. apis*), вароозу (*Varroa destructor*) и инфестацију грињом *Tropilaelaps clareae*. Ноземоза није на листи ОИЕ од 2012, али јесте инфестација врстом *Aethina tumida* (мала кошничка буба), која је јужноафричког порекла, али се одагле шири, те је 2014. откривена у Италији, а нешто пре тога и у Португалији, те не би било необично да се ова напаст појави и код нас, тим пре што постоје информације да је већ има у Далмацији.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

На газдинству на коме се гаје пчеле ветеринар најмање једанпут годишње обавља надзор здравственог стања пчела и води о томе писану евиденцију, истовремено када спроводи и послове из Програма мера.

Да би се редовно пратило здравствено стање пчела и омогућила следљивост пчелињих производа, обавезна је регистрација пчелињака и обележавање пчелињих друштава, о чему се подаци уносе у Централну базу података о обележавању животиња (ЦБ). Два пута годишње (април и октобар) обавезна је пријава стања на пчелињаку, као и промене података у року од 15 дана од настанка.

Регистровање пчелињака и обележавање кошница ради ветеринарска станица на чијој епизоотиолошкој јединици пчелар има пребивалиште, односно она на чијој се јединици налази већ регистровано пољопривредно газдинство. Кошнице се обележавају посебним плочицама, а у Потврду о обележавању пчелињих друштава уписују се њихови бројеви и тип кошница. Накнада за обележавање и евиденцију пчела износи 30 динара по кошници.

Правилником о утврђивању програма мера здравствене заштите животиња за 2019. годину предвиђена су дијагностичка испитивања пчела у циљу откривања следећих болести и инфекција: америчка куга, варооза, тропилелоза и етиноза.

*Америчка куга пчелињег легла.* У пчелињацима у којима је претходне године утврђена ова болест, активни надзор се ради у априлу текуће године: клинички преглед свих пчелињих заједница, и оних у кругу пречника 3 km од зараженог пчелињака. У случају сумње на болест, дијагностичко испитивање ради се у надлежном институту. Клинички преглед и узорковање ради овлашћена станица.

На објектима за узгој и продају матица, ветеринар ради клинички преглед свих пчелињих заједница у пролеће и јесен. При сумњи на болест, узима се узорак из кошница и доставља у надлежну лабораторију ради прегледа. Сумња се потврђује лабораторијским анализама, када се процењује и старост процеса.

Узорак се узима из сваке сумњиве кошнице: комад саћа са поклопљеним леглом, величине 10x10 cm са видљивим знацима болести, упакован у одговарајућу амбалажу.

Трошкови клиничког прегледа и дијагностичких испитивања, штета настала уништавањем кошница после утврђивања америчке куге (ако патолошки процес није старији од два месеца), као и трошкови дезинфекције зараженог пчелињака и уништавање зараженог роја пчела надокнађује се из буџета Србије, а на основу извештаја надлежне ветеринарске службе и ветеринарског инспектора.

*Варооза.* Контролу присуства и превентивно третирање пчелињих заједница против вароозе пчелар спроводи у току зиме и у сезони. У пчелињацима са мање од 50 кошница контролно третирање се спроводи на пет заједница, а у већим на 10% укупног броја.

*Тропилелоза и етиноза.* Ако се током превентивног третирања против вароозе посумња на ове инфестације, надлежни ветеринар клинички прегледа и узима узорке под надзором ветеринарског инспектора.

Условима које **стационарани пчелињак** мора да испуни одређена је минимална удаљеност од објеката различите намене, путева (15 m од категорисаног пута, или 5 m ако постоји препрека висине 2,2 m), пруге, аеродрома, као и суседног пчелињака (500 m од пчелињака са >20 кошница, 200 m од мањег). Он не може бити у густо насељеној градској зони, осим се са тиме не сагласи јединица локалне самоуправе. Такође су наведени објекти према којима лета кошница не смеју бити окренута (врата и прозори зграда у којима су људи или животиње, категорисани путеви, суседно имање чија је међа удаљена <5 m). За постављање пчелињака пчелар мора да има писмену сагласност власника/корисника земљишта ако оно није његово. Стационарани пчелињак се може поставити у заштићеном подручју под условима које одреди управљач подручја, у складу са законом о заштити природе.

Пчеле се могу гајити у **селећем пчелињаку** као у стационараном, ако се претходно договори о смештају с власником/корисником земљишта.

Начин коришћења пчелиње паше и гајење пчела на њој утврђује се **пашним редом**, који спроводи повереник пашног реда (именује га регионална пчеларска организација). Пашним редом се одређује:

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

- површина медоносног пашњака,
- препоручена насељеност пчелињим друштвима,
- распоред стационараних пчелињака и стајалишта за привремено довожење селећих пчелињака,
- начин додељивања стајалишта, њиховог уређења и означавања,
- поступак селидбе пчелињих друштава са стајалишта.

Пчеле задовољавају своје потребе за храном сакупљањем полена и нектара са паше. **Предвидљива паша** је она за коју се зна када почиње и завршава, и подручје на коме се појављује. Поверенику пашног реда доставља се пријава за доделу стајалишта пре но што се доведу пчелиња друштава на презимљавање, која садржи:

- податке о пчелару и његов тел. број и ИД број газдинства из ЦБ,
- планирани датум довожења и одвожења пчелињих друштава,
- број и врсту превозних средстава и број друштава,
- одговарајућу зоотехничку документацију и документацију у складу са прописом којим се уређује здравствена заштита животиња,
- планирано стајалиште.

**Непредвидљива паша** је она за коју се не зна када почиње и завршава, нити подручје на коме се појављује. Друштва се довозе на непредвидљиву пашу исто као на предвидљиву, ако на пашњаку постоји слободно место. Пре довожења селећег пчелињака договара се његово постављање са власником/корисником земљишта. Штета начињена гајењем пчела надокнађује се у складу са Законом о облигационим односима.

Пчеле могу да се селе свим превозним средствима. Приликом селидбе лета морају бити затворена и кошнице обезбеђене, осим ако се пчеле селе ноћу по асфалтном путу, када лета могу бити отворена. За селидбу се мора имати уверење о транспорту и пратња пчелара. Пакетни ројеви и матице с пчелама пратиљама које се превозе не морају имати пратњу.

У случају временске непогоде, пожара, поплаве, грабежи и сл, пчелињак се може преселити одмах, о чему се обавештава повереник пашног реда и ветеринарска служба.

**Уверење о транспорту** садржи податке о пчелару, броју пчелињих друштава која се селе, полазном месту и одредишту, и податке у складу са Законом о ветеринарству.

Пре сеобе кошница од вет. станице прибавља се захтев за **привремено стајалиште** и прилаже уверење о здравственом стању пчелињих заједница и о здравственом стању пошиљке животиња у унутрашњем промету („транспортно уверење“), и изјава о сагласности власника КП на коју се кошнице селе. Уколико је документација исправна и комплетна, обележивач констатује да се стајалиште може регистровати. У изузетним случајевима, када не може поднети захтев приликом селидбе, пчелар мора у року од 72 h надлежној ветеринарској станици доставити захтев за регистрацију привременог стајалишта, и у року од 7 дана сву документацију и оригинал захтева (ако је био послат факсом или е-поштом).

Пчелиња паша обухвата медоносно биље одређене структуре на неком подручју. Начин њеног коришћења и гајења пчела на њој одређује се пашним редом. Катастар пчелиње паше садржи податке о присуству медоносног биља на одређеном подручју, на основу којих се спроводи пашни ред. Катастар води регионална пчеларска организација за своју територију. Главна одгајивачка организација (Савез пчеларских оргнизација Србије, СПОС) обједињује податке из катастра за територију Србије.

Катастар има уцртане границе Србије, управних округа и јединица локалне самоуправе и пчелињаке, са подацима о њиховом положају и власнику. У катастру се воде и подаци о времену појаве медања, површини медоносног биља (у хектарима) и њихов удео у укупном биљном саставу на подручју медоносног пашњака, као и очекиван ниво пчелињих паша. Регионална пчеларска организација ажурира податке у катастру сваке године и доставља их главној пчеларској организацији (нпр. СПОС), која их обједињује.

Гајење пчела уређено је и **Законом о сточарству**. Регионална пчеларска организација спроводи одгајивачки програм на својој територији, води катастар пчелиње паше, планира



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

коришћење квалитетних приплодних пчелињих матица мајки, и води евиденцију основних пчеларских организација.

Центар за селекцију пчелињих матица (ЦСПМ) мери, оцењује особине и обавља контролисану оплодњу матица мајки за потребе селекцијског програма, као и гајење и промет приплодног материјала пчела, у складу са одгајивачким програмом. Квалитетне приплодне пчелиње матице потичу од пчела чисте расе и имају податке о најмање две генерације женских предака уматичене матице мајке. Пчеле могу да се упишу у регистар матица пчела познатог порекла.

У **заштитном појасу око ЦСПМ** примењују се посебни услови узгоја, промета и селидбе пчела и пчеларског приплодног материјала.

Одгајивач пчела може сам да изводи само зоотехничке поступке који су неопходни за здравствену заштиту пчела и гајење:

- спровођење апитехничких мера у циљу успешног гајења пчела,
- спречавање природног ројења и грабежи,
- увођење вештачког изројавања друштава,
- употребу биотехничких мера у сузбијању штеточина и болести.

Ово значи да пчелари не смеју сами да апликују лекове пчелињим заједницама.

Коришћење медоносног биља за пчелињу пашу је слободно и бесплатно. У циљу коришћења пчелиње паше, пчелињак се може селити. Уколико друштва нису здрава, или немају уверење о транспорту селидба није дозвољена. Здравствено стање пчела доказује се потврдом о здравственом стању.

**Пчелари из других земаља** могу користити пчелињу пашу на територији Србије само уз сагласност Министарства, под условом да гаје пчеле расе *Apis mellifera carnica*, као и да имају уверење о здравственом стању које је издао надлежни орган земље из које довозе друштва, као и уверење о здравственом стању издато у складу са Законом о ветеринарству РС.

Власник/корисник земљишта дужан је омогућити одгајивачу пчела пролаз преко његовог земљишта ради **праћења одбеглог роја**, а у случају штете има право на накнаду.

Да би се очувала **биолошка разноврсност пчеле** *Apis mellifera carnica* на територији Србије није дозвољено гајење и промет приплодним материјалом других раса пчела. **Прометом приплодног генетског материјала пчела** може се бавити правно лице које испуњава прописане услове за то.

**Пречник заштитног појаса око ЦСПМ** износи 2 km. У заштитном појасу може се вршити гајење, промет пчела и пчеларског приплодног материјала, који је под контролом ЦСПМ. Пчеле се могу селити у заштитном појасу под условима који иначе важе.

Гајење пчела у заштитном појасу врши се ради спровођења одгајивачког програма. Пчеле које се гаје под контролом ЦСПМ не могу се укрштати са неселекционисаним приплодним материјалом. После постављања пчелињака у заштитном појасу, пчелар мора да постави плочу са својим имебом и презименом, адресом и телефонским бројем.

С обзиром да **пестициди** представљају велику опасност по медоносну пчелу, посебна пажња обраћа се регулисању примене средстава за заштиту биља и средстава за сузбијање комараца.

Примена средстава за заштиту биља је забрањена из ваздухоплова ако су отровна за пчеле, као и у време цветања биља без обзира на начин примене. Из ваздухоплова се могу применити само (малобројна) средства за заштиту биља којима је то решењем о регистрацији дозвољено. Нпр. *Bacillus thuringiensis Kurstaki* (против лепидоптера – губара и др. дефолијатора) и циклоксидим (хербицид) могу се применити на овај начин, док нпр. азимсулфурон (хербицид), карбендазин (фунгицид) и имидаклоприд (инсектицид) не смеју. Примена средстава за заштиту биља из ваздухоплова мора се пријавити најмање 48 h раније органу јединице локалне самоуправе, који је дужан да о томе обавести пчеларе или њихова удружења. Исто важи и за примену средстава за заштиту биља која су отровна за пчеле, под условом да су пчелиња друштва удаљена најмање 5 km од места третирања. Пчелари, њихова удружења и органи јединице локалне самоуправе дужни су да предузму мере заштите на местима где се налазе друштва и пасишта која пчеле посећују и на

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

којима масовно лете. Фитосанитарни инспектор може забранити примену средстава за заштиту биља која су штетна за пчеле, ако се она не примењују у складу са законом. Примена средстава за заштиту биља отровног за пчеле супротно овом закону представља привредни преступ.

Средства за сузбијање комараца запрашивањем из авиона, отровна за пчеле за време пчелиње паше, могу се користити само по одобрењу органа јединице локалне самоуправе. Најкасније 48 h пре третирања, пчеларска организација и одгајивачи пчела морају бити обавештени, путем средстава јавног информисања, о месту, времену и начину употребе средстава, времену трајања дејства отровног средства и угроженом подручју. Угрожено подручје је површина на којој се употребљава средство за сузбијање комараца, и земљиште у кругу од 5 km удаљености од границе те површине. У случају примене ових средстава пчелар је дужан да предузме мере заштите пчела (затварање лета кошнице и привремено пресељавање).

**Стандард добра пчеларска пракса** (ДПП) осмислио је СПОС у сарадњи са Министарством пољопривреде. Овај документ, који није обавезујући, обухвата опис свих поступака којих пчелар, члан СПОС-а, потписник приступања Стандарду, треба да се придржава да би имао право да продаје свој мед добијен у оквиру стандарда добре пчеларске праксе. У зависности од њиховог значаја, сва правила, односно контролне тачке у производњи пчеларских производа подељена су у три групе: прва група је обавезна за примену, из друге групе већина (најмање 60%) мора да буде примењена, а трећу групу чине препоруке. О спроведеним поступцима пчелари су обавезни да воде уредну евиденцију. Контролу спровођења поступака ради контролор, који је по правилу председник регионалног савеза пчелара. У случају непоштовања принцип ДПП, контролор саставља Извештај о неусаглашености и корективним мерама, које се имају извести у року од 15 дана од дана доношења. Ако се ни тада то не уради, доноси се одлука о суспензији и даје нови рок од 30 дана, после кога следи раскид Уговора о лиценци и искључивање пчелара из система ДПП.

Пчелар који потпише уговор о приступању има право да пакује и ставља у промет мед у јединственој тегли чији је дизајн регистрован у Светској организацији за интелектуалну својину (*World Intellectual Property Organization*).

Стандардом су обухваћене одредбе закона и подзаконских аката који се односе на локацију пчелињака, управљање алатом и опремом, хигијену и безбедност особа које раде на пчелињаку, примену апитехничких мера (преглед друштва, припреме за зазимљавање, поступке у случају природног ројења и грабежи), управљање воском/саћем, управљање пчелама и матицама, селидбу пчелињих друштава, те прихрањивање и здравствену заштиту пчела. Такође се води рачуна о поступцима са медиштем, просторијама за вађење, складиштење обраду и паковање меда и других пчелињих производа, хигијени просторија у којима се ови послови обављају и лица која у томе учествују, као и производњи меда и других пчелињих производа и, најзад, руковању документацијом која се односи на све наведене поступке.

Мед који произведу пчелиња друштва потписника уговора о придржавању правила ДПП представља драгоцени природан производ чији је квалитет гарантован и усклађен са стандардом РС. Мед сме да садржи највише 20% воде, 5% сахарозе, а најмање 45 g/100 g (медљиковац), односно 60 g/100 g глукозе и фруктозе, што је у складу са европским стандардом.

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 којим руководи проф. др Зоран Станимировић.

#### Литература

1. *Chauzat MP, Laurent M, Brown M, Kryger P*, 2017, The surveillance of small hive beetle (*Aethina tumida*) in Europe, In: The small hive beetle - a growing problem in the 21st century, Editor: NL Carreck, International Bee Research Association / Northern Bee Books; Congresbury, UK, 21-32.
2. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey, <https://eur-lex.europa.eu>.
3. Закон о средствима за заштиту биља, Сл. гласник РС, 41/2009.
4. Закон о сточарству, Сл. гласник РС, 41/2009, 93/2012 и 14/2016.
5. Закон о ветеринарству, Сл. гласник РС, 91/2005, 30/2010 и 93/2012.
6. Инструкција о поступку обележавања пчелињих друштава и регистрацији пчелињака

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

донета 21.10.2013. 7. Одлука о висини накнаде за обележавање и евиденцију животиња, Сл. гласник РС, 47/2009. 8. *Остојић Т, Штековић М*, 2013, Тема: Уступање послова ветеринарским станицама и посебне мере за здравствену заштиту пчела, Народна скупштина Републике Србије. 9. Правилник о величини заштитног појаса око центра за селекцију пчелињих матица, посебним условима промета и селидбе пчела и пчеларског приплодног материјала, као и посебним условима гајења пчела у заштитном појасу, Сл. гласник РС, 67/2010. 10. Правилник о квалитету меда и других производа пчела, Сл. гласник РС, 101/2015. 11. Правилник о начину обележавања пчелињих друштава и регистрацији пчелињака, Сл. гласник РС, 54/2010. 12. Правилник о садржини и начину вођења катастра пчелиње паше, Сл. гласник РС, 67/2010. 13. Правилник о условима и начину гајења и селидбе пчела, садржини уверења о транспорту, као и о условима за издавање сагласности да пчелари из других земаља могу користити пчелињу пашу на територији Републике Србије, Сл. гласник РС, 73/10. 14. Правилник о утврђивању програма мера здравствене заштите животиња за 2019. годину, Сл. гласник РС, 12/2019. 15. Стандард квалитета – Добра пчеларска пракса, СПОС, Београд, 2014. 16. Стратегија примене пестицида. <http://www.vojvodinasume.rs/wp-content/uploads/2012/04/Strategija-primene-pesticida.pdf>.



---

***РАДИОНИЦЕ***

***WORKSHOPS***

---



### КЛИНИЧКИ ПРЕГЛЕД И ЗАЗИМЉАВАЊЕ ПЧЕЛА

*Зоран Станимировић, Марко Ристанић, Урош Главинић, Немања Јовановић,  
Елмин Тарић, Милан Рајковић, Јевросима Стевановић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

#### Кратак садржај

Саставни део добре пчеларске праксе чине редовни клинички прегледи здравственог стања пчелињих заједница, које треба спроводити најмање два пута годишње. Сваки клинички преглед пчелињих заједница започиње разговором са власником и узимањем анамнезе која нам пружа увид о стању у кошницама. Превасходно узимамо информације везане за зазимљавање, врсту пчелиње паше и запажања приликом редовних прегледа. Након узимања анамнезе и дефинисања проблема, приступа се општем и појединачном прегледу првенствено пчелињака у целини, а потом и самих пчелињих заједница. Општи преглед пчелињака подразумева утврђивање локације пчелињака и његовог положаја у односу на саобраћајнице, индустријска постројења, складишта органског и неорганског отпада, али се процењује и близина и разноврсност пчелиње паше. Након тога, приступа се појединачном прегледу суспектних кошница. При сваком прегледу, анализира се пчелиње легло укључујући његову површину, изглед и квалитет. Легла са испупченим поклопцима (тзв. грбава и трубаста легла) или пчелиње друштво без матице и отрутело пчелиње друштво представљају неправилности које не треба занемарити. Карактеристичан је налаз угинулих ларви најчешће 1-2 дана пре затварања сатних ћелија, пре трансформације у стадијум лутке који обично указује на европску трулеж пчелињег легла. Конзистенција ларви је мека и боја им се мења од нијанси светло жуте до тамно браон. Евапорацијом воде, ларве постају суве, формирајући тамно браон љуске које се лако уклањају из сатних ћелија. Карактеристична је клиничка слика америчке трулежи пчелињег легла, код које се промене на леглу најчешће уочавају на воштаним поклопцима. Поред ових промена, уочава се и абнормалност у конфигурацији легла, док се из кошница шири оштар, непријатан мирис. Ropiness тест користи се као теренска дијагностичка метода америчке трулежи легла, док су за постављање коначне дијагнозе неопходне лабораторијске анализе. Фекалне мрље по целој унутрашњости кошнице и промене у понашању пчела указују на комбиновану инфекцију *Nosema/Lotmaria*, појединачно микроспоридијом из рода *Nosema* и ређе *single* инфекцијом са трипанозомом из рода *Lotmaria* (*Lotmariosis*). Микроскопске и молекуларно-генетичке анализе узоркованог материјала на присуство врста рода *Nosema* и *Lotmaria*, представљају основ за постављање тачне и прецизне дијагнозе. Иако поједини вируси могу изазвати карактеристичну клиничку слику, присуство вирусних инфекција у пчелињим друштвима је тешко установити само прегледом кошница јер специфични симптоми често изостају, а акутна угинућа пчела и слабљења пчелињих друштава која настају као последица ових инфекција често буду приписана другим узроцима. Најчешће су инфекције вирусом деформисаних крила, вирусом акутне парализе и вирусом хроничне парализе пчела. Идентификација узрочника се обавља применом молекуларно-генетичке дијагностике. Главни вектор свих наведених узрочника болести легла и одраслих пчела је пчелињи крпељ *Varroa destructor*, стога је неопходно у складу са општом стратегијом његове контроле планирати „зимски третман“ који се обавља од средине новембра до средине децембра текуће године.

Квалитетан здравствени статус пчелињих заједница се остварује применом свих принципа добре пчеларске праксе, која између осталог подразумева и правилно зазимљавање пчела. Припреме за правилно зазимљавање треба започети већ крајем јула након врцања. Како би пчеле имале оптималне услове у зимским данима, у кошницама би требало обезбедити минималну залиху од 15 кг меда и 2-3 оквира са поленом. Почетком августа треба спровести третман против

---

## 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

пчелинег крпеља, али искључиво са регистрованим препаратима (нпр. препарати на бази литијумових соли – VagoLiTom). Током септембра обавља се јесењи преглед кошница, у оквиру кога се утврђује здравствени статус, стање и спремност пчелињих заједница за зимовање. При пригледу је потребно утврдити јачину пчелиње заједнице, присуство и квалитет матице, али и количину и квалитет хране. Уколико пчеле немају довољну залиху хране, прихрана се мора завршити најкасније у првој половини септембра (са одговарајућом прихраном), те је најбоље да се пчелиња заједница зазими на мултифлорном (ливадском) меду.

**Кључне речи:** клинички преглед, пчелиња легла, европска трулеж, америчка трулеж, ноземоза, вируси, исхрана пчела, зазимљавање пчела

**Захвалница:** Захваљујемо Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за финансијску подршку пројекту Ев. бр. III46002 који руководи Проф. др Зоран Станимировић

### **Практичан рад у погледу клиничког прегледа пчелињих заједница (активност 1)**

Учесници ће током показне вежбе имати прилику да на практичном примеру науче како се приступа правилном клиничком прегледу кошнице. Предавачи ће током ове активности посебну пажњу обратити да учесницима радионице укажу на критичне тачке о којима треба водити рачуна током прегледа, који су то карактеристични знаци за одређене болести, али и како правилно узорковати и упаковати легло/саће/рамове које треба слати на додатне лабораторијске анализе.

### **Практичан рад у погледу припреме и правилног зазимљавања пчела (активност 2)**

Током практичног дела радионице, полазници ће имати прилику да се упознају са апитехничким мерама које треба применити како би се пчеле правилно припремиле за зимовање. Вршиће се процена количине меда и полена, процена здравственог статуса пчелиње заједнице. Учесници ће такође имати прилику да виде како се врши правилна примена регистрованих препарата за борбу против пчелинег крпеља *Varroa destructor*.

### **Провера ефективности (активност 3)**

На крају радионице сваки од полазника ће добити тест са 10 питања кроз која треба да покаже усвојена знања у вези са техникама клиничког прегледа и зазимљавања пчела (минималан број тачних одговора је 6 од укупно 10 питања).

### **Остали релевантни подаци**

Наставници и сарадници који ће учествовати у извођењу радионице:

Проф. др Зоран Станимировић, редовни професор

Марко Ристанић, асистент

Немања Јовановић, истраживач приправник

Милан Рајковић, истраживач приправник

Елмин Тарић, истраживач сарадник

Јевросима Стевановић, ванредни професор

Урош Главинић, асистент

### **Фаза и место реализације**

Активности 1 и 2 ће се спроводити на пчелињаку Милана Миловановића у селу Мачкат, удаљеном до 10 км од хотела „Палисад“. У зависности од броја пријављених за ову радионицу, неопходан нам је један или два аутобуса.

Активност 3 је могуће спровести у предаваоници хотела „Палисад“ по повратку са терена.



**ОЦЕНА УСЛОВА ДОБРОБИТИ ЖИВОТИЊА И КВАЛИТЕТ МЕСА**

*Неђељко Карабасил<sup>1</sup>, Марина Штукељ<sup>2</sup>, Маја Андријашевић<sup>3</sup>, Миролjub Марјановић<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

<sup>2</sup>Универзитет у Љубљани, Ветеринарски факултет

<sup>3</sup>Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде, Управа за ветерину

**Кратак садржај**

Добробит животиња је све више у фокусу, како стручне јавности, тако и државних органа и потрошача. У Републици Србији постоји традиција производње меса и производа од меса, који су цењени на трпези домаћег потрошача. Месо свиња је најзаступљеније код домаћег потрошача, што је у корелацији са производњом свиња у примарном сектору, а затим следи месо живине. Месо говеда је такође јако цењено и чешће се конзумира у појединим регијама Србије, посебно из верских разлога. Аспекти добробити животиња у ланцу производње меса обухваћени су Законом о добробити животиња (Сл. гласник РС, бр. 41/09), са одговарајућим Правилницима о заштити животиња током транспорта и клања. Концепт добробити животиња за клање, заснива се на анализи ризика у свакој фази производње и одговорности човека да обезбеди одговарајуће услове средине у складу са животињском врстом. Производња меса се састоји из великог броја фаза и међуфаза и практично не постоји тачка у ланцу производње где не може доћи до угрожавања услова добробити животиња. Иако се не могу у потпуности елиминисати стресни услови средине, морамо настојати да редукујемо негативне ефекте. Што је животиња боље прилагођена на услове средине које јој је пружио човек у складу са њеном врстом, то ће и квалитет меса бити бољи (рандман, труп без оштећења као што су подливи, убоди, преломи, одсуство патолошких промена на органима, одговарајући рН меса и очекиван процес зрења меса и др). Поступак оцене услова добробити мора да укључи све релеванте параметре уз помоћ којих се стиче увид да је субјекат у пословању услаглашен са усвојеним правилима у вези са добробити животиња, како на фарми, тако и током утовара и транспорта, истовара, боравка у деопу и операцијама клања.

**Кључне речи:** добробит, производи од меса, квалитет меса

**Оцена услова добробити животиња и квалитет меса (активност 1)**

У уводном делу радионице, слушаоци ће се упознати са важећом законском регулативом Републике Србије из области добробити животиња и кључним захтевима у погледу обезбеђивања одговарајућих услова средине у свим фазама производње меса од примарне производње/фарме до кланице. Да би се пратио тренд развијених земаља, слушаоцима ће бити презентовани и захтеви законске регулативе у Европској Унији из области добробити животиња у ланцу производње меса. У оквиру ове активности биће презентован и Animal Welfare Protocol, као водич кроз поступак оцене услова добробити животиња у различитим фазама производње (фарма, транспорт, кланица).

**Практичан рад (активност 2)**

Током практичног дела радионице, полазници ће радити на изради дијаграма тока производње у ланцу производње меса, спроводити анализу ризика и припремати листу питања са параметрима (контролну листу) за поступак осведочења у добробит животиња у различитим фазама производње (фарма, транспорт и кланица). Практичан рад ће бити организован у групама од 10 полазника и максимално 4 групе. Са сваком групом радиће један од предавача и критички

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

разматрати, фазе у дијаграму тока производње, процену ризика и параметре за испитивање услова добробити животиња.

#### **Интерактивна учионица (активност 3)**

У оквиру треће активности учесници радионице ће увежбавати, на претходно припремљеним моделима и примерима, поступке примене добре произвођачке и поштовање добробити животиња у ланцу производње меса, као и тумачење резултата и мера које треба предузети у случају добијања незадовољавајућих резултата у односу на параметре за оцену добробити животиња (фарма, транспорт и кланица).

#### **Провера ефективности (активност 4)**

На крају радионице сваки од полазника ће добити тест са 10 питања кроз која треба да покаже усвојена знања о оцени услова добробити животиња и квалитету меса.

#### **Остали релевантни подаци**

Очекивани број учесника: максимално 40 (четири групе по десет полазника). Број предавача који ће учествовати у извођењу радионице: др Неђељко Карабасил (Група 1: од 1. до 10. слушаоца), др Марина Штукељ (Група 2: од 11. до 20. слушаоца), Маја Андријашевић, ДВМ (Група 3: од 21. до 30. слушаоца) и Мирољуб Марјановић, ДВМ (Група 4: од 31. до 40. слушаоца).

#### **Фаза и место реализације**

*Активност 1* - реализују др Неђељко Карабасил и др Марина Штукељ, као координатори радионице. Маја Андријашевић упознаје кандидате са законском регулативом из области добробити животиња у Републици Србији. Марина Штукељ упознаје слушаоце са законском регулативом у вези са добробити животиња у Европској Унији. Марина Штукељ ће презентовати параметре оцене услова добробити животиња на фарми у Републици Словенији, док ће Мирољуб Марјановић презентовати оцену услова добробити животиња на фарми у Републици Србији. Др Неђељко Карабасил ће упознати полазнике са применом добре произвођачке праксе и концептом добробити животиња током транспорта, депоу и операцијама клања. Ова активност (1) се изводи у сали хотела Палисад, као и остале фазе радионице (2, 3 и 4).

*Активност 2 и 3* - Свака група ће радити засебно др Неђељко Карабасил (Група 1: од 1. до 10. слушаоца), др Марина Штукељ (Група 2: од 11. до 20. слушаоца), Маја Андријашевић, ДВМ (Група 3: од 21. до 30. слушаоца) и Мирољуб Марјановић, ДВМ (Група 4: од 31. до 40. слушаоца).

*Активност 4* - Сваки полазник добија тест са десет питања у вези са темом и садржајем радионице. Успешно положен тест сматра се уколико полазник оствари  $\geq 7$  поена.

ПРАКТИЧНА ПРИМЕНА НОРМОНСКИХ ПРОТОКОЛА У  
РЕПРОДУКЦИЈИ МЛЕЧНИХ КРАВА

*Милан Малетић, Милоје Ђурић*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

**Кратак садржај**

У условима интензивне сточарске производње где производни успех у многоме зависи од добре плодности у запату, манипулација или управљање полним циклусом заузима значајно место. Правовремено и тачно откривање еструса, скраћивање међутелидбеног и сервис периода, добар индекс осемењавања самим тим представљају најзначајније параметре плодности. Циљ управљања полним циклусом код крава и јуница товних и млечних раса је синхронизација и индукција еструса као и синхронизација овулације у одређеним фазама полног циклуса. На тај начин омогућава се правилно и рационално искоришћавање капацитета фарми и смањују трошкови људства, боља искористивост семена и ефикасније планирање производње. За индукцију и синхронизацију еструса користе се препарати простагландина и његових аналога кроз неколико различитих протокола, док се за синхронизацију преовулаторног фоликуларног развоја и индукцију овулације користе препарати на бази ГнРХ и прогестина у комбинацији са простагландинима.

**Кључне речи:** краве, синхронизација, простагландини, ГнРХ, овулација

**АКТИВНОСТИ У ОКВИРУ РАДИОНИЦЕ ПО ФАЗАМА**

**Фаза 1. (30 мин)-сала за предавање у хотелу**

Теоретско предавање подржано ППТ презентацијом у оквиру ког ће се полазници упознати са планираним активностима на фарми и најчешћим протоколима који се користе у циљу индукције и синхронизације еструса крава уз детаљно појашњење сваког протокола

**Фаза 2 (3 сата-180 мин)-Фарма АД “Златибор”**

- практичан рад у групама до 10 полазника
- ултразвучни преглед отелених крава, преглед јајника и материце, постављање дијагнозе и предлога хормонских протокола за индукцију и/или синхронизацију еструса и овулације
- предности и мане одређених протокола.
- дефинисање и приказ правилног вођења евиденције о спроведеним хормонским протоколима,
- најчешћи узроци лоших резултата приликом спровођења хормонских протокола.

**Фаза 3 (30 мин)- Фарма АД “Златибор”**

-сумирање резултата рада и питања полазника (дискусија)

Максималан број полазника 40.

## ПРЕПУБЕРАЛНА ГОНАДЕКТОМИЈА КОД ПАСА И МАЧАКА

*Владимир Магаиш, Љубодраг Станишић, Светлана Недић, Слободанка Вакањац*

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

### **Кратак садржај**

Препуберална гонадектомија (кастрација/стерилизација) представља хируршко уклањање гонада (јајника или тестиса) пре полне зрелости. Контрацепција путем хируршке стерилизације је неповратна интервенција која доводи до трајног престанка репродуктивних функција. Оваријектомија или овариохистеректомија су хируршке методе уклањања јајника тј. јајника, јајовода и материце а прилази могу бити преко линеа албе, преко бокова или лапароскопски. Неопходност, а посебно оптимално време стерилизације код паса и мачака је и даље контроверзно. Последице гонадектомије могу бити позитивне и негативне по опште здравствено стање пацијента, а зависе од старости, пола, врсте и расе паса и мачака. Приликом пријема пацијента и одлуке о кастрацији, требало би сагледати све разлоге за или против, јер постоје дугорочни ризици по здравље код јувенилних паса и мачака. Последице ране гонадектомије могу бити у вези са поремећајима урогениталног тракта, коштаног система, имуно-посредованих болести, развоја тумора, бихејвиоралних поремећаја и др.

**Кључне речи:** преуберална гонадотропија, пас, мачка.

### ***Приказ случаја (активност 1)***

У уводном делу, радионица ће обухватити упознавање анатомских и физиолошких карактеристика мушких и женских гениталних органа паса и мачака. Акцент ће бити на процени полне и физичке зрелости, поремећајима развића гонада, склоности појединих раса паса и мачака ка одређеним болестима а везане су за репродуктивни тракт, као и негативним странама (последикама) гонадектомије јувенилних животиња.

### ***Практичан рад (активност 2)***

Током практичног дела радионице, полазници ће заједно са ауторима радионице извршити преоперативну припрему пацијената, оваријектомију, овариохистеректомију и кастрацију код паса и мачака, анализирати здравствено стање гениталног тракта и различите технике хируршког рада. Практични рад ће бити организован у групама од 10 полазника, а број група ће зависити од броја пријављених кандидата.

### ***Интерактивна учионица (активност 3)***

Након завршетка теоријског и практичног дела радионице, разматраће се појединачни приступи у раду сваког полазника, а на основу одговора датих у радном листу током практичног рада.

### ***Провера ефективности (активност 4)***

На крају радионице сваки од полазника ће добити тест са 10 питања кроз која треба да покаже усвојена знања у вези са захтевима Правилника (минималан број тачних одговора је 7 од укупно 10 питања).

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

#### ***Остали релевантни подаци***

Очекивани број учесника: максимално 30 (три групе по 10 полазника). Број наставника који ће учествовати у извођењу радионице: проф. др Владимир Магаш (Група 1: од 1. до 10. слушаоца), асист. др Љубодраг Станишић (Група 2: од 11. до 20. слушаоца) и доц. др Милоје Ђурић (Група 3: од 21. до 30. слушаоца).

#### ***Фаза и место реализације***

Активност 1 – реализује проф. др Владимир Магаш као координатор радионице, упознаје кандидате са основним анатомским и физиолошким карактеристикама мушких и женских гениталних органа паса и мачака и негативним странама (последицама) препубералне гонадектомије. Ова активност се изводи у предаваоници.

Активност 2 и 3 тј. практичан рад изводи свака група засебно са одређеним наставником: група 1 – проф. др Владимир Магаш, група 2 – асист. др Љубодраг Станишић, група 3 – доц. др Милоје Ђурић. Активности ће се одвијати у ветеринарској станици "ДИМИ-ВЕТ" Чајетина.



---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VII***  
***THEMATIC SESSION VII***

**Здравствена заштита и  
репродукција кућних љубимаца**

***Health care and reproduction of pets***

---





ХИРУРГИЈА КАПАКА КОД ПАСА

*SURGICAL PROCEDURES ON EYELIDS IN DOGS*

Милан Хаџи Милић, Богомир Болка Прокић, Ивана Хаџи Милић

Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

**Кратак садржај**

Нирургија ока је релативно мало заступљена у ветеринарској хирургији. Од свих пацијената који су кандидати за очну хирургију, убедљиво највећи број је паса. У оквиру хирургије ока, хирургија очних капака, и то корективна, је сигурно најзаступљенија, поготову код расних паса.

Најчешћи хируршки захвати који се спроводе на капцима код паса су: корекција ентропијума и ектропијума, санација повреда капака и уклањање тумора капака.

У спровођењу ових хируршких захвата могу се користити различите технике. Најбољи резултати се постижу применом следећих хируршких процедура, које су уједно и најчешће примењиване: "Hotz Celsus" процедура са бројним модификацијама, "Stades" процедура, 'Y'-'V' и 'V'-'Y' пластике, "Wedge" ексцизија, "V" ексцизија, као и "Kuhnt Szymanowski" процедура. Успешност оперативног захвата зависи од много фактора, а на првом месту од правог избора процедуре у односу на расу и старост пацијента, од вештине хирурга, као и инструментарија и материјала за шивење који се користи.

**Кључне речи:** очни капци, ентопијум, ране, тумори, хирургија

**Увод**

Капци представљају најважнију заштиту очне јабучице, на првом месту рожњаче. Они омогућавају нормално функционисање рожњаче учествовањем у формирању сузног филма, на тај начин обезбеђујући лубрификацију (подмазивање), исхрану, заштиту ока и уклањање нечистоћа. Њихов изглед и функционалност у великом степену зависе од изгледа и распореда ткивних структура главе пса. Постоји велики број раса паса, које се разликују како по величини, тако и по изгледу, односно грађи лобање, мишићног и везивног ткива и количине кожног прекривача главе. Све то има велики утицај, како на патологију, тако и на терапију обољења капака. Значајан број обољења капака, осим инфламаторних и аутоимунних, може се лечити применом различитих хируршких процедура, од релативно једноставних, до веома компликованих.

На успешност датих процедура утиче велики број фактора које треба испоштовати. Од асепсе и антисепсе, преоперативне припреме и адекватног планирања, премедијације и одговарајуће анестезије, преко примењене технике, материјала за шивење, инструментарија и наравно постоперативног тока. Најбитнији је свакако људски фактор, а то је знање, искуство и увежбаност хирурга.

**Анатомија и физиологија ока**

Око или орган вида (*organum visus, ophthalmos, oculus*) може се поделити на три дела која су анатомски и функционално повезана, и то су:

- очна јабучица (*bulbus oculi*), око у ужем смислу,
- оптички или видни путеви и центар вида у кори великог мозга,
- помоћни органи ока (*organa oculi accessoria*).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

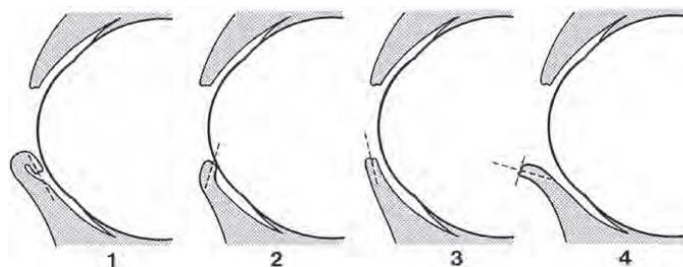
У помоћне органе ока (*Organa oculi accessoria*) спадају: горњи очни капак (*palpebra oculi superior*), доњи очни капак (*palpebra oculi inferior*), трећи очни капак (*plica semilunaris, palpebra tertia, membrana nictitans*), сузни апарат (*apparatus lacrimalis*), сузни филм, вежњача (*conjunctiva*), спољашњи мишићи очне јабучице (*mm. oculi externi*), масно јастуче орбите (*paniculus adiposus orbitae*), покосница (*periorbita*) и костни зидови (*orbita*).

Горњи и доњи очни капак представљају два покретна набора коже који формирају и затварају очни отвор (*rima oculi*). Они прекривају око чинећи тиме основну баријеру између ока и спољашње средине. Између задње површине (*bulbarne*) доњег очног капка и антериорног дела очне јабучице се налази трећи очни капак.

Функција капака у основи је заштитна. На првом месту од прекомерне инсолације (светлост), директног повређивања (механички, хемијски), као и других утицаја спољашње средине. Значајна функција је и распрострањавање сузног филма (SF), стварање липидне компоненте сузног филма (тарзалне жлезде), његовог задржавања на рубовима капака, као и уклањање суза, страних тела и нечистоће. Капци представљају прву и најважнију заштиту очне јабучице, најпре рожњаче.

Обољења која се најчешће хируршки третирају на очним капцима код паса су: ентропијум, ектропијум, уклањање тумора и зашивање рана на капцима.

Ентропијум представља увртање дела или целог руба капка ка очној јабучици (*bulbus oculi*), због чега долази до директног контакта спољашњег дела капка (кожног прекривача са длакама и евентуално трепавицама) са рожњачом и конјунктивом, чиме долази до иритације, повређивања и запаљења различитог степена и са различитим исходом.



Слика 1. 1. Изражен ентропијум, 2. Благ ентропијум, 3. Нормални доњи капак, 4. Ектропијум

Ентропијум се може поделити у три категорије: Урођени - конгенитални, спастични и ожиљни. Урођени ентропијум је веома чест, и посебно изражен код расних паса. Расе које имају израженију предиспозицију ка појави ентропијума су: Шар Пеј, Ши Цу, Ротвајлер, Кокери, Берндинци, Енглески булдози, минијатурне пудле, Француски булдози, Мопсеви, Немачка дога и друге расе. Свака од наведених раса има предиспозицију појаве ентропијума на одређеном специфичном месту и одређених карактеристика за дату расу. Сходно томе се и технике прилагођавају појединим расама односно ентропијуму карактеристичном за дату расу. Сматра се да је ентропијум најзаступљенији деформитет очних капака код паса.

Ектропијум представља извртање дела или целог руба капка ка споља (у спољашњу средину), због чега долази до прекомерног излагања конјунктиве спољашњој средини, микроорганизмима, прашини, као и прекомерном испаравању суза, што све доприноси компромитовању нормалног функционисања ока. Ектропијум може бити урођени, стечени - ожиљни, јатрогени (у случају прекомерне корекције ентропијума). Најчешће се јавља код Берндинца, Немачке доге, Крвоследника, Мاستифа, Шпанијела и осталих, првенствено већих раса лимфатичне конституције. Ектропијум се првенствено јавља на доњем очном капку, мада се може јавити и на горњем као последица повреда и ожиљног ткива и хроничног запаљења. Његова појава је уско повезана са превеликом дужином капка (*Macroblerpharon*).

Постоји и комбинација ектропијума и ентропијума, поготову код раса које имају предиспозицију ка појави ектропијума и превеликом дужином капака.

---

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Повреде капака су релативно честе. Обично настају под утицајем оштрог предмета, нокта мачке, пројектила као и код акциденталних повреда у саобраћају. Обим и сложеност варира од најмањих до великих који захватају комплетни капак (капке), од једноставних до веома сложених. Код повреда капака, битно је урадити правилно тријажу и поставити приоритете. На првом месту је стабилизација пацијента, а затим санација озбиљније повреде (нпр. повреда рожњаче је битнија од повреде капка).

Тумори капака се често јављају. Добра страна је да код паса значајно мањи број малигних од немалигних тумора, за разлику од мачака. Најбитнија је правовремена дијагностика и интервенција. Запуштени случајеви обично имају неповољан исход. Препорука је урадити што пре интервенцију и дати узорак ткива на пато-хистологију.

#### Дијагностика

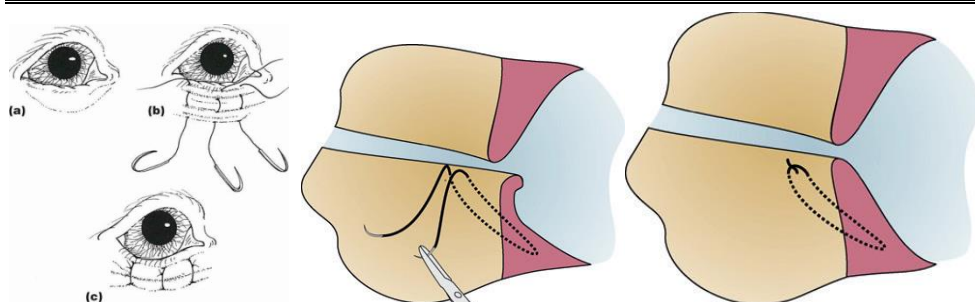
У дијагностици ентропијума се користе увећање и примена одговарајућег осветљења, који су део офталмолошке дијагностике предњег сегмента. Од увећања најчешће се користе бинокуларне лупе 2-5 пута, мада се може користити и увећање од 10 или 12 пута (биомикроскоп). Од осветљења се може користити фокално осветљење (Finoff-ов транслуминатор, биомикроскоп) или процепно светло (офталмоскоп, биомикроскоп).

Палпебрални и корнеални рефлекс се морају тестирати користећи делове увијене вате или естезиометар. Треба узети у обзир да различити делови капака, као и рожњаче различито реагују на исти стимулус и доводе до трептаја који може бити различите брзине и интензитета. У ово испитивање се може укључити и "Dazzle" рефлекс. Различити нерви учествују у овим рефлексима и њихова очуваност је веома битна у планирању правилне терапије ентропијума, ектропијума и санације ране после ексцизије тумора или после трауме. Примена боја флуоресцеина (fluorescein) и розе бенгала (rose bengal) је значајна у утврђивању степена оштећења рожњаче и утицају различитих делова капка на њу. Врста кератитиса нас посредно може усмерити ка успешнијој терапији. И на крају не треба изоставити примену локалног анестетика (тетракаин) при утврђивању тоталног ентропијума и отклањању секундарног бола и учешћа структурних промена на клиничку слику ентропијума.

#### Нируршке процедуре

Нируршке процедуре које се примењују како у санацији ентропијума и ектропијума, тако и санацији повреда и тумора капка, су углавном преузете из хумане пластично реконструктивне хирургије и хирургије ока код људи (човека) крајем деветнаестог и почетком двадесетог века. Оне су током времена модификоване у мањем или већем обиму, поставши тако веома оригиналне издвојене процедуре, које се користе првенствено код паса и мачака, а поједине и код других животињских врста.

Пре саме одлуке о оперативном захвату морамо приступити офталмолошкој дијагностици и утврдити врсту, обим и захваћеност околних ткива променом и на основу тога и својих преференци одлучити се за процедуру која би у датом случају дала најбољи резултат. Терапија се може поделити на нехируршку (условно) и хируршку (у ужем смислу). Од такозваних нехируршких начина санације, који се примењују првенствено у корекцији ентропијума, могу се издвојити привремени шавови (Слика 2, 1.)



Слика 2. Нехируршки начини корекције ентропијума код паса (1, 2 и 3.)

#### Нируршки принципи хирургије очних капака

Примена хируршких техника захтева поштовање одређених процедура асепсе и антисепсе, анестезије, принципа атрауматске хирургије, као и других фактора битних за успешно обављену процедуру. Преоперативна припрема је неопходна за успешност процедуре. Битна је правилна терапија постојећег обољења капака, конјунктиве и роњаче. Премедикација антибиотцидима у случајевима компликованих процедура и инфицираних рана. Пре саме процедуре и давања анестезије је неопходно утврдити интензитет ентропијума у делу капка где је ентропијум највише изражен. То се ради повлачењем капка у нормалан положај и пуштања истог да се врати у положај ентропијума. Овај размак, дистанца, се мери калипером (офталмолошки шестар за мерење дужине), без и са инстилирањем локалног анестетика (тетракаин) у конјунктивалну кесицу. Применом локалног анестетика можемо имати увид колики је тотални ентропијум.

Инструменти који се користе у корекцији ентропијума припадају финијим инструментима за сечење и шивење, а који се користе у мекоткивној хирургији, пластично-реконструктивној и офталмохирургији.

Материјали за зашивање рана - Конци величине (јачине) 5.0 - 6.0. Нересорптивни и ресорптивни, полифиламентни (мултифиламентни) и монофиламентни, са атрауматском округлом иглом са оштрим врхом или микропоинт игла. Већином се користе игле облика 1/2 круга.

Увећање и осветљење. Неопходно увећање је 2х, а препоручљиво је 3-5х. Користе се бинокуларне лупе. Препоручљиво је усмерено директно и коаксијално светло са филтером.

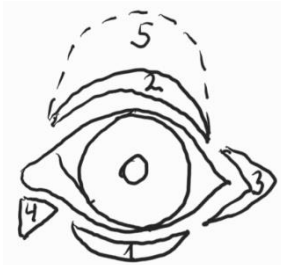
Анестезија у многоме зависи од расе, а и саме индивидуе (индивидуални приступ је најбољи). Неопходна је преоперативна анализа крви (крвна слика и биохемија), по потреби кардиолошки и неуролошки преглед, поготову код брахицефаличних раса паса и код старијих пацијената. Најбоље би било коришћење инхалационе анестезије и то Севофлурана односно (Sevofane), са или без миорелаксације. Одговарајућа премедикација се свакако подразумева.

Припрема операционог поља подразумева темељно шишање и/или бријање у пречнику од најмање 2 цм од руба капка и места постављања реза. Чишћење и дезинфекција ране врши се коришћењем специјалних дезинфекционих влажних марамица. Затим се у конјунктивалну кесу наноси гел, ради заштите ока од длака током шишања/бријања. На крају се спроводи припрема операционог поља наношењем раствора повидонјодида у танком слоју, више пута. Не треба заборавити испирање конјунктивалне кесе и уклањање длака и свих нечистоћа, потенцијално и дезинфекционих раствора из ње.

Припрема тима је стандардна асептична уз коришћење стандардне хируршке опреме (рукавице, капе, маске, стерилни мантил...)

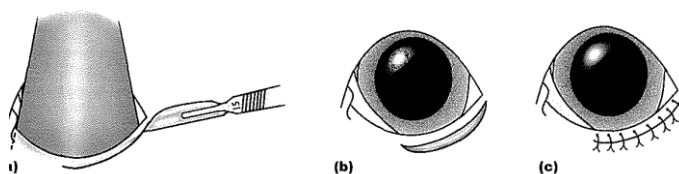
#### Примена одговарајуће технике (прављење инцизије)

Постоји велики број техника које се могу користити у хирургији капака. Најбољи резултати се постижу применом следећих хируршких процедура које су уједно и најчешће применјиване: "Hotz Celsus" процедура са бројним модификацијама, "Stades" процедура, 'Y'-'V' и 'V'-'Y' пластике, "Wedge"ексцизија и "V" ексцизија, "Kuhnt Szymanowski" процедура као и правилно зашивање ране на капцима.



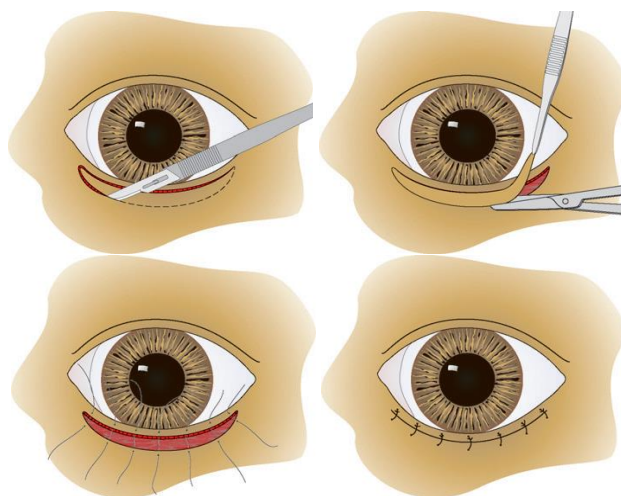
Слика 3. 1. Доњи, 2. Горњи капак, 3. Латерални, 4. Медијални, 5. "Stades"

"Hotz Celsus" процедура (1 и 2) процедура највише се примењује у корекцији ентропијума како доњег, тако и горњег капка. Пре саме процедуре поново се спроводи мерење ентропијума калипером и дефинитивно утврђује део коже капка који ће бити ексцидиран (уклоњен исецањем). Процедура се спроводи постављањем паралелног реза на 2-3 mm од руба капка и другог полукружног (елиптичног) реза који се спаја са претходним.



Слика 4. Примена металне плочице по Јегеру (Jaeger)

Због коже која није довољно затегнута, ако радимо доњи капак, у доњи предњи форникс поставља се метална плочица (Jaeger) која даје чврстину ткива, односно коже која је затегнута преко ње, да би скалпелом могла да се направи инцизија на кожи капка.

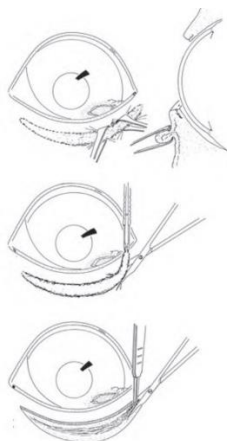


Слика 5. "Hotz Celsus" процедура

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

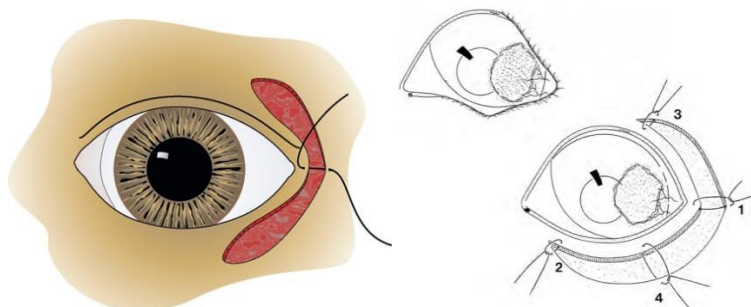
Други начин је да се користи скалпел (бр. 15) којим би се постављао рез и то врхом и оштицом одоздо на горе (више), супротно од уобичајеног коришћења скалпела и то вишестратним потезима у правцу замишљеног (већ обележеног маркером) реза.

Трећи начин се спроводи применом пеана којим се стезањем коже коју би требало уклонити (утврђено претходним мерењем калипером, без и са локалним анестетиком) прави набор коже, који остаје у том положају одређено кратко време. По уклањању пеана, набор коже сечемо маказама, односно правимо ексцизију дела капка која је неопходна да би кориговао уврнут капак. Ова последња техника је најмање прецизна и доводи до гњечења коже маказама и тиме различитог степена трауме, али је и најједноставнија за извођење и најчешће се примењује на нашим просторима. Од степена (интензитета) деформитета (увртања) коју одређујемо преоперативно калипером и захваћености (простирања) капка зависи и размак између резова као и дужина резова, односно величина (количина) кожног режња који треба уклонити. Размак између резова треба оставити увек мало мањи него што смо измерили (око 1 mm). Та корекција је неопходна и зависи од ретракције ожиљног ткива која може бити различита и зависи од квалитета коже. Зависно од степена (изрежености) ентропијума уклањамо и део или целу дебљину кружног мишића (*m.orbicularis oculi*).



Слика 6. “Hotz Celsus” процедура трећи начин

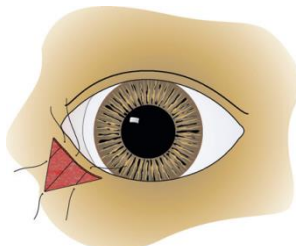
“Hotz Celsus” модификација за латерални кантус (ластин реп, *arrowhead*) (3) изводи се на иста три начина као и претходна процедура, једино је облик различит. При постављању шавова, прво се поставља средњи шав, затим периферни једне и друге стране. Затим треба поставити шавове у средини између шавова све док се не зашије цела рана постављањем шавова са размаком од 2-3 mm.



Слика 7. “Hotz Celsus” модификација за латерални кантус, и са доњим капком

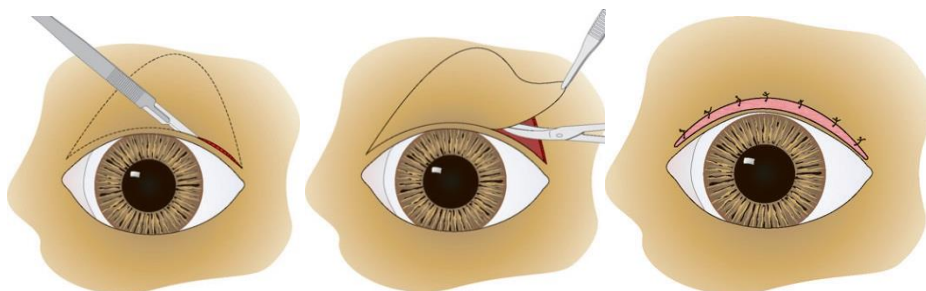
### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

“Hotz Celsus” модификација за медијални кантус (4) изводи се уклањањем изводи се уклањањем коже у облику троугла са базом постављеном паралелно са рубом доњег капка у његовом медијалном делу. При постављању шавова, прво се поставља средњи, затим периферни једне и друге стране, затим се постављају шавови у између већ постављених (средина) до потпуног зашивања ране.



Слика 8. “Hotz Celsus” модификација за медијални кантус

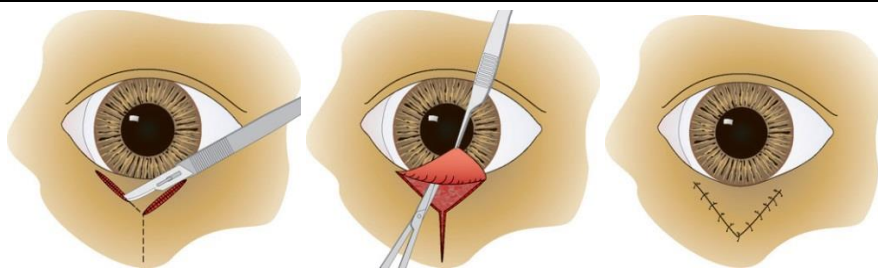
“Stades” процедура се спроводи код паса са прекомерном количином коже у пределу главе (Шар Пеи, Чау Чау). Представља модификацију “Hotz Celsus” процедуре, само екстензивнију. Спроводи се на горњем капку постављањем горњег полукружног реза са размаком од 2 - 3 cm. Горњи руб ране се не зашива за доњи, већ 3-6 mm изнад за субкутис, паралелно са доњим рубом новонастале ране. У овој техници значајну улогу има оžilно ткиво које има задатак да додатно подигне (ретражује) и учврсти капак (ретракцијом оžilног ткива).



Слика 9. “Stades” процедура

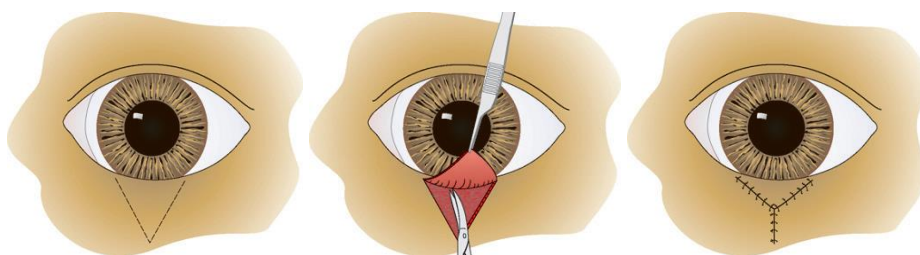
“Y”-“V” и “V”-“Y” пластике. И једна и друга техника се примењују првенствено на доњем капку. Прва се примењује код ентропијума и спроводи тако што се постављају резови у облику слова “Y” са крацима усмереним ка рубу доњег капка, удаљеним 2 - 3mm од руба капка. После подмирирања (препарисања) субкутиса, рана се зашива тако што се троугао слова ипсилон (првенствено његов врх) повлачи ка основи дршке формирајући слово “V” и тиме доводи кожу руба капка у нормалан положај чиме се коригује ентропијум.





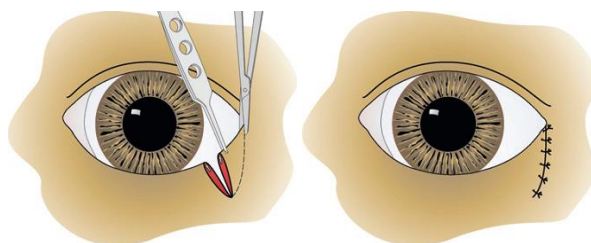
Слика 10. "Y"-V пластика

Друга техника је супротна а користи се за корекцију ектропијума. Постављају се резови у облику слова "V", подминира субкутис, кожа се помера ка рубу капка - клизећи тако да формира слово "Y", тиме се део коже капка који је био изврнут подиже и доводи у нормалан положај, односно коригује.



Слика 11. "V"-Y пластика

"Wedge" ексцизија примењује се првенствено у санацији ектропијума изазваног прекомерном дужином доњег капка. Представља варијанту "V" ексцизије руба капка код уклањања тумора. Разлика је у томе што је први рез под правим углом у односу на руб капка, а други под косим углом се простире до латералног кангуса.

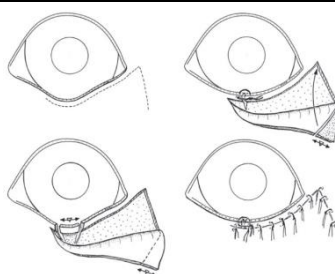


Слика 12. "Wedge" ексцизија

На тај начин се уклања вишак коже капка, односно капак скраћује колико је неопходно да се доведе у нормално стање. Пре самог захвата се такође врши претходно мерење калипером.

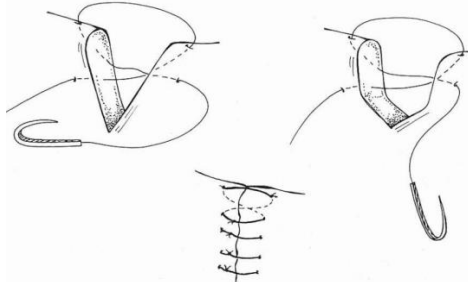
Kuhnt Szymanowski метода и велики број њених модификација се примењују за корекцију ектропијума и макроблефарона. Техника спада у средње захтевне. Код комбинација ектропијума и ентропијума и превеликом дужином капака, санација се спроводи сложенијим методама, често и веома компикованим. као што су модификација по Бедфорду, Бигелбаху.





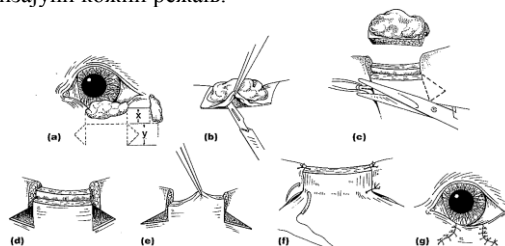
Слика 13. Kuhnt Szymanowski метода

Уклањање тумора капка у већини случајева и када тумор не прелази 5мм се спроводи постављањем “V” реза на минималној раздаљини од тумора од 2-3мм. Резовима се врши ексцизија свих слојева капка укључујући кожу, поткожно ткиво и конјунктиву. При зашивању ране се прво зашива конјунктива, било текућим или појединачним обичним шавом. Чворови се постављају унутар капка, односно не смеју бити окренути ка оку (рожњачи). Зашивање руба капка је најбитнији део ове процедуре и неопходно га је спровести максимално пажљиво и прецизно.



Слика 14. “V” рез и зашивање капка

Обично се примењује шав у облику осмице. У случају да није исправно постављен, може доћи до повреде рожњаче. Зато је неопходно бити самокритичан и у случају сумње поставити шав поново, све до задовољавајућег резултата. Код већих тумора се примењују друге далеко сложеније процедуре као што је клизајући кожни режањ.



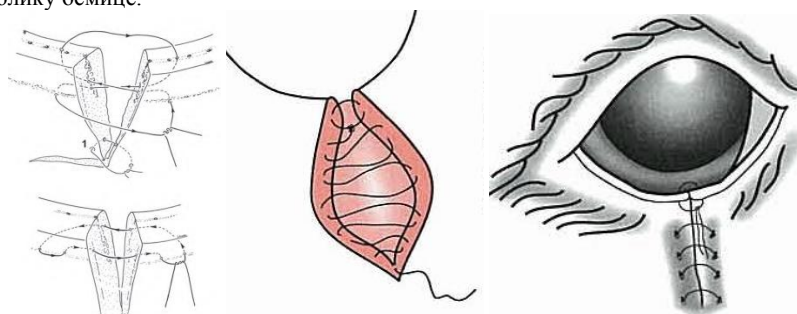
Слика 15. Клизајући кожни режањ

#### Зашивање ране (лацерације) на капку

Зашивање и најједноставније и најмање ране може бити компликовано ако се не спроведе пажљиво, уз поштовање свих принципа атрауматске хирургије. Рана мора да се добро очисти, по потреби хируршки обради. Прво се зашива конјунктива појединачним или текућим шавовима коришћењем атрауматске тупе игле и ресорптивног полифиламентног или монофиламентног конца.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Затим се врши адаптација неправилне ране и покушај довођења у претходно стање пре повређивања. Постављају се прво иницијални шавови који омогућавају одговарајући облик ране, уз поштовање симетрије, ако је то могуће. Најбитнији део је апозиција руба капка постављањем шавова у облику осмице.



Слика 16. Зашивање ране на капку

За зашивање коже капка скоро искључиво се користе појединачни обични шавови, у одређеним ситуацијама се користе тензиони шавови. Размак између шавова зависи од врсте ране облика и врсте и старости животиње. Обично се креће између 2 и 3 mm.

Немостаза се спроводи применом тупфера, благе компресије, коришћењем електро и радио-таласне хирургије, постављањем хемостатских пеана и подвезивањем већих крвних судова.

Шавови се везују и осигуравају постављањем хируршког и других чворова уз довољну апозицију без већег притиска. Обично се после хируршког чвора постављају два до три осигуравајућа чвора. Чворови се постављају ван руба ране. Може се практиковати пуштање дужих крајева сваког шав са заједничким везивањем свих крајева на крају једним чвором. Овај начин превенира оштећење рожњаче неправилно постављеним шавовима и олакшава њихово скидање.

Криохирургија се користи за појачано ожиљавање и у превентивне сврхе ради спречавања поновног раста агресивних тумора после њихове ексцизије.

Постоперативни третман се заснива на превентивној примени заштитне крагне, парентералну примену антибиотика по потреби и локалној примени антибиотских капи или масти. Шавови се после контроле могу скидати после 10-12 дана.

#### Закључак

Постоји разнолика патологија капака код паса. Већи део се може санирати или кориговати различитим хируршким процедурама. Прави избор процедуре је од есенцијалног значаја. Избор зависи од много фактора, а најбитнији је да је процедура релативно једноставна, односно лако изводљива, а да са друге стране омогућава адекватну корекцију односно санацију одређене патологије. На крају, веома је значајна способност и увежбаност односно могућност хирурга да ту процедуру спроведе на одговарајући начин.

#### Литература

1. Bedford PGC, 1991, Disease and surgery of the canine eyelid, in Gelatt KN (ed): Veterinary Ophthalmology. Baltimore, MD, Lippincott Williams & Wilkins, pp 535-56  
Frans C. Stades, Alexandra van der Woerd: Diseases and Surgery of the Canine Eyelid, in Gelatt KN (ed): Veterinary Ophthalmology. Wiley Blackwell, 2013, pp 832-893.  
2. Kirk N. Gelatt, 2014, Essentials of Veterinary Ophthalmology, Wiley Blackwell, 1 pp 63-185.  
3. Kirk N. Gelatt, Janice Peterson Gelatt, 2011, Veterinary Ophthalmic Surgery, Elsevier Ltd. pp 89-140.  
4. Pavletic MM, Nafe LA, Confer AW, 1982, Mucocutaneous subdermal plexus flap from the lip for lower eyelid restoration in the dog, J Am Vet Med Assoc 180 : 921-926.  
5. Susette M. Aquino: 2007, Management of Eyelid Neoplasms in the Dog and Cat, Clin Tech Small Anim Pract, Elsevier Inc. pp 22: 46-54.

НЕТРАУМАТСКА ОБОЉЕЊА КОЛЕНОГ ЗГЛОБА КОД ПАСА

*NETRAUMATIC KNEE JOINT DISEASES IN DOGS*

*Марко Пећин<sup>1</sup>, Бојан Тохол<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Ветеринарски факултет, Свеучилиште у Загребу;

<sup>2</sup>Пољопривредни факултет, Департман за ветеринарску медицину, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај**

Руптура предњег укрштеног лигамента је један од најчешћих узрока шепача у паса. Оно може бити деломично, с малом нестабилности зглоба и потпуно које доводи до изражене нестабилности коленог зглоба. У оба случаја при оштећењу лигамента долази до дегенеративних промена у зглобу већ унутар неколико недеља па се с временом стање погоршава. У већини случајева се ради о хроничном процесу, а ретко је реч о трауматској озледи. Она чини свега 20-ак посто озледа, а честа је у младих паса као авулзија хватишта лигамента на платоу потколенице. Због тога можемо говорити о „болести предњег укрштеног лигамента“. Улога предњег укрштеног лигамента је стабилизација коленог зглоба. Лигамент ограничава кранијални смак потколенице, ограничава прекомерну унутрашњу ротацију коленог зглоба и ограничава (спречава) хиперекстензију. Губитак функције узрокује помак потколенице кранијално што узрокује сублуксацију потколенице те јачу унутрашњу ротацију колена. Етиологија руптуре предњег укрштеног лигамента је разноврсна па до пукнућа долази при многим радњама и стањима. Неки од њих су унутрашња ротација у благој флексији колена, нагли скок уназад (за фризбијем, лоптицом), хиперекстензије кољена при паду у рупу или при доскоку. Нестабилност зглоба може настати као последица дегенеративне болести зглоба (остеоартроза) те оштећење медијалног менисуса. Предиспозицију за појаву овог проблема имају веће расе као што су њуфаундленди, лабрадори, бернардинци, боксери, златни ретривери и ротвајлери док је најређа појавност забележена код хртова и басета. Осим расних неке од најчешћих предиспозиција су повећана телесна маса, старија животна доб, слаба телесна кондиција, пријашња луксација пателе те артритис. Болест се све чешће наводи као болест младих паса, великих пасмина. У 30-50% случајева проблем ће се појавити билатерално унутар две године. Медијално ишчашење колене чашнице честа је појава и узрок шепача у малих раса. Међутим, хируршко лечење лакших случајева, нарочито I стадијум често се избегава и не сматра битним. Конзервативно лечење не даје често задовољавајуће резултате. Ишчашење већином настане због трауме, али може бити присутно већ при рођењу што је често повезано с тежим деформацијама костију. Тежина клиничких знакова зависи о степену ишчашења ивера, а у неким случајевима када нема клиничких знакова до дијагнозе се долази током рутинског клиничког прегледа. Осим ортопедског прегледа, дијагноза се поставља на темељу рендгенског снимања које може бити негативно у I или чак и II степену ишчашења. Врста хируршког захвата зависи о степену ишчашења, а може се базирати на реконструкцији меких ткива или костију. Најчешће кориштене технике су затезање латералног ретинакулума са отпуштањем медијалног ретинакулума, продубљивање трохлеарног канала односно трохлеопластике и премештања гољеничне кврге латерално и чак благо дистално. Код тежих деформација костију примењује се корективна остеотомија бедрене кости. Данас постоје и модерне методе које повећавају или у потпуности замењују трохлеарни жлеб.

**Кључне речи:** колено, предњи укрштени лигамент, ишчашење

#### **Руптура предњег укрштеног лигамента**

У саставу локомоторног система животиња, зглобови представљају јединствену морфо-функционалну структуру која има веома значајну улогу у извођењу покрета тела.

Колени зглоб (*articulatio genus*) је један од највећих и најсложенијих зглобова локомоторног система животиња и у функционалном ланцу задњих екстремитета, али и читавог тела, чини једну од кључних структура омогућавајући животињи: стајање, ходање, трчање, седање и амортизовање потреса.

Из претходно наведеног лако је закључити да је за нормалну функцију колена неопходан анатомски и функционални интегритет свих структура коленог зглоба, као и да постојање одређених патолошких процеса доводи у питање функционално стање не само задњих екстремитета већ и целог тела животиње.

Руптура предњег укрштеног лигамента колена (*ruptura ligamenta cruciata anterior*) је једно од најчешћих обољења коленог зглоба са којим се сусрећемо код паса и чије постојање доводи до трајних последица на стабилност и функцију коленог зглоба животиње. У етиопатогенези настанка руптуре предњег укрштеног лигамента, као главни узроци наводе се пре свега акциденталне повреде екстремитета. Међутим, како сви клинички случајеви овог обољења нису повезани са повредама трауматске природе, истраживања су показала да постојање дегенеративних обољења структура коленог зглоба претходи и умногоме доприноси настанку руптуре предњег укрштеног лигамента.

Лечење руптуре предњег укрштеног лигамента је неопходно како због повраћаја функције колена, тако и због спречавања даљег развоја артропатија.

#### **Анатомија коленог зглоба**

Колени зглоб (*articulatio genus*) је један од највећих и најсложенијих зглобова локомоторног система животиња. На основу морфофункционалних карактеристика, колени зглоб спада у групу диартроза (*diarthrosis*), односно тзв. **синовијалних зглобова** (Слика 1), са могућношћу извођења покрета флексије и екстензије, као и ограниченом могућношћу извођења покрета ротације, клизања и котрљања. Колени зглоб формирају дистални крај бутне кости и проксимални крај голењаче и чашична кост (*patella*). Бутна кост се међусобно зглобљава са коленом чашицом, као и са голењачом, чинећи на тај начин два зглоба у оквиру функционално јединственог коленог зглоба. То су **феморопателарни** и **феморотибијални** зглоб (Akers и Denbow, 2013).

**Феморопателарни зглоб** (*articulatio femoropatellaris*) образују *trochlea femoris* бутне кости и *facies articularis* чашичне кости. Чашична кост је везана за епикондил бутне кости лигаментима латерално и медијално: *lig. femoropatellare laterale et lig. femoropatellare mediale*, а за голењачу дистално помоћу *lig. patellae*. Код карнивора, оваца и свиња налази се један *lig. patellae*. Овај лигамент представља завршни део тетиве *m. quadriceps femoris-a* у који је утиснута чашична кост. Простор између овог лигамента и зглобне капсуле испуњен је масним ткивом (Akers и Denbow, 2013; Evans и De Lahunta, 2013).

**Феморотибијални зглоб** (*articulatio femorotibialis*) граде кондили бутне кости и голењаче. Зглобне површине кондила прекривене су артикуларним хрскавицама (*lcartilago articulares*) које су по свом типу и грађи хијалине хрскавице. Ове хрскавице, захваљујући својим особинама еластичности и компресибилности, апсорбују и умањују притисак те штите зглоб, а такође и олакшавају покрете зглобних површина. Артикуларна хрскавица не садржи нерве и крвне судове, али ипак, у одређеном степену, има способност регенерације. Исхрана артикуларне хрскавице се врши из синовијалне течности. Дебљина артикуларне хрскавице је различита у различитим деловима зглоба и директно је пропорционална тежини коју зглоб носи. Здрава артикуларна хрскавица је провидна, са плавичастим сјајем (Akers и Denbow, 2013; Evans и De Lahunta, 2013).

Између зглобних површина бутне кости и голењаче налазе се утиснуте две хрскавичаве творевине – менискуси, латерални и медијални менискус (*meniscus lateralis et meniscus medialis*). Менискуси употпуњавају улогу артикуларних хрскавица, а уједно и исправљају инконгруентност зглобних површина. Полумесечастог су облика. Менискуси су лигаментима везани за голењачу. Спољашњи руб меникуса, који је конвексан и дебео, срастао је са зглобном капсулом, док је

унутрашњи руб конкаван и оштар. Страна менискуса окренута кондилима бутне кости је издубљена, док је страна менискуса окренута према кондилима голењаче равна (Akers и Denbow, 2013).

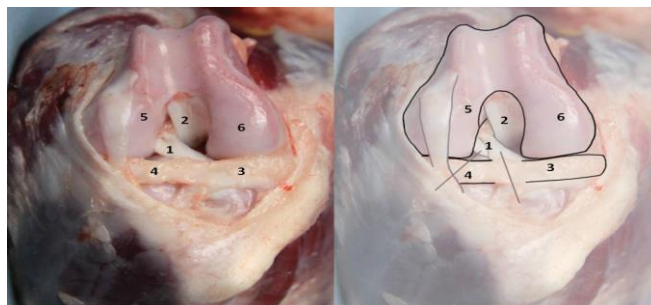
Покоснице бутне кости, голењаче и чашичне кости на прелазу једне кости у другу формирају зглобну капсулу (*capsula articularis*) која затвара зглобну шупљину (*cavum articularis*). Зглобна капсула је двослојна. Састоји се од спољашњег фиброзног (*membrana fibrosa*) и унутрашњег синовијалног слоја (*membrana synovialis*). Синовијални слој зглобне капсуле је добро васкуларизован, инервисан и производи синовијалну течност (*synovia*), која подмазује зглобне површине и исхрањује зглобне хрскавице.

Лигаменти коленог зглоба, заједно са зглобном капсулом, чине капсулолигаментарни апарат који представља тзв. пасивне стабилизаторе колена, чија је главна улога да: повезују суседне кости, учврсте зглоб и спрече дислокацију костију. У саставу капсулолигаментарног апарата коленог зглоба разликујемо **екстраартикуларне** и **интраартикуларне** лигаменте. Екстраартикуларни лигаменти улазе у састав зглобне капсуле, док се интраартикуларни лигаменти налазе унутар зглобне шупљине и не улазе у састав зглобне капсуле.

#### Морфологија и функција укрштених лигамената

Предњи укрштени лигамент заједно са задњим укрштеним лигаментом (*ligamentum cruciatum caudalis*) повезује бутну кост и голењачу. Оба наведена лигамената спадају у групу интраартикуларних лигамената коленог зглоба.

Предњи укрштени лигамент почиње на аксијалном аспекту латералног кондила бутне кости. Одатле се пружа дијагонално кроз интеркондиларну фосу и завршава на кранијалној интеркондиларној плочи голењаче. Место завршетка предњег укрштеног лигамената, односно место његовог везивања за голењачу, кранијално је ограничено са *lig. meniscotibiale craniale* медијалног менискуса а каудално са *lig. meniscotibiale caudale* латералног менискуса (Слика 1.) (Muir, 2010; Evans и De Lahunta, 2013).



**Слика 1.** Структуре десног коленог зглоба пса: 1. Предњи укрштени лигамент; 2. Задњи укрштени лигамент; 3. Медијални менискус; 4. Латерални менискус; 5. Латерални кондил бутне кости; 6. Медијални кондил бутне кости (Фото извор: Muir 2010)

У својој структури, предњи укрштени лигамент се састоји од лонгитудинално постављених колагених влакана (од 70 до 80% суве материје, око 90% чини колаген типа I). Са 3 до 10% суве материје у грађи колагених влакана учествује колаген типа III, док остатак чине колаген типа V, X, XII, XIV, затим еластин и протеогликани. Просечна дужина предњег укрштеног лигамената код паса износи од 13.5 до 18.77 mm (Wingfield и сар., 2000; Muir, 2010).

Предњи укрштени лигамент је споља је прекривен унутрашњим, синовијалним слојем зглобне капсуле (*membrana synovialis*). Како је синовијална мембрана зглобне капсуле веома добро васкуларизована, она, заједно са такође добро васкуларизованим инфрапателарним масним ткивом чини основни извор микроциркулације предњег укрштеног лигамената (Kobayashi и сар., 2006; Muir, 2010).

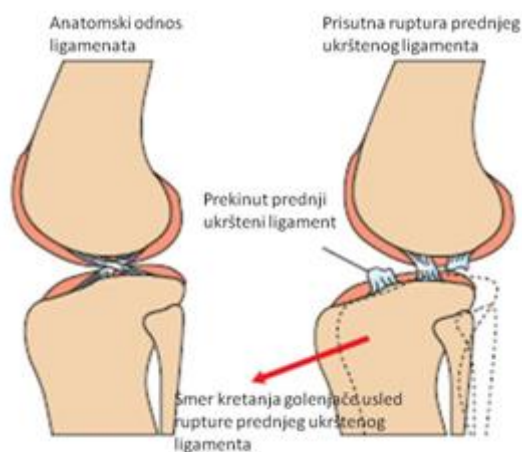
### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Предњи укрштени лигамент је инервисан од стране грана *n. saphenusa* и *n. tibialis*, а највише од медијалног артикуларног нерва који представља грану *n. saphenusa* (O'Connor и Woodbury, 1982).

Као саставни део капсулолигаментарног апарата, предњи и задњи укрштени лигамент имају биомеханичку улогу стабилизатора коленог зглоба. Ову своју улогу предњи укрштени лигамент остварује на два начина:

- онемогућава превелику антериорну translацију голеначе у односу на бутну кост (Слика 2);
- у мањем степену, у судејству са колатералним лигаментима, онемогућава ротацију тибије.

Предњи укрштени лигамент, такође, има и кључну улогу у проприоцепцији коленог зглоба (Arnoczky и Marshall, 1977; Muir, 2010).



Слика 2. Антериорна translација голеначе у односу на бутну кост (Фото извор: Fossum, 2012)

#### Етиопатогенеза руптуре предњег укршеног лигаamenta

Егзактна етиопатогенеза руптуре предњег укршеног лигаamenta није у потпуности разјашњена и дефинисана. У акутним случајевима, руптура предњег укршеног лигаamenta најчешће је проузрокована траумом или акциденталним повредама које доводе до хиперекстензије коленог зглоба или унутрашње ротације ноге. Међутим, како сви клинички случајеви руптуре LCA нису последица трауме коленог зглоба, истраживања су показала да један од главних узрока који доводе до руптуре предњег укршеног лигаamenta јесу дегенеративне промене самог лигаamenta (Hayashi и sar., 2003; Muir, 2010; Fossum, 2012).

Руптура предњег укршеног лигаamenta доводи до појаве нестабилности коленог зглоба, и прогресивног развоја артропатија (синовитиса, дегенеративних промена артикуларне хрскавице, формирања периарткуларних остеофита и капсуларне фиброзе). Такође, као последица руптуре предњег укршеног лигаamenta, често настају повреде медијалног менискуса (Muir, 2010; Fossum, 2012).

Важно је напоменути да без обзира на метод и начин лечења руптуре предњег укршеног лигаamenta, настанак и прогресиван развој остеоартритиса је неизбежна компликација (Muir, 2010).

#### Дијагностика руптуре предњег укршеног лигаamenta

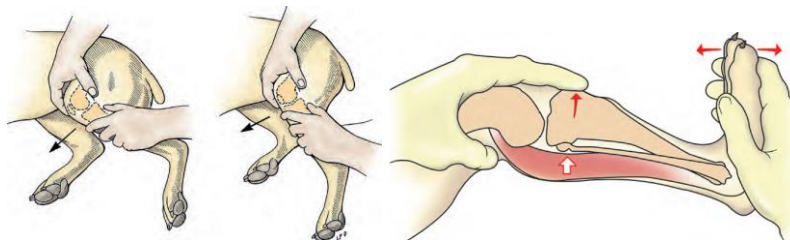
Руптура предњег укршеног лигаamenta је један од најчешћих поремећаја (обољења) локомоторног система који доводи до хромости код паса (Witsberger и sar., 2008). До руптуре предњег укршеног лигаamenta коленог зглоба може доћи код свих паса без обзира на расу, старост, пол и намену, али статистички подаци показују да је обољење најчешће присутно код младих, физички активних паса великих раса (Muir, 2010; Fossum, 2012).

Узимање детаљне анамнезе од стране власника и детаљан клинички преглед животиње представљају кључне моменте у поступку дијагнозе руптуре предњег укрштеног лигамента.

**Клиничка слика** – Поред локалних инфламаторних знакова (болност, температураност, оток) који су присутни пре свега код акутних руптура предњег укрштеног лигамента, у клиничкој слици доминира хромост у фази оптерећења (Tadić и Mišić, 1979; Muir, 2010; Fossum, 2012). У акутним случајевима, код паса тежине до 10 кг, хромост и без лечења може прогресивно да се смањује у периоду од 3 до 6 недеља након повреде. Код тежих паса, паса са руптуром предњег укрштеног лигамента хроничног тока и паса са повредама менискуса, хромост у фази оптерећења и даље представља доминантан клинички знак бољења. Хромост може бити унилатералног или билатералног карактера. Код унилатералне хромости, приликом ходања животиње могућа је екстерна ротација оболелог екстремитета. Слично, током седења, животиња испружа оболелу ногу ка напред и врши екстерну ротацију оболелог екстремитета. Такође, може бити присутна и изражена атрофија бутне мускулатуре (Fossum, 2012).

**Ортопедски преглед** – са заснива на методама општег клиничког прегледа (Лахманов тест – тест предње ладнице и тест тибијалне компресије), као и специјалним методама клиничке дијагностике (РТГ, MRI и артроскопија) (Muir, 2010; Fossum, 2012). У клиничкој пракси, велики значај у дијагностици руптуре предњег укрштеног лигамента имају методе општег клиничког прегледа засноване на методи палпације:

**Лахманов тест** – Приликом извођења овог теста животиња се налази у бочном лежећем положају. Палац једне руке се постави преко латералне фабеле а кажипрст исте руке преко чашичне кости. На овај начин се изврши стабилизација бутне кости. Палац друге руке се постави на главу лисњаче а кажипрст на тубероситас тибије. Савијањем и исправљањем коленог зглоба, голењача се покушава померати кранијално и дистално од бутне кости (ефекат ладнице) (Слика 3). Пожељно је, због веродостојности резултата теста, извршити тест на оба колена зглоба (Muir, 2010; Fossum, 2012). Код одраслих паса, постајање разлике у дужини транслације голењаче суспектне ноге у односу на здраву преко 2мм представља позитиван резултат теста, односно указује на постојање руптуре предњег укрштеног лигамента. Код младих паса ова разлика може бити и до 5 mm (Muir, 2010; Fossum, 2012).



Слика 3. Извођење Лахмановог теста и теста тибијалне компресије (Фото извор: Fossum, 2012)

**Тест тибијалне компресије** – изводи се на животињи која стоји или је у латералном лежећем положају. Једном руком се хвата дистални део *m. quadricepsa* тако да кажипрст руке прелази преко чашичне кости и завршава на крсти голењаче. Друга рука обухвата метатарзални регион ноге са плантарне стране. Нога се постави у благу екстензију коленог зглоба. Руком којом је обухваћена метатарзална регија ноге врши се флексија скочног зглоба. Приликом флексије скочног зглоба савија се и колени зглоб. У случају негативног налаза, на кажипрсту руке који прекрива пателу осети се притисак *lig. patellae* (Fossum, 2012). У случају позитивног налаза, крста голењаче одмиче се ка напред.

#### Лечење руптуре предњег укрштеног лигамента

Нируршки третман представља изборну методу лечења руптуре предњег укрштеног лигамента. Лечење је могуће и конзервативном методом, али код паса до 10 кг телесне тежине и са упитним резултатима.



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Веома је важно поменути да без обзира на метод и начин лечења руптуре предњег укрштеног лигамента, често је развој артропатија само успорен (Muir, 2010). Ипак, резултати оперативног лечења руптуре LCA не могу никако бити занемарени јер су хируршким третманом повраћени стабилност коленог зглоба и функција задњег екстремитета, а и развој артропатија је слабије изражен. У табели 1. приказане су хируршке методе лечења руптуре LCA.

**Табела 1.** Методе хируршког лечења руптуре предњег укрштеног лигамент (Muir, 2010; Fossum, 2012)

<b>Интракапсуларне методе</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BTFS (bone tunnel fascial strip)</li> <li>• Alo graft</li> <li>• Синтетички графт</li> </ul>
<b>Екстракапсуларне методе</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Латерални фавеларни шав</li> <li>• FHT (fibular head transposition)</li> <li>• Фасцијална имбрикација</li> <li>• TR (thigh rope)</li> <li>• LSA (lateral suture anchor technique)</li> </ul>
<b>Методе остеотомије</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPLO (tibial plateau leveling osteotomy)</li> <li>• TWO (клинаста остеотомија потколенице)</li> <li>• ТТА (кранијализација туберозитаса тибије)</li> </ul>

**Табела 2.** Компаративни приказ екстраартикуларних (ЕК) хируршких метода лечења руптуре LCA (Muir, 2010)

Процедура	Биолошки/синтетски ЕК метод	Локација извођења ЕК методе	Успешност ЕК методе (%)	Постоперативне компликације (%)
<b>Fascijalna imbricacija</b>	Биолошки	Латерална страна зглоба	непознато	непознато
<b>FHT (fibular head transposition)</b>	Биолошки	Латерална страна зглоба	64 - 90	17 - 50
<b>LFTS (Lateralni favelarni šav)</b>	Синтетски	Латерална страна зглоба	90 - 95	17 - 25
<b>LSA (lateral suture anchor technique)</b>	Синтетски	Латерална страна зглоба	~91	≥21
<b>TR (thigh rope)</b>	Синтетски	Латерална страна зглоба	91.6 – 95.6	9.1 – 12.5

#### Луксација чашнице (ивера) коленог зглоба – *luxatio patellae*

Медијално ишчашење колене чашнице честа је појава и узрок шепања у малих пасмина паса стога има велик значај у ветеринарској пракси. Ова луксација спада у тзв хабитуелне луксације, а оне су такве да се саме изглобљавају, услед конформацијских поремећаја. Најчешће их налазимо управо на фемуро-пателарном зглобу. Код паса се најчешће ради о медијалној луксацији пателе.

#### Етиопатогенеза

Медијална луксација пателе се најчешће јавља код паса малих раса. Узроци су хабитуалне природе и састоје се из недовољно дубоког трохлеарног жлеба, али и због девијације бутне кости, када силе које настају код контракције квадрицепса гурају пателу медијално. Патела може да се налази у трохлеарном жлебу и да из њега повремено искочи али и да се спонтано врати, међутим у



најтежем степену луксације (види испод) патела је трајно луксирана и налази се са медијалне стране трохлеарног жлеба. Услед појачаног трења и истезања долази до запаљења зглоба (артритиса) појаве бола, анкилозе.

#### Дијагностика и клиничка слика

Пателу најлакше палпирамо ако кренемо од потколеничне кврге проксимално уз лигамент пателе (Towle и сар., 2005). Кад палпирамо лигамент пателе он је у нормалним условима ваљкастог облика, док у патолошком стању постаје све више пљоснат. Медијална луксација пателе чешће се појављује него латерална луксација. Медијална луксација пателе честа је код малих паса и то као урођени проблем или проблем који се јавља у развоју пса, па је обично дијагноза постављена када је пас стар 6-7 месеци (Appelt и сар., 2005). Нешто чешће оболјевају женке, а у 25% случајева проблем је присутан на оба колена. Да бисмо луксирали пателу медијално, колени зглоб мора бити у екстензији док прсте исте ноге ротирамо медијално, истовремено прстима гурајући пателу медијално. Луксација пателе подељена је на четири степена. Код првог степена луксације, зглоб колена је нормалан, а до луксације пателе доћи ће само када је зглоб у екстензији и ми притиснемо пателу прстом. Врло често нема никаквих клиничких знакова болести и не препоручује се извођење хируршких захвата. Код другог степена луксације, патела обично лежи на свом месту, али у флексији зглоба долази до њене луксације и она остаје луксирана док је притиском руке или стављањем зглоба у положај екстензије не вратимо натраг на место (Hans и сар., 2016). Понекад се сама патела врати натраг приликом истегнућа ноге и шепање престаје. У овом степену већ можемо очекивати појаву дегенеративних промена на коленом зглобу. Ако је патела у луксацији већину времена, али се може вратити на место постављањем ноге у екстензију, тада говоримо о луксацији трећег степена. У четвртном степену патела је стално луксирана и не може се вратити натраг на место. Код таквих јаких луксација битно је што пре обавити хируршки захват. Хромост је најважнији симптом. У првом стадијуму луксације примети се да пас повремено приликом хода подиже ногу и направи два три корака без употребе оболеле ноге, а затим је враћа на тло и користи као да нема никаквих проблема. Како напредују артротичне промене или је реч о већем степену луксације, хромост је све израженија.

#### Терапија

Иако су описане различите конзервативне методе лечења, ипак оне не задовољавају критеријуме који би високо гарантовали успех лечења, па се данас углавном користе различите хируршке технике. Оне подразумевају: продубљивање трохлеарног жлеба, транспозицију хватишта пателарног лигамента на тубероситасу тибије и затезање латералног ретинакулума.

#### Литература

1. Akers, R.M., Denbow, D.M.: Anatomy and physiology of domestic animals. Wiley-Blackwell, 2013. 2. Arnoczky, S.P., Marshall, J.L.: The cruciate ligaments of the canine stifle: An anatomical and functional analysis. Am J Vet Res, 38 : 1807 – 1814, 1977. 3. Evans, H. E., De Lahunta, A.: Miller's Anatomy of the Dog. Elsevier Health Sciences, 2013. 4. Fossum, T.: Small animal surgery, 4<sup>th</sup> edition. Elsevier Health Sciences, 2012. 5. Hayashi, K., Frank, J. D., Dubinsky, C., Hao, Z., Markel, M. D., Manley, P. A., Muir, P.: Histologic changes in ruptured canine cranial cruciate ligament. Vet surg, 32(3): 269-277, 2003. 6. Kobayashi, S., Baba, H., Uchida, K., Negoro, K., Sato, M., Miyazaki, T., Nomura, E., Murakami, K., Shimizubata, M., Meir, A.: Microvascular system of anterior cruciate ligament in dogs. J. Orthop. Res., 24(7): 1509-1520, 2006. 7. Muir, P.(ed.): Advances in the canine cranial cruciate ligament. Wiley-Blackwell, 2010. 8. O'Connor, B.L., Woodbury, P.: The primary articular nerves to the dogs knee. J Anat, 134: 563 – 572, 1982. 9. Wingfield, C., Amis. A.A., Stead, A.C., Law, H.T.: Cranial cruciate stability in the Rottweiler and racing Greyhound: A *in vitro* study. J Small Anim Pract, 41: 193 – 197, 2000. 10. Witsberger, T. H., Villamil, J. A., Schultz, L. G., Hahn, A. W., & Cook, J. L.: Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 232(12): 1818-1824, 2008.

СКРИНИНГ ПРОГРАМИ ДИЈАГНОСТИКЕ ДИСПЛАЗИЈЕ  
КУКОВА И ЛАКТОВА КОД ПАСА

*SCREENING PROGRAMS FOR DIAGNOSIS OF HIP AND ELBOW DYSPLASIA IN DOGS*

*Бојан Тохол*

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

**Кратак садржај**

Дисплазија кукова и дисплазија лактова код паса имају велики ветеринарско-медицински значај јер смањује употребну вредност животиње. Будући да су дисплазија кукова и дисплазија лактова најчешће скривене мане у току прве године живота, па чак и у току првих неколико година живота, а да су у исто време наследне, онда је сасвим разумљиво интересовање стручне и кинолошке јавности да се одреди поуздан систем ране дијагностике ових обољења, а све у циљу ерадикације или пак смањења инциденце ових обољења. Међутим, имајући у виду да се зглоб кука и зглоб лакта развијају у првој години живота пса, јасно је да је за већину официјелних скрининг програма потребно да пас напуни минимум 12 месеци старости (за гигантске расе и 18 месеци). Међутим, брижне власнике треба едуковати и о могућности раније дијагностике дисплазије кукова и инфомисати их о могућностима спровођења корективних хируршких захвата који ће умањити могућност настанка секундарних промена. Систематска контрола дисплазије је први пут организована у Шведској осамдесетих година, када је примећена велика преваленција дисплазије лактова код ротвајлера и ретривера.

Иако је описано много различитих система дијагностике дисплазије кукова и лактова данас су најчешће у употреби: FCI систем дијагностике (**F**ederation **C**ynologicue **I**nternationale), OFA (**O**rtopedic **F**oundation for **A**nimals), Penn Hip (University of **P**ennsylvania **H**ip **I**mprovement Program), BVA (British Veterinary Association).

**Кључне речи:** дисплазија кукова, дисплазија лактова

**FCI систем дијагностике дисплазије кукова**

Међународно кинолошко удружење FCI (*Federation Cynologique Internationale*) је препознајући значај дисплазије кукова и дисплазије лактова, у оквиру свог научног комитета формирало радну групу за доношење смерница које прописују начин дијагностике обољења дисплазије кукова и дисплазије лактова код пса који је потребан да се спроведе за издавање FCI сертификата.

**FCI захтеви код официјеног програма скрининга дисплазије кукова**

(препоруке са “workshop on Hip Dysplasia Copenhagen , DK, 18<sup>th</sup> March 2006”)

**Администрација, идентификација и процедура**

- Минимална приступна старост код извођења официјалне дијагностике дисплазије кукова и дисплазије лактова је једна година за већину раса паса и 18 месеци за гигантске расе.
- Пас мора бити трајно обележен микрочипом. Тетовир број је такође дозвољен у оним земљама где је законом то предвиђено као начин обележавања паса.
- Власник треба да потпише изјаву да:

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

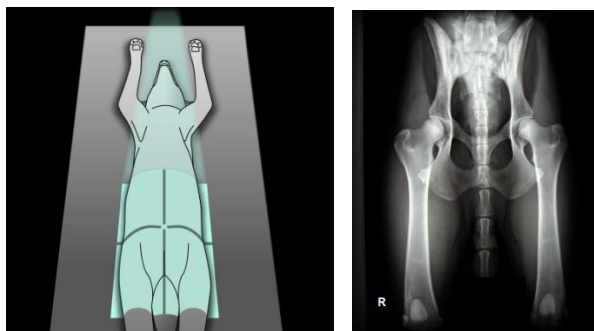
---

- на псу нису или да мисли да нису рађени никакве хируршки захвати са циљем да се утиче на развој зглоба кука (лакта).
- потребно је да власник да писану изјаву да је пас који је доведен на снимање заиста пас за кога је поднет родовник и пасош.
- Власник треба да да одобрење да се рендгенски снимци и резултати дијагностике проследи надлежном кинолошком удружењу, осим ако законске одредбе тако нешто забрањују.
- Ветеринар треба да у писаном облику потврди да је пас који је прегледан одговара подацима у родовнику и пасошу пса.
- Пас мора бити седран или уведен у општу анестезију приликом снимања. FCI препоручује да врста и доза медикамента буде уписана у извештају.
- Подаци који се уписују на рендгенограм морају да садрже: идентификациони број пса (број микрочипа или тетовир број), датум рођења, датум када је снимак начињен, име и презиме ветеринара који је обавио преглед снимка, назив и седиште клинике где је преглед извршен, идентификациону ознаку лево-десно.
- Технички квалитет рендгенског снимка мора бити адекватан како би се омогућио ваљан преглед и сертификовање.
- Код употребе дигиталног рендген апарата и дигиталног процесуирања снимка, потребно је да се снимци процесуирају у DICOM 3 формату, уз уписивање ознака животиње.
- Код стандардног снимања кукова потребно је направити минимално један снимак у позицији 1, док се за оптимизацију читавања може направити и снимак у абдукцији.
- Рендгенограм треба да буду прегледани и интерпретирани од стране ветеринара специјалисте за област ортопедије, који има одобрење од националне кинолошке асоцијације или асоцијације узгајивача одређене расе.

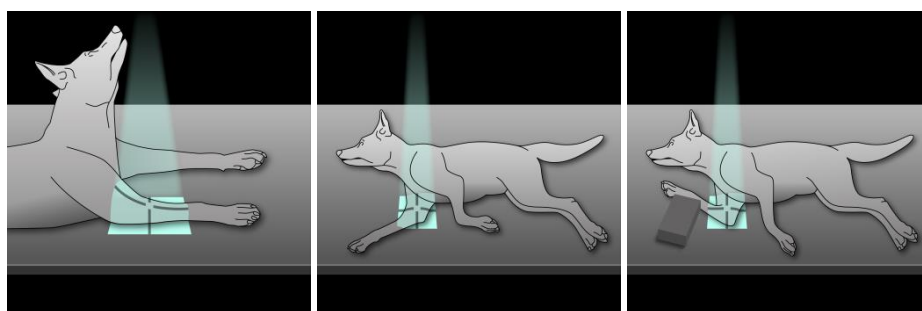
#### **Процедура рендгенског снимања за официјелну евалуацију на дисплазију кукова и дисплазију лактова**

##### **Позиционирање пацијента**

Пас се код радиолошког прегледа на дисплазију кукова позиционира на столу за рендгенски преглед у тзв. официјелној позицији 1. То је венродорзални положај при чему су задњи екстремитети у потпуности у екстензији. Како би се осигурало правилно позиционирање препоручује се коришћење фиксатора (позиционера) за пса. Не постоје препоруке о томе какав би позиционер требало да буде, али на тржишту постоје позиционери различитог дизајна и величина. Потребно је да буду направљени од радиолошки транспарентног материјала, како би минимално утицали на апсорпцију рендгенског снимка. Препорука је да се само торакс пса поставља у позиционер. Након постављања пса у позиционер, рендген техничар рукама хвата задње ноге пса у пределу тарзуса, при чему колени зглоб постављају у абдукцију, а задње ноге у пронацију. Након тога повлачи ноге каудално, у потпуну екстензију, примичући тако исправљен екстремитет ка столу. Шапа се ротира ка унутра, како би се обезбедио правилан позиција бутне кости. Рендгенски зрак се усмерава на каудални крај карлице, а колиматором се обезбеђује оптимална визуелизација потребних структура.



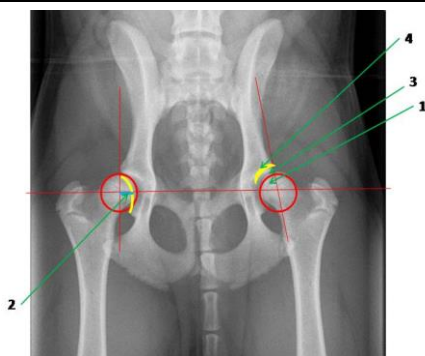
**Слика 1.** Схематски приказ пса позиционираног за снимање кукова и ртг снимак кукова и карлице код правилно позиционираног пса. За **евалуацију на дисплазију лактова** потребно је начинити два снимка за сваки лакат и то у антериорно постериорној (АП) и у медио-латералној (МЛ) пројекцији са зглобом постављеним у потпуну флексију.



**Слика 2.** Схематски приказ позиционирања пса за извођење РТГ снимања на дисплазију лакта, с лева на десно, АП снимак, МЛ снимак у неутралној позицији лакатног зглоба, МЛ снимак у флексији лакатног зглоба

#### **Преглед снимака и формирање оцене**

Анализа начињених рендгенограма подразумева процену шест јасно дефинисаних анатомских структура коксофеморалног зглоба. Анализом ових параметара процењује се присутност и степен дисплазије кука код пса и то тако што сваком параметру додељујемо одређену бодовну вредност на скали 0-5, зависно од степена патолошке промене. Ове бодове на крају сабирамо и на основу коначног збира, налаз сврставамо у једну од пет категорија (А, В, С, D, Е).



Слика 3. Илустрација параметара за процену дисплазије кукова. 1) Норбергов угао; 2) степен покривености главе бутне кости; 3) изглед кранио-латералног руба ацетабулума; 4) појава субхондралне осификације; 5) промене на глави бутне кости; 6) егзостозе на врату бутне кости.

**Параметар 1: Норбергов угао** представља угао који заклапа линија која спаја средишта глава бутне кости с линијом која спаја краниолатерални руб ацетабулума. Овај угао не сме бити мањи од  $105^\circ$ .

**Параметар 2: Степен покривености главе бутне кости** нам показује колики део главе бутне кости је усађен у ацетабулум. Овај се параметар може проценити на више начина, а за потребе **FCI** користи се однос центра главе бутне кости према краниодорзалном рубу ацетабулума.

**Параметар 3: Изглед краниолатералног руба ацетабулума** нам може указати на развој дисплазије јер овај део ацетабулума трпи оптерећење код хода и скакања што доводи до спљоштења и дегенерације у лабавом зглобу.

**Параметар 4: Појава субхондралне осификације** у подручју кранијалног руба ацетабулума. Субхондрална осификација се и нормално развија на местима оптерећења, а интензитет те осификације зависи од јачине оптерећења. Код дисплазије кукова услед повећане покретљивости главе бутне кости оптерећење је веће, па се може очекивати и интензивнија субхондрална осификација. Повећани притисак доводи и до коштане реакције која се у првом реду читава појачаном субхондралном осификацијом (склерозом) у пределу ацетабулума тј. на оном месту где долази до контакта са главом бутне кости а то је краниодорзални руб.

**Параметар 5: Промене на глави бутне кости** и то на њеном краниомедијалном и каудолатералном рубу је обично први видљив знак артрозе настале услед дисплазије кукова. Ове промене се боље могу проценити на снимку с флектираним ногама.

**Параметар 6: каудолатералној страни** преласка главе у врат бутне кости спадају у промене које се јављају услед дисплазије. Ове егзостозе се називају још и Морганове линије.

Сабирањем оцена по појединачним параметрима добија се збирна оцена на основу које се резултат сврстава у једну од пет категорија. Уколико је вредност различита за леви и десни зглоб, узима се неповољнија тј. нижа вредност као коначна оцена.

Процена постојања и степена **дисплазије лактова** врши се на основу два рентгенска снимка и то снимка начињеног у антериорно-постериорној пројекцији и снимка лакатног зглоба начињеног у медио-латералној пројекцији потпуно флектираног зглоба. Порцењују се следећи параметри: степен конгруенције или постојање инконгруенције зглобних површина радијуса и улне које учествују у изградњи лакатног зглоба, стање кљунастог изданка улне (*процессус анцонеус*), постојање субхондралне осификације (у првом реду радијуса), егзостоза, стање медијалног епикондила радијуса и постојање других радиолошких знакова који могу указати на постојање дисплазије лакта. Ваља нагласити да се понекад рентгенски, веома тешко може установити одвајање коронаидног процесуса са медијалног епикондила радијуса. Често је и

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

постојање интензивне субхондралне осификације у пределу главе радијуса једини радиолошки знак дисплазије лакта.

#### **Издавање налаза - сертификата**

Након обављеног снимања и евалуације рентгенских снимака врши се уписивање оцене у одговарајући формулар - сертификат. Изглед сертификата прописује Светско кинолошко удружење (FCI). У формулар се уписује име, раса и пол животиње, датум рођења, број идентификационог чипа и број родовника, као и подаци о власнику и датум извођења снимања. У сертификату се налазе и оцене за дисплазију кукова и лактова које је потребно изабрати заокруживањем и истовременим прецртавањем осталих оцена.

#### **PennHip**

PennHIP је акроним од ("University of Pennsylvania Hip Improvement Program") и представља дијагностички систем оригинално развијен на Пенсилванијском универзитету. Dr Gail Smit је 1983. године започео истраживања са циљем успостављања дијагностичког система ране дијагностике HD. У развоју ове методе укључено је неколико дисциплина укључујући биомеханику, ортопедију, клиничку медицину, радиологију, епидемиологију и генетику. Ова истраживања омогућила су релативно рану дијагностику HD већ са 16 недеља старости. Smith је 1993. године, успоставио протокол за ову дијагностику и основао Универзитетски центар за прикупљање и обраду података. Овај програм је био успешан и брзо је прихваћен од стране ветеринарске струке у САД-у. Лиценца за рад истраживачке лабораторије је 2013. године, пренета са Универзитета у Пенсилванији на Antech diagnostic, Inc. у Los Angeles, CA.

PennHIP се заснива на мерењу степена луксације зглоба кука приликом снимања под различитим условима, па се на основу тог индекса рачуна вероватноћа за могући настанак остеоартритиса. Ову вероватноћу је могуће израчунати захваљујући огромном броју прегходно обрађених случајева који су након снимања клинички праћени тј. праћен је настанак хромости и остеоартритиса. Снимање пса врше ветеринари који су прошли програм обуке у организацији "PennHip" и за тај посао су сертификовани. Рентгенски снимци се шаљу у централу "PennHip" где се анализирају и онда се на основу упоређивања са базом података доноси одлука о статусу кукова тј. о вероватноћи настанка остеоартритиса. Предности PennHip методе су то што се одлука базира на објективном просуђивању мерљивих величина (степен луксације) и упоређивањем добијеног налаза са базом података где се рачуна статистичка вероватноћа настанка дисплазије и развоја остеоартритиса. Недостатци су што је ова метода скупља, захтева три снимка и зато што процес одлучивања може да потраје.

#### **Приступна старост пса**

Стручњаци из Penn HIP лабораторије су анализирали ефикасност овог система дијагностике код паса почевши од 8 недеља старости па до три године. На основу великог броја обрађених података дошло се до закључка да се најранија дијагностика може вршити већ са 16 недеља старости пса јер степен луксације који се измери са 16 недеља старости у значајној мери је у корелацији са степеном луксације у старијем добу. Старост од 16 недеља је довољна за нпр. Немачког овчара док за неке друге расе паса она може бити и мања. Ова рана могућност дијагностике значајно је унапредила и терапијске опције тј. извођење корективне остеотомије.

#### **Процедура снимања**

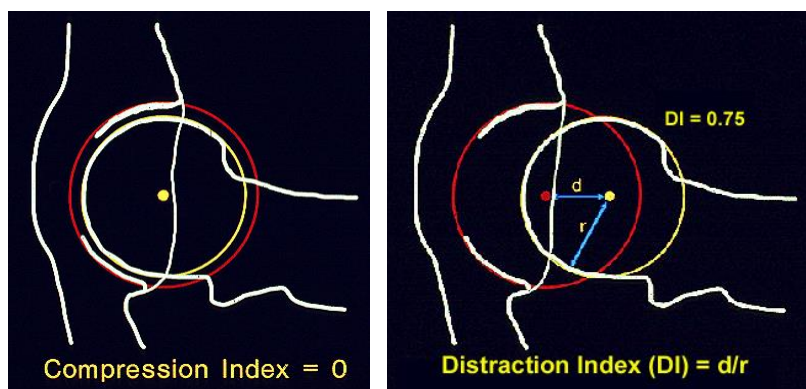
Снимање се изводи у општој анестезији, јер зглобови кука морају бити потпуно опуштени како би се могла изазвати дистракција, а протокол анестезије бира ветеринар на основу свог искуства и конкретног случаја (видети пре). Пас се након увођења у општу анестезију поставља на сто за рентгенски преглед и фиксира се у дорзалном леђном положају. Праве се три рентгенска снимка: први са извученим задњим ногама тј. са зглобовима кука у потпуној екстензији, а затим са зглобовима кука у флексији (компресиони мод). После тога се између бутних костију пса поставља дистрактор преко којег гурамо проксимални део бутне кости латерално а тиме доводимо и до изласка главе бутне кости из ацеабулума (дистракциони мод). Приликом манипулације и постављања зглоба у дистракциони мод могуће је да дође до појаве феномена кавитације тј. настанка мехурића гаса унутар зглобне течности што може да буде и звучно пропраћено. Нешто

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

слично се дешава и код пуцкетања прстију код човека. Ова појава нема клинички значај, међутим рентгенски снимци са евидентном кавитацијом неће бити процесуирани у бази PennHip.

#### Одређивање степена луксације

Степен луксације је објективна нумеричка вредност која показује дистракциони компаративни однос између структура зглоба кука и то у два различита стања овог зглоба: компресија и дистракција



Слика 4. Схематски приказ компресионог мода лево и дистракционог мода десно

У компресионом снимку уочава се да се центри круга који се поклапа са главом бутне кости и центар круга који одговара ацетабулума се поклапају. Међутим када начинимо снимак у дистракционом моду примећујемо да се центар кружнице која одговара глави бутне кости померио латерално у односу на центар кружнице ацетабулума. Ово померање је мерљиво и обележавамо га са  $d$ . Међутим величина  $d$  зависи и од величине пса, старости и сл. Па као таква не може бити директно употребљена за калкулацију него се дели са полупречником од кружнице главе бутне кости и тако добијамо дистракциони индекс. **Дистракциони индекс** је дакле степен лабавости зглоба кука. Сматра се да уколико је дистракциони индекс 0,3 или мањи зглобови су изузетно чврсти дог зглобови са  $DI$  већим од 0,75 се сматрају лабавим. Ради лакше интерпретације ваља напоменути да је дистракциони индекс уствари проценат главе бутне кости који је могуће “истерати” из ацетабулума приликом компресионог мода снимања. Ипак, треба имати на уму да је овако измерена вредност уствари пасивна луксабилност зглоба, јер су у потпуности искључени (дејством опште анестезије) сви мускуларни механизми који учвршћују зглоб. Због тога је код неанестезиране животиње степен луксације (функционална луксација) увек мањи него што се он може произвести у општој анестезији.

#### Систем дијагностике OFA

The **Orthopedic Foundation for Animals** (OFA) је непрофитна организација основана у Масачусетсу (USA) 1966. године од стране др Џон Олин. Првобитни циљ OFA је био да се смањи преваленца дисплазије кукова код асних паса у САД-у. Међутим, касније је OFA проширила своју мисију тако да би се данас могло рећи да OFA ради на унапређењу фенотипских карактеристика расних паса прикупљањем података у циљу обраде и селекције јединки код програма парења.

Циљеви OFA су прикупљање, анализа и дисеминација података о генетским обољењима код паса, дизајн и имплементација програма са циљем контроле ортопедских и генетских обољења код паса, као и истраживање и финансирање истраживања у области ортопедских обољења.

Оцена кукова и лактова на дисплазију се врши код старости пса од минимум две године. Ради се стандардни ветродорзални снимак кукова у екстензији, а оцену дају сертификовани радиолози. База OFA поседује око 1,6 милиона снимака паса различитих раса, а подаци су јавно доступни на њиховој званичној интернет презентацији ([www.offa.org](http://www.offa.org)). Након процене рентгенског

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

снимка пас добија оцену у виду шифре нпр. СО-1620Е24М (СО – скраћеница од расе, 1620 редни број регистра, Е – excellent оцена, 24 – старост месеци, М – male, мушки пол). Па ипак и поред огромног броја података у бази, сматра се да ови подаци не осликавају реално стање о преваленци дисплазије у популацији паса, па се процењује да је преваленца већа него што то показују подаци, јер се снимци са очигледном дисплазијом најчешће и не достављају у OFA.

#### Процедура снимања

Потребно је да су пси седирани или уведени у општу анестезију. Ради се стандардни вентродорзални снимак карличног појаса са екстендираним задњим екстремитетима. Приступна старост пса за OFA систем дијагностике је минимум 2 године. За оцењивање лактова потребан је само један снимак у медиолатералној пројекцији лакатног зглоба који се постави у максималну флексију.

#### Оцењивање

Рендгенски снимци се достављају у OFA централу а затим се шаље на процену тројици насумично одабраних сертификованих ветеринарских радиолога, који своју оцену достављају у OFA. Налаз се уписује у јавно доступан OFA регистар. Међутим, власник може изабрати да ли жели да подаци о његовом псу буду јавно доступни. Постоји укупно седам оцена за кукове: 1-4 су кукови без дисплазије, док оцене 5, 6 и 7 означавају различите степене диспластичних промена у зглобу кука.

- **Одличан** (excellent - 1); Супериорна конформација кука у поређењу са другим животињама истог узраста и расе. Има дубоко усађену главу фемура која се чврсто уклапа у добро обликовани ацетабулум, са минималним зглобним простором. Готово је потпуна покривеност ацетабулума преко главе фемура.

- **Добар** (good - 2); Мало мање од супериорне али добро формиран подударни зглоб кука. Глава фемура се добро уклапа у ацетабулум, пристуна је добра покривеност.

- **Задовољава** (fair - 3); Присутне су мање неправилности. Зглоб је шири него што би требало, узрокујући мањи степен заједничке несагласности. Ацетабулум може бити плитак.

- **Гранична вредност** (borderline - 4).

- **Дисплазија:**

- Блага (mild - 5); Значајне сублуксације, главе фемура делимично извучене из ацетабулума, повећани простор за зглобове. Ацетабулум је плитак и само делимично прекрива главу фемура;

- средње тешка (moderate - 6); Глава фемура једва налаже на ацетабулум. Постоје секундарне промене, обично дуж врата и главе фемура, промене ацетабуларних обода (остеофити) различитих степена и промене облика костију (склероза);

- тешка дисплазија (severe - 7); Глава фемура је делимично или потпуно изван ацетабулума. Значајне секундарне промене кости дуж врата и главе фемура, као и промене самог ацетабулума.

На сличан начин се процењује и дисплазија лактова с тим што се лакатни зглоб се оцењује као нормалан, док се степен дисплазије градишу као I, II и III.

#### Систем дијагностике BVA/KC (British Veterinary Association/The Kennel Club)

Шема контроле дисплазије кукова је у Великој Британији успостављена 1965. године успостављањем шеме контроле коју заједно проводе BVA и KC. До сада је сертификовано преко 250.000 паса од 75 различитих раса.

#### Процедура снимања

Приступна старост пса мора бити минимум 12 месеци, а пас мора бити трајно обележен (микрочип), а број мора бити и уписан на снимку. Пре процедуре снимања власник треба да потпише сагласност да се снимци доставе у BVA/KC и да буду јавно доступни. Пас мора бити уведен у општу анестезију. За разлику од осталих система дијагностике BVA/KC систем не



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

дозвољава да се врши мануелно позиционирање (делом и због непотребног излагања особља ртг зрачењу), него се помоћу конопаца, завоја, подлошки и врећа са песком обезбеђује коректно позиционирање у ВД пројекцији са екстендираним екстремитетима

Након снимања, ветеринар доставља снимке, преко ВВА портала и уплатницу (плаћа власник) у ВВА/КС. Снимци се из централе достављају сертификованим радиолозима који врше процену 9 различитих параметара и додељују оцене. Сваки критеријум је оцењен од 0 (идеалан) до 6 (најгори). Коначни резултат се изводи као збир између 0 и 53, за сваки зглоб кука и као збир оба кука (0-106). Максимални скор за један зглоб је 53, тј. за оба зглоба је 106. Поред индивидуалне оцене за пса у обзир треба узети и средњу вредност за расу. Ови подаци су доступни одгајивачима, па тако могу да донесу најбољу одлуку приликом избора јединки за парење, на тај начин што су у прилици да упореде свог пса са средњим вредностима оцене за псе исте расе који су сертификовани уназад 15 година. ВВА/КС, такође има развијену шему и за дијагностику дисплазије лактова. Минимална приступна старост је 12 месеци. Снимање се врши у две медиолатералне пројекције, и то са лакатним зглобом који је у екстензији и у флексији. Процедура обележавања снимака, слање и оцењивање је идентично као и претходно описана за HD. Сваком лакатном зглобу се даје оцена 0-3, а као релевантан налаз се узима стање зглоба које има већу оцену тј. лошији налаз.

#### Литература:

1. Keller G.: The Orthopedic Foundation for Animals Hip Dysplasia Database: A Review. Tufts' canine and feline breeding and genetics conference, 2013. 2. Koppel E., Lorinson, D.: Stellenwert der Narkose für die HD-Beurteilung. Kleintierpraxis 39, 5–15, 1994. 3. Madsen J.S., Svalastoga E.; Effect of anaesthesia and stress on the radiographic evaluation of the coxofemoral joint. J. Small Anim. Pract. 32(64-681), 1991. 4. Malm et al.: Impact of sedation method on the diagnosis of hip and elbow dysplasia in Swedish dogs. Preventive Veterinary Medicine 78 (196-209), 2007. 5. Smith GK, Mayhew PD, Kapatkin AS, et al: Evaluation of risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd Dogs, Golden Retrievers, Labrador Retrievers, and Rottweilers. J Am Vet Med Assoc 219:1719, 2000. 6. Runge JJ, Kelly SP, Gregor TP, et al: Distraction index as a risk factor for osteoarthritis associated with hip dysplasia in four large dog breeds. J Small Anim Pract 51:264, 2010.

ОСТЕОАРТРИТИС У ПАСА-ЕТИОПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕЊЕ

*OSTEOARTRITIS IN DOGS-ETHIOPATHOGENESIS AND TREATMENT*

*Озрен Смолец*

Ветеринарски факултет, Свеучилиште у Загребу

**Кратак садржај**

Остеоартритис је једна од најчешћих болести зглобова у паса. Процењује се да је чак 20% псеће популације старије од једне године под утицајем неког облика остеоартритиса. Остеоартритис, познат као и дегенеративна болест зглобова, је споро прогресиван упални синдром. Обиљежава га дегенерација хрскавице, хипертрофија кости, промене на синовијалним мембранама, болност те укоченост зглобова. Ћелије, унутар оштећених зглобова отпуштају проупалне цитокине који појачавају и продужавају упални процес. Овај ће се чланак усредоточити на етиологију, дијагностику, терапију те алтернативну терапију остеоартритиса.

**Кључне речи:** остеоартритис, хрскавице, нестероидни антиинфламаторни лекови

**Увод**

Остеоартритис (ОА, такође познат као дегенеративна болест зглобова, хипертрофични артритис и дегенеративни артритис) јест хронична упална болест зглобова која узрокује болност и укоченост зглоба те отеклину околног ткива. Погођена су сва зглобна и околна ткива, укључујући зглобну чауру, синовију, зглобну хрскавицу те субхондралну кост. Очито је да је комбинација биохемијских и биомеханичких догађаја укључена у патогенезу ове комплексне болести. Цитокини, металопротеиназе и други деградацијски ензими излучени из хондроцита и синовиоцита посредују у тим догађајима. Прогресивне промене које настају јесу ерозија хрскавице, фиброза зглобне чауре и преобликовање кости. Тачни механизми остеоартритиса нису добро разјашњени. Нестабилност зглоба, озледе и развојне ортопедске болести могући су узроци остеоартритиса, иако етиологија већином остаје непозната. Власници се често жале на хроничну интермитентну хромост која се погоршава током вежбања, продуженог одмора или за хладна времена. Степен до којег пси с остеоартритисом могу бити погођени у распону је од повремене благе хромости до комплетне непокретности. Дијагноза остеоартритиса поставља се пре свега на темељу анамнезе, клиничких знакова и радиографије. Промене унутар зглоба које настају од остеоартритиса иреверзибилне су. Но, рано препознавање ове болести даје власнику више могућности за лечење с циљем успоравања напредовања и ублажавања бола те непокретности повезане с овом болешћу.

**Етиологија остеоартритиса**

Остеоартритис може бити подељен на примарни и секундарни, зависно о томе може ли се темељни узрок идентификовати. Код примарног или идиопатског остеоартритиса није познат узрок болести, али је углавном повезан са старењем. Неки чиниоци који могу бити узрок секундарном остеоартритису јесу алтерације у биомеханици зглоба као што је нестабилност зглоба или поремећаји који доводе до формирања абнормалне хрскавице. Најчешћи узроци секундарног остеоартритиса у паса јесу дисплазија кука и руптура предњег укрштеног лигамента. Фактори ризика за настанак остеоартритиса могу се поделити на две главне категорије, системске и локалне. Локални фактори као што су претходне трауме зглоба, преоптерећења, нестабилност,

слабост мишића те развојне абнормалности, мијењају биомеханику захваћених зглобова. Примјери системских ризичних чимбеника јесу генетски и нутритивни чимбеници, старост, пол и хормонски статус. Биолошки фактори ризика јесу доб, величина, претилост и генетска предиспозиција. У више од 50% пацијената остеоартритис је примећен између 8. и 13. године.

Старењем се водени садржај хрскавице повећава, а њезин протеински састав дегенерира. Репетитивно кориштење зглобова током година узрокује оштећење хрскавице која води до бола у зглобовима и отицања. Одређене пасмине, попут златних ретривера и лабрадор ретривера те немачких овчара, показују предиспозицију за развој остеоартритиса поврх учесталих примарних болести зглобова у ових пасмина (Mele, 2007.). Код паса још нису идентификовани предиспонирајући гени за настанак остеоартритиса. За лабрадор ретривере старије од 8 година својствен је остеоартритис који захваћа више зглобова - лакат, раме, кук, колена (Mele, 2007). Уопштено говорећи, остеоартритис је често повезан с примарним поремећајима који се претежно појављују у мужјака. Тако нпр. фрагментација крунастог изданка појављује се у омјеру 3:1 у корист мужјака. Гојазност је важна јер има и системско и локално својство фактора ризика. Повећано оптерећење на зглоб дуго се сматрало јединим механизмом којим претилост утиче на развој остеоартритиса. Но, утврђено је да адипокини излучени из маснога ткива, као што су тумор-некротизирајући фактор (TNF), интерлеукин-6 (IL-6) и лептин, имају улогу у патогенези остеоартритиса те својим системским протуупалним учинком узрокују промјене у метаболизму зглоба (Sanderson, 2012). Механички фактори ризика јесу микротрауме и макротрауме, претерано оптерећење зглоба, поремећена статика удова, деформације колена или кука (нпр. урођено ишчашење), неправилно срасли преломи, слабости мишића, хируршки захвати на зглобу (нпр. интраартикуларна операција кољена). Неправилна подешеност зглоба, била урођена била стечена, производи абнормалну концентрацију сила на важније зглобове, што резултира остеоартритисом. Овдје убрајамо луксације или сублуксације лакта, карпуса, тарзуса и коксофеморалног зглоба. Развојни поремећаји као чимбеници ризика код псећег остеоартритиса јесу дисплазија кука, дисплазија лакта те руптура предњег укрштеног лигамента. Дисплазија кука јест развојна аномалија структуре коксофеморалног зглоба обиљежена нестабилношћу кука те се у већини случајева појављује с билатералним промјенама. Код ове је дисплазије највећи проблем лабавост, а последица лабавости јест неправилно и прекомерно оштећење зглобних површина, лигамената и понављиве зглобне чахуре. Најчешће су погођене велике пасмине паса као што су њемачки овчар, булдог, боксер, *collie*, бобтаил, златни ретривер, лабрадор ретривер, бернардинац, маламут и ротвајлер. Дисплазија кука појављује се једнако код мужјака и женки (Mele, 2007). Дисплазија лакта означава стање неправилна и неравномјерна развоја коштаног и хрскавичних сегмената лакатног зглоба обиљежено болним, ограниченим и неправилним кретањем лакта што је попраћено шепанњем. Главним узроцима ове патологије сматрају се прекомерно храњење храном с високим удјелом калција те понављане трауме. Дисплазији лакта склоне су брзорастуће велике пасмине паса. Мужјаци су погођени 75% чешће од женки (Mele, 2007). Руптура предњег укрштеног лигамента најчешћи је узрок хромости стражње ноге и бола у паса. Многи су предиспонирајући фактори повезани с овим поремећајем, примјерице доб, кондиција, генетика, претилост, имунолошки механизми и инклинација тибијалне плоче. Истраживања су доказала предиспозицију одређених пасмина за настанак руптуре, а то су: *newfoundlander*, лабрадор ретривери, златни ретривери и њемачки овчари (Mele, 2007).

#### Патогенеза остеоартритиса

Дуго се времена сматрало да је остеоартритис последица једноставног трошења и кидања хрскавице зглоба, све до пре три деценије када је препозната улога ћелијског механизма у патогенези. Упркос овом открићу и опсежним истраживањима патофизиологија остеоартритиса није још до краја схваћена, али вероватно укључује комбинацију механичких, биолошких, биохемијских, молекуларних и ензимских процеса. Иако је најважнија промена ове болести абнормална обнова и поступна разградња зглобне хрскавице, остеоартритис узрокује промене и у свим другим структурама синовијалног зглоба, укључујући синовијалну мембрану, синовијалну текућину и субхондралну кост. Формирање остеофита такођер је типично за остеоартритис и сматра се покушајем ограничавања покретљивости и бола који се појављује као одговор на

кроничну упалу и локално оштећење ткива. Осим зглобних структура остеоартритис погађа и друга ткива, јер смањена употреба захваћеног зглоба узрокује слабост околних мишића, лигамената и тетива. Та је слабост мишића која прати остеоартритис повезана с болом. Стимулација живчаних рецептора унутар оштећеног остеоартритичног зглоба потиче рефлексни лук који резултира стимулацијом мишићног ткива. Тај последични мишићни спазам и умор мишића увелике придоносе болу код остеоартритиса. Хронична бол која се појављује код остеоартритиса нема никакву физиолошку заштитну улогу, а мање је осјетљива на лечење те стога захтева темељито третирање (Фох, 2002). Хрскавични матрикс налази се у трајном процесу обнављања који проводе хондроцити, метаболички активне ћелије хрскавичног ткива. У патофизиолошком слиједу догађаја код остеоартритиса управо су хондроцити ти који имају улогу најважнијег чимбеника продукције активних ензимских компоненти одговорних за ову болест. Управо продукти хондроцита, лизосомни ензими и катеписин Г, те поготово неутралне металопроотеиназе (стромелизин, гелатиназа, колагеназа као најважнија због тога што највише разграђује колаген типа II), разарају протеински дио протеогликана. Као резултат те ензимске активности долази до нето губитка протеогликана, што доводи до смањеног хрскавичног воденог садржаја, а тиме и до губитка биомеханичких својстава матрикса. Металопроотеиназе матрикса (ММР) у здравим зглобовима судјелују у физиолошком промету и репарацији ткива, док се њихова катаболичка активност одржава у равнотежи дјеловањем ткивних инхибитора металопроотеиназе (ТИМР). Но, код остеоартритиса дисбаланс ензима у корист ММР иницира ензимску разградњу матрикса (Pankow, 1999). Осим тога, ММР смањују концентрацију хијалуронске киселине у синовијалној текућини смањујући тако вискозност синовијалне текућине и зглобне лубрикације (Middleton и Hannah, 2007). Код остеоартритиса постоји релативно прекојерна продукција катаболичких и проупалних медијатора у односу на њихове инхибиторе, што доводи до катаболичког стања у зглобној хрскавици, а оно у коначници до прогресивне деструкције. Отпуштање деградацијских продуката из екстрацелуларног матрикса зглобне хрскавице због механичке и ензимске деструкције може узроковати отпуштање катаболичких и проупалних медијатора као што су цитокини IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  душиков оксид те деструктивни ензими из хондроцита и синовиоцита. Све то узрокује упални одговор који мијења нормалну равнотежу разградње и изградње хрскавичног матрикса. Смањена синтеза инхибитора споменутих проупалних медијатора узрокује додатно оштећење хрскавице. Оболела је хрскавица осјетљивија на механичка напрезања и додатна оштећење те тако започиње зачарани круг упале и деструкције хрскавице. Јаче погоршање стања зглобне хрскавице у почетку се види као фибрилација површинског слоја зглобне хрскавице, што на крају доводи до дубљих фисура које допиру до субхондралне кости. Активирани синовиоцити један су од главних извора цитокина, те повећање њихова броја погоршава упалу синовија и других зглобних структура (Sunaga, 2012.). Изнимно важну улогу у патофизиолошким догађајима у остеоартритису имају цитокини, посебице IL-1 и TNF- $\alpha$ , за које се зна да не само да стимулирају хондроците у процесу разградње матрикса него и узрокују инхибицију синтезе протеогликана. Тако имају двојаку улогу у деструкцији, односно разрјеђивању садржаја зглобне хрскавице. Осим тога, потичу производњу осталих цитокина што води до убрзаног оштећења зглобног ткива. Уз ослобађање протуупалних цитокина, оштећење синовијалних станичних мембрана стимулира и производњу арахидонске киселине, која се путем циклооксигеназног пута може метаболизирати у тромбоксане, простагландине и токсичне радикале кисика, или путем липооксигеназног пута у леукотриене. Тромбоксан потиче моноците на отпуштање TNF- $\alpha$  и IL-1, који потичу производњу металопроотеиназа и разградњу хрскавице. PGE E2 потиче локалну упалу и бол, ресорпцију кости остеокластима, појачано разарање колагена типа II и губитак протеогликана. Леукотриен Б потиче синтезу и отпуштање IL-1 и TNF- $\alpha$  те као снажан кемотаксанс, повећава неутрофилима потакнуто оштећење ткива (Middleton и Hannah, 2007). Унаточ тому што је класифициран као неупална артропатија, остеоартритис укључује синовијалну упалу чији ступањ варира. Синовитис се често повезује с повећаном капиларном пермеабилношћу с посљедицом истјецања серумских протеина што доводи до пораста синовијалне текућине и едема зглоба.

#### Клиничка слика остеоартритиса

Симптоми остеоартритиса јесу укоченост удова, бол у зглобовима ногу и кичме. С временом се они погоршавају до тренутка врло отежаног кретања које је попраћено интензивним боловима. Клиничка очитовања остеоартритиса у паса укључују бол и ограничену мобилност једнога или више зглобова. Власници прво примите хроничну наизменичну хромост која се погоршава након вежбе, продуженог одмора или за хладна времена. Палпација погођених зглобова на клиничком прегледу може открити бол, оток, ограничен распон покрета, задебљање зглобне чауре те крепитацију. У случајевима артритичних кукова пси се ријетко или уопће не растежу стражњим ногама. Мањак кретања у коначници доводи до повећања телесне масе, а она до додатног оптерећења зглобова те погоршања болест. Степен остеоартритиса којим су пси погођени варира од повремене благе хромости до потпуне инвалидности.

#### Дијагностика остеоартритиса

Животиње погођене остеоартритисом обично се воде ветеринару због хромости и промена у ходу. Многа стања могу довести до промјена у физиолошком кориштењу удова те их је потребно диференцирати од оних која доводе до остеоартритиса. Анамнеза, темељни преглед, укључујући и неуролошку процјену, морају бити дио сваке претраге на хромост. Важно је одредити када је хромост први пут уочена и у каквим увјетима. Након опћега клиничког прегледа прелази се на ортопедски преглед. Преглед почиње прегледом животиње у ходу. Притом пазимо на очите знакове шепанја или покушавамо одредити на коју се ногу животиња у ходу те при сједану и устајању слабије ослања. Животињу треба извести изван амбуланте и повести је у лагани трк како би знакови шепанја постали очитији. Каткад животиње због страха не показују знакове шепанја, особито ако је проблем хроничан. При прегледу треба обратити пажњу на атрофију појединих мишића и мишићних скупина, тремор мишића, асиметрију зглобова и отеченост меких ткива, те кутове зглобова при оптерећењу. Седацију би у правилу требало избегавати или, ако то није могуће, одгодити док нисмо локализовали проблем. Преглед започињемо од здравога уда како бисмо животињу опустили и добили увид у њезине реакције на палпацију. На мускулатури тражимо знакове отекнућа, атрофије, расцјепе на њиховим хваташтима или везама и у грађи трбуха мишића. Пажљиво се палпирају и прегледавају већи зглобови предњега и стражњег уда. Сваки се зглоб прегледава у пуном распону покрета, што се може мјерити кутомјером за кости (гониометром). Свако смањење распона покрета упућује на упални процес у зглобу. Ако је присутна крепитација, она често упућује на стварање остеофита или оштећење зглобне хрскавице. Такође се процењује целовитост и лабавост лигамената и тетива свакога зглоба (Lipowitz, 2002). Клиничка се слика комбинира с налазима клиничког прегледа и неуролошке претраге да би се утврдила привремена листа диференцијалних дијагноза (нпр. упални артритис, трауматска озљода зглоба, полимиопатије и др.).

#### Радиолошки преглед

Код остеоартритиса, односно дегенеративне болести зглоба појављују се деформације, стога се опћенито може говорити о деформирајућој артрози (*arthrosis deformans*). Ове се деформације очитују обилнијим промјенама на хрскавици и на кости. Делом су регресивног, али и делом прогресивног карактера и на различите су начине међусобно повезане. Једном кад се идентифицирају захваћени зглобови, радиографски се може одредити ступањ дегенеративних промјена. У почетку болести наглашене су јасне дегенеративне промене које се у основи незнатно или уопће не разликују од чистих старосних промјена. У даљем току се полагамо и незауостављиво развијају, прелазећи границе прилагодбе, и тако узрокују тешка болна стања животиња. Нипертрофичне су промене врло различите, тако да периартикуларни деформирани рубови и рубни остеофити могу бити врло велики. Зглобни се простор може сузити до те мјере да на концу потпуно нестане. Зглобне плохе карактеристично су промијењене и изобличене. У зглобним крајцима кости могу се развити псеудоцисте. Будући да се код обољелог зглоба не мијењају само зглобне плохе, него и зглобни крајци у цијелости, зглобна главица губи уобичајен облик те се спљошти попут тањуре или клобука гљиве. Због притиска главице шири се зглобна чашица и постаје све плића, а на рубу јој се наслажу остеофити различитих величина и облика. Такве се

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

промјене најчешће сусрећу на коксалном зглобу (Šehić, 2002). Карактеристичне промене на радиографским снимкама код остеоартритиса јесу субхондрална коштана склероза, субхондрална творба цисти, сужење зглобног простора те интраартикуларно или периартикуларно формирање остеофита. Субхондралну коштану склерозу чешће налазимо код хроничног остеоартритиса. Рендгенски она изгледа попут хомогеног и збијеног подручја испод зглобне хрскавице. То је подручје уједно и непропусно за зрачење. То густо подручје може настати као одговор на појачан притисак на субхондралну кост која се у физиолошким условима распореди по зглобној хрскавици. Субхондралне цисте нису уобичајена појава код паса с остеоартритисом. Специфично се појављују тзв. субхондралне цисте које нису праве цисте јер им недостаје јасно ограничена капсула. То су простори у субхондралној кости који могу бити испуњени текућином, а појављују се као посљедица микрофрактура субхондралних трабекула тијekom одговора на појачан механички притисак. С временом се ти трабекуларни простори спајају и све више наликују цистама. Радиографски ове пројене изгледају као заобљена свијетла подручја окружена танким слојем склерозне субхондралне кости. Сужење ширине зглобног простора представља конзистентну значајку остеоартритиса, поготово у кроничним случајевима. Оно се појављује због губитка зглобне хрскавице, што у коначници омогућује субхондралној кости да дође у ближи контакт, а то одаје дојам суженог зглобног простора. Остеофити су честа појава код остеоартритиса. Они се формирају у периартикуларном дијелу зглоба на хваташтима синовијалне мембране, а рендгенски изгледају као мали коштани изданци који излазе с рубова зглобне површине. Њихова присутност упућује на абнормалну активност унутар захваћеног зглоба или у његовој околини. Остеофити који су повезани с остеоартритисом радиографски се најчешће виђају у куку, колену, рамену и лакту (Lipowitz, 2002).

#### **Остале дијагностичке методе**

Остале дијагностичке методе, попут компјуторизирани томографије (ЦТ), магнетне резонанције (МР), ултрасонографије и нуклеарне скинтиграфије пружају нам вредне информације, поготово у случајевима пацијената погођених блажим симптомима болести. У Хрватској се ретко изводе због своје високе цене. Једна од једноставнијих метода дијагностике јесте артроцентеза. На цитолошкој претрази добивене синовијалне текућине видљива је већа количина ћелија, посебице мононуклеарних леукоцита.

#### **Основе лечења остеоартритиса**

С обзиром на то да је остеоартритис неизлечива и прогредирајућа болест, тренутачна је терапија понајприје палијативна. Њезин је циљ смањење боли и спречавање даље дегенерације зглоба. Пре започињања терапије потребно је разговарати с власником пацијента. Ветеринар мора сваки случај засебно испитати и прилагодити индивидуалним потребама свакога пса, узимајући у обзир доб, физичко стање и ризину нормалне активности те, најважније, власникова очекивања од резултата терапије. Третирање остеоартритиса постало је сложено, поготово с повећањем прихваћања и истраживања алтернативних метода лечења.

#### **Контрола телесне масе**

Гојазност је потенцијални предиспонирајући чимбеник за развој остеоартритиса тако да повећава ризик од механичких озледа зглобних структура и стварањем кроничне системске упале (Rychel, 2010, Innes, 2012). Прекомјерна тежина такођер може бити резултат дуготрајног бола који је довело до невољности за кретањем и вјежбањем (Schulz, 2007). Осим што пацијенти болују од остеоартритиса, већа је инциденција и других болести повезаних с претилошћу, као што су *diabetes melitus*, јетрена липидоза, дерматитис те кардиоваскуларни и респираторни поремећаји (Nelson и сар., 2007). Најчешћи су разлози за претилоост прекомеран унос калорија и недостатак активности. Надаље, генетска је предиспозиција доказана у одређених пасмина паса, попут лабрадора и кокер шпанијела. С друге стране, претилоост је ређе узрокована ендокриним болестима као што су хипотиреоза, хиперадренкортицизам или хиперинзулинемија или лековима попут прогестагена или кортикостероида. Оно што је најважније јест да повећано оптерећење на артрозом захваћен зглоб придонеси додатном пропадању хрскавице. Контрола телесне масе може

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

умањити изглед клиничке слике остеоартритиса смањењем повећане количине оптерећења којему је зглоб изложен. Смањење телесне масе доказано доводи до смањења хромости и важан је дио лијечења остеоартритиса (Marshall и сар., 2010). Власнике пацијената мора се информирати о идеалној тежини њихових љубимаца према којој се може израчунати дневни унос калорија. Теоретски, смањење тежине може се постићи рестрикцијом хране, повећаном физичком активношћу или модификацијом понашања. Ипак, у стварности је једина практична опција смањење уноса калорија (Macphail, 2000).

#### **Физикална терапија**

Свим псима с остеоартритисом препоручује се редовна физичка активност. Начела кориштена у физикалној терапији у хуманој медицини могу се примијенити и у ветеринарској. Користи од физикалне терапије укључују смањење боли, повећање мишићне снаге, повећање распона покрета зглобова, побољшање физиолошке функције екстремитета и смањење потребе за узимањем лијекова. Но, физички анпоро се мора избјежавати у случајевима акутног погоршања остеоартритиса попраћеног с клинички видљивом упалом зглобова. У већини случајева, након периода одмора, полако се може поновно увести режим вежби, при чему се интензивније активности морају избегавати. Препоручују се контролиране шетње и пливање (иако мањка контролираних студија које приказују ефикасност физикалне терапије у ветеринарских пацијената). Осим вежби мањег интензитета, препоручују се и други облици физикалне терапије попут терапије хладноћом и топлином, пасивних вјежби истезања, масаже мишића и зглобова, ултразвука и електричне стимулације (Johnston и сар., 2008, Rychel, 2010). Повећана циркулација и проток лимфе у захваћеном подручју, превенција атрофије мишића и смањење упале примјери су могућих благотворних учинака физикалне терапије (Johnston и сар., 2008). Пливање је идеалан начин вежбања. Оно повећава мишићну масу и зглобну покретљивост. Пасивне вјежбе истезања могу се показати власницима чиме се омогућује извођење физикалне терапије у кућном окружењу. Те пасивне вежбе укључују њежну флексију и екстензију екстремитета без ослањања на подлогу. Циљ је ових вежби растезање меких ткива и побољшање мобилности зглобова (Macphail, 2000).

#### **Операцијско лечење**

Улога хирургије у третирању остеоартритиса овиси о ступњу болести и о стању захваћеног зглоба. Трауматске озледе морају бити дијагностициране и исправљене рано ако се жели зауставити прогресија болести. Операцијски је захват индициран када се конзервативно лијечење покаже неуспјешним (Schulz, 2007). Примарни је циљ хирушког третмана ублажавање боли и упале и истодобно одржавање функционалности зглоба. Напретком технике, хирушких инструмената и имплантата, артроскопија је постала у највећем броју случајева конкретна терапеутска метода у лијечењу озледа зглобова те припада у ред најчешће обављаних операцијских захвата у ортопедији (Macphail, 2000). Артропластичне технике, као што су уклањање главе и врата бедрене кости, замена зглоба протезом, хирушка фузија зглоба техником артротоме или чак ампутација, може се разматрати у пацијената чији симптоми не одговарају на нехирушке могућности лијечења (Schulz, 2007).

#### **Алтернативне методе**

Акупунктура се примењује као помоћна терапија код остеоартритиса, при чему се сматра методом која помаже само излечењу тиела стимулацијом нерва, повећањем циркулације, олакшањем мишићног грча те ослобађањем ендорфина и ендогеног кортизола. Тврди се да осигурава дуготрајнију аналгезију, смањује упалу и појачава проток крви у погођеном подручју (Altman, 1998). Благотворни учинци других начина алтернативне медицине, попут хомеопатије, кiroprактике и хербализма, нису довољно добро истражени. Конвенционална медицина не треба занемарити корист алтернативних начина лијечења, но они би се требали користити понајприје као додаци традиционалним приступима. Још један занимљив пут лијечења остеоартритиса у животиња јест примјена ботокса. Ботокс је неуротоксин који блокира и централну и периферну осјетљивост. Његову широку примјену ограничава мањак потребних истраживања, висока цијена

и чињеница да већину пацијената прије примјене треба анестезирати што додатно комплицира и поскупљује сам поступак.

#### **Примена лекова и суплемената**

**Нестероидни антиинфламаторни лекови (НСАИЛ)** Примена НСАИЛ-а за ублажавање бола темељ је конзервативног лечења остеоартритиса. Терапеутско им се деловање темељи на инхибицији синтезе простагландина блокадом кључног ензима – циклооксигеназе (COX) у циклусу арахидонске киселине (AA). Та је инхибиција реверзибилна након престанка примјене НСАИЛ-а (Mimica-Matanović, 2014). Одређен број истраживача сматра да НСАИЛ има знатан негативан учинак на хрскавични матрикс који узрокује пропадање зглобне хрскавице остеоартритичних зглобова те да убрзава саму болест за коју се најчешће користи и прописује. Они сматрају да је упала која се збива помоћу PGE2 након озледе здравог или остеоартритичног зглоба покушај имуносног сустава да поправи насталу штету. Кориштењем ових лекова који блокирају овај одговор, иако се смањује бол, истодобно се инхибирају репаративни механизми зглоба.

Дуготрајне последице ове инхибиције могу бити убрзавање дегенеративних остеоартритичних процеса. Коначан је учинак убрзање разградње зглобне хрскавице. Стога је препоручено да у болесника са симптоматским остеоартритисом НСАИЛ треба давати у најнижим учинковитим дозама те, ако је то могуће, избегавати њихову дуготрајну употребу (Hauser, 2010). У пацијената с оштећењем јетре и бубрега дозу треба смањити и редовито контролисати јетрене и бубрежне функције. Власници морају бити информирани о потенцијалним нуспојавама и савјетовани да престану с применом на вриеме. Посебице треба пазити на пацијенте с гастроинтестиналним сметњама те им обавезно прописати гастропротективне. Ризик од развоја штетних учинака може се смањити осигурањем да се истодобно не користи други НСАИЛ или неки контраиндичирани лекови, попут глукокортикоида. Након престанка клиничких знакова може се наставити с даљњом применом НСАИЛ-а. Добро је наставити с истодобном примјеном гастропротективних средстава. Друге су опције смањивање дозе лијека додавањем аналгетика другог разреда или пребацивање на други НСАИЛ (Pirainen, 2013). Приликом преласка на други НСАИЛ препоручује се тзв. период испирања у трајању од неколико дана како би се смањила могућност појаве нежељених интеракција лијекова (Macphail и сар., 1998., Borges и сар., 2013).

#### **Трамадол**

Трамадол је централно дјелујући аналгетик, односно синтетски опиоид те служи за лечење боли у паса. Осим опиоидног деловања он инхибира поновну похрану серотонина и прихват норепинефрина те тиме појачава инхибицијске учинке на пренос бола у кичменој мождини (Бабић-Наглић, 2014). Трамадол је постао популаран у ветеринарској медицини због релативно ниске учесталости гастроинтестиналних и кардиоваскуларних нуспојава код дуготрајније употребе. Једна од важних предности за примјену овог лека јест да производи скоро исти учинак као морфиј, али притом не узрокује зависност. Овај се аналгетик може примењивати самостално за лечење благе боли иако притом не пружа одговарајуће дјеловање (Davila и сар., 2013). Најчешће се користи као помоћна терапија НСАИЛ-а (Johnston и сар., 2008).

#### **Нондропротективи**

Нондропротективи или, у новије вријеме звани споро делујућа болест-модифицирајућа средства (*Disease-Modifying Osteoarthritis Drug*, DMOAD), јесу лекови који успоравају прогресију разградње хрскавичног матрикса, поспешују регенерацију хијалине хрскавице те им се приписује протуупално дјеловање (Budsberg, 2007). Њихов се механизам дјеловања темељи на повећању синтезе гликозаминогликана и хијалуронске киселине које артритични зглоб не може сам произвести у довољним количинама. Примењују се перорално или парентерално интраартикуларно, интрамускуларно или интравенски (Sanderson, 2009). Један је од најпознатијих препарата глукозамин, који стимулира стварање синовијалне текућине, инхибира разградњу хрскавице и стимулира цијељење зглобне хрскавице. Позитиван учинак глукозамина уочава се након минимално три тједна свакодневне апликације.



**Полинезасићене масне киселине (*Polyunsaturated fatty acids*, PUFA)** Примена полинезасићених масних киселина доказано смањује степен укочености зглобова и хромости у паса (Mасrphail, 2000). Додавање ових киселина заправо замјењује арахидонску киселину у синтези еикосаноида што у коначници ствара потенцијално мање упалне ензиме од простагландина Е2 и леукотриена. Главну улогу у смањењу производње упалних медијатора игра дуголанчана омега-3-масна киселина / еикосапентеноична киселина (ЕРА). Главна омега-6-масна киселина у станичним мембранама јест арахидонска киселина. Она служи као прекурсор у производњи снажних упалних медијатора код остеоартритиса: простагландин Е2, тромбоксан А2 и леукотриен Б4. Ако је храна богата дуголанчаним н-3 полинезасићеним масним киселинама, поготово ЕРА-ом и докосахексеноичном киселином (ДНА), дио арахидонске киселине у станичним мембранама бит ће замијењен овим н-3 масним киселинама. ЕПА тада може бити искориштена умјесто арахидонске киселине што резултира настанком различитих упалних спојева: простагландин Е3, тромбоксан А3 и леукотриен Б5. Нутритивне н-3 полинезасићене масне киселине такођер потискују протуупалне медијаторе интерлеукин 1, интерлеукин 2 и тумор-некротизирајући фактор у хрскавичном ткиву (Waldron, 2004). Дакле, деломична замена омега-6-масних киселина омега-3-масним киселинама требала би смањити упалу и клиничку слику остеоартритиса. Проведена истраживања на псима показала су видљиво побољшање артритичних симптома унутар само две седмице те боље налазе биохемијских параметара. Надопуна прехране риблим уљима изимно је препоручљива код лијечења остеоартритиса јер су та уља богат извор ЕРА-е и ДНА (Waldron, 2004).

#### **Терапија матичним ћелијама**

Терапија матичним ћелијама позната је од 2005. године те се отада примењује код остеоартритиса и дисплазије кукова. Углавном, с терапијом се креће када аналгетици више не помажу. Матичне ћелије делују тако да инхибирају упални процес и регенерирају оштећено ткиво. Углавном се користе аутологне мезенхимне матичне станице. Прво се изолирају из масног ткива или коштане сржи, умноже се у култури те се аплицирају интраартикуларно. Због тога што се матичне ћелије узимају од саме животиње, могућност одбијања је изммно мала. Пошто је подручје матичних ћелија релативно слабо истражено, тачан механизам регенерације није познат. Без обзира на многа позитивна искуства, због високе цене ова терапија нема широку примену.

#### **Закључак**

Остеоартритис је хронична, прогресивна, неизлечива болест. У малој је пракси најчешћи узрок ортопедских поремећаја. На ову се болест више не гледа као на једноставну последицу геријатриског трошења зглоба, већ као на комплексан одговор на абнормалну зглобну механику, системске и генетске чимбенике те учинке упалних медијатора при чему долази до појачаног ремоделирања зглобног ткива. Остеоартритис се појављује као резултат механичких и биолошких збивања које нарушавају равнотежу између разградње и изградње зглобне хрскавице и субхондралне кости. Ова је болест у почетку обиљежена ограниченим или жаришним стањивањем, а касније и дифузним ерозијама зглобне хрскавице што доводи до губитка хијалине хрскавице у зглобу. Оптерећење се у зглобу све више преноси на субхондралну кост што је клинички видљиво као отежано и болно кретање. Најважнији дијагностички приступ је, осим темељитог ортопедског прегледа, радиолошки преглед. Тренутачна терапија код паса је већином палијативна, односно лечење је усмјерено на смањење бола и успоравање прогресије ове болести. Постоји много начина на који се могу ублажити симптоми и ток остеоартритиса, али основа лечења је на фармакотерапији. НСАИЛ је први избор у медикаментној терапији. Последњих је година алтернативна терапија примена хондропротектива за које се сматра да имају добар учинак на метаболизам хондроцита и синовиоцита.

#### **Литература**

1. Altman, R. D., C. J. Lozada (1998): Practice Guidelines In The Managment Of Osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 6, 22-24.
2. Babić-Naglić, Đ. (2014): Liječenje Mišićno Koštane Boli. *Medicus*, 23, 111-116.
3. Borges, M., R. M. Filho, C. B. Laposy, P. T. Guimaraes-Okamoto, M. P.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

- Chaves, A. N, Viera, A. Melchert (2013): Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy: Changes On Renal Function Of Healthy Dogs. *Acta. Cir. Bras.* 28, 842-847. 4. Budsberg, S. C., M. S. Bergh, L. R. Reynolds, H. K. Streppa (2007): Evaluation Of Pentosan Poly-Sulfate Sodium In The Postoperative Recovery From Cranial Cruciate Injury In Dogs: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Vet. Surg.* 36, 234-244. 5. Davila, D., T. P. Keeshen, R. B. Evans, M.G. Conzemius (2013): Comparison Of The Analgesic Efficacy Of Perioperative Firocoxib And Tramadol Administration In Dogs Undergoing Tibial Plateau Leveling Osteotomy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15, 225-231. 6. Fox, S. M. (2002): Pathophysiology Of Osteoarthritic Pain. 1 St World Orthopaedic Veterinary Con-Gess, Munich. 85-87. 7. Hauser, R. A. (2010): The Acceleration Of Articular Cartilage Degeneration In Osteoarthritis By Nsaids. *Journal Of Prolotherapy.* 1, 305-322. 8. Innes, J. F. (2012): Arthritis U: Tobias, K. M., S. A. Johnson: *Veterinary Surgery: Small Animal.* St. Luis, Elsevier(1078-1111). 9. Johnston, S. A., R. M. McLaughlin, S. C. Budsberg (2008): Nonsurgical Managment Of Osteoarthritis In Dogs. *Vet. Clin.North. Am. Small. Anim. Prac.* 38, 1449-1470. 10. Lipowitz, A. J. (2002): Degenerative Joint Disease. U: Sletter D.: *Textbook Of Small Animal Surgery .* 3 Rd Edition. Saunders (2208-2246). 11. Macphail, C. M., M. R.Lappin, D. J. Meyer, S. G. Smith, C. R. Webster, P. J. Armstrong (1998): Hepatocellular Toxicosis Associated With Administration Of Carprofen In 21 Dogs. *J. Am. Vet. Med. Asooc.* 15, 1895-1901. 12. Marshall, W. G., H. A. W. Hazewinkel, D. Mullen, G. De Meyer, K. Baert, S. Carmichael (2010): The Effect Of Weight Loss On Lameness In Obese Dogs With Osteoarthritis. *Vet. Res. Commun.* 34, 241-253. 13. Macphail, C. M. (2000): Treatment Of Canine Osteoarthritis. *Waltham Focus,* 10, 25-31. 14. Mele, E.(2007): Epidemiology Of Osteoarthritis. *Vet. Focus.* 17, 4-10. 15. Middleton, R. P., S. S. Hannah (2004): Osteoarthritis And Its Origins : Disease Development At The Cellular And Molecular Level. *Clinical Edge.* 6-8. 16. Mimica-Matanović, S. (2014): *Farmakokinetika I Farmakodinamika Analgetika.* Medicus. 23, 31-46. 17. Nelson, R. W., Delaney, S. J., Elliot, D. A. (2007): *Disorders Of Metabolism.* U: Nelson, R. W., Cuoto, G. C.: *Small Animal Internal Medicine.* Mosby E Lsevier, St. Luois (851-884). 18. Piirainen, K. (2013): *Intra-Articular Injections In The Managment Of Canine Osteoarthritis – A Review Of The Literature.* Licentiate Thesis. Faculty Of Veterinary Medicine, University Of Helsinki. 19. Pankow, W. R. (1999): Pathology And Therapeutic Management Of Chondropathy In Canine Osteoarthritis. *Tierarztliche Umschau* 54. 20. Rychel, J. K. (2010): Diagnosis And Treatment Of Osteoarthritis. *Top. Companion. Anim. Med.* 25, 20-25. 21. Sanderson, R. O., C. Beata, R. M. Flipo, J. P. Genovois, C. Macias, S. Tacke, A. Vezzoni, J. F. Innes (2009): Systematicreview Of The Management Of Canine Osteoarthritis. *Vet. Rec.* 4, 418-424. 22. Sanderson, S. L. (2012): The Epidemic Of Canine Obesity And Its Role In Osteoarthritis. *Israel Journal Of Veterinary Medicine.* 67, 195-202. 23. Schultz, K. (2007): *Disease Of The Joints.* U: Fossum, T.W.:*Small Animal Surgery.* Mosby Elsevier. St. Louis (1143-1315). 24. Sunaga, T., N. Oh, K. Hosoya, S. Takaqi, M. Okumura (2012): Inhibitory Effects Of Pentosan Poly-Sulfate Sodium On Map-Kinase Pathway And Nf-Kb Nuclear Translocation In Canine Chondrocytes In Vitro. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 707-711. 25. Sunaga, T., N. Oh, K. Hosoya, S. Takagi, M. Okumura (2012): Pro-Apoptotic Effects Of Tepoxalin, A Cyclooxygenase/Lipoxygenase Dual Inhibitor, On Canine Synovial Fibroblasts. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 745-750. 26. Šehić, M. (2002): *Klinička Rentgenologija U Veterinarskoj Medicini,* Zagreb. Inter-Ing-Zagreb. 27. Waldron, M. (2004): The Role Of Fatty Acid In The Management Of Osteoarthritis. *Clinical Edge,* 14-16.

ПРИМЕНА ИМУНОЕНЗИМСКОГ ТЕСТА ЕЛИСА У  
ДИЈАГНОСТИЦИ *STEC* КОД ПАСА

*APPLICATION OF THE ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT  
ASSAY (ELISA) IN DIAGNOSIS OF STEC IN DOGS*

Вук Врачар<sup>1</sup>, Александар Поткоњак<sup>1</sup>, Љубица Спасојевић Косић<sup>1</sup>, Весна Лалошевић<sup>1</sup>,  
Драган Роган<sup>1</sup>, Сара Савић<sup>2</sup>, Гордана Козодеровић<sup>3</sup>, Владимир Петровић<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Департаман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“;

<sup>3</sup>Педагошки факултет у Сомбору, Универзитет у Новом Саду;

<sup>4</sup>Медицински факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај:** Шига-токсин продукујуће *Escherichia coli* (STEC) препознате су као узрочници озбиљних обољења код људи. Високо подударње PFGE профила STEC изолованих од паса и људи указују на потенцијални значај паса као резервоара зоонотских сојева STEC. У Србији не постоје објављени литературни подаци о присуству STEC код паса, те је циљ овога истраживања био да се применом имуноензимског теста ELISA утврди присуство STEC код паса с подручја Новог Сада. У испитиваној популацији паса доказано је присуство STEC с преваленцијом од 5,94%. Пошто не постоји консензус око рутинске употребе ELISA теста и даље се молекуларни методи препоручују као најосетљиви и најспецифичнији тестови за дијагностику STEC.

**Кључне речи:** ELISA, пси, Србија, STEC, Stx

**Summary:** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* are identified as causative agents of serious human diseases. The high matching of PFGE profiles of STEC isolated from dogs and humans indicates the potential importance of dogs as a reservoir of zoonotic STEC strains. As there are no published data on the presence of STEC in dogs in Serbia, the aim of this study was to determine the presence of STEC in dogs from the area of Novi Sad by use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In the examined population of dogs, the presence of STEC with a prevalence of 5.94% was determined. Since there is no consensus about the routine use of the ELISA test, molecular methods are still recommended as the most sensitive and most specific tests for STEC diagnostics.

**Key words:** dogs, ELISA, Serbia, STEC, Stx

**Увод**

*Escherichia coli* иако дуг временски период сматрана коменсалном и безопасном бактеријом, током времена је трансмисијом плазмида с других врста стекла гене патогености, те је данас велики број њених сојева препознат као узрок озбиљних обољења. Од 9 група дефинисаних на основу патогенезе, шига токсин – продукујуће *E. coli* (STEC) најзначајнија су група храном преносивих *E. coli* (Casto и сар., 2017). Основна карактеристика STEC је способност продукције два различита токсина (stx1 и stx2) с њиховим варијантама, који неповратно доводе до инхибиције синтезе протеина ендотелних ћелија домаћина (Thorpe, 2004). На светском нивоу, инфекција изазвана STEC најчешћи је узрок акутне реналне инсуфицијенције код деце и старијих особа (Teel и сар., 2003). Такође, процењено је да на годишњем нивоу STEC код људи изазову 3.890 случајева

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

хемолитичко уремијског синдрома, 270 случајева хроничне бубрежне инсуфицијенције, те 230 смртних случајева, широм света (Małowicz и сар., 2014). Спорадични случајеви хемолитичко уремијског синдрома код људи могу бити последица трансмисије STEC с кућних љубимаца. Наиме, većина сојева STEC изолованих од паса, у студији коју су спровели Bentacog и сарадници, показало је сличност PFGE профила од 90 до 100% са сојевима STEC изолованих из меса, од говеда и од људи, указујући тиме на њихов висок зоототски потенцијал (Bentacog и сар., 2012).

Осим оскудних података из истраживања о STEC код људи и домаћих животиња, у Србији не постоје објављени литературни подаци о њиховом присуству код паса. Стога, циљ овога истраживања био је да се примјеном имуноензимског теста ELISA утврди присуство STEC код паса с подручја Новог Сада.

#### Материјал и методе

У периоду од 31. марта до 21. јуна 2017. године прикупљен је укупно 101 појединачни узорак фецеса паса са подручја Новог Сада. У истраживање су били укључени насумично одабрани пси оба пола, свих старосних категорија, различитог здравственог статуса и начина живота. Узорци су прикупљени су у стерилне пластичне посуде које су у најкраћем року транспортоване у лабораторију. По пријему у лабораторију узорци фецеса су хомогенизовани стерилним физиолошким раствором и инокулисани на чврсту хранљиву подлогу Endo agar (Biolife Italiana, Milan, Italy). Културе су затим инкубиране током 18 до 24 часа, у аеробним условима на температури од 37°C. Након инкубације културе су прочитане и изабрана је појединачна колонија округлог облика, метало-зеленог сјаја, која фенотипски одговара колонији *E. coli*. Биохемијска идентификација изолата вршена је одређивањем IMViC профила, као и тестом ферментације лактозе и глукозе уз продукцију гаса и H<sub>2</sub>S на двоструком Клиглер агару. Коначна потврда идентитета изолованих сојева извршена је применом матрицом потпомогнуте ласерске десорпције/јонизације-време прелета масеном спектрометријом (MALDI-TOF MS) на аутоматизованом систему Microflex LT (Bruker Daltonik, Bremen, Germany), а иницијална анализа података извршена је на софтверу Biotyper 2.0 (Bruker Daltonik, Bremen, Germany).

За доказивање продукције токсина коришћен је имуноензимски тест RIDASCREEN® Verotoxin (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), према упутству произвођача. Овај тест заснива се на сендвич типу ELISA. У циљу издвајања Stx сојеви *E. coli* су инокулисани у триптон соја бујон (HiMedia, Mumbai, India) и инкубирани током 24 часа, у аеробним условима на температури од 37°C, након чега су културе центрифугиране на 2.500 x g у трајању од 5 минута. У тесту је било коришћено 100 µl чистог супернатанта. За позитивну контролу коришћен је супернатант центрифугиране културе STEC серотип O157:H7 (сој ATCC 35150), док је за негативну контролу коришћен супернатант културе ентеропатогене *E. coli* серотип O127:H6 (сој 2348/69, Pasteur Institute, Paris, France).

Очитавање микротитар плоче је извршено на читачу микротитар плоча RT- 2100C (Rayto, Shenzhen, China).

#### Резултати

Од укупно култивисаног 101 узока столице из 94 (93,07%) су изоловане бактеријске колоније које су фенотипски одговарале колонијама *E. coli* на ЕА хранљивој подлози. Од наведена 94 изолата биохемијском идентификацијом је за 82 (81,18%) изолата утврђено да припадају врсти *E. coli*. Накнадном идентификацијом изолата применом MALDI-TOF MS метода, потврђен је идентитет 80 од 82 изолата чија је припадност врсти *E. coli* била утврђена биохемијском идентификацијом, што представља преваленцију *E. coli* од 79,21% у испитиваној популацији паса.

Применом ELISA теста утврђено је 6 узорака позитивних на присуство Stx, што чини преваленцију STEC од 5,94% у испитиваној популацији паса, односно преваленцију од 7,5% у укупном броју од 80 испитаних изолата *E. coli*.

#### Дискусија

Континуирани пораст популација паса како луталица, тако и кућних љубимаца представља трајан епидемиолошки проблем у урбаним срединама широм света, а као последица честог и

блиског контакта људи и паса повећава се вероватноћа трансмисије микроорганизама међу овим домаћинима, међу којима су и они потенцијално патогени за људе (Beutin, 1999; Cinquepalmi и сар., 2013). Резултати неколико студија указују на то да би пси могли бити и важан резервоар најпатогенијих STEC сојева (O157), а тиме и потенцијални извор зооноске трансмисије на људе (García и сар., 2010; Hancock и сар., 1998; Ојо. и сар., 2014; Sanchez и сар., 2002).

Пријављене вредности преваленције STEC код паса, у свету, су различите и крећу се у опсегу од 1,1% у Аргентини и Јапану, па до врло високих вредности до 68,8% код паса с дијарејом у истраживању спроведеном у Ираку (Bentancor и сар., 2007; Hasan и сар., 2016; Kataoka и сар., 2010). Ипак, међу клиничким изолатима *E. coli* из фецеса паса, према резултатима студије из Бразила и друге студије из Аргентине, ниједан није окарактерисан као STEC сој (Nakazato и сар., 2004; Zotta и сар., 2015). Међутим због различите осетљивости и специфичности дијагностичких тестова тешко је поредити резултате преваленције добијене у овом истраживању с резултатима других аутора. Наиме, у поређењу с тестовима цитотоксичности или PCR, ELISA тестови су мање осетљиви и нису погодни за испитивање узорака у којима се очекују мале количине Stx, али и варијанте Stx2, због чега не постоји ни усаглашено мишљење о коришћењу ELISA тестова у рутинској дијагностици (Parma и сар., 2012). Применом ЕЛИСА теста код 6 од 80 изолата добијених из фецеса паса у овом истраживању утврђена је продукција Stx, што у укупуној испитиваној популацији паса чини преваленцију STEC од 5,94%. У једином доступном истраживању у коме је за дијагностику STEC код паса као и у нашем истраживању коришћена ELISA у САД Stx су нађени у знатно већем проценту и то у 32% узорака који су потицали од клинички здравих паса и паса с дијарејом (Staats и сар., 2003).

#### Закључак

Нашим истраживањем применом ELISA теста утврђено је присуство STEC у популацији паса на територији Града Новог Сада. Пошто не постоји консензус око рутинске употребе ELISA теста и даље се молекуларни методи препоручују као најосетљиви и најспецифичнији тестови за дијагностику STEC.

#### Литература

1. Bentancor A, Rumi MV, Carbonari C, Gerhardt E, Larzabal M, Vilte DA, et al., 2012, Profile of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat and humans, *Vet Microbiol* 156, 336-42.
2. Bentancor A, Rumi MV, Gentilini M, Sardoy C, Irino K, Agostini A, Cataldi A, 2007, Shiga toxin-producing and attaching and effacing *Escherichia coli* in cats and dogs in a high hemolytic uremic syndrome incidence region in Argentina, *FEMS Microbiol Lett*, 267, 251-6.
3. Beutin L, 1999, *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats, *Vet Res*, 30, 285-98.
4. Castro VS, Carvalho RCT, Conte-Junior CA, Figueiredo EES, 2017, Shiga-toxin Producing *Escherichia coli*: Pathogenicity, Supershedding, Diagnostic Methods, Occurrence, and Foodborne Outbreaks. *Comp Rev Food Sci F*, 16, 1269-80.
5. Cinquepalmi V, Monno R, Fumarola L, Ventrella G, Calia C, Greco MF, et al., 2013, Environmental contamination by dog's faeces: a public health problem?, *Int J Environ Res Public Health*, 10, 72-84.
6. Garcia A, Fox JG, Besser TE, 2010, Zoonotic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: A One Health perspective, *ILAR J*, 51, 221-32.
7. Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Ebel ED, Herriott DE, Carpenter LV, 1998, Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the northwestern USA, *Prev Vet Med*, 35, 11-9.
8. Hasan SM, Yousif AA, Alwan MJ, 2016, Detection of virulent genes in *E. coli* O157:H7 isolated from puppies and adult dogs by polymerase chain reaction, *Res J Vet Pract*, 4, 1-6.
9. Kataoka Y, Irie Y, Sawada T, Nakazawa M., 2010, A 3-year epidemiological surveillance of *Escherichia coli* O157:H7 in dogs and cats in Japan, *J Vet Med Sci*, 72, 791-4.
10. Majowicz SE, Scallan E, Jones-Bitton A, Sargeant JM, Stapleton J, Angulo FJ, et al., 2014, Global incidence of human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis, *Foodborne Pathog Dis*, 11, 447-55.
11. Nakazato G, Gyles C, Ziebell K, Keller R, Trabulsi LR, Gomes TA, et al., 2004, Attaching and effacing *Escherichia coli* isolated from dogs in Brazil: characteristics and serotypic relationship to human enteropathogenic *E. coli* (EPEC), *Vet Microbiol*, 101, 269-77.
12. Ojo OE, Bello AO, Amosun EA, Jadi RA, 2014, Multidrug resistant verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the faeces of diarrhoeic and non-

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

diarrhoeic dogs in Abeokuta, Nigeria, *Vet Arhiv*, 84, 63-73. 13. Parma YR, Chacana PA, Lucchesi PM, Roge A, Granobles Velandia CV, Kruger A, et al., 2012, Detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay using chicken egg yolk IgY antibodies, *Front Cell Infect Microbiol*, 2, 84. 14. Sanchez S, Lee MD, Harmon BG, Maurer JJ, Doyle MP, 2002, Animal issues associated with Escherichia coli O157:H7, *J Am Vet Med Assoc*, 221, 1122-6. 15. Staats JJ, Chengappa MM, DeBey MC, Fickbohm B, Oberst RD, 2003, Detection of Escherichia coli Shiga toxin (stx) and enterotoxin (estA and elt) genes in fecal samples from non-diarrheic and diarrheic greyhounds, *Vet Microbiol*, 94, 303-12. 16. Teel LD, Steinberg BR, Aronson NE, O'Brien AD, 2003, Shiga toxin-producing Escherichia coli-associated kidney failure in a 40-year-old patient and late diagnosis by novel bacteriologic and toxin detection methods, *J Clin Microbiol*, 41, 3438-40. 17. Thorpe CM, 2004, Shiga toxin-producing Escherichia coli infection, *Clin Infect Dis*, 38, 1298-303. 18. Zotta CM, Lavayén S, Hollmann P, Lanfranconi V, 2015, Pets as Reservoir Escherichia coli Shiga Toxin-Producer in Mar del Plata, *J Selva Andina Res Soc*, 6, 2-9.

АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ФАКТОРА НЕКРОЗЕ ТУМОРА (ТНФ- $\alpha$ )  
КОД ПАСА РАЗЛИЧИТОГ ЗДРАВСТВЕНОГ СТАТУСА

*TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- $\alpha$ ) ANALYSES IN  
DOGS WITH DIFFERENT HEALTH STATUS*

*Ивана Лакић, Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Александар Поткоњак*

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

**Кратак садржај**

Фактор некрозе тумора алфа (ТНФ- $\alpha$ ) представља цитокин кога луче моноцити, макрофаги, Т и Б лимфоцити, неутрофили и мастоцити. У зависности од концентрације у којој се лучи он своје дејство испољава аутокринно, паракринно и ендокринно. Главну улогу испољава у остваривању специфичне и неспецифичне имуности организма, односно заштити од вирусних, бактеријских, паразитних и гљивичних инфекција, активацији макрофага, као и подстицању различитих ћелијских линија на лучење осталих цитокина и ћелијску сигнализацију. Делује преко две врсте рецептора ТНФР1 и ТНФР2 те у зависности од тога на који делује испољава своју биолошку активност (цитотоксичност, про-инфламација, модулација раста и ћелијска диференцијација). Услед многобројних физиолошких, и патофизиолошких стања у којима се лучи ТНФ- $\alpha$  и његовог плејотропног дејства испитали смо присуство концентрације овог цитокина код 60 паса који су били пацијенти Ветеринарске клинике Пољопривредног факултета, Универзитета у Новом Саду. Одређивање концентрације је вршено уз помоћ *Abcam canine TNF- $\alpha$  ELISA* теста из крвне плазме. Након читавања резултата добијено је 20 паса код којих је детектован ТНФ- $\alpha$  у концентрацији изнад 2 pg/ml (што је доњи детекциони лимит коришћеног ЕЛИСА теста). Вредности концентрација ТНФ- $\alpha$  код ових 20 паса је била у распону између 5,6-309 pg/ml. Сви резултати се односе на дистрибуцију вредности код пасопоменутих 20 паса. Средања вредност је износила 54,35 pg/ml, стандардна девијација 86,84 pg/ml, стандардна грешка 18,91 pg/ml, а медијана се налазила на вредности 19,4 pg/ml. Даљом анализом хематолошких, биохемијских и ендокринолошких параметара је потребно утврдити утицај одређених концентрација ТНФ- $\alpha$  на функционално стање различитих органских система и стање организма ових паса

**Кључне речи:** пси, фактор некрозе тумора алфа (ТНФ- $\alpha$ ), биолошка улога, здравствено стање

**Summary**

Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) is a cytokine that is secreted from macrophages, monocytes, T and B- lymphocytes, neutrophils and mast cells. TNF-alpha can express endocrine, paracrine and autocrine actions depending from secreted concentrations. The main function of this cytokine is regulation of specific and non-specific immune response and defense of organism in viral, bacterial, parasite and fungal infections. TNF-alpha exhibits his actions across two receptors TNFR1 and TNFR2 and response depend on which receptor is activated (cytotoxicity, pro-inflammation, growth modulation or cell differentiation). Because of many biological activities and pleiotropic actions of TNF in Veterinary Clinic of Agriculture Faculty TNF-alpha concentrations were determined in 60 clinical patient dogs. Concentration was determined with Abcam Canine TNF-alpha ELISA test from plasma. 20/60 dogs have had TNF-alpha concentrations above 2 pg/ml (that is lower detection limit for this test). These 20 dogs have concentrations 5,6-309 pg/ml. Mean value was 54,35 pg/ml, and standard deviation

86,84 pg/ml. Standard error was 18,91 pg/ml and median value was 19,4 pg/ml. Further analyses of hematology, endocrinology and biochemical parameters should be conducted in order to observe affects of TNF-alpha concentrations on organ systems and the whole organism.

**Key words:** dogs, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), biological role, health status

ТНФ- алфа је члан фамилије пептидних сигналних молекула који испољавају своје дејство везивајући се за рецепторе високог афинитета. Спада у проинфламаторне цитокине које луче моноцити, макрофаги, Т и Б лимфоцити, неутрофили и мастоцити. Цитокини представљају велику фамилију регулаторних молекула који функционишу као медијатори ћелијских комуникација, у физиолошким, и у патолошким условима. Цитокини учествују у основним функцијама у имуном одговору и у сталној су комуникацији између имуног, нервног и ендокриног система, а најважнија улога као медијатора неспецифилне имуности им је заштита од вирусних инфекција и индуковање запаљенске реакције која је веома важна у одбрани од бактеријских инфекција. Студије које су истраживале слабење односно смањење телесне масе и кахексију код паразитних инфестација и малигних обољења паралелно су довеле до открића фактора некрозе тумора алфа (ТНФ- $\alpha$ ), ИЛ-6 и ИЛ-1 представљају главне иницијаторе и регулаторе запаљенске реакције и реакције акутне фазе и основни су медијатори одбране организма код инфекција изазваних Грам негативним бактеријама и другим инфективним агенсима. При крају прошлог века хирург из Меморијалне болнице у Њујорку, *William B Coley* је користио бактеријске екстракте да би лечио канцер код оболелих пацијената у терминалној фази. Међутим, све до 1975. године протеин који је задужен за ово није идентификован, а тада су га *Elizabeth Carshwell* и сар. назвали фактор некрозе тумора алфа. Студије које истраживале слабењем телесне масе и кахексију код паразитних инфекција и малигних обољења паралелно су довеле до открића фактора некрозе тумора алфа. Биолошка активност овог цитокина је зависна од концентрације ТНФ-а у циркулацији и организму. При ниским концентрацијама ТНФ делује локално као аутокрини и паракрини регулатор леукоцита, али и ендотелних ћелија. Од узрокује *de novo* експресију адхезивних молекула на површини ендотелних ћелија што доводи до повећаног накупљања и акумулације леукоцита на месту инфламације. На тај начин активира леукоците и поспешује елиминацију бактерија. Локално стимулише мононуклеарне фагоците и друге ћелијске типове на продукцију ИЛ-6 и ИЛ-1. При високим концентрацијама се преноси крвљу и делује на удаљене ћелије и ткива, понашајући се као хормон. У високим концентрацијама се понаша и као ендогени пироген регулаторних неурона хипоталамуса и изазива грозницу. Синергистички са ТНФ-ом делује и ИЛ-1, а оба ова цитокина свој пирогени ефекат остварују повећаном синтезом простагландина. Делујући на мононуклеарне фагоците и ендотелне ћелије ТНФ стимулише секрецију ИЛ-1 и ИЛ-6 у циркулацију. Ово је један од примера каскадне реакције цитокина који испољавају сличне биолошке ефекте. ТНФ утиче и на саме хепатоците у којима подстиче синтезу одређених серумских протеина (нпр. серум амилоида А). Спектар протеина које регулише ТНФ је идентичан спектру који индукује ИЛ-1. Мултипло деловање овог цитокина је посредовано преко две врсте трансмембранских рецептора високог афинитета који су недавно откривени. То су ТНФ рецептор 1 (ТНФР1) и ТНФ рецептор 2 (ТНФР2). Активација ТНФР1 је задужена за бројне инфламаторне одговоре на фактор некрозе тумора, а ТНФР1 је одговоран за највећи број ћелијских одговора на ТНФ-алфа, укључујући цитотоксичност, ћелијски раст и регулацију адхезије и гена за цитокине. ТНФР2 је важан у пролиферацији лимфоидних ћелија. Код неких ћелија, попут ТНФР1, утиче на цитотоксичност и NF $\kappa$ B активацију. *Pfeffer* и сар. су показали да ТНФР1 игра круцијалну улогу у развоју ендотоксемије индуковане липополисахаридима, тачније ентеротоксином Б *Staphylococcus aureus*. Користећи сличан модел *Rothe* и сар. су показали да су ТНФР1 *knock out* мишеви отпорни на леталне ефекте малих доза липополисахарида (ЛПС-а) након Д-галактозамин сензитизације, али остају подложни ефектима високих доза ЛПС-а. У студији *Erickson* и сар. су показали да ТНФР2 *knock out* мишеви показују нормалан развој Т-ћелија, док је ТНФ-ом индукована некроза ткива знатно инхибирана, што показује да ТНФР2 има веома битну улогу у медијацији ТНФ-алфа и некрозе ткива.



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Многи стимулуси подстичу лучење ТНФ- $\alpha$  и ту спадају ЛПС, цитокини као што су ИЛ-1, ГМ-ЦСФ и сам ТНФ- $\alpha$ . Представља цитокин са широким плејотропним ефектом и бројним биолошким појавама као што су цитотоксичност, про-инфламација, модулација раста и ћелијска диференцијација. Способност ТНФ-алфа да уништава ћелије тумора је полазна тачка за откриће његових осталих биолошких ефеката. *Beutler* и сар. су показали да је овај цитокин одговоран за кахексију (синдром слабљења) повезану са терминалним стадијумима малигну обольења и код паразитских инфекција. Један од биолошких ефеката је цитотоксичност фактора некрозе тумора алфа на многобројне хумане, али и ћелије пацова и послужила је као терапеутски потенцијал током претходних деценија. Ипак, ћелијски модел цитотоксичности и до данас није најбоље детерминисан. Овај потенцијал, изгледа, није зависан од РНК или синтезе протеина, већ је, чак и до 100 пута убрзан при инхибицији транскрипције и транслације. Ово указује да неке ћелије могу бити отпорне на токсичан ефекат овог цитокина синтезом протективних фактора. Убрзана продукција супероксид дисмутазе у неким типовима ћелија служи као протективни фактор што се огледа у резистенцији на ТНФ-алфа.

Цитокини, па тако и ТНФ, директно или индиректно утичу на сваку ћелију у организму и да се луче и у физиолошким и у патофизиолошким условима. Постоје бројни радови који се баве функцијом цитокина код различитих врста и различитих болести. С обзиром да је деловање сваког појединачног цитокина изузетно комплексно, као и међусобна интеракција цитокина и њихових рецептора предложено је да се мере концентрације више различитих цитокина у различитим здравственим стањима. Различити чланци се баве кључним значајем мерења концентрације цитокина у дијагностици и самом испитивању одређеног здравственог стања и болести. Требало би истаћи да концентрације ТНФ- $\alpha$ , али и других цитокина, могу варирати у зависности од самог имуног система јединке, у одређеним неоплазијама, инфламацији, инфективним и аутоимуним болестима. На основу тога, измерене повећане или смањене концентрације ТНФ- $\alpha$  се не могу сматрати штетним или корисним без познавања самог клиничког стања у ком се сама концентрација мери. (мултиплекс анализа). У хуманој и у ветеринарској медицини се данас истражују различити механизми и мерања различитих цитокина у одређеним здравственим стањима, да би се што боље разумео патофизиолошки процес, проценио исход болести и дошло до најбољег решења за терапију обольења.

#### Концентрација ТНФ- $\alpha$ из клиничких узорака крви

У циљу одређивања концентрације ТНФ- $\alpha$  испитано је 60 узорака паса различитог здравственог стања који су били пацијенти Ветеринарске клинике Пољопривредног факултета у Новом Саду. Узорци за анализу су узимани из љубичасте ЕДТА епрувете- крвна плазма и замрзавани су на  $-20^{\circ}\text{C}$  и чувани максимално 3 месеца без одмрзавања и поновног замрзавања. За одређивање концентрације примењена је *Abcam Canine TNF- $\alpha$  ELISA* микротитар плоча која је прочитана на *Rayto Microplate* читачу. Добијене оптичке густине су софтверски обрачунате и концентрација ТНФ- $\alpha$  је изражена у pg/ml. Резултати су показали да код 40 од 60 паса постоји концентрација ТНФ- $\alpha$  испод 2 pg/ml што је доњи детекциони ниво употребљеног ЕЛИСА кита. Код 20 паса концентрација ТНФ- $\alpha$  је била у распону између 5,6-309 pg/ml. Средања вредност је износила 54,35 pg/ml. Стандардна девијација је била 86,84 pg/ml, стандардна грешка 18,91 pg/ml медијана се налазила на вредности 19,4 pg/ml.

#### Закључак

Из ове анализе се види да ТНФ- $\alpha$  постоји у одређеним детектабилним границама (преко 2 pg/ml) код 20 од 60 паса различитог здравственог статуса који су били пацијенти Ветеринарске клинике Пољопривредног факултета. Пошто су детектовани пси који имају присуство ТНФ- $\alpha$  изнад 2 pg/ml (20) и испод 2 pg/ml (40) потребно је даље утврдити анамнезе свих паса, њихове хематолошке, ендокринолошке и биохемијске профиле да би се одредила повезаност концентрације ТНФ- $\alpha$  са осталим параметрима здравственог стања код паса, а самим тим и утицај одређених концентрација ТНФ- $\alpha$  на параметре и функционисање јетре и бубрега и осталих органских система.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

**Захвалница:** Рад је резултат пројекта ”Значај одређивања и клиничка евалуација серумског фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у процени инфламаторног одговора преживара и паса”, финансиран од стране Покрајинског секретаријата за високо образовање и научно-истраживачку делатност АП Војводине

**Литература:**

1. DeClue A, Sharp CR, Harmon . Plasma Inflammatory Mediator Concentrations at ICU Admission in Dogs with Naturally Developing Sepsis, *J Vet Intern Med* 2012, 26, 624-30.
2. Do-Hyeon, Bumseok K, Jinho P, 2011, Pathophysiologic and Immunologic Changes in a Canine Endotoxemia over a Period of 24 Hours, *J. Vet. Med. Sci.* 74, 537-4.
3. Johnson V, Burgess B, Morley P, Bragg R, Avery A, Dow S, 2016, Comparison of cytokine responses between dogs with sepsis and dogs with immune-mediated hemolytic anemia, *Vet Immunol Immunopathol*, Vol.180, 15-20.
4. Lakić I, Cincović M, Belić B, Đoković R, Majkić M, Petrović M, Nikolić S, 2018, Patofiziološki značaj endotoksina u krvi životinja, *Zbornik radova i kratkih sažetaka sa 29. Savetovanja veterinarara Srbije, Zlatibor*, 13-16.
5. Parameswaran N and Patial S, 2010, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Macrophages, *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 20, 87-103.
6. Richter KR, Nasr A, Mexas AM, 2018, Cytokine concentrations measured by multiplex assays in canine peripheral blood samples, *Veterinary Pathology*, Vol. 55, 53-67.
7. Rothe J, Lesslauer W, Lötscher H, Lang Y, Koebel P, Köntgen F et al., 1993, Mice lacking the tumour necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by *Listeria monocytogenes*, *Nature*, 798–802.
8. Schulte W, Bemhagen J, Bucala R, 2013, Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets-an updated view, *Mediators Inflamm*, Vol. 2013, 1-16.

МИКРОЧИПОВАЊЕ ЕГЗОТИЧНИХ ЖИВОТИЊА

*MICROCHIPPING OF EXOTIC ANIMALS*

*Тијана Кукурић, Николина Новаков*

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

**Кратак садржај**

Обележавање животиња једнако је важно за све животињске врсте, којем подлежу не само пси и мачке, као најчешћи кућни љубимци, већ и егзотичне животиње. Према Закону о добробити животиња ("Сл. гласник РС", бр. 41/2009) члан 5, егзотична животиња је дивља животиња која није аутохтона на територији Републике Србије. Циљ овог рада је да се истакне значај обележавања животиња, као доказа о легалном власништву и промовисање микрочиповања као једног од аспеката одговорног власништва над кућним љубимцима. Микрочипови представљају дугорочне идентификационе маркере, који се имплантирају подкожно или интрамускуларно. Правилна апликација микрочипова захтева поштовање одређених норми, у погледу локације и саме процедуре, а спроведи се од стране стручног лица. Микрочиповање егзотичних животиња је област којој треба посветити посебну пажњу, зато овим радом настојимо обезбедити више информација и покренути ову тематику.

**Кључне речи:** чип, егзоте, егзотичне животиње, микрочиповање, обележавање, закон

**Summary**

The marking of animals is equally important for all animal species, which are not subject only to dogs and cats, as the most common pets, but also to exotic animals. According to the Law on Animal Welfare ("Official Gazette of RS", No. 41/2009) Article 5, an exotic animal is a wild animal that is not autochthonous on the territory of the Republic of Serbia. The aim of this paper is to emphasize the importance of marking of animals, as proof of legal ownership and promotion of microchipping as one of the aspects of responsible ownership of pets. Microchips represent long-term identification markers, which are implanted subcutaneously or intramuscularly. The correct application of microchips requires compliance with certain norms, in terms of location and procedure itself, and implemented by an expert. Microchipping of exotic animals is an area that needs attention, so this paper aims to provide more information and initiate this topic.

**Key words:** chip, exotics, exotic animals, microchipping, marking, law

**Увод**

Микрочиповање представља стандардни метод идентификације животиња као јединки, које су обележене лако читљивим и практичним чиповима (Соопег, 2002). Микрочиповању подлежу не само пси и мачке, као најчешћи кућни љубимци, већ и егзотичне животиње (McKinnon, 2017), за којима, последњих година, значајно расте интересовање и у нашој земљи. Према Закону о добробити животиња ("Сл. гласник РС", бр. 41/2009) члан 5, егзотична животиња је дивља животиња која није аутохтона на територији Републике Србије. Многе егзотичне врсте животиња су под контролом Конвенције о међународној трговини угроженим врстама (Convention on International Trade in Endangered Species-CITES) која налаже законску обавезу за њиховом

идентификацијом и сертификацијом. Да би се животиња легално узгајала у заточеништву (у складу са CITES и удружењем за заштиту дивљих животиња (Wildlife Conservation Association-WCA)), њени родитељи морају имати легалну документацију у време полагања јаја или зачећа (Scott, 2008). Без идентификације и CITES лиценцирања, то је немогуће доказати (Stockdale, 2008; Carrasco, 2014). Управо са овим проблемом сусрећу се власници егзота у Србији, јер су у току ове године поопштрене мере заштите дивљих и заштићених животиња, а власници који нису имали потребну документацију остали су без својих љубимаца. Главни проблем јесте порекло таквих животиња, које CITES конвенција настоји да заштити од нелегалног узимања из природе и трговине истим (Carrasco, 2014).

Поред законске обавезе, микрочиповање има и своје бенефите. С обзиром да је већина егзотичних животиња врло спретна у сакривању, пењању и завлачењу, попут змија или гуштера, неретко се дешава њихов нестанак (Stoakes, 2015). Са друге стране, многе птице и гмизавци су веома драгоцене и тиме су под ризиком од крађе. А уколико власник жели да путује са својим љубимцем, микрочип и пропратна документација је неопходна (Carrasco, 2014).

Циљ овог рада је да се истакне значај обележавања животиња, као доказа о легалном власништву и промовисање микрочиповања као једног од аспеката одговорног власништва над кућним љубимцима, путем едукације власника.

#### **Микрочипови**

Микрочипови (познати и као пасивни интегрисани транспондери) представљају дугорочне идентификационе маркере, који се имплантирају подкожно или интрамускуларно, неометајући нормално функционисање животиње (Richter и Freegard, 2009).

Микрочип је мали електронски уређај, величине зрна пиринча (Sharp и сар. 2005). Ови уређаји садрже четири компоненте: кондензатор, антену, спојну жицу и поклопац (Saito и сар. 2005). Уређаји су без батерија, затворени у биокомпатибилном стаклу или полимеру који је покривен омотачем, како би се спречила миграција у телу животиње (Stein и сар. 2003). Микрочипови се активирају радиофреквентним сигналом мале снаге који емитују скенери; електромагнетна индукција генерише електричну енергију у антени и преноси информације ускладиштене у микрочипу. Када се активира од стране скенера, микрочип преноси јединствени, унапред програмирани идентификациони број, који се приказује на екрану скенера, тј. читача (Stein и сар. 2003; Ingwersen, 1996). Међународна организација за стандарде (International Organisation for Standardization-ISO) дефинише структуру садржаја микрочипова, према нормама 11784 и 11785. Сваки чип садржи јединствен, трајно читљив и непромењив код састављен од 15 знакова на следећи начин: места 1, 2 и 3 представљају трозначни код државе – 688 у складу са ICAR стандардом 3166; место 4 садржи контролну цифру; места од 5 до 15 додељује централна база података, која означавају јединствени идентификациони број животиње („Службени гласник РС”, број 36/09- Правилник о условима држања, начину обележавања и евидентирања дивљих животиња у заточеништву: 86/2010-30; члан 17.).

Птице за које је прописано обележавање, обележавају се затвореним ножним прстеном. Затворени ножни прстен мора бити бешавни, тј. израђен у непрекидном кругу, мора да има јединствен, трајно читљив и непроменљив код. Прстен мора бити такве величине да га је немогуће скинути са ноге одрасле птице, а ставља се на ногу птице првих дана након излегања (када је тарзо-фалангеални зглоб довољно мали да се постави прстен) (Carrasco, 2014). Нога птице на коју се ставља прстен мора бити неповређена (члан 18.).

Изузетно од члана 18, ако птица не може да се обележи затвореним ножним прстеном, због њених физичких особина или понашања, односно ако затворени ножни прстен није стављен на време, птица мора да се означи микрочипом. У случају да одраслу јединку птице није могуће обележити микрочипом, може се одобрити обележавање отвореним ножним прстеном (члан 19.). Ветеринари треба да имају у виду да ако се затворени прстен икада уклони са птице, из медицинских разлога (на пример, фрактура ноге или траума), или пак ако прстен постане нечитљив, истовремено треба да буде замењен микрочипом. Код мањих птица, обично се спроводи субкутана апликација (Carrasco, 2014).

Затворени ножни прстен мора да садржи јединствен, трајно читљив и непроменљив код од 11 знакова, састављен на следећи начин: места 1 и 2 представљају ознаку државе Републике Србије; места 3 и 4: година узгоја; места 5, 6 и 7: број одгајивача или одгајивачнице; места 8, 9, 10 и 11: редни број птице (члан 20.).

У употреби је неколико различитих врста микрочипова и пратеће опреме за имплантацију и читавање (Sharp и сар, 2005). Имајући у виду величину појединих животиња, одређени број произвођача сада испоручује мање и лакше микрочипове (Carrasco, 2014). Мала величина ових модерних уређаја, у комбинацији са новијом технологијом, повећава лакоћу имплантације, обезбеђује мању нелагодност за животињу и чини микрочипирање погодним за скоро сваку животињу. Некада су произвођачи саветовали да се не чипују птице мање од 100g; међутим, са појавом посебних микрочипова, чак и веома ситни пацијенти (од 15g до 20g) могу се редовно микрочиповати (Stockdale, 2008).

Поред величине, и други фактори могу утицати на избор најприкладнијег микрочипа. За микрочипове који су инкапсулирани са биополимером, наводи се да су 10 пута јачи од стаклених чипова, па је мања вероватноћа да ће ометати живот јединке, што може бити значајно код малих врста егзота (Carrasco, 2014). Неопходна удаљеност читача, да би читао код, такође варира између чипова различитих произвођача. Неке животиње не толеришу узимање у руке и честу манипулацију па је корисно омогућити и читавање микрочипова без директног контакта (чипове је могуће прочитати на раздаљини до 30 cm) без стреса и обуздавања животиње (Scott, 2008).

#### **Правилна имплантација микрочипова**

Правилна апликација микрочипова захтева поштовање одређених норми. Потребно је прво испоштовати услове у погледу места за апликацију на телу животиње, које је увек на левој страни тела, док се регија разликује по врсти животиње, а то су:

#### **Рептили**

➤ Гуштери: Латерална страна леве феморалне регије, преко мишића квадрицепса или поткожно у препонској регији леве стране тела, ако су ноге премале, премршаве или недостају. Код гуштера краћих од 125 mm чип се апликује абдоминално, при чему се мора водити рачуна о унутрашњим органима.

➤ Змије: Лева страна тела, испред клоаке.

➤ Корњаче: Субкутано у леву задњу ногу, или интрамускуларно код врста са танком кожом (Richter и Freegard, 2009).

#### **Птице**

Интрамускуларно у леви грудни мишић. Изузетак код веома великих птица или пак превише ситних, апликује се субкутано у пределу врата.

#### **Сисари**

Код великих сисара, са леве стране врата, субкутано. Код мањих врста, апликује се субкутано између лопатица (Carrasco, 2014).

#### **Рибе**

Апликује се са леве стране базе леђног пераја, а код риба краћих од 300 mm у абдоминалну дупљу, при чему се мора водити рачуна о унутрашњим органима. Ако је могућа конзумација од стране људи, чип поставити плитко, што ближе глави.

#### **Водоземци**

Погодна је абдоминална апликација, при чему се води рачуна о унутрашњим органима. Алтернативно место је задња нога, субкутано (Sharp и сар, 2005).

Имплантација микрочипова је инвазивна процедура и мора бити спроведена од стране ветеринара или обучене особе. Увек треба водити рачуна о стерилности поступка. Микрочипови су доступни у стерилним паковањима, појединачно упаковани са иглом за једнократну употребу. Пре имплантације, кожу треба обрисати са топикалним антисептиком (Richter и Freegard, 2009). Након апликације применити ручни притисак на улазно место у кожи, уколико је потребно, а може се и затворити шавом или капљицом лепка за ткиво, како би се спречио губитак микрочипа. Микрочипови не би требало да прелазе 5% телесне тежине животиње (Sharp и сар, 2005). Постављање микрочипова се код већине врста спроводи уз ручну имобилизацију пацијента.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Међутим, што је врста мања, то је веће оправдање за имобилизацију са анестезијом, како би се ризик од јатрогеног оштећења свео на минимум (Carrasco, 2014).

#### Закључак

Микрочиповање представља рутинску процедуру којом се обезбеђује идентификација животиња. Обележавање животиња је према закону обавезно за све врсте, па тако и за егзотичне животиње. Величина микрочипова треба да буде прилагођена величини животиње, а уз стручност особе која врши микрочиповање, могућност повреде животиња своди се на минимум. Мирочиповање егзотичних животиња је област којој треба посветити посебну пажњу, зато овим радом настојимо обезбедити више информација и покренути ову тематику.

#### Литература

1. Carrasco DC, 2014, Microchipping exotics and wildlife, *Vet Times*, 14-5.
2. Cooper ME, 2002, British legislation, In Meredith A and Redrobe S, BSAVA, *Manual of Exotic Pets*, BSAVA, Gloucester: Chapter 24.
3. Ingwersen W, 1996, Everything you ever wanted to know about microchips. *Can Vet J*, 37, 667-71.
4. Mc Kinnon P, 2017, Microchips in the wild, *Vet Practice*.
5. Правилник о условима држања, начину обележавања и евидентирања дивљих животиња у заточеништву: 86/2010-30, Службени гласник РС, број 36/09.
6. Richter V, Freegard C, 2009, Permanent marking of vertebrates using microchips SOP No 12.1, Department of Environment and Conservation, Western Australia.
7. Saito M, Ono S, Kayanuma H, 2010, Evaluation of the susceptibility artifacts and tissue injury caused by implanted microchips in dogs on 1.5 T magnetic resonance imaging, *J Vet Med Sci*, 72, 575-581.
8. Scott P, 2008, Legal, zoonotic and ethical considerations, In Chitty J and Lierz M, BSAVA, *Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds*, BSAVA, Gloucester, 377-83.
9. Sharp T, Saunders G. u Mitchell B, 2005, Marking of pest animals used in research, NSW Department of Primary Industries.
10. Stockdale B, 2008, Passerine bird husbandry and show management, In Chitty J and Lierz M, BSAVA, *Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds*, BSAVA, Gloucester, 19-24.
11. Stein FJ, Geller SC, Carter JC, 2003, Evaluation of microchip migration in horses, donkeys, and mules, *J Amer Vet Med Assoc*, 223, 1316-9.
12. Stoakes L, 2015, Making sense of the legislation relating to buying and selling exotic animals, *Vet Nursing J*, 29, 10, 335-8.
13. Закон о добробити животиња, Службени гласник РС, број 41/2009.

**МОРФОМЕТРИЈА ЕРИТРОЦИТА ПАСА БОЈЕНИХ  
DIFF-QUICK И GIEMSA БОЈЕЊЕМ**

**MORPHOMETRY OF RED BLOOD CELLS STAINED WITH  
DIFF-QUICK AND GIEMSA COLOUR IN DOG**

*Сандра Николић, Ивана Давидов, Бранислава Белић, Марко Цинцковић, Ивана Лакић*

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

**Кратак садржај**

Циљеви овог рада су да се утврди просечна вредност пречника, обима и површине еритроцита паса, као и да ли постоји статистички значајна разлика у овим вредностима код измерених еритроцита обојених методом бојења по Diff Quick и Giemsa бојењем. Анализом општег просека закључујемо да нема одступања која би била значајна са аспекта свакодневног клиничког рада (DQ:G): површина 36,994:36,2038; обим 21,5062:21,2703 и пречник 6,8382:6,7903. Т-тест парова у ком се врши поређење између различитих врста бојења за сваку животињу појединачно показује да постоји статистички значајна разлика између DQ и G бојења када се ради о површини и обиму, али не и о пречнику еритроцита. DQ даје нешто већу површину и обим ћелије у односу на G бојење. Међутим, ове разлике нису клинички значајне. Постоји статистички значајна позитивна корелација обима, површине и пречника еритроцита који су бојени DQ и G бојењем, што указује на то да постоји компаративност између ове две врсте бојења.

**Кључне речи:** бојење, еритроцити, морфометрија

**Summary**

The aims of this paper are to determine the average value of the diameter, volume and surface area of the erythrocytes of the dogs, and whether there is a statistically significant difference in these values in the measured erythrocytes colored by the Diff Quick and Giemsa staining method. By analyzing the general average, we conclude that there is no deviation that would be significant from the aspect of daily clinical work (DQ: G): area 36,994: 36,2038; volume 21,5062: 21,2703 and diameter 6,8382: 6,7903. The T-test pair in which comparison is made between different types of staining for each animal individually indicates that there is a statistically significant difference between DQ and G staining when it comes to surface and volume, but not about the erythrocyte diameter. DQ gives a slightly larger surface area and the circumference of the cell compared to G staining. However, these differences are not clinically significant. There is statistically significant positive correlation of volume, surface and erythrocyte erythrocyte dyed by DQ and G staining, indicating that there is comparability between these two types of staining.

**Key words:** staining, red blood cells, morphometry.

**Увод**

Морфометрија представља квантитативни опис геометријских структура у свим димензијама. Примењује се у различитим пољима дијагностике у клиничким лабораторијама и омогућава нумеричку оцену и најсуптилнијих промена недоступних визуелном прегледу (Dash и сар. 2015).

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Еритроцити паса су елементи крви облика биконкавног диска са добро израженим централним просветљењем које обично обухвата једну трећину до половине пречника ћелије, што се најбоље примети код добро припремљених крвних размаза у монолауер зони. Уколико је крвни размаз танак, централно просветљење се може губити на ивицама размаза где одбојне силе изобличују нормалну морфологију. Еритроцити пса не садрже једру ни органеле (Rizzi и сар., 2010, Adili и сар., 2016). Пречника су 6-8 $\mu$ m и већи су у поређењу са другим врстама домаћих животиња (Rizzi и сар., 2010). Фетални еритроцити су већи него код одраслих паса, њихов пречник се смањује током првих 9-12 недеља живота услед замене феталних еритроцита зрелим еритроцитима (Adili и сар., 2016).

Циљеви овог рада су да се утврди просечна вредност пречника, обима и површине еритроцита паса, као и да ли постоји статистички значајна разлика у овим вредностима код измерених еритроцита обојених методом бојења по Diff Quick и Giemsa бојењем.

#### Материјал и методе

У овом истраживању учествовао је 61 власнички пас различите старости, расе и пола, који су доведени због контролних или превентивних прегледа. Свим псима је урађена комплетна крвна слика и за истраживање су у обзир узети само пси код којих су све вредности параметара крвне слике биле у границама референтних вредности.

Узорци крви су код свих паса узорковани из цефаличне вене. Направљена су два размаза, један је бојен по Giemsa, а други бојен по Diff Quick. Коришћене су боје GM-OT-100 и BD-K-100 (Biognost).

Сви препарати су посматрани под светлосним микроскопом на увећању 100 $\times$  под имерзијом у оптималној зони размаза. На сваком размазу сваке појединачне животиње вршена је анализа је по 50 еритроцита, што значи да су код сваке животиње вршена мерења 100 еритроцита у два различита бојења. За сваки еритроцит мерена су три параметра: пречник, обим и површина. Укупно је измерено 6.100 еритроцита. Коришћен је микроскоп марке Olympus CX31, са камером ОРТКАМ модел 4083.В3 и софтвером Optika IsView. Морфометријска студија на црвеним крвним зрнцима је изведена поступајући по смерницама и инструкцијама произвођача софтвера.

Статистичка обрада подразумевала је израчунавање мера централне тенденције и варијације вредности испитиваних параметара. Направљена је дистрибуција фреквенције у виду хистограма за све испитиване параметре. Разлика у вредностима три испитана параметра вршена је помоћу т-теста за парове, где су поређене вредности од исте животиње бојене на два различита начина. Утврђена је и корелација мерених вредности између две врсте бојења коришћењем Пирсонове корелације. Коришћен је статистички пакет SPSS (USA).

#### Резултати

Након извршеног мерења морфометријских особина површине, обима и пречника еритроцита код 61 пса, бојених помоћу Diff Quick (DQ) и Giemsa (G) боја приступило се статистичкој обради добијених података. Дескриптивна статистика за измерене вредности морфометријских параметара приказана је у табели 1. Анализом општег просека запажа се да нема одступања која би била значајна са аспекта свакодневног клиничког рада (DQ:G): површина 36,994:36,2038; обим 21,5062:21,2703 и пречник 6,8382:6,7903. Т-тест парова у ком се врши поређење између различитих врста бојења за сваку животињу појединачно показује да постоји статистички значајна разлика између DQ и G бојења када се ради о површини и обиму, али не и о пречнику еритроцита (Табела 2). DQ даје нешто већу површину и обим ћелије у односу на G бојење. Ипак, као и код анализе општег просека запажамо да ове разлике нису клинички значајне. Постоји статистички значајна позитивна корелација обима, површине и пречника еритроцита који су бојени DQ и G бојењем, што указује на то да постоји компаративност између ове две врсте бојења (Табела 3).



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

**Табела 1.** Дескриптивна статистика за морфометријске особине еритроцита бојених у две врсте бојења

	DQ површина μm <sup>2</sup>	DQ обим μm	DQ пречник μm	G површина μm <sup>2</sup>	G обим μm	G пречник μm
Mean	36,9943	21,5062	6,8382	36,2038	21,2703	6,7903
Median	36,4522	21,3836	6,8048	35,9514	21,1704	6,7740
SD	3,39204	0,98133	0,32267	2,48519	0,67460	0,23879
Variance	11,506	,963	,104	6,176	0,455	0,057
Minimum	30,22	19,46	6,19	30,47	19,83	6,31
Maximum	44,93	23,73	7,55	41,75	22,73	7,31

**Табела 2.** Статистичка значајност т-теста парова

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	SD	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	DQ површина - G површина	0,79047	2,37719	0,30437	0,18164	1,39930	2,597	60	p < 0,01
Pair 2	DQ обим - G обим	0,23587	0,70917	0,09080	0,05424	0,41750	2,598	60	p < 0,01
Pair 3	DQ пречник - G пречник	0,04788	0,24262	0,03106	-0,01426	0,11002	1,541	60	p > 0,05

**Табела 3.** Корелација између испитиваних морфометријских особина еритроцита између две врсте бојења

		Correlation	Sig.
Pair 1	DQповrsina & Gповrsina	0,714	<0,0001
Pair 2	DQobim & Gobim	0,691	<0,0001
Pair 3	DQprecnik & Gprecnik	0,664	<0,0001

#### Дискусија

Морфометријска испитивања црвених крвних зрнаца су раније била базирана на линеарним мерењима њихове величине. И у данашње време, једини валидни и признат метод за мерење величине еритроцита подразумева употребу окуларног микрометра и микрометарске плочице (Adili и сар., 2016). Код овог приступа постоје значајне потешкоће у мерењу нелинеарних структура, какве су еритроцити, а на резултате мерења у многоме утиче људски фактор. Развојем савремене технологије, усавршени су софтвери који много брже и прецизније утврђују морфометријске карактеристике црвених крвних ћелија мерењем пречника, обима и површине ћелије, нису скупи и у значајној мери ограничавају људски фактор (Silva и сар., 2017).

На вредности мерења еритроцитних параметара утичу фактори пореклом од саме јединке (врста, раса, старост, регенеративни одговор, метаболички поремећаји, пре свега гвожђа, масти и електролита), затим фактори пореклом од патолошких процеса у организму као што су оксидативне повреде, имунолошки посредована оштећења, механичке фрагментације, сепса, токсини и на крају преаналитички фактори у које спадају грешке приликом узорковања крви, употреба антикоагуланата, грешке при прављењу и сушењу крвних размаза, неодговарајућа температура, влажност (Gavazza и сар., 2010). Код паса, пудле имају конституционалну

макроцитозу, док се код неких јапанских раса као што су Акита ину и Шиба ину јавља микроцитоза (Adili и сар., 2016).

Морфометријском анализом еритроцита паса у овом истраживању обухваћени су пси различитих раса, узраста и пола, без испитивања утицаја ових фактора на вредности параметара еритроцита. Када је у питању пречник еритроцита, утврђено је да се резултати мерења добијени овим истраживањем у великој мери подударају са међународним референтним вредностима које се цитирају у радовима аутора Meinkoth и Clinkenbeard (2000) и Rizzi и сар. (2010). Такође, резултати овог истраживања су готово идентични у погледу пречника еритроцита са мерењима аутора Adili и сар. (2016) код немачких овчара, а у односу на локалне Слуги псе (арабијске хртове) у истом раду, разлике у пречнику еритроцита у односу на наше истраживање су занемарљиве. Анализом општег просека нису утврђена морфометријска одступања од вредности параметара еритроцита бојених по Diff-Quick и Giemsa процедури која су значајна у свакодневном клиничком раду. Постоји статистички значајна позитивна корелација обима, површине и пречника еритроцита који су бојени DQ и G бојењем, што указује на то да постоји компаративност између ове две врсте бојења. Бојење по Giemsi нам пружа могућности боље оцене структуре еритроцита, јер се бојењем еритроцита на овај начин добија изражајнија структура. Код бојења по Diff Quick структура саме ћелије није толико изражена, али овај тип боје значајно скраћује време процеса и доста је постојанији у односу на Giemsa боје.

#### **Литература**

1. Adili N, Melizi M, Belabbas H, Bala A, Merad S, Bouali F, Bennoune O, 2017, Morphometric Study of Red Blood Cells in Sloughi and German Shepherd Dogs. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 20, 2, 125-130.
2. Adili N, Melizi M, Belabbas H, 2016, Species Determination Using the Red Blood Cells Morphometry in Domestic Animals. *Vet World*, 9, 960-3.
3. Belić B, Cincović MR, 2015, Patološka fiziologija. Udžbenik. Poljoprivredni fakultet-Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad.
4. Boyd SP, Best MP, 2018, Persistent Reticulocytosis in a Case of Poodle Macrocytosis. *Vet Clin Pathol*, 47,3,400-6.
5. Brenten T, Morris JP, Salt C, Raila J, Kohn B, Schweigert FJ, Zentek J, 2016, Age-associated and Breed-associated Variations in Haematological and Biochemical Variables in Young Labrador Retriever and Miniature Schnauzer Dogs. *Vet Rec Open*, e000166.
6. Dalal BI, Brigden ML, 2002, Artifacts that May Be Present on a Blood film. *Clin Lab Med*. 22, 1, 81-100.
7. Dash I, Mohanty PK, 2015, Morphological Features and Influence of Age and Breed on the Morphometry of Red Blood Cells of Female Cattle. *IJSR*. 4,2.
8. Gavazza A, Ricci M, Brettoni M, Gugliuci B, Pasquini A, Rispoli D., et al, 2014, Retrospective and Prospective Investigations about "Quatrefoil" Erythrocytes in Canine Blood Smears. *Veterinary Medicine International*. Article ID 409573.
9. Kidney BA, 2014, Meachem M.D. Morphometric Studies in Veterinary Cytology. *Vet Clin Pathol*. 43:305-9.
10. Rizzi TE, Meinkoth JH, Clinkenbeard KD, 2010, Normal Hematology of the Dog. *Schalm's Veterinary Hematology*, 799-810.
11. Shashni B, Ariyasu S, Takeda R, Suzuki T, Shiina S, Akimoto K, et al, 2018, Size-Based Differentiation of Cancer and Normal Cells by a Particle Size Analyzer Assisted by a Cell-Recognition PC Software. *Biol Pharm Bull.*, 41,4,487-503.
12. Silva I, Thananjayan K, Dissanayake DRA, Fernando WCR, Murugananthan M, 2017, Relationship of Mean Corpuscular Volume with Diametar and Surface Area of Canine Erythrocytes. *S L Vet J*. 64, 2, 13-16.

ПРИМЕНА ВИНКРИСТИНА У ЛЕЧЕЊУ ТРАНСМИСИБИЛНОГ  
ВЕНЕРИЧНОГ ТУМОРА КОД ПСА – ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

*THE USE OF VINCRISTINE THERAPY IN TRANSMISSIBLE VENEREAL  
TUMOR AFFECTED DOG – CASE REPORT*

*Иван Галић, Иван Станчић, Јован Спасојевић, Бојан Тохол, Марко Цицковић, Тијана Кукурић*

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

**Кратак садржај**

Трансмисибилни венерични тумор нарочито је заступљен код паса код којих се парење не одвија под контролисаним условима. Примена хемиотерапије, у овом случају винкрестина, показала се као одличан третман у лечењу овог обољења код паса са дијагнозом трансмисибилног венеричног тумора. Винкрестин се примењивао на седам дана и након четири третмана описане промене у вагини су нестале. Редовним контролама до сада, код пацијента нису примећени рецидиви годину и по дана након лечења хемиотерапијом.

**Кључне речи:** пас, трансмисибилни венерични тумор, винкрестин

**Summary**

Transmissible venereal tumor is most affected in dogs where mating is not under control conditions. The use of chemotherapy, in this case vincristine, showed us good results. In this treatment, vincristine was used every seven days and after four treatments changes in vagina disappeared. Under the regular controls, one and a half year after treatment there are no recurrently changes.

**Key words:** dog, transmissible venereal tumor, vincristine

**Увод**

Трансмисибилни венерични тумор (ТВТ или Стикеров сарком) је коитално преносиви тумор паса и чест је код сексуално активних паса који нису под контролом, односно налазе се на улици. Постоји неколико протокола лечења оваквих промена, али је хемиотерапија, примена винкрестина једна од најчешће позитивно описаних. У нашем случају после годину и по дана праћења пацијента након третмана, такође можемо рећи да је винкрестин ефикасно хемиотерапијско средство.

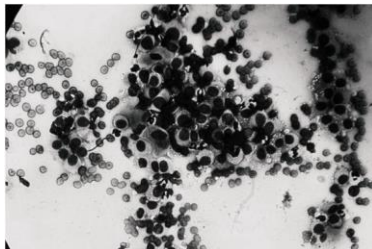
**Приказ случаја**

У октобру 2017. године на Клинику долази власник са псом расе амерички стафорд, женског пола, тежине 24 kg, коме је у претходној амбуланти постављена дијагноза перзистентног еструса. Анамнезу није било могуће узети у целости из разлога што је пас пронађен на Фрушкој Гори пре месец дана, када је и усвојен од стране садашњег власника. Општим клиничким прегледом, уз ултразвучну дијагностику и вагиналним прегледом постављена је основана сумња да се ради о трансмисибилном венеричном тумору.

Приликом ултразвучне дијагностике примећен је налаз садржаја у материци, а вагиналним прегледом уз леву страну вагиналног зида све до грлића материце примећена је хиперемична зид вагине са променама које подсећају на трансмисибилни венерични тумор у почетној фази. Грлић

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

материце вагиноскопским прегледом био је без особености и сув. Цитолошки брис вагине приказао је промењене округле до полиедарне ћелије са изузетно великим једрима, које нису одговарале физиолошком налазу епителних ћелија вагине, а одговарале су дегенерисаним ћелијама које се јављају код трансмисибилног венеричног тумора .



Слика 1. Цитолошки брис вагине са промењеним ћелијама

Због промена које су утврђене унутар материце приступило се овариохистеректомији. Макроскопски споља материца је била без промена у смислу боје, док је унутрашњи део (слузокожа) био црвен, а на неким местима и црн. Вагинално крварење је престало, али се након дванаест дана поново појавило. Наредне две недеље одређена је терапија кортикостероидом и антибиотиком (пронизон таблете 0,5mg/kg и енроксил таблете 5mg/kg), да би се уз опоравак након операције пацијент спремио за хемиотерапију.

Уследила је примена хемиотерапије по коме је доза винкрстина за овог пацијента износила 1mg по терапији (препоручена доза износи 0,5-0,75mg/m<sup>2</sup>) на седам дана. Пацијент је винкрстин добијао интравенозно, уз физиолошки раствор у виду инфузије. Дан након првог третмана код пацијента јавили се повраћање и пролив. Укључени су ондасан таблете у дози од 0,8mg/kg (два пута дневно), лоперамид таблете у дози од 0,2mg/kg (два пута дневно), пробиотик и активни угљ (два пута по једна капсула дневно). Вагинални преглед вршен је на сваких седам дана пре примене винкрстина, такође се са применом винкрстина није почињало пре претходног увида у комплетну крвну слику која није ни једном одступала испод референтних вредности. Укупно је извршено четири третмана, након чега вагиналним прегледом више нису постојале промене карактеристичне за трансмисибилни венерични тумор. Контролни прегледи врше се на сваких шест месеци и до сада (укупно три контролна прегледа) не постоји рецидив тумора.

#### Дискусија и закључак

Трансмисибилни венерични тумор је тумор који се најчешће јавља код паса који немају надгледану репродукцију, односно код паса који се налазе на улици. Овај тумор је јединствен, преноси се природним путем (полно преносив), код кога је сама мутирана ћелија узрочник. Анамнеза, клинички преглед и цитолошки брис, најчешће су довољни за постављање коначне дијагнозе (Ganguly и сар., 2016; Martinis и сар., 2005). Карактеристичан цитолошки брис, са промењеним епителним ћелијама (округле до полиедарне) које подлежу дегенерацији, какав је био и у нашем случају, описују многи аутори и са високом сигурношћу потврђују тачност дијагнозе само на основу таквог налаза (Cockill и Beasley, 1975; Das и сар., 1990; Ganguly и сар., 2016; Richardson, 1981).

У студији која је обухватила четири мужјака и шест женки паса којима је хистолошки дијагностикован трансмисибилни венерични тумор, група аутора (Tella и сар., 2004) такође описује примену винкрстина у четири терапије до потпуног излечења, што се подудара са нашим случајем. Група аутора (Nak и сар., 2005) на популацији од 38 паса, потврђује успешност терапије винкрстином и излечење 31 пса са 4-7 терапија. У овој групи од 38 паса, један пас је угнуо, након примљене 5 терапије, док је код 6 паса било потребно наставити лечење и другим цитостатиком-дексорубицином. Поред винкрстина и дексорубицина, описани су и други цитостатици у циљу лечења, попут циклофосамида (Pandey и сар., 1989), метротрексата (Theilen

и Madewell, 1987), као и комбинације нека од ова два цитостатика. Винкрестин је постао лек избора за лечење трансмисибилног венеричног тумора и укључен је у протоколе лечења од осамдесетих година прошлог века (Amber и сар., 1990; Calver и сар., 1982). Многа истраживања показују да је винкрестин без комбинације са осталим цитостатикима, једном недељно, најбољи протокол лечења, без обзира на величину тумора, метастазе и трајање болести. Стопа излечења је приближно 100%, нарочито када је тумор у почетној фази, какав је био у нашем случају (Boscoss и сар., 2004). Ипак, Scarpelli и сар. (2010) сугеришу да већа маса тумора, старост животиње и терапија током топлијих месеци, неповољно утичу на успех терапије. Они даље напомињу да пол, раса и телесна маса пса, немају никаквог утицаја на успешност терапије. Нежељене реакције, као и у нашем случају, могу се догодити у 20% случајева, али се оне додатним медикментима санирају за један до два дана. Леукопенија која се може јавити углавном је пролазна, а само 2% паса захтева додатно праћење и лечење, која некада може бити и разлог прекида терапије. Протокол који смо и ми применили захтева праћење комплетне крвне слике пре сваке терапије и у нашем случају пролазне леукопеније није било. Vilensky и сар. (2005) описали су примену васкуларно циљане фотодинамичке терапије као алтернативу примене цитостатика и закључили да оваква терапија може ефикасно лечити трансмисибилни венерични тумор у једној серији, за разлику од хемиотерапије код које је потребно четири до шест третмана, што би у будућности могло да замени тренутну примену цитостатика у лечењу овог тумора. Терапија зрачењем такође је показала успешност лечења, али због потребе за стучним особљем и опремом није финансијски најповољнија (Das и Das, 2000). Нируршко лечење се примењује од прошлог века, са ниским степеном ефикасности, што резултира великим бројем рецидива (од 18-60% рецидива) (Dass и Sahay, 1989).

Посебну пажњу треба обратити на опште функционисање орагнизма, јер иако трансмисибилни венерични тумор ретко метастазира, описане су његове метастазе у регионалним лимфним чворовима, плућима, јетри, панкреасу, очној шупљини, па чак и на мозгу (Boscoss и сар., 1998; Ferreira и сар., 2000).

Винкрестин представља веома ефикасну терапију у циљу лечења трансмисибилног венеричног тумора паса. Ако се јаве нежељене реакције на овај лек потребно је укључити додатне медикаменте како би се очувало задовољавајуће здравствено стање пацијента, да би се са хемиотерапијом могло наставити. Важно је напоменути и да вагинални преглед женки, као и преглед препуцијума мушких паса не би требало изостављати приликом општег прегледа, него га уврстити у рутину управо због могућности појаве трансмисибилног венеричног тумора.

#### Литература

1. Amber EI, Henderson RA, Adeyanju JB, Gyang EO, 1990, Single-drug chemotherapy of canine transmissible venereal tumor with cyclophosphamide, methotrexate or vincristine, *J Vet Intern Med*, 4, 144-7.
2. Boscoss CM, Ververidis HN, 2004, Canine TVT Clinical findings, diagnosis and treatment, *Sci Proc WSVA-FECAVAHVMS World Congress, Rhodes, Greece*, 2, 758-61.
3. Boscoss CM, Ververidis HN, Tondis DK, Stamou AI, Samartzi FC, 1998, *Ocular involvement of transmissible venereal tumor in a dog*, *Vet Ophthalmol*, 1(2-3), 167-70.
4. Calvert CA, Leifer CE, MacEwen EG, 1982, *Vincristine for treatment of transmissible venereal tumor in the dogs*, *J. Am Vet Med Assoc*, 181, 163-4.
5. Cockrill JM, Beasley JN, 1975, *Ultrastructural characteristics of canine transmissible venereal tumor at various stage of growth and regression*, *Am J of Vet Res*, 36, 677-81.
6. Das AK, Das U, Das D, Sengupta J, 1990, *Histopathological study of canine transmissible venereal tumour*, *Indian Vet J*, 67, 473-4.
7. Dass LL and Sahay PN, 1989, *Surgical treatment of canine transmissible venereal tumour a retrospective study*, *Indian Vet J*, 66, 255-8.
8. Das U, Das AK, 2000, *Review of canine transmissible venereal sarcoma*, *Vet Res Commun*, 24, 545-56.
9. Ferreira AJ, Jaggy A, Varejao AP, Ferreira ML, Correia JM, Mulas JM et al., 2000, *Brain and ocular metastases from a transmissible venereal tumor in a dog*, *J Small Anim Pract*, 41(4), 165-8.
10. Ganguly B, Das U, Das AK, 2016, *Canine transmissible venereal tumour a review*, *Vet Comp Oncol*, 14(1), 1-12.
11. Martinis MIM, Ferreira SF, Gobello C, 2005, *Canine transmissible venereal tumor Etiology, pathology, diagnosis and treatment*, *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, 2005.
12. Nak D, Nak Y, Cangul IT, Tuna B, 2005, *A Clinico pathological Study on the Effect of Vincristine on Transmissible Venereal Tumour in Dogs*, *J Vet Med*,

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

- 52, 336-70. 13. Pandey SK, Chandpuria VP, Bhargava MK, Tiwari SK, 1989, *Incidence, treatment, approach and metastasis of canine transmissible venereal sarcoma*, Indian J Anim Sci, 59, 510-3. 14. Richardson RC, 1981, *Canine transmissible venereal tumor*, Comp Contin Educ Pract Vet, 3, 951-6. 15. Scarpelli KS, Valladao ML, Metze K, 2010, *Predictive for the regression of canine transmissible venereal tumor during vincristine therapy*, Vet J, 183, 362-3. 16. Tella MA, Ajala OO, Taiwo VO, 2004, *Complete regression of transmissible venereal tumor TVT in Nigerian mongrel dogs with vincristine sulphate chemotherapy*, Afr J Biomed Res, 7, 133-8. 17. Theilen GH and Madewell BR, 1987, *Clinical Application of cancer chemotherapy*, Veterinary Cancer Medicine, Lea and Febiger Philadelphia, 183-96. 18. Vilensky J, Koudinova NV, Harmelin A, Scherz A, Salomon Y, 2005, *Vascular targeted photodynamic therapy VTP of a canine-transmissible venereal tumour in a murine model with Pd-bacteriopheophorbide WST09*, Vet Comp Oncol, 3, 182-93.

---

***ТЕМАТСКО ЗАСЕДАЊЕ VIII***  
***THEMATIC SESSION VIII***

**Слободне теме**

***Free topics***

---





**СТОЧАРСТВО – АКТУЕЛНО СТАЊЕ И ПЕРСПЕКТИВА**

*Ненад Будимовић*

Привредна комора Србије, Удружење за сточарство и прераду сточарских производа, Београд, Република Србија

**ПОЉОПРИВРЕДА СРБИЈЕ**

Пољопривреда Србије представља напреднији део укупне привреде земље, јер бележи већи раст и боље трендове него многи други сектори. С друге стране у вези са њом владају нереалне претставе и очекивања: да Србија треба да буде пољопривредна велесила, да Војводина може да храни пола Европе или пак да су наши производи најукуснији и најздравији. Србија чини 0,8 одсто земљишних површина у Европи. Многе европске земље имају дужу пољопривредну традицију, велику домаћу потражњу за квалитетним производима, приватне и државне инвестиције у науку и нове технологије, као и бројне друге конкурентске предности. Нема сумње да пољопривреда Србије може много више него до сада да допринесе укупном развоју земље, али нереални захтеви и њима руковођене мере аграрне политике могу само да изазове контра ефекте.

Република Србија има повољне природне услове за развој сточарства, с обзиром да располаже са преко 650 хиљада ха сталних травњака високог квалитета и значајним неискоришћеним капацитетима (објектима), за смештај и узгој стоке. Међутим, и поред постојања повољних услова, ова грана пољопривреде већ трећу деценију бележи негативне трендове - само током последњих десет година број условних грла по хектару коришћене пољопривредне површине смањен је са 0,60 ха на 0,53 ха.

Садашња структура домаће пољопривреде, са аспекта организационог облика учесника у пољопривредној производњи, веома је неповољна, с обзиром да највеће учешће у структури производње имају породична пољопривредна газдинства. У Републици Србији не постоје произвођачке организације и произвођачке групе у форми какве постоје у ЕУ. Број постојећих удружења, која су уско дефинисана и организована према врсти производње, изузетно је велики, посебно у области примарне пољопривредне производње. Удружења произвођача су слабо развијена, а њихова улога и активности су ограничене. Већина удружења произвођача налази се на ниском степену организованости, који карактерише низак степен професионализације и недостатак стручног управљачког кадра. Последњих година удружења су све видљивија, пре свега у ситуацијама када се појаве проблеми на тржишту, али је њихова преговарачка моћ углавном ниска због високе зависности од прерађивачке индустрије

Услед још увек малог броја квалитетних приплодних грла, као и недовољног нивоа квалитета производа сточарства (млека, меса, итд.) и нижих производних карактеристика у поређењу са земљама са развијеним сточарством и земљама чланицама ЕУ, евидентна је неконкурентност наше производње у поређењу са произвођачима у тим земљама. У циљу повећања броја квалитетних приплодних грла, као и побољшања конкурентности и квалитета производа сточарства, неопходно је подстицати гајење квалитетних приплодних грла.

Подстицањем гајења квалитетних приплодних млечних и товних крава подстиче се повећање производње по грлу, и то кроз узгој грла, чија је производња контролисана и која правилном селекцијом могу произвести грла вишег квалитета у односу на популацију. На овај начин унапређује се расни састав стада, чиме се стварају услови за ефикасну производњу, уз оптимизацију трошкова производње, како млека, тако и меса. Дугогодишњом реализацијом подстицаја за квалитетна приплодна грла значајно се повећала производња по грлу, што је од изузетног значаја имајући у виду да се број говеда годинама смањивао. Када је реч о области свињарства, производња по крмачи је у нашој земљи испод просека у поређењу са развијеним

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

земљама. Подизање нивоа производње могуће је једино гајењем квалитетних приплодних грла, која испољавају производне карактеристике, карактеристичне за одређене племените расе свиња, а које се огледају пре свега у високој плодности и меснатости.

#### **ПРОИЗВОДЊА МЛЕКА**

Млекарство је сектор који бележи пад у производњи, уочљив кроз смањење броја млечних грла. Садашња производња млека је на нивоу од око 1,5 милијарди литара годишње, од чега се од стране млекара откупи више од половине укупне производње. Остатак произведеног млека пласира се на зеленим пијацама или кроз директну продају (углавном кроз прерађене производе). И поред смањења процентуалног учешћа млека, које се троши и прерађује ван млекара, овај проценат је и даље изузетно висок и чини нешто испод половине укупно произведеног млека, што представља значајно отежавајућу околност приликом контроле безбедности и квалитета, али и у процесу прилагођавања заједничкој пољопривредној политици.

Производња крављег млека у укупној вредности пољопривредне производње је учествовала са 6,3%, чинећи га тако једним од највреднијих производа српске пољопривреде. Према извештајима Управе за ветерину и лабораторијских испитивања млекара, квалитет откупљеног млека је у константном порасту. Међутим, потребно је да произвођачи млека додатно унапређују своју производњу како би достигли квалитет млека, какав је у ЕУ. Оваква потреба нарочито постоји код малих газдинстава са једном до три краве. У 2018. години, укупна производња крављег млека је на скоро непромењеном нивоу као и претходне године. Након пар година превирања на светском тржишту млека, изазваног трговинским санкцијама између Европске уније и Русије, крајем године је дошло до стабилизације цена на тржишту Европске уније, услед налажења нових тржишта, што је утицало и на домаће цене. Очекивање је да ће се у наредном периоду ситуација стабилизovati, без раста цене млека и млечних производа. Такође, очекује се да ће потписивање новог Споразума о слободној трговини са Евроазијском унијом имати благи позитиван утицај на количину произведеног млека. Од укупне количине произведеног крављег млека, током 2018. године је откупљено око 842 милиона литара или 56%. Национална лабораторија за контролу квалитета сировог млека у току 2017. године је почела са радом и врше се прва тестирања млека на квалитет. Током 2018. године лабораторија је акредитована и добила је све неопходне дозволе за рад. Очекује се да ће функционисање ове лабораторије значајно поспешити и унапредити квалитет сировог млека у Србији. У Републици Србији је тренутно активно око 130 млекара. Највећи број је средњих млекара, док велике индустријске млекарне чине нешто више од 10% укупног броја млекара. Међутим, и поред тог високог учешћа малих занатских млекара у укупном броју млекара, њихови капацитети чине свега 4% инсталисаних прерадних капацитета, док је учешће капацитета средњих млекара на нивоу од око 6% инсталисаних прерађивачких капацитета за прераду млека. Истовремено, велике индустријске млекарне покривају чак 90% постојећих прерађивачких капацитета. Искоришћеност капацитета је око 60%, али очекује се да ће доћи до смањења броја млекара, односно опстаће само оне млекарне, које су својим обимом производње и/или квалитетом производа способне да остваре профит, да се прилагоде стандардима ЕУ и тако опстану на тржишту.

#### **ПРОИЗВОДЊА МЕСА**

Производња меса у Републици Србији има дугу традицију и неки од највећих успеха пољопривреде Републике Србије везују се управо за производњу меса. Данас је производња меса препуна структурних проблема и бележи негативне трендове. Иако је производња свињског меса количински најзначајнија, говедарство има највећи удео у укупној вредности сточарске производње у Републици Србији, због више цене меса и вредности грла, као и чињенице да многа грла служе за производњу млека.

Тржишни ланац у производњи меса у великој мери је неорганизован и кратак, с обзиром да се значајан део производње реализује на газдинствима малих произвођача, са претежно екстензивном, али ценовно конкурентном производњом. Ипак, највећи део производње се откупљује преко кланица (директно или преко посредника), чиме се ланац продужава и остварује додата вредност производа.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Учешће производње говеђег меса у укупној вредности пољопривредне производње у претходној години је износило 5,4%, док је просечна бруто домаћа производња говеђег меса у последњих неколико година на нивоу од око 81 хиљаде. Домаћа потрошња говеђег меса је нешто испод нивоа производње и креће се између 67 и 77 хиљада тона годишње, односно око 10 кг по становнику. Производња говеђег меса је грана пољопривреде у којој централна Србија има потенцијал да буде конкурентна, првенствено због значајних потенцијалима у испаша, али и због приступа ценовно конкурентној сточној храни из Војводине. Производња је претежно концентрисана у централној Србији и то у руралним подручјима (чак 4/5 говеда). Потенцијал за производњу меса је значајан, али недовољно искоришћен, производња је већином екстензивна са застарелом технологијом. Србија никад у новијој историји није била конкурентна у производњи свињског меса на европском и светском тржишту, па је нералано да то буде сада. Основни ограничавајући фактори јесу: недостатак најквалитетније генетике по приступачним ценама, висока цена сојине сачме у поређењу са конкуренцијом, низак ниво хигијене и здравствене заштите у већини узгојних објеката, велике осцилације у цени изазване затвореношћу тржишта, мали број откупљивача што умањује преговарачку моћ произвођача и на тај начин смањују профит који би могао да иде у инветсиције. Наравно да то не значи да поједини произвођачи у Србији нису или не могу бити конкурентни на светском тржишту. Међутим, због у немогућности извоза у ЕУ они немају корист од тога. Учешће производње свињског меса у укупној вредности пољопривредне производње је било на нивоу од 9,7%. Бруто домаћа производња свињског меса последњих година је на нивоу од око 300 хиљада тона. Цикличност производње, ценовна неконкурентност у односу на произвођаче у ЕУ (у готово свим врстама производње меса и код већине произвођача) и немогућност извоза на тржиште ЕУ термички необрађеног свињског меса основни су проблеми производње меса у Републици Србији у последње две деценије.

У Србији у последњих десетак година дошло је мале аграрне револуције. Пољопривредници су схватили како тржиште функционише и нису чекали да им држава реши проблеме или створи идеалне услове, него су преузели ризик и новац којим су располагали, било да су га зарадили или су се задужили, улагали у земљу – закупљујући је или купујући. Четири битне ствари су највише утицале на ове промене. Прво, отварање граница и омогућавање приступа страним инпутима, технологијама и механизацији; друго, развој тржишта кредита; треће, изношење на тржиште државног земљишта и омогућавање свима да кроз фер поступак дођу до њега и, четврто, високе цене житарица и уљарица које нису покренуле, али су убрзале процес укрупњавања.

Тржишни ланац српске производње је кратак, неопходно је продужити га, целом дужином легализовати и укључити малог произвођача у ланац. Одговор на питање када и на који начин продужити ланац политичким реформама треба да допринесе задовољењу потреба безбедности хране и смањења сивог тржишта, као и у највећем делу да дефинише степен развоја пољопривреде земље која тежи да постане део Европске уније. У Србији доминирају мали произвођачи за које је увођење стандарда често недостижно и неисплативо, док је с друге стране великим произвођачима неопходна стандардизација како би могли да извозе своје производе. Овај конфликт дефинише брзину и квалитет реформи у пољопривреди. Покушаји да се задовоље обе стране често резултира великим неправдама и нерегуларностима.

**WORKING TOGETHER WITHIN THE CONCEPT ONE HEALTH IN THE BATTLE AGAINST  
THE GLOBAL THREAT OF THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE – THE EXPERIENCE IN  
THE REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA**

**ЗАЈЕДНИЧКИ РАД НА КОНЦЕПТУ ЈЕДНОГ ЗДРАВЉА У БОРБИ ПРОТИВ ГЛОБАЛНЕ  
ПРЕТЊЕ АНТИМИКРОБНЕ РЕЗИСТЕНЦИЈЕ – ИСКУСТВО РЕПУБЛИКЕ СЕВЕРНЕ  
МАКЕДОНИЈЕ**

*М. Јошески, М. Величковска*

Агенција за храну и ветерину, Република Северна Македонија

**Summary**

Antimicrobial resistance (AMR) presents complex, multidisciplinary problem that threatens human and animal health. Multiple sectors have a key role in the development and spread of AMR, not just in the veterinary medicine, but in the human medicine, ecology and environment. The proper use of antimicrobials, the correct handling of multidrug-resistant pathogens and exchange of information between the government organizations, national and international bodies is essential in the battle against the global threat of the AMR.

The purpose of the study was to determine the spread of antimicrobial resistance in food-producing animals according to Commission Implementing Decision 2013/652/EU on the monitoring and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria, harmonized in the Program for antimicrobial resistance for the period 2017-2021 (“Official Gazette of the Republic of Macedonia” no.49/17) and to make comparison with the data about the spread of antimicrobial resistance in human medicine in routine antibiotic susceptibility testing of clinical bacteriology blood and CSF cultures in microbiology laboratories. Samples were collected at the A total number of 248 samples and 92 isolates was collected for detection of antimicrobial resistance from slaughterhouse, fecal samples from poultry laying farms or retail meat samples. Samples were tested for *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni* and Indicator commensal *Escherichia coli (E. coli)*. The broth microdilution method and commercial prepared plates in accordance with the Decision 2013/652 were used to test the antimicrobial susceptibility of bacteria. For the blood samples and CSF cultures disk diffusion methods and automated systems were used. A total number of 255 isolates were used for antimicrobial susceptibility in 2017 for *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis* and *E. faecium*.

**Key words:** Antimicrobial resistance, AMR, indicator microorganisms

**Кратак садржај**

Антимикробна резистенција (АМР) представља сложен, мултидисциплинарни проблем који угрожава здравље људи и животиња. Бројни сектори имају кључну улогу у развоју и ширењу АМР-а, не само у ветеринарској медицини, већ и у хуманој медицини, екологији и животној средини. Правилна употреба антимикробних лекова, правилно руковање мултирезистентним патогенима и размена информација између владиних организација, националних и међународних тела су од суштинског значаја у борби против глобалне претње АМР-а.

Сврха студије била је утврђивање ширења антимикробне резистенције на животињама које производе храну у складу са Имплементирајућом Одлуком Комисије 2013/652 / ЕУ о праћењу и извештавању о антимикробној отпорности на зооноске и комменсалне бактерије, усклађеним са

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

Програмом за антимикробну резистенцију за период 2017-2021 ("Службени гласник Републике Македоније" бр.49 / 17) и направи поређење са подацима о ширењу антимикробне резистенције у хуманој медицини у рутинском тестирању осетљивости на антибиотике клиничке бактериолошке крви и култура ЦСФ у микробиолошке лабораторије Узорци су прикупљени у укупном броју од 248 и прикупљено је 92 изолата за откривање антимикробне резистенције из кланица, узорака фекалија са живинских фарми или узорака меса из малопродајних објеката. Узорци су тестирани на *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni* и индикатор коменсал *Escherichia coli (E. coli)*. За тестирање антимикробне осетљивости бактерија коришћени су метод микродилуције у бујону и комерцијално припремљене плоче у складу са Одлуком 2013/652. За узорке крви и културе ЦСФ коришћене су методе дифузије диска и аутоматизовани системи. Укупан број од 255 изолата коришћен је за антимикробну осетљивост у 2017. години за *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis* и *E. faecium*.

**Кључне речи:** Атимикробна резистенција, АМР, индикатор микроорганизми

УНАПРЕЂЕЊЕ НАСТАВНИХ МЕТОДА НА ПРЕДМЕТИМА ИЗ ОБЛАСТИ  
ПАТОЛОШКЕ ФИЗИОЛОГИЈЕ НА ДЕПАРТМАНУ ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ  
МЕДИЦИНУ У НОВОМ САДУ – ПРЕДСТАВЉАЊЕ ПРОЈЕКТА “ПАФИЛАБ”

*IMPROVING TEACHING METHODS ON MATTERS IN THE FIELD OF PATHOPHYSIOLOGY  
AT THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE IN NOVI SAD –  
PRESENTATION OF "PAFILAB" PROJECT*

*Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Ивана Лакић*

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

**Кратак садржај**

Први предмет где студенти детаљно изучавају етиологију и патогенезу болести, односно законе настанка болесних стања и развоја болесних процеса је Патолошка физиологија. Реализација пројекта за унапређење високог образовања “ПАФИЛАБ”, које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Србије довела је до иновације наставни процес на предметима из области патолошке физиологије. Овим пројектом се: повећавају компетенце наставника и студената на лабораторијским предметима кроз увођење интерактивних водича за рад и формативне процене знања студената помоћу ИТ технологија у реалном времену у току наставе; уводи анализа реалних случајева са ветеринарске клинике факултета и рад на информатичкој бази података клинике; уводи прикупљање и обрада научне литературе из признатих база података у свакодневну наставу; уводе елементи дуалног образовања кроз укључивање студената у свакодневни рад са привредним субјектима који сарађују са факултетским лабораторијама; повећавају предузетничке вештине кроз повећано познавање лабораторијске услуге и тржишта опреме и технологије.

**Кључне речи:** ветеринарска медицина, патолошка физиологија, наставне методе, компетенце

**Summary**

Pathophysiology is the first subject where students study the etiology and pathogenesis of the disease in detail and the laws of development of illnesses. The realization of the project for the improvement of higher education "PAFILAB", financed by the Ministry of education, science and technological development of Serbia leads to innovation in the teaching process on subjects in the field of pathological physiology. Outcomes of this project are: increasing the competencies of teachers and students in laboratory subjects through the introduction of interactive work guides and formative assessment of students' knowledge by real-time IT technology during classes; the analysis of real cases from the veterinary clinic of the faculty and the work on the information database of the clinic is introduced; the collection and processing of scientific literature from recognized databases into daily classes is introduced; introducing elements of dual education through the involvement of students in everyday work with business entities working with faculty laboratories; entrepreneurial skills are enhanced through increased knowledge of laboratory services and equipment and technology markets.

**Key words:** veterinary medicine, pathophysiology, teaching methodology, competences

#### **Место и значај патолошке физиологије**

Први предмет где студенти детаљно изучавају етиологију и патогенезу болести, односно законе настанка болесних стања и развоја болесних процеса је Патолошка физиологија. Патолошка физиологија према Пекингској декларацији о положају овог предмета у биомедицинском курикулуму се дефинише као предмет, који се изучава интегративно, односно омогућава студентима директну примену базичних медицинских знања на одређене клиничке случајеве, те препознавање основних принципа болести у различитим клиничким случајевима. Вештине првог дана студената ветеринарске медицине су компетенце, које студент мора да има на дан дипломирања, а одређене су од стране ветеринарских регулаторних тела (EAEVE, OIE, FVE, КАРК), дате у европској директиви 2005/36/ЕЗ. У вештинама првог дана дефинисано је да доктори ветеринарске медицине на дан дипломирања знају да јасно и прецизно напишу извештај о клиничком случају, да прикупе, упакују и пошаљу узорке за лабораторијску анализу и да тумаче резултате, користе лиценцирану литературу, управљају медицинским отпадом и креирају превентивне и профилатичке програме.

#### **Развој дигиталних компетенци током реализације ПАФИЛАБ пројекта**

На предмету општа и специјална патолошка физиологија ИТ технологија ће се користити за обављање формативне процене знања током трајања наставе, тако што ће питања из базе података бити усклађена са током уводног дела наставе, а одговори студената дати током наставе представљају доказ да су студенти слушали, запамтили и на појединим местима схватили материју. Поред наведеног, студенти ће истраживати научне базе података по јасно утврђеној методологији *evidence based medicine* (PICO/CAPO начин рада) током писања семинарских радова и биће у обавези да на адекватан начин, у односу на задату тему, направе филтере за претраживање радова и података, користећи базе података као што су Serbian Sci, ELSEVIER, NCBI и осталих издавача односно библиотека. Студенти ће писати извештаје о извршеним лабораторијским анализама у електронској форми и припремати их за издавање. Цео процес ће бити персонализован, јер ће се обезбедити 15 таблета, које ће студенти имати током вежби и моћи ће да их користе током наставе и самог практичног извођења лабораторијских вежби у реалном окружењу. Део анализа ће радити у рачунарској лабораторији факултета.

На предмету лабораторијске технике у патолошкој физиологији – ИТ технологија ће се користити на начин што ће студенти лабораторијске методе изводити помоћу праћења интерактивног сајта, који ће бити уједно и водич за рад, а методом погрешке и покушаја на кључним тачкама, омогућиће се тренутно кориговање лабораторијског рада. Друго, студенти ће користити софтвер апаратуре из лабораторије, која служи за аналитичку контролу квалитета и користити основне алате за процену прецизности рада на основу софтверске анализе података. Студенти ће бити упознати са основама рада у лабораторијским информационим системима.

На предмету клиничка патофизиологија – Студенти ће радити са пацијентима факултетске ветеринарске клинике користећи софтвер ветеринарске клинике. Софтвер има велики број правила за уношење података, а постоји врло занимљиво међулице (interfejs) и могућност сумирања клиничких и лабораторијских података по различитим критеријумима, што ће допринети порасту информационе писмености. Поред наведеног, студенти ће интерпретирати клиничке случајеве са аспекта патофизиологије, односно механизма настанка таквог клиничког стања, а своја тумачења ће морати да потврде наводима из литературе.

#### **Развој предузетничких компетенци током реализације ПАФИЛАБ пројекта**

Описаћемо основне предузетничке компетенце, које ћемо подстицати на предметима из области патолошке физиологије и лабораторијске дијагностике.

Препознавање прилика – студенти ће бити обучени да препознају прилику за укључивање лабораторијских анализа у процесу процене здравља и продуктивности животиња. Познавањем механизма болести животиња, моћи ће да објасне прилику за стварање вредности, која се зове лабораторијска дијагностика. Овај исход ће бити мерен кроз питања за формативну процену знања студената у реалном времену оком извођења наставе (где ће бити укључено компјутерско праћење), кроз рад на клиничким случајевима, где ће моћи да на појединачној животињи примене

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

индикације за лабораторијску дијагностику и кроз рад са ветеринарским субјектима за које ће креирати посебне дијагностичке панеле за њихове потребе и рад на фарми, где ће на основу разговора са фармерима и на основу анализе узорка моћи да сагледају прилику за директну контрибуцију лабораторије у процени здравља и продуктивности животиња.

Креативност – Увођењем самосталног рада у лабораторији уз контролу сопствених корака помоћу интернет технологија, које ће бити уведене, моћи ће да испитују своје вештине и компетенције у ситуацијама које су нове. Коришћењем база научних података током наставе студент ће моћи да комбинује познавање различитих случаја са преносом знања идеја и решења у сваки појединачни клинички случај или захтев лабораторији. Ови исходи ће бити процењивани оценом прецизности рада студената у лабораторији и кроз решавање појединачних клиничких случајева на практичном делу испита и колоквијума.

Визија – подразумева да студент може да замисли исход који је пожељан, да може да предвиди и развије одређену ситуацију у будућности, може да препозна, које су промене потребне за остваривање визије и може да направи план рада на основу своје визије. Ова предузетничка вештина биће оцењена кроз пројектне задатке, који се односе на менаџмент лабораторије, маркетинг лабораторијских активности или израду алгоритама за дијагностику појединих поремећаја здравља животиња.

Вредновање идеја – Познавање тачних механизма настанка, развијања и методологије дијагностике болести, што је предмет изучавања предмета области патолошка физиологија могуће је ако се на прави начин вреднују научне информације, које ће студенти бити обучени да пронађу, вреднују и користе помоћу ИТ технологија и база података, која ће се користити када се током имплементације пројекта имплементирају принципи примене медицине засноване на законима (евиденце басед медицине). Студенти ће анализом литературе и адекватном претрагом моћи да нађу примере идеја, које имају вредност за њих и друге. Ова компетенција ће бити оцењена применом PICO/CAPO система за решавање одређеног проблемског задатка.

Етика и одрживи развој – Познавањем механизма болести студенти ће знати прецизно да препоруче лабораторијске анализе, тако да се постигне највећи ефекат у дијагностици. Студенти ће знати да укажу на разлику, која ће се постићи применом активности, коју препоручују у односу на њено непримењивање и моћи ће да идентификују заинтересоване стране на које утиче њихова активност (власник, пацијент, ветеринар-клиничар, фармер) тако што ће омогућити трајно стварање нове вредности код корисника услуге.

Финансијска писменост – Студенти ће знати да објасне разлике између цене лабораторијских анализа и користи, коју ће корисници добити применом резултата. Овај исход ће бити оцењен кроз израду заједничког пројектног задатка.

Решавање нејасних ситуација – Применом ИТ технологија и коришћењем база релевантних података током процене различитих клиничких случајева и процене укључивања лабораторијске дијагностике у рад ветеринарског субјекта, студент ће моћи да: активно тражи, упоређује и супроставља различите изворе информација, које доприносе смањивању двосмислености, несигурности и ризика у одлучивању; обједини различите ставове, да би донео адекватну одлуку, када је степен неизвесности висок; припреми одговарајуће стратегије за прикупљање и праћење података, да би одлучивање било засновано на чврстим доказима

Учење путем искуства – Студенти ће захваљујући платформи за формативну процену знања током наставе, те платформи која прати кораке у извођењу лабораторијских анализа и коришћењем научних података из база података током извођења наставе, решавања практичних задатака и писања пројеката стећи следеће предузетничке компетенце: да пронађу примере великих грешака из којих је настала вредност; да наведу примере привремених неуспеха, који су водили ка успешним постигнућима; да промишљају о неуспесима (својим и других људи), идентификују њихове узроке и уче из њих; да размишљају о својим (или тимским) постигнутим резултатима и привременим неуспесима током времена, тако да уче и унапређују своје вештине на стварању вредности. Овај исход ће бити мерен кроз све видове наставе, биће повезане са одређеним типом учења, које ћемо на почетку одредити у студентској популацији помоћу VARK теста и биће повезан са резултатима испита и квалитетом радова, које ће студенти изводити током наставе и на испиту.

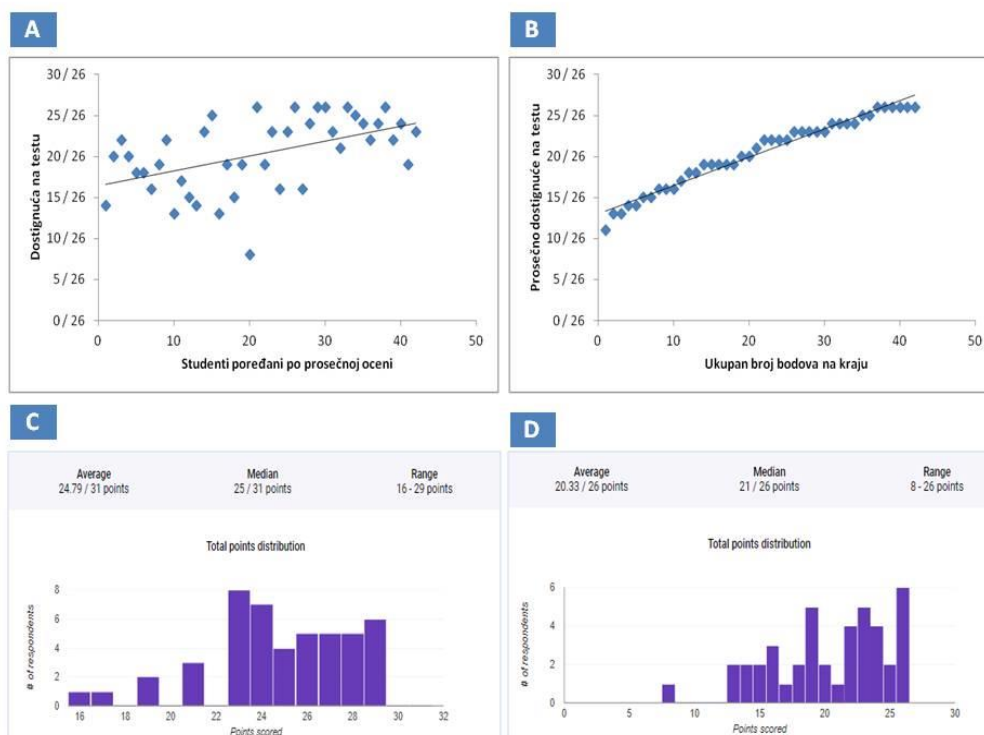


### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

#### Валидност, предиктивност и осетљивост формативне процене знања студената преко тестова на ИТ платформама после увођења нових наставних метода

Да бисмо оценили увођење нових наставних метода и њихов могући позитиван ефекат на достигнућа студената урадили смо процену тестова које су радили. Резултати испитивања су показали да се достигнућа на тесту налазе у позитивној корелацији са општом просечном оценом студената, што показује ваљаност/валидност новог начина испитивања са питањима на која се може дати одговор ако је студент учио, радио практично и савладао коришћење ИТ извора и литературе. Предиктивна способност тестова изражених по новим методама добијена је поређењем два највећа теста, која су рађена после завршетка две велике области. Упаривањем вредности просека ова два теста са укупним бројем достигнутих предиспитних бодова на крају закључили смо да постоји висок степен њиховог слагања, па је рана предикција достигнућа студената могућа. Резултати су приказани на слици 1, А и В.

Осетљивост тестова коришћених за процену знања. У основи осетљивости теста знања је способност, карактеристика, својство теста којим се чини разликовање испитаника с обзиром на њихова знања, која су предмет мерења. Тест је осетљив ако се њиме могу добро разликовати испитаници према знањима, која су предмет мерења. Уколико су способности теста да уочи и најдискретније нијансе у успешности ученика на једном тесту веће, то је његова дискриминативност већа. Уколико је тест осетљивији, утолико даје већи број различитих резултата. Резултати испитивања показују да су више осетљива питања вештина, у односу на питања препознавања и досећања/закључивања. На графиконима су приказани резултати из базе података тестова за формативну процену знања које смо споровдили током школске године. Резултати су приказани на слици 1, С и D.



Слика 1. – Прогностичка вредност оцена (А и В) и процена осетљивости тестова (С и D) за формативну процену знања из области патолошке физиологије

**Захвалност**

Рад је резултат пројекта “Унапређење наставе на предметима из области патолошке физиологије у циљу стицања лабораторијских вештина првог дана прописаних ЕУ стандардима (ПАФИЛАБ)” које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја.

**Литература**

1. Cincović MR, Belić B, Stevančević M, Toholj B, Starić J, Smolec O, i sar. 2015. Sistem kvaliteta u veterinarskom obrazovanju u Srbiji i EU - konstruktivno usaglašavanje kurikuluma. *Letopis naučnih radova Poljoprivrednog fakulteta*, 39, 108-20.
2. Cincović MR, Belić B, Starić J, Toholj B, Smolec O, Potkonjak A, i sar., 2016, Kurikulum u veterinarskom visokom obrazovanju i kompetence studenata po diplomiranju. *Zbornik radova 27.savetovanje veterinarara Srbije*, Zlatibor, 8-11 septembar, str 190-94.
3. Cincović MR, Belić B, 2018, Rangiranje univerziteta, naučno-istraživački i nastavni rad u polju Veterinarske medicine, *Letopis naučnih radova / Annals of agronomy, Pojoprivredni fakultet Novi Sad*, 42, 58-69.
4. Cincović MR, Starić J, Belić B, Ježek J, 2017, Klinička laboratorijska nastava u visokoškolskim veterinarskim ustanovama. *Zbornik radova 28. Savetovanje veterinarara Srbije*, Zlatibor 7-10. septembar., str.170-75.
5. Kovač Z, 2007, Beijing declaration on medical pathophysiology education. <https://doi.org/10.1152/advan.00062.2007>.

**ИНФЛУЕНЦА КОПИТАРА, ДА ЛИ СМО ПРЕД НОВОМ ЕПИДЕМИЈОМ?**

***HORSE INFLUENZA, ARE WE PREFERRED FOR A NEW EPIDEMIA?***

*Михајло Ердељан, Ивана Давидов, Миодраг Радиновић, Зорана Ковачевић,  
Анна-марија Галфи Вукмановић, Тијана Кукурић*

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

**Кратак садржај**

Инфлуенца копитара је добро познато обољење код копитара и протиче у типу респираторног синдрома. Ово обољење изазивају два суптипа инфлуенца А вируса (ЕИВ – еквини инфлуенца вирус) – Н7Н7 (раније познат као тип 1) и Н3Н8 (раније познат као тип 2) из фамилије Orthomyxoviridae. У нашој земљи последња већа епидемија пријављена је 2004-те године а због продора нове варијанте вируса дошло је до обољевања великог броја коња (380) са скоро 100% серопревалентом. Од тада нисмо имали већу епидемију инфлуенце уз повремене серолошки доказане случајеве. Међутим, крајем 2018. године и почетком 2019. године забележени су позитивни случајеви код великог броја коња на територији Велике Британије и то како код невакцинисаних тако и код вакцинисаних коња. Присуство вируса је доказано методом qPCR а вирус припада Н3Н8 суптипу и Флорида грани 1. Сматра се да је то исти вирус који је доказан у Аустралији 2007. године где је забележено 10 000 позитивних грла. После Велике Британије појачано присуство вируса је доказано крајем децембра 2018. године у северној Француској а у првим недељама 2019. године и у Белгији, Немачкој, Ирској, Ноландији, Данској и Шведској. Свакако због географске повезаности наша земља се потенцијално може наћи на путу ширења овог вируса.

**Кључне речи:** епидемија, инфлуенца, коњи

**Summary**

Equine influenza is a well-known disease in ungulates and occurs in a type of respiratory syndrome. This disease is caused by two influenza A virus subtypes (EIV - influenza virus equivalents) - H7N7 (formerly known as type 1) and H3N8 (formerly known as type 2) from the Orthomyxoviridae family. In our country, the last major epidemic was reported in 2004, and due to the penetration of a new variant of the virus, many horses (380) became infected with almost 100% seroprevalence. Since then, we have not had a major influenza epidemic with occasional serologically proven cases. However, in late 2018 and early 2019, there were positive cases in a large number of horses across the UK, both unvaccinated and vaccinated horses. The presence of the virus was evidenced by the qPCR method and the virus belongs to the H3N8 subtype and Florida clade 1. It is thought to be the same virus that was proven in Australia in 2007 where 10,000 positive lumps were recorded. After the UK, the increased presence of the virus was demonstrated in late December 2018 in northern France and in the first weeks of 2019 in Belgium, Germany, Ireland, the Netherlands, Denmark and Sweden. Certainly due to geographical connectivity our country could potentially find itself on the path of spreading this virus.

**Key words:** epidemic, influenza, horses

#### Увод

Инфлуенца копитара је добро познато обољење код копитара и протиче у типу респираторног синдрома. То је уобичајена, високо заразна респираторна болест копитара са скоро глобалном дистрибуцијом. Ово обољење изазивају два суптипа инфлуенца А вируса (ЕИВ – еквини инфлуенца вирус) – H7N7 (раније познат као тип 1) и H3N8 (раније познат као тип 2) из фамилије Orthomyxoviridae. Као доминантан субтип већ дужи низ година јавља се H3N8 и то са две линије, Еуроазијска и Америчка. Клинички се испољава у виду типичне клиничке слике: прво се јавља повишена телесна температура (до 41 °C), затим серозан исцедак из носа који касније постаје мукопурулентан а после тога следи дубоки суви кашаљ. Могу се јавити и диспноа, анорексија, депресија и инапетенца.

#### Епизоотолошка ситуација

Инфлуенца је ендемична код коња у скоро целом свету, практично изузеци су Нови Зеланд, Исланд и нека мања острва. Постоји велики број различитих варијанти овог вируса који су изоловани током година тако Америчка линија вируса субтипа H3N8 укључује Florida, Kentucky и South America подлинције. Florida подлинције су даље подеље на две антигенетски различите класе, односно гране, од којих су обе детектоване у Азији и Европи а класа 1 само у Северној Америци. Последњи изолат Еуроазијске линије је био 2007, изолован из узорка у Швајцарској. Од 2016. године, сви изоловани вируси су од Florida линије, и то класа 2 у Европи и класа 1 у САД.

У нашој земљи последња већа епидемија пријављена је 2004. године. Због продора нове варијанте вируса дошло је до обољевања великог броја коња (380) са скоро 100% серопреваленцом. Од тада нисмо имали већу епидемију инфлуенце уз повремени серолошки доказане случајеве.

Избијање инфлуенце код коња се дешава глобално током двехиљадитих. На свим континентима постоји више од једне државе која је била захваћена епидемијом поготову у периоду 2006–2017. Тако су на пример веће епидемије забележене 2015. године у Кини, Француској, Немачкој, Ирској, Малезији, Шведској, Великој Британији и САД. Затим су Ирска, Велика Британија и Сад имале поново епидемије током 2016. и 2017. године као и Јапан и Кина 2017. У САД постоји значајна активност вируса тако да је вирус излован у 23 државе током 2015. године, затим у 16 држава 2016. године, и 22 државе током. Аустралија је имала једну од највећих епидемија током 2007. године, која је по неким подацима обухватила 70,000 коња на више од 9,000 имања, са морталитетом око 5%. Вирус је унет из Јапана увоз пунокрвног коња. Комбинација лоших карантински протокола, лошег имунског одговора на вакцину и изостанак вакцинације довели су до обољевања великог броја коња.

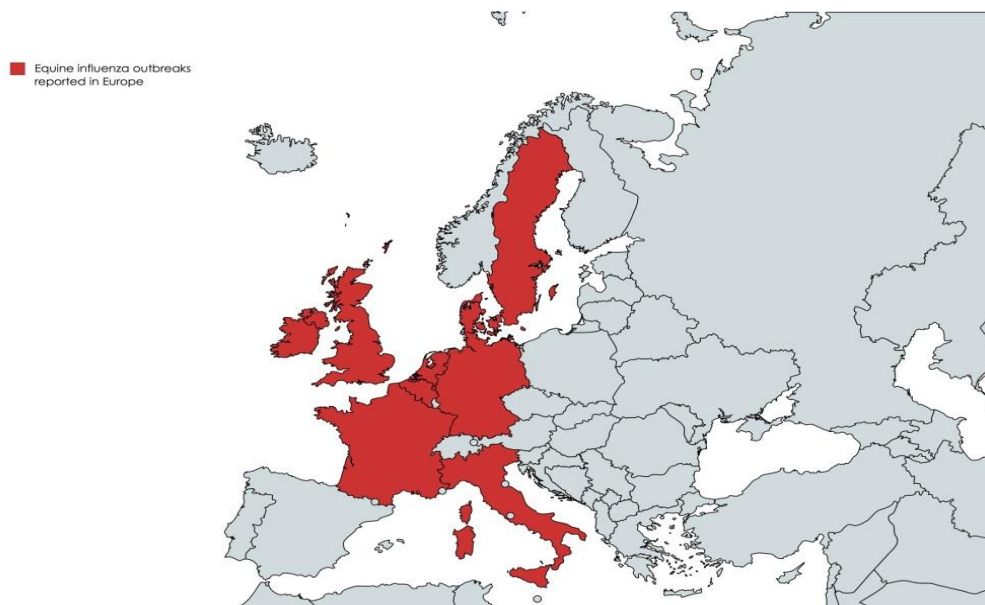


Слика 1. Глобална дистрибуција ифлуенце код коња од 2006. до 2015. године

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

У задње две године вирус је задржао глобалну дистрибуцију. Тако да су НЗН8 вируси изоловани у Аргентини, Чилеу, Кини, Француској, Немачкој, Ирској, Ноландији, Нигерији, Шведској, Великој Британији, Уругвају и САД. У јануару 2018. Инфлуенца је доказана код коња у Чилеу а у Аргентини у пролеће 2018. Обољење је потврђено код тркачких коња и у поло клубовима са клиничким знацима који су били озбиљнији него они код претходне велике епидемије из 2012. Интересантно је да су навише били погођени вакцинисани и старији коњи. Током 2018. епидемија се проширила на Колумбију, Уругвај и Еквадор. Једна од значајнијих епидемија је забележена крајем 2018. у Нигерији и она је практично још увек активна а највише су погођени магарци који се користе за транспорт и у пољопривреди са mortalitetом чак до 25%. У САД су забележене епидемије мањег интензитета али на великом броју локалитета, забележено је да су били инфицирани и коњи који били вакцинисани са ажурираном вакцином током претходних шест месеци. У Кини је такође забележено неколико епидемија на више локалите али је највиша преваленца забележена код магараца.

Међутим, крајем 2018. године и почетком 2019. године забележени су позитивни случајеви код великог броја коња на територији Велике Британије и то како код невакцинисаних тако и код вакцинисаних коња. Присуство вируса је доказано методом qPCR а вирус припада НЗН8 суптипу и Florida клада 1 а не клада 2 као до сада. Сматра се да је то исти вирус који је доказан у Аустралији 2007. године где је забележено 70 000 позитивних грла. После Велике Британије појачано присуство вируса је доказано крајем децембра 2018. године у северној Француској а у првим недељама 2019. године и у Белгији, Немачкој, Ирској, Ноландији, Данској и Шведској. У свим овим земљама вирус је доказан и код вакцинисаних и код невакцинисаних грла уз појаву карактеристичне клиничке слике. Коњи који су били вакцинисани су показали слабије изражену клиничку слику. Епидемија је погодила све секторе коњичке индустрије тако је забележена и код тркачких коња, коња за разоноду, препонаша, касача и коња за приплод. Тренутно је прекинут део тркачке сезоне у Великој Британији а који је пун епидемиолошки потенцијал овог вируса остаје да се види.



Слика 2. Потврђени случајеви инфлуенце у Европи од почетка 2019. године

### **Закључак**

Оно што се намеће као закључак је свакако повећање активности вируса инфлуенце копитара током 2018/2019. године. Свакако због географске повезаности наша земља се потенцијално може наћи на путу ширења овог вируса. Сви изоловани вируси припадају клади 1 Florida сублинији и слични су са оним изолованим у САД 2017. године. Вируси из кладе 1 нису до сада забележени у Европи што додатно наглашава важност мониторинга ширења вируса. Иако вируси постепено дивергирају генетски од сојева који се налазе у вакцинама ОИЕ за сада не препоручује промену вакциналних сојева. Свакако оно што забрињава је појава клинички позитивних грла која су претходно вакцинисана и ово стање захтева даљи мониторинг.

### **Литература**

1. American Association of Equine Practitioners, 2017, Risk-based vaccination guidelines: equine influenza. [<https://aaep.org/guidelines/vaccination-guidelines/risk-basedvaccination-guidelines/equine-influenza>].
2. Animal Health Trust, 2019, Equine influenza outbreaks reported in 2019. <https://www.aht.org.uk/wp-content/uploads/2019/07/Equiflunet-update-01-07-19-for-JUNEoutbreaks.pdf>.
3. Bryant NA, Rash AS, Woodward AL, Medcalf E, Helweggen M, Wohlfender F, 2011, Isolation and characterisation of equine influenza viruses (H3N8) from Europe and North America from 2008 to 2009. *Vet Microbiol.* 147:19–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.040>.
4. Bountouri M, Fragkiadaki E, Ntafis V, Xylouri E, 2011, Equine influenza. *Journal Of The Hellenic Veterinary Medical Society* 62(2): 161-171.
5. Bryant NA, Rash AS, Russell CA, Ross J, Cooke A, Bowman S, 2009, Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007. *Vet Microbiol.* 138:41–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.004>.
6. Erdeljan M, Davidov I, Cutuk R, Rogan D, Potkonjak A, 2016, Analysis of Different Diagnostic Methods of Influenza in Horses. *Acta Scientiae Veterinariae.* 44. 1. 7.
7. Firestone SM, Cogger N, Ward MP, Toribio J-ALML, Moloney BJ, Dhand NK, 2012, The influence of meteorology on the spread of influenza: survival analysis of an equine influenza (A/H3N8) outbreak. *PLoS One.* 7:e35284. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035284>.
8. Laabassi F, Mamache B, 2014, Virus de la grippe equine: epidemiologie, diagnostic et vaccination. *Revue Med. Vet.*, 165: 1-2, 31-43.
9. Sack A, Cullinane A, Daramragchaa U, Chuluunbaatar M, Gonchigoo B, Gray GC, 2019, Equine Influenza Virus—A Neglected, Reemergent Disease Threat. *Emerging Infectious Diseases.* Vol. 25, No. 6.
10. Smyth GB, Dagley K, Tainsh J, 2011, Insights into the economic consequences of the 2007 equine influenza outbreak in Australia. *Aust Vet J.* 89 (Suppl 1):151–8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00777.x>.
11. World Organisation for Animal Health, 2018, OIE Expert Surveillance Panel on Equine Influenza Vaccine Composition. Conclusions and recommendations. [<http://www.oie.int/our-scientific-expertise/specific-information-and-recommendations/equine-influenza>].

УТИЦАЈ ПЕСТИЦИДА НА ПЧЕЛЕ И ТРОВАЊА ПЧЕЛА У СРБИЈИ

THE INFLUENCE OF PESTICIDES ON BEETS AND TREATMENT OF BEES IN SERBIA

Нада Плавица<sup>1</sup>, Иван Павловић<sup>2</sup>, Мира Мајкић<sup>1</sup>, Сава Леђанац<sup>3</sup>,  
Борислав Брборић<sup>1</sup>, Наталија Јаковљевић<sup>1</sup>, Никола Плавица<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пољопривредни факултет, Департман за ветеринарску медицину, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство Србије, Београд;

<sup>3</sup>ПВС Сусек, Беочин

**Кратак садржај**

У раду су приказани корисни ефекти пчела на екосистем и уопште производњу хране, као и угроженост пчела пестицидима која настају као последица третирања у пољопривреди. Опрашивачи, укључујући медоносне пчеле (*Apis mellifera*), одговорни су за успешну репродукцију више од 87% врста цветница, стога су оне од виталног значаја за здравље екосистема и производњу хране широм света. Пчеле су одговорне за пружање више од 90% комерцијалних услуга опрашивања. Пестициди се користе за заштиту ратарских и воћарских култура оптерећујући на тај начин комплетну животну средину (биљни покривач, земљу, воду и ваздух). Најчешћи начин излагања пчела пестицидима је конзумирање остатака пестицида са полена и нектара биљака, као и путем загађене воде и ваздуха. Веома значајан утицај имају и сублетални ефекти, у складиштену полену и нектару који служи за исхрану младих ларви. Нова генерација пестицида, неуроинсектициди су веома опасни за пчелу. Уз летални утицај (директна угинућа), они делују и у сублеталним дозама, које узрокују поремећаје понашања и комуникације, потешкоће с летењем и оријентацијом, као и обављањем уобичајених социјалних активности. Пчеле под истовременим утицајем сублеталних концентрација неоникотиноида, инфекција различитим узрочницима болести (паразити, бактерије, вируси) и неповољном деловању фактора из околине долазе у стање имунодефицијенције и веома брзо до колапса. Регистровани случајеви тровања пчела су присутни у Србији, нарочито последњих година указују да се још увек користе не регистровани пестициди и на непрописане начине што за последицу има бројна угинућа и слабења пчелињих заједница.

**Кључне речи:** пчеле, пестициди, Србија, тровања

**Summary**

The paper presents the beneficial effects of bees on the ecosystem and in general the production of food, as well as the threat of bees to pesticides arising as a result of treatment in agriculture. Pollinators, including honey bees (*Apis mellifera*), are responsible for the successful reproduction of more than 87% of flowering plants, therefore they are vital for ecosystem health and food production around the world. Bees are responsible for providing more than 90% of commercial pollination services. Pesticides are used to protect crop and fruit crops, thus burdening the entire environment (plant cover, soil, water and air). The most common way of exposure to pesticides is the consumption of pesticide residues from pollen and nectar plants, as well as through contaminated water and air. Subtle effects in the stored pollen and nectar, which serves for the feeding of young larvae, also have a very significant effect. A new generation of pesticides, neuroinsecticides, are very dangerous for bees. With lethal effects (direct deaths), they also work in sublethal doses, which cause behavioral and communication disorders, flying difficulties and orientation, as well as carrying out common social activities. Bees under the simultaneous influence of

sublethal concentrations of neonicotinoids, infection to various pathogens (parasites, bacteria, viruses) and adverse effects of environmental factors come to the state of immunodeficiency and very rapidly to collapse. Registered cases of bee poisoning are present in Serbia, especially in recent years, suggesting that pesticides are still used and in unproven ways, resulting in numerous deaths and weakening of bee colonies.

**Key words:** bees, pesticides, Serbia, poisoning

#### Увод

Медоносна пчела (*Apis mellifera carnica*) је најзначајнији опрашивач гајених воћарских и ратарских култура, чија се вредност кроз опрашивање процењује на више од 200 милијарди долара годишње у свету.

Пчелиње заједнице су уствари биомонитори одређеног подручја, из разлога што једна пчелиња заједница (преко својих излетница) сакупља храну са најмање 6 km удаљености око кошнице, а максимална удаљеност може да буде и до 13,5 km у случају недостатка хране што покрива простор од 100 km. Познато је да једна пчелиња заједница бројности око 40.000 пчела има око  $\frac{1}{4}$  излетница, свака излетница има 12 до 15 излета дневно и обиђе најмање 100 цветова јабуке да би напунила медни желудац или 80 цветова крушке да би напунила корпицу са поленом (Celli и Massagnani, 2016). Наведени етограм указује да је пчелиња заједница као специјални монитор инструмент који излеће из кошнице, лети у околину где својим длачицама сакупља честице из ваздуха, нектар и полен са процветалих биљака, прополис из пупољака различитих ботаничких врста, медну росу са лишћа и воду из раличитих извора (бунара, водотока, ровова, и др. локација).

Пчелама је потребна храна, полен и нектар са биљака цветница, што потврђују чињенице да једно пчелиње друштво у току једне године потроши од 90 до 120 kg меда и 20 до 30 kg полена за свој развој. Зато је локација пчелињака од пресудне важности за опстанак и продуктивност пчелиње заједнице. Разноликост биљног покривача је била много већа пре неколико деценија што је био основни рецепт за здраву производњу меда и других пчелињих производа. Међутим, последњих неколико деценија пчелари се сусрећу са новом претњом, енормна, а врло често и неконтролисана употреба пестицида.

#### Токсикологија пестицида

Пестициди су најчешће веома токсичне хемикалије са специфичним начином деловања, што значи да су дизајнирани да специфично контролишу циљну групу организама ометањем одређених метаболичких путева. Тако инсектициди и акарициди убијају инсекте и гриње на тај начин што ометају њихову неуронску активност, хербициди спречавају синтезу есенцијалних органских једињења, а фунгициди убијају гљивице инхибирањем формирања њихових ћелијских мембрана.

Потентност пестицида према било којој врсти инсеката је дефинисана дозом токсичне хемикалије која је смртоносна за 50% јединки исте врсте (LD50), а ове дозе варирају од врсте до врсте. Дозе које су ниже од LD50 су сублеталне, и оне могу да проузрокују 20-30% смртности јединки. Потврђено је да излагање сублеталним дозама неуротоксичних инсектицида може изазвати стрес (Chakrabarti и сар., 2015), парализу или неубичајено понашање Zaluski и сар. (2015). Од свих врста пестицида инсектициди су најотровнији за пчеле, док су хербициди прилично безопасни.

Пчеле као и други организми имају развијене механизме детоксикације који трансформишу и елиминишу већину отровних хемикалија. Међутим, истраживањем генома медоносне пчеле, објашњава се пуно већа осетљивост пчела на утицај пестицида у упоредби са другим инсектима, тако што је код пчеле уочен знатно мањи број гена одговорних за синтезу детоксицирајућих ензима, ензима који су способни у потпуности или делимично разградити отрове унесене у организам. Иначе, већина органских пестицида се разграђује или у самом организму или у околини. Изузетак су органохлорни инсектициди (ДДТ, линдан) који су веома отпорни на разградњу. Пошто су се у последњим деценијама примењивали у великим количинама, њихови



остаци су и даље присутни у земљиштима многих земаља, иако су забрањени за употребу у пољопривреди. Због ниске растворљивости у води, наведени пестициди се налазе у биљкама (полену и нектару) на контаминираним земљишту. Перзистенција пестицида се процењује према времену полураспада ( $T_{1/2}$ ), што је дефинисано као време потребно да половина количине хемикалије нестане из воде, земље, ваздуха или биолошких ткива. Време полураспада дужи од 90 дана указује да се пестицид може акумулирати, јер више од 5% од примењене количине остаје у околини након једне године (Sanchez-Baño, 2011). Остаци трајних пестицида који се налазе у полену и нектару ће остати у биљци током читаве сезоне производње меда.

#### Ризик од пестицида на пчеле и симптоми тровања

Утицај пестицида на пчеле се може сагледати кроз два основна извора деловања пестицида, и то пестициди примењени у пољопривредној производњи и пестициди примењени у пчеларству. Према подацима Европске агенције за заштиту пољопривредних усева, од 210 најчешће коришћених активних састојака на тржишту ЕУ, 15-20% су отровни за пчеле, а према најновијим резултатима истраживања од 286 различитих пестицида, 14% је јако отровно за пчеле. Од органских инсектицида углавном се користе органофосфати, органокарбамати, органохлориди и пиретроиди. Последице тровања се најчешће испољавају у виду гастроинтестиналних и неуролошких поремећаја.

Системски инсектициди, као што су неоникотиноиди (*Imidakloprid*) и фипронил су токсичнији и перзистентнији од већине органофосфорних инсектицида (*Malation*), карбамата (*Karbofuran*) и пиретроида (*Cipermetrin*). Ово представља ризик за пчеле, посебно због начина њиховог специфичног деловања на пчеле. Неоникотиноиди показују одложену токсичност при ниским дозама, тако да поред различитих сублеталних ефеката које узрокују, они на крају убијају пчеле ако су изложене остацима током дужег периода (Rondeau и сар., 2014). И неоникотиноиди и фипронил делују имunosупресивно на пчеле (Di Prisco и сар., 2013), доводећи до предиспозиције пчела на инфекцију ноземозом (*Nosema sp.*) и епидемијом вирусних обољења која се обично преносе паразитском грињом *Varroa destructor* (Doblet и сар. 2014). Комбиновано дејство неуротоксичних инсектицида, који се уносе исхраном пчела кроз заражени мед и полен, и наведених обољења доводе до колапса пчелиње заједнице (Sanchez-Baño, 2011). Потврђено је да када су ларве медоносне пчеле храњене поленом контаминираним хлорпирифосом произведле су врло мало матица (DeGrandi-Hoffman и сар. 2013). Сублеталне дозе тиаметоксама и клотианидина смањују репродуктивни потенцијал матице за 50% (Sandrock и сар. 2014), проузрокују дезоријентацију и губитак памћења код пчела (Decourtue и Devillers, 2009).

Тровања пчела најчешће проузрокују пестициди, коришћени у пољопривреди, шумарству, складиштима и комуналној хигијени у заштити од штеточина.

Према отровности за пчеле хемијска средства се могу поделити у неколико група:

- Виско-токсични пестициди (Токсичност категорије 1, LD50 је мањи или једнак 2µg/пчели), не смију се користити у време цветања биљака, а неповољно делују и до десетак сати после примене,
  - Умерено токсичан (Токсичност кат. 2, LD50 је мањи од 2 до 10,99µg/пчели), ова група инсектицида је нарочито опасна у првих 8 сати након примене.
  - Слабо токсичан (Токсичност кат. 3, LD50 је већи од 11-100µg/пчели), ниска отровност током прва 3 сата након примене.
  - Нетоксичан- пестициди који имају ниску токсичност, нису опасни за пчеле ни при директном контакту (акутна LD 50 > 100 µg/пчели).

Примери дати у табели 1. откривају да су инсектициди *fipronil*, *tiametoksam*, *bifentrin*, *lambda-cihalotrin* и *hlorpirifos* најопаснији за пчеле када се прскају по пољопривредним културама. Микрокапулирана формулација *lambda-cihalotrina* је посебно опасна, јер пчеле могу носити микрокапсуле које садрже концентровану хемикалију у кошници. Уопштено, честице прашине семена која су третирана неоникотиноидима и капљице спреја пиретроида, органофосфорних и карбаматних инсектицида представљају умерене или високе ризике, док други инсектициди и акарициди имају низак ризик у поређењу.

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

Фунгициди који су овде приказани, а вероватно и већина других који се примењују као фолијарни спрејеви, представљају низак или занемарљив ризик за пчеле директним контактом са капљицама спреја (Barnett и сар., 2007; Cutler и сар., 2014). Заправо, најотровнији инсектициди су најопаснији за пчеле.

Табела 1. Поређење ризика пестицида који делују на пчеле

Тип пестицида	Немијско име	Концентрација капљица (µg / ml)	LD50 (µg / пчела)	Коефицијент опасности (КО)	Процена ризика
Акарицид	Amitraz	200	50.0	0.001	Ниска
	Dicofol	240	19.0	0.003	Ниска
	Propargite	600	62.1	0.002	Ниска
Фунгицид	Azokistrobin	75	200.0	<0.001	Незнатна
	Fludiokonil	12.5	50.3	<0.001	Незнатна
	Mancozeb	750	226.2	<0.001	Незнатна
	Tolclofos-metil	500	100.0	0.001	Ниска
Инсектицид	Abamectin	18	0.03	0.15	Умерена
	Acetamiprid	225	7.9	0.007	Ниска
	Beta-cifluthrin	25	0.031	0.20	Умерена
	Bifentrin	100	0.015	1.70	Висока
	Carbaril	500	0.84	0.15	Умерена
	Chlorantraniliprole	350	4.0	0.022	Ниска
	Chlorpirifos	300	0.072	1.04	Висока
	Difenthiuron	500	1.5	0.083	Ниска
	Dimethoate	400	0.12	0.85	Умерена
	Endosulfan	350	6.35	0.014	Ниска
	Esfenvalerate	50	0.026	0.48	Умерена
	Fipronil	200	0.007	6.8	Висока
	Imidaklopid (sprej)	200	0.061	0.81	Умерена
	Imidaklopid (prašina)	24 *	0.061	0.1	Умерена
	Indokacarb	150	0.58	0.064	Ниска
	Lambda-cihalotrin	250	0.048	1.3	Висока
	Methidathion	400	0.27	0.37	Умерена
	Metomil	225	0.50	0.11	Умерена
	Pririmicarb	500	35.7	0.004	Ниска
	Spirotetramat	240	242	<0.001	Незнатна
	Tiametoksam (sprej)	250	0.025	2.5	Висока
	Tiametoksam (prašina)	36.8 *	0.025	0.37	Умерена

\*Извор: <http://sistem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>

Отрови у организам пчеле улазе директним додиром, ситним капљицама преко респираторног тракта, или преко попрсакних биљака, храном и водом. Већина данашњих инсектицида има истовремено контактну, дигестивну и респираторно тровање, а уношење инсектицида у кошницу најчешће се дешава преко пчела излетница у корпицама/цорбицуле/, у којима пчеле доносе полен. Знаци тровања су доста препознатљиви, а карактеришу се великим бројем угинулих пчела, немиром и агресивношћу отрованих пчела, појава пузећих пчела испред кошнице са раширеним и парализованим крилима, које дрхте, тетурају са знацима грчења и врло често окренуте на леђа немоћно се врте. Може се појавити и повраћање, при чему су пчеле мокре и лепљиве, а ходају испруженог језика. Код кућних пчела уочавају се симптоми у поремећају

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

комуникације, успорености и занемаривања обављања кућних послова. Пчелиња заједница нагло слаби, а због великог губитка излетница јавља се и несташица воде, због чега младе пчеле не могу правилно неговати легло, што доводи до угинућа ларви и тек изишлих младих пчела. Матица неправилно полаже јаја, а развој легла је ослабљен што доводи до потпуног колапса пчелињег друштва. Угинућа услед тровања су најчешће нагла и масовна, што зависи од врсте отрова. Тровање пчела доводи до слабљења имуног система па су пчеле и пчелиње легло подложније бактеријским, вирусним и паразитским инфекцијама.

#### Тровања пчела у Србији

Тровања пчела у Србији дешавају се уназад дуги низ година, на жалост готово увек су огромни губици, а веома ретко или готово никада се не утврди ко је извршио тровања и да се надокнади настала штете. Штете су често вишеструке, било кроз директна угинућа пчелињих заједница, или често у виду слабљења заједница и изостанка приноса у пчеларству. На основу претходно наведених података јасно је да је важност пчеле као опрашивача изузетно велика. Зато би требало укључити свест и избегавати примену пестицида у време цветања биљака, а нарочито високо токсичним пестицидима и акарицидима. Уколико се деси да дође до тровања, неопходно је хитно позвати надлежну ветеринарску и пољопривредну инспекцију, која ће констатовати затечено стање и правилно узети узорке (најмање килограм пчела/по друштву са тачним обележавањем кошнице из које је узорак узет, као и узорак меда, полена и перге из исте кошнице. Такође је потребно узети и узорке цвета и лишћа биљака које су пчеле посећивале на тој локацији. Узорци се морају што хитније доставити у фрижидер торби у референтне лабораторије на испитивање. Уколико се узорак депонује то мора бити обавезно у замрзивачу до коначног испитивања. Веома важан сегмент је и утврђивање здравственог стања пчела у моменту када се задеси тровање, односно клинички преглед и искључивање болести као фактора угинућа пчела. Увек је потребно сагледати целину, али при прегледу и узорковању мора се тачно знати које кошнице су прегледане и из којих су узети узорци. Паушани прегледи и збирни узорци указују на неодговорност и проблем у току даљих процедура

**Табела 2.** Пријављени случајеви тровања пчела у Србији у периоду од 2007. до 2019. године

1. Крајишник, 2007. године, прскање јабуке, угинуло 150 пчелињих заједница
2. Книћанин, 2008. године, прскање слачице, угинуло 180 пчелињих заједница
3. Радичевићево, 2009. године, прскање крпеља, угинуло 120 пчелињих заједница
4. Апатин, 2011. године, прскање комараца, угинуло 1.050 пчелињих заједница
5. Сланкамен, 2012. године, прскање јабука, угинуло 1.100 пчелињих заједница
6. Келебија, 2012. године, прскање крпеља, угинуло 700 пчелињих заједница
7. Ковачица, 2014. године, прскање мака, угинуло 240 пчелињих заједница
8. Кикинда 2015. године, тровања у току цветања сунцокрета, угинуло 3.600 пчелињих заједница
9. Сечањ, 2015. године, тровања у току цветања сунцокрета, угинуло 2.072 пчелињих заједница
10. Нови Бечеј, 2015. године, тровања у току цветања сунцокрета, угинуло 442 пчелиње заједнице
11. Сомбор, 2015. године, тровања у току цветања сунцокрета, угинуло 240 пчелињих заједница
12. Сурдулица, 2015. године, прскање жита, угинуло 700 пчелињих заједница
13. Бачка Топола, 2017. године, прскање амброзије, угинуло око 1.000 пчелињих заједница
14. Бачка Топола, 2018. године, тровања у току цветања сунцокрета, угинуло око 500 пч. заједница
15. Кула, Стапар, 2018. године, прскање грашка, угинуло 372 пчелиња друштва
16. Ваљево, април, 2019. године, третирање шљива, угинуло 400 пчелињих заједница
17. Ковачица, април, 2019. године третирање крушака, угинуло око 150 пчелињих заједница
18. Кикинда, мај, 2019. године, прскање жита, угинуло око 1.000 пчелињих заједница

Као што се из претходних података види проблем тровања пчела у Србији је огроман. Наведени подаци су добијени од Одбора за заштиту пчела од тровања који је основао СПОС (Савез пчеларских организација Србије) у циљу да сачува наше пчеле, да помогне угроженим

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

пчеларима и да укаже јавности и свим структурама власти колико је данас присутан проблем неконтролисане примене пестицида. Пестициди имају низ негативних утицаја и на друге животињске врсте (посебно акватичне системе), али и на хуману популацију.

#### Закључак

На основу претходно наведених података јасно је да је проблем тровања пчела у Србији значајно присутан, а да је важност пчеле као опрашивача изузетно велика. Зато би требало укључити свест и избегавати примену пестицида у време цветања биљака, а нарочито високо токсичним пестицидима и акарицидима.

Уколико се деси да дође до тровања, неопходно је хитно позвати надлежну ветеринарску и пољопривредну инспекцију, која ће констатовати затечено стање и правилно узети узорке (најмање кг пчела/по друштву са тачним обележавањем кошнице из које је узорак узет, као и узорак меда, полена и перге из исте кошнице). Такође је потребно узети и узорке цвета и лишћа биљака које су пчеле посећивале на тој локацији. Узорци се морају што хитније доставити у фрижидер торби у референтне лабораторије на испитивање. Уколико се узорак депонује то мора бити обавезно у замрзивачу до коначног испитивања.

#### Литература

1. Aleksić G, Brkić D, Gašić S, Jovanović-Radovanov K, Kljajić P, Marčić D, Miletić N, Pavlović D, Radivojević L.J, Rekanović E, Tamaš N, Vučinić S, Vuković S, (priredivači) 2018. Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.
2. Barnett EA, Charlton AJ, Fletcher M.R, 2007. Incidents of beepoisoning with pesticides in the United Kingdom, 1994-2003. *Pest Manag Sci* 89, 2, 1051-7.
3. Cutler GC, Scott-Dupree CD, Drexler D.M, 2014. Honey bees, neonicotinoides and bee incident reports, the Canadian situation. *Pest Manag Sci*, 70, 5, 779-83.
4. Celli G, Maccagnani B, 2016 Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 43, 195-205.
5. FSA. Towards an integrated environmental risk assessment of multiple stressors on bees: review of research projects in Europe. *EFSA J*, 2014, 12, 3, 3594.
6. Di Prisco G, Cavaliere V, Annoscia D, Varriacchio P, capriola E, Nazzi F, 2013. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insects immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *PNAS* 110, 46, 18466-71.
7. Doblet V, Labarussias M, de Miranda R.J, Moritz RFA, Paxton R.J, 2014. Bees under stress: sublethal doses of neonicotinoid and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environ Microbiol* 17, 969-83.
8. DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Simonds R, 2013. The effects of pesticides on queen rearing and virus titers in honey bees (*Apis mellifera* L.), *Insects* 4, 1, 71-89.
9. Decoyrtue and Devillers A, Devillers J, 2009. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: Thany SH, editor. *Advances in Experimental Medicine and Biology-INAHR*. Austin, TX: Landes Bioscience, 85-95.
10. MacBean C (Ed), 2012. *The Pesticide Manual*, BCPS, UK.
11. Sanchez-Bayo F, 2011. Impacts of agricultural pesticides on terrestrial ecosystems. *Bentham Science Publishers*, Vol. 1, 63-87.
12. Sanchez-Bayo F, Goulson D, Pennacchio F, Nazzi F, Goka K, Desneux N, 2016. Are bee diseases linked to pesticides? –A brief review. *Environ Int* 89-90, 7-11.
13. Zaluski R, Kadri SM, Alonso DP, Martins Ribolla PE, di Olivera Orsi R, 2015. Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees and affects the development of colonies exposed to sublethal doses. *Environ Toxicol Chem*, 34, 5, 1062-9.

НАЛАЗ *BLASTOCYSTIS* SP. КОД ПТИЦА У МИНИ ЗОО ВРТУ У СРБИЈИ

*FINDING OF BLASTOCYSTIS SP. IN BIRDS FROM MINI ZOO IN SERBIA*

Вук Врачар<sup>1</sup>, Бојана Видовић<sup>1</sup>, Весна Лалошевић<sup>1</sup>, Гордана Козодеровић<sup>2</sup>, Александар Поткоњак<sup>3</sup>, Станислав Симић<sup>1</sup>, Тамаш Шили<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду;

<sup>2</sup>Педагошки факултет у Сомбору, Универзитет у Новом Саду, Сомбор;

<sup>3</sup>Prophyl Animal Health Ltd., Мохач, Мађарска

**Кратак садржај**

*Blastocystis* sp. је цревна протозоа која се најчешће изолује из узорак столице људи, међутим питање о његовој улози у патогенизи хуманих обољења још увек нема коначан одговор. Налаз високих преваленција *Blastocystis* sp. пријављен је и у интестиналном тракту великог броја животиња, укључујући и птице, а доказан је и његов зоонотски потенцијал. Циљ овога истраживања био је да се утврди присуство *Blastocystis* sp. код различитих врста птица у једном приватном зоолошком врту у Србији. У ту сврху примењени су метод ксеничне *in vitro* култивације у модификованом Јонес-овом медијуму, као и конвенционални PCR. У овом истраживању, по први пут у Србији доказано је присуство *Blastocystis* sp. код екзотичних птица и утврђена његова укупна преваленција од 44,4%. Неопходна су даља, обимнија истраживања *Blastocystis* sp. код птица у Србији и она треба да буду усмерена на суптипизацију овога паразита у циљу разјашњавања улоге птица у његовој зоонотској трансмисији.

**Кључне речи:** *Blastocystis* sp., *in vitro* култивација, PCR, птице, Србија, зооноза

**Summary**

*Blastocystis* sp. is the most common single-celled eukaryote isolated from human stool samples, but the question of his role in the pathogenicity of human illnesses still no definitive answer. The findings of high prevalence of *Blastocystis* sp. is also reported in the intestinal tract of a large number of animals, including birds, i t its zoonotic potential has been proven. The aim of this study was to determine the presence of *Blastocystis* sp. in various bird species in a private zoo in Serbia. For this purpose, a method of xenic cultivation in modified Jones medium i conventional PCR method were used. For the first time in Serbia, the presence of *Blastocystis* sp. in exotic birds was determined i its overall prevalence was 44.4%. Continued studies of a larger scale on *Blastocystis* sp. in birds in Serbia are needed, i they should be aimed to the subtyping of this parasite in order to clarify the role of birds in its zoonotic transmission.

**Key words:** *Blastocystis* sp., birds, *in vitro* cultivation, PCR, Serbia, zoonosis

**Увод**

*Blastocystis* sp. је ентерична протозоа која је тренутно препозната као најчешћи једноћелијски еукариот нађен у хуманим узорцима столице, с преваленцијама које у просеку достижу до 20% у развијеним земљама и умногоме прелазе 50% у земљама у развоју (Сип и сар., 2017). Иако се *Blastocystis* sp. изолује из столице пацијената с гастроинтестиналним тегобама и асимптоматско присуство овога паразита је веома често чиме је његов утицај на здравље људи дуго остао нејасан. Међутим последњих деценија подаци прикупљени у епидемиолошким и *in*

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

*in vitro* студијама, као и у испитивањима на животињским моделима снажно указују на његов патогени потенцијал доводећи га у везу с обољењима као што су инфламаторна болест црева и синдром иритабилног колона (Audebert и сар., 2016; Cian и сар., 2017; Tap, 2008). Налаз високих преваленција *Blastocystis* sp. пријављен је и у интестиналном тракту великог броја животиња, укључујући и птице, а поређење секвенци SSUrDNA гена указало је на његов зоототски потенцијал (Abe, 2004; Coyle и сар., 2012). До сада у Србији мали број истраживања бавио се дијагностиком *Blastocystis* sp., а његово присуство потврђено је код људи, као и код птица и свиња у великом проценту (Lalošević и сар., 1998; Suli и сар., 2018; Suli и Lalošević, 2013).

Циљ овога истраживања био је да се утврди присуство *Blastocystis* sp. код различитих врста птица у једном приватном зоолошком врту у Србији, у сврху проширивања знања о епидемиологији и специфичности за домаћина овога паразита.

#### Материјал и методи

Појединачни узорци фецеса прикупљени су од 18 птица различитих врста (Табела 1.) у мини зоо врту „Мики“ у Колуту, Србија. Узорци су у стерилним посудама и у најкраћем времену транспортовани у лабораторију при чему је један део фецеса (50-100 mg) по пријему искоришћен за култивацију, док је остатак узорка намењен за молекуларну дијагностику остављен на чување на температури од -20° C до момента екстракције ДНК.

За умножавање паразита примењен је метод ксеничне *in vitro* култивације у модификованом Jones-овом медијуму уз додатак 10% инактивисаног коњског серума. Након 48-очасовне инкубације у анаеробним условима и на температури од 37° C, кап седимента културе посматрана је под светлосним микроскопом на увећању од 400 пута, при чему су тражене морфолошке форме паразита *Blastocystis* sp.

За потребе молекуларне дијагностике *Blastocystis* sp., екстракција ДНК урађена је директно из фецеса применом комерцијалног GeneMATRIX Stool DNA Purification Kit-a (EUR<sub>x</sub>, Пољска). Умножавање SSUrDNA гена *blastocystis* урађено је конвенционалним PCR методом коришћењем прајмерског пара BhrDr (5'-GAG CTT TTT AAC TGC AAC AAC G-3') и RD5 (5'-ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3') према протоколу претходно описаном од стране Sciclone и сар. (2006). Очекивана величина PCR продуката износила је 600 базних парова.

#### Резултати

Микроскопским прегледом седимента *in vitro* култура код 4 узорка (Табела 1.) запажене су морфолошке форме *Blastocystis* sp., чиме је преваленција овога паразита у испитиваној популацији птица износила 22,22% (4/18). Применом конвенционалног PCR метода установљено је присуство *Blastocystis* sp. у 5 узорка (Табела 1) с укупном преваленцијом од 27,28% (5/18) у испитиваној популацији птица. Овим молекуларним методом потврђен је само један налаз паразита у ксеничној *in vitro* култури (узорак број 11), док су остали позитивни налази били у дискрепанци. Укупна преваленција *Blastocystis* sp. у овом истраживању, узимајући у обзир оба примењена метода, износила је 44,4%, а код 50% испитаних врста птица утврђено је присуство овога паразита.

Табела 1. Резултати култивације *in vitro* и конвенционалног PCR метода

Редни број	Врста	Species	Култив. <i>in vitro</i>	PCR
1	аустралијска утва	<i>Tadorna tadornoides</i>	-	-
2	златна утва	<i>Tadorna ferruginea</i>	-	+
3	гуан	<i>Pipile cumanensis</i>	-	+
4	афрички гавран	<i>Corvus albus</i>	-	-
5	црни лабуд	<i>Cygnus atratus</i>	+	-
6	ћубаста бисерка	<i>Guttera pucherani</i>	+	-
7	кљуноорожац	<i>Bycanistes brevis</i>	-	+
8	хоко	<i>Crax rubra</i>	-	-
9	модроврана	<i>Coracias cyanogaster</i>	-	-
10	жако	<i>Psittacus erithacus</i>	-	-
11	домаћа патка	<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>	+	+
12	ждрал	<i>Balearica regulorum</i>	+	-
13	ара	<i>Ara macao</i>	-	-
14	фламинго	<i>Phoenicopterus roseus</i>	-	-
15	фламинго	<i>Phoenicopterus roseus</i>	-	-
16	фламинго	<i>Phoenicopterus roseus</i>	-	-
17	царска гуска	<i>Anser canagicus</i>	-	+
18	црвеноврата гуска	<i>Branta ruficollis</i>	-	-

#### Дискусија

У овом истраживању, у Србији је према доступној литератури, по први пут применом молекуларних метода утврђено присуство *Blastocystis* sp. код птица, те први пут уопште код egzotичних птица. Обзиром на разлике у дијагностичком приступу, као и разлике у географским подручјима и циљним популацијама птица на којима су истраживања изведена, тешко је поредити преваленције *Blastocystis* sp. добијене у овом истраживању с преваленцијама у претходно спороведеним студијама. У једној студији спроведеној на птицама из два зоолошка врта у Француској утврђена је прилично ниска укупна преваленција бластоцистиса од 8,6% (6/70), која није у сагласности како с нашим, тако ни с резултатима истраживања других аутора (Cian и сар., 2017). Висока преваленција бластоцистиса добијена у нашем истраживању у сагласности је с резултатом једине претходно спороведене студије о бластоцистису код птица у Србији у којој је евидентирана висока преваленција овога паразита на живинарским фармама (Suli и Lalošević, 2013). Надаље, у истраживањима у другим државама, аутори су пријавили такође високе вредности преваленције бластоцистиса које су се кретале и до 100% код нојева на фармама у Аустралији и Малезији (Chandrasekaran и сар., 2014; Stenzel и сар., 1994).

Лабораторијска дијагностика *Blastocystis* sp. и данас је изазовна због плеоморфне природе паразита и недостатка стандардизације техника које доводе до конфузије и до погрешне интерпретације резултата (Tan, 2008). У овом истраживању преваленције су се разликовале у односу на примењени дијагностички метод. Од четири узорка код којих је било евидентирано присуство морфолошких форми *Blastocystis* sp. у само једном узорку је конвенционалним PCR методом и потврђено његово присуство у култури. Разлог овом неслагању резултата може бити невољна количина изоловане DNK у узорку, али и изразите варијације у формама бластоцистиса које могу довести до погрешне интерпретације и замене с квасцима и *Cyclospora* sp. (Tan, 2008). Надаље, у 4 од 5 узорака позитивних на конвенционалном PCR микроскопским прегледом седимента културе није евидентирано присуство траженога паразита. Оваква дискрепанца може бити последица малог броја паразита у култури чиме их је било тешко запазити при микроскопском прегледу (Suli и сар., 2018).

#### Закључак

У овом истраживању, по први пут у Србији доказано је присуство *Blastocystis* sp. код егзотичних птица и утврђена његова висока преваленција. Различите вредности преваленција добијене су применом два различита метода и тиме указале на потребу комбинације лабораторијских метода у дијагностици *Blastocystis* sp. Даља, обимнија истраживања *Blastocystis* sp. код птица у Србији треба да буду усмерена не само ка употпуњавању епидемиолошке слике кроз утврђивање преваленције, већ и на употребу молекуларних метода у циљу суптипизације овога паразита, а тиме и разјашњавању улоге птица у његовој зоонотској трансмисији.

**Захвалница:** Ово истраживање је подржано од стране пројекта број 31034 који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја републике Србије.

#### Литература

1. Abe N, 2004, Molecular and phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from various hosts. *Vet Parasitol*, 120, 235-42.
2. Audebert C, Even G, Cian A, Safadi E, Certad G, Delhaes L, et al, 2016, Colonization with the enteric protozoa *Blastocystis* is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota, *Sci Rep*, 6, 25255.
3. Chandrasekaran H, Govind SK, Panchadcharam C, Bathmanaban P, Raman K, Thergarajan G, 2014, High lipid storage in vacuolar forms of subtype 6 *Blastocystis* sp. in ostrich. *Parasit Vectors*, 7, 469.
4. Cian A, El Safadi D, Osman M, Moriniere R, Gantois N, Benamrouz-Vanneste S, et al., 2017, molecular epidemiology of *Blastocystis* sp. in various animal groups from two French Zoos i evaluation of potential zoonotic risk. *PLoS One*, 12, e0169659.
5. Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, Tanowitz HB, 2012, *Blastocystis*: to treat or not to treat, *Clin Infect Dis*, 54, 105-10.
6. Lalošević V, Vučković N, Vukavić T, Vučković D, Somer L, Lalošević D, 1998, *Blastocystis hominis* infection - a childhood case report, *Arch Oncol*, 57-8.
7. Scicluna SM, Tawari B, Clark CG, 2006, DNA barcoding of *blastocystis*, *Protist*, 157, 77-85.
8. Stenzel DJ, Cassidy MF, Boreham PF, 1994, Morphology of *Blastocystis* sp. from domestic birds, *Parasitol Res*, 80, 131-7.
9. Suli T, Kozoderovic G, Potkonjak A, Simin S, Lalošević V, 2018, Comparison of conventional and molecular diagnostic techniques for detection of *Blastocystis* sp. in pig faeces. *Iran J Parasitol*, 13, 594-601.
10. Suli T, Lalošević V, 2013, Intestinal parasites of poultry in intensive farming with special emphasis on *Blastocystis* sp., *Contemp Agric*, 61, 230-9.
11. Tan KS, 2008, New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp., *Clin Microbiol Rev*, 21, 639-65.



СТРАТЕГИЈЕ СА ЦИЉЕМ СМАЊЕЊА НЕГАТИВНИХ ЕФЕКТА ТОПЛОТНОГ  
СТРЕСА У ИНТЕЗИВНОМ УЗГОЈУ ТОВНИХ ПИЛИЋА

*STRATEGIES TO REDUCE THE NEGATIVE EFFECTS OF HEAT STRESS IN  
INTENSIVE BREEDING OF BROILER CHICKENS*

*Зоран Ружич<sup>1</sup>, Зденко Каначки<sup>1</sup>, Слободан Кнежевић<sup>2</sup>, Сузана Видаковић Кнежевић<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Департаман за Ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет Нови Сад;

<sup>2</sup>Научни институт за ветеринарство Нови Сад

**Кратак садржај**

Товни пилићи су услед селекције у правцу постизања што бољих производних резултата постали недовољно адаптирани на амбијенталне промене, а највише на топлотни стрес (ТС). У условима ТС смањен је унос хране, што утиче негативно на прираст и крајњу телесну масу уз лошију конверзију хране. Стресни услови деградирају квалитет меса, нарушена је добробит животиња, ослабљен је имунолошки систем, а повећава се и морталитет. Све ово води ка економским губицима у интензивном узгоју пилића у летњим месецима. Стратегије за смањење утицаја ТС у живинарству биле су предмет истраживања више научника. Приликом примене било које од метода у циљу редуковања ТС, неопходно је извршити евалуацију њене ефикасности и одабрати ону методу која не изискује значајније материјалне трошкове, а да се при томе једноставно имплементира у производни циклус. Кроз овај рад сагледане су поједине стратегије за ублажавања ефеката ТС, како би се дао упоредан приказ њиховог дејства на параметре од значаја у интензивној производњи товних пилића. Може се закључити да постојеће стратегије за ублажавања ефеката ТС имају благотворан ефекат на производне резултате у условима ТС, али да се комбинацијом постојећих стратегија може остварити најбољи ефекат због различитог механизма дејства појединачних третмана.

**Кључне речи:** рестрикција хране, термално кондиционирање, топлотни стрес, товни пилићи, витамин Ц

**Summary**

Due to the selection aimed at achieving the best production results, the broilers have become less adapted to the environmental changes, especially to heat stress (HS). In the HS conditions, food consumption reduces, which has a negative effect on growth and body weight, followed by the inadequate feed conversion. The stress conditions degrade the meat quality, compromise the wellbeing, weaken the immune system, and increase mortality. All of this leads to economic losses in the intensive breeding of chickens during the summer months. The strategies to reduce the effects of HS in poultry have been the subject of research for many scientists. When applying any of the methods aimed at reducing HS, it is necessary to evaluate its efficiency and choose a method which does not imply large material costs, and which can be easily implemented into the production cycle. This paper gives an overview of certain strategies for reducing the influence of HS to provide a comparative view of their effect on relevant parameters in the intensive breeding of broilers. It may be concluded that the existing strategies for reducing the influence of HS have a positive effect on the production results in the HS conditions, but that the best results can be achieved by combining the existing strategies due to the different mechanisms of effects of the individual treatments.

**Key words:** broiler chickens, feed restriction, heat stress, thermal conditioning, vitamin C

#### УВОД

Живинарство има веома важну улогу у снабдевању храном великог броја људи у свету. Због велике потребе за храном и великог пораста броја људи на планети, предвиђа се да ће се до 2050. године повећати конзумација пилећег меса и јаја за чак 73% на глобалном нивоу (Alexandratos и Bruinsma, 2012). Предност пилећег меса је то што представља важан нутритивни извор протеина, нема религијских ограничења, сматра се релативно јефтиним месом (Hahn и сар., 2015), а пре свега се веома брзо добија готов производ у интензивном тову. Топлотни стрес (ТС) у узгоју товних пилића представља један од највећих проблема узгајивача живине (Balnave, 2004). Резултат је интеракције између температуре ваздуха, влажности ваздуха, способности одавања топлоте и брзине кретања ваздуха (Lin и сар., 2006). Бројлери су услед селекције у правцу постизања што бољих производних резултата постали недовољно адаптирани на амбијенталне промене, а највише на ТС (Soleimani и сар., 2011). У условима ТС смањен је унос хране што утиче негативно на прираст и крајњу телесну масу уз лошију конверзију хране. Стресни услови деградирају квалитет меса, нарушена је добробит, ослабљен је имунолошки систем, а повећава се и морталитет (He и сар., 2018). Све ово води ка економским губицима у интензивном узгоју пилића у летњим месецима.

Стратегије за смањење утицаја ТС у живинарству биле су предмет истраживања више научника. Приликом примене било које од метода у циљу редуковања ТС, неопходно је извршити евалуацију њене ефикасности и одабрати ону методу која не изискује значајније материјалне трошкове, а да се при томе једноставно имплементира у производни циклус. Предложене су различите мере ради постизања овог циља, као што су менаџмент амбијенталних услова (дизајн објекта за тов, смањење густине насељености, примена адекватне вентилације, коришћење расхладних система и др.), манипулација у виду промене оброка (састав хране, рестрикција хране, гладовање, итд.), адитивирана храна (антиоксиданси, витамини, минерали, пробиотици, пребиотици, и др.) и вода са додатком електоролита, као и друге технолошке мере које се могу предузети (пре- и пост- натално термално кондиционирање) (Daghir, 2008).

Прва линија одбране од високих амбијенталних температура представља добра изведба објекта за тов, где се морају користити грађевински материјали са адекватним изолационим фактором. Приликом изградње фарме, такође је битно уградити адекватан вентилациони систем (тунелски системи су најчешће у употреби, самостално или у комбинацији са бочном и кровном вентилацијом). Системи хлађења у виду панела се инсталирају на отворима за улазак ваздуха у објекте и омогућавају расхлађивање ваздуха који улази унутар објекта услед негативног притиска, који стварају вентилатори. За ову сврху најчешће се користе расхладни јастучићи од картона или пластике који се натапају хладном водом омогућавајући да се охлади ваздух који улази у објекат, чак и када су спољне температуре веће него унутар фарме. Ово је тренутно најефикасни вид хлађења објеката и због тога је најзаступљенији на модерним фармама (Karpetanov i сар., 2015). Највећи проблем оваквог вида расхлађивања представља влажност ваздуха која се повећава приликом употребе ових система. То нарочито представља проблем када у летњим месецима након кише наступи висока температура, тада се не препоручује коришћење овог система. Са повећањем влажности ваздуха спречава се одавање топлоте путем евапорације, јер је ваздух већ у великој мери zasiћен. Због тога, поред расхладних система, неопходно је укључити и друге стратегије за смањење ефеката ТС.

Правилан распоред храњења може сам по себи донекле ублажити проблеме. Производња метаболичке топлоте може се смањити на тај начин што се ограничава исхрана непосредно пре и током периода дана када се очекује ТС. Стопа преживљавања се повећава уколико се храна повуче најмање 4 до 6 сати пре периода ТС (Smith и Teeter, 1988). Храњење се наставља током вечерњих часова, када температура падне и смањи се утицај ТС. Облик у коме се храна даје животињама може такође да утиче на метаболичку енергију. Уколико се користи пелетирана храна смањује се енергија потребна за узимање хране за 67% (McKinney и Teeter, 2003). Због своје физичке природе, пелетирана храна омогућава бројлерима да конзумирају храну са мање расипања енергијом. Додавање масти, лизина и метионина се показало као добро код постизања бољих резултата у условима ТС (Mujaheed, 2011). Повећан садржај масти у храни доприноси смањењу продукције топлоте, јер масти мање стварају топлоту од протеина и угљених хидрата. Добро избалансирана

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

храна са ниским садржајем протеина и допунским аминокиселинама минимализује губитак енергије од прекомерног избацивања азота, што може бити олакшавајућа ствар. Искористљивост протеина је углавном боља када се у храни налази мањи ниво протеина. У појединим случајевима нижи ниво протеина може бити и штетан уколико се не узме у обзир квалитет протеина и његов аминокиселински профил (Downing и сар., 2002). Висок ниво протеина у храни током ТС смањује прираст и принос меса јер велика количина протеина повећано ствара топлоту.

Састав електролита (натријум, калијум и хлор) је есенцијалан за синтезу ткивних протеина, за одржавање интрацелуларне и екстрацелуларне хомеостазе, електричног потенцијала ћелијске мембране, ензимских реакција, осмотског притиска и ацидо-базног статуса (Borges и сар., 2003). Суплементација воде са натријумовим и калијумовим солима доводи до повећања уноса воде за 85%. Тако да на температури од 35°C, додаток 0,5% KCl и 0,39% NaCl у води за пиће редукује тежак ТС омогућавајући боље производне резултате. Велики проблем током ТС представља и респираторна алкалоза. Суплементација натријум бикарбонатом или амонијум хлоридом може благотворно деловати на ово стање уколико се ова једињења дају у дози од 10g/kg хране. Овакав додаток у исхрани побољшава прираст за 25% у односу на контролну групу (Teeter и сар., 1985).

Суплементација витаминима је веома битна како би се редуковали штетни ефекти ТС на производе и репродуктивне перформансе. Витамин А, Е и С се често користе у храни за пилиће због свог антистресног, односно антиоксидативног дејства (Sahin и сар., 2001; Ružić и сар., 2019). Суплементација овим витаминима може бити благотворна са аспекта производних резултата. Такође, постоје и друга једињења ради ублажавања ефеката ТС који се примењују путем хране или воде као што су на пример ацетилсалицилна киселина, глукоза, масне киселине, пробиотици из рода *Lactobacillus*, бетаин и друга једињења (Daghir, 2008; He и сар., 2018), али се њихова употреба не примењује толико интензивно као претходно поменуте материје.

У току ТС, неопходно је обезбедити бројерима довољну количину свеже, хладне воде. Препорука је да се товним пилићима обезбеди 25% додатне површине за приступ појилицама. Ово је битно уколико се узме у обзир чињеница да се између 70 и 80% произведене топлоте у току ТС ослободи путем дахања и процеса евапорације који се дешавају упоредо (Trivedi и сар., 2018). Уколико се користи танк за воду у објекту, који је повезан са појилицама, неопходно је да он буде изолован како се вода не би грејала. Најбоља изолација се постиже постављањем танка у посебној, тамној и хладној, просторији. Топлотни стрес узрокује повећан број респирација што доводи до повећаног избацивања CO<sub>2</sub> из организма и промене електрохемијске равнотеже, што је последица смањеног нивоа бикарбоната. Из тог разлога је неопходно уносити довољну количину воде.

Изражавање високој температури у раној доби, када је још недовољно развијена осовина хипоталамус-хипофиза, у литератури је описано као термално кондиционирање и предложено је као техника која има за циљ постизање термотолеранције код пилића који се касније у завршним фазама това излажу ТС (Yahav и Plavnik, 1999; Hassan и Gopal, 2012). Термално кондиционирање може бити пре- и пост- натално, зависно од момента изражања високој температури (Kanački и сар., 2017). Механизам овог дејства огледа се у томе да овај вид температурне манипулације касније смањује телесну температуру посредством хормона штитасте жлезде у крви, као и смањењем кортикостерона (Piestun и сар., 2008).

Циљ овог рада је да се сагледају поједине стратегије за ублажавање ефеката ТС, како би се дао упоредан приказ њиховог дејства и евентуалног синергистичког ефекта на поједине параметре од значаја у интензивној производњи товних пилића.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживање је обухватило 4 студије које су се бавиле проблематиком ТС. Свака од студија је имала контролну групу (К) која је била без третмана, а касније је излагана природном или имитацији топлотног стреса. Преостале испитиване групе су биле излагане различитим стратегијама ради ублажења негативних ефеката ТС.

Термално кондиционирање (ТК) примењује се на тај начин што се пилићи у раној доби излажу температурама које су изнад оптималних у циљу адаптације ендокриног система. У студијама више аутора (Yahav и Plavnik, 1999; Oral Toplu и сар., 2014; Zaboli и сар., 2016) коришћен је истоветан вид ТК где су пилићи излагани температури од 36 °Ц 5. дана старости у

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

трајању од 24h. Док је у студији El-Shafei и сар. (2019) ТК трајало од 3. до 5. дана старости у трајању од по 4h дневно при температурама 39-42 °C. Пренатално термално кондиционирање (ПТК) у студији Zaboli и сар. (2016) примењивало се тако што се у ембрионалој доби од 7. до 16. дана температура инкубације повећавала на 39,5 °C у трајању од 12h дневно.

Суплементација витамином С показала се благотворном, јер у току ТС постоји недовољна синтеза овог витамина са антиоксидативном улогом. У студији Oral Toplu и сар. (2014) овај витамин се примењивао у дози од 500 mg/kg хране, док је у студији El-Shafei и сар. (2019) био дозиран у концентрацији од 1 g/kg хране.

Рестрикција храном (РН) представља манипулацију којом се у одређеном периоду смањује пилићима унос хране, нарочито у периоду када су високе амбијенталне температуре. У студији El-Shafei и сар. (2019), пилићи у потпуности нису имали храну од 10h до 16h све до 35. дана старости. Насупрот томе, у студији Yahav и Plavnik (1999) рестрикција се примењивала у период од 7. до 14. дана на тај начин што су пилићи добијали само 40 kcal путем хране дневно.

#### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У табели 1 дат је приказ студија које су обрађене овим истраживањем. Праћена је крајња телесна маса, конверзија хране, као и морталитет током периода тога. У студији Yahav и Plavnik (1999), најмању телесну масу остварила је група РН, а затим следи К група. Најбоље резултате је остварила група ТК. Слична аналогија се запажа и код морталитета, где видимо да групе које су биле излагане ТК имају нижу стопу морталитета. Заједнички третман ТК и РН је ублажио негативне последице самосталног дејства РН и по питању телесне масе и по питању морталитета.

Табела 1. Упоредни приказ одабраних студија и резултата њиховог истраживања

Студија	Третман	Број јединки	Телесна маса (g)	Конверзија хране (g хране/g телесне масе)	Морталитет (%)
Yahav i Plavnik, 1999	К	40	1796 <sup>ab</sup>	Нема података	36 <sup>a</sup>
	ТК	40	1924 <sup>a</sup>	Нема података	22 <sup>b</sup>
	РН	40	1783 <sup>b</sup>	Нема података	35 <sup>a</sup>
	ТК+РН	40	1841 <sup>ab</sup>	Нема података	21 <sup>b</sup>
Oral Toplu i sar. 2014	К	80	2049 <sup>c</sup>	1,91 <sup>a</sup>	11,25 <sup>a</sup>
	ТК	80	2196 <sup>a</sup>	1,85 <sup>ab</sup>	5 <sup>b</sup>
	Вит. С	80	2111 <sup>b</sup>	1,78 <sup>b</sup>	2,5 <sup>c</sup>
Zaboli i sar. 2016	К	60	2841	1,74	20 <sup>a</sup>
	ТК	60	2842	1,74	8 <sup>c</sup>
	ПТК	60	2888	1,72	12 <sup>b</sup>
El-Shafei i sar. 2019	К	90 (10)	2150 <sup>b</sup>	2,03 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>
	ТК	90 (10)	2260 <sup>a</sup>	1,87 <sup>b</sup>	30
	РН	90 (10)	2290 <sup>a</sup>	1,84 <sup>b</sup>	10
	ВитЦ	90 (10)	2230 <sup>a</sup>	1,89 <sup>b</sup>	10
	ТК+РН+Вит. С	90 (10)	2300 <sup>a</sup>	1,81 <sup>c</sup>	0

К- контролна група, ТК- термално кондиционирање, РН- рестрикција хране, Вит. С- витамин С, ПТК- пренатално термално кондиционирање; Вредности са различитим суперскриптом се значајно разликују ( $p < 0,05$ ) и пренесене су из студија наведених истраживача. \*У поменутој студији није рађено утврђивање статистичке значајности за стопу морталитета

У свим преосталим приказаним студијама, најлошију просечну телесну масу, конверзију хране и највећу стопу морталитета по правилности запажамо у К групама. Неуједначене вредности, што се тиче свих производних резултата, могу се приписати различитом интезитету ТС којима су бројлери били изложени, дужини трајања ТС, као и висини температуре и влажности ваздуха (услови су били различити у студијама). Такође и генетска селекција је доста напредовала

у овом аспекту и због тога имамо драстичне разлике у резултатима уколико се посматрају резултати из 1999. и 2016. године.

Студија истраживача Oral Toplu и сар. (2014) приказује да примена витамина С може благотворно утицати, тако што смањује морталитет и побољшава конверзија хране у условима ТС. Резултати наших истраживања (непубликовани резултати) сугеришу да комбинација третмана витамином С и ТК остварују најбоље резултате када се посматра конверзија хране, без промене у крајњој телесној маси у поређењу са истим третманима појединачно. Другим речима, добија се иста телесна маса за мање утрошене хране. Такође, комбинација ова два третмана је остварила и најбоље резултате по питању хематолошких вредности (Ružić и сар., 2019).

Група којој је примењивано ПТК у студији Zabolі и сар. (2016) је остварила највећу просечну телесну масу и најбољу конверзију. Како за ове параметре није установљена статистичка значајност, може се сугерисати да је погоднији третман ТК због своје једноставније примене, а уједно и најмање стопе морталитета која је забележена у овој групи.

У студији најновијег датума, El-Shafei и сар. (2019) може се приметити да најбоље производне резултате остварује комбинација свих испитиваних третмана. Због различитих механизма којима ови третмани постижу свој благотворни ефекат, комбинација ових стратегија може остварити значајан синергистички ефекат. Занимљиво је напоменути да у овој студији рестрикција храном остварује високу телесну масу, већу него у поређењу са контролном групом. Ово би се могло објаснити тиме да је рестрикција храном коришћена само до 35. дана старости. Након тога, исхрана је вршена регуларним режимом исхране и у том периоду су пилићи успели да надокнаде заостатак у телесној маси. Оваква стратегија је донела благотворне ефекте јер је имитација топлотног стреса вршена само 42. дана узгоја (само на 10 јединки) и до тада су пилићи имали времена да надокнаде телесну масу путем компезаторног раста.

#### ЗАКЉУЧАК

Закључује се да постојеће стратегије за ублажавање ефеката ТС имају благотворан ефекат на производне резултате у условима ТС, али да се комбинацијом ових стратегија може остварити најбољи ефекат због различитих механизма дејства појединачних третмана. Због свега наведеног, постоји оправдана потреба да се врше даља истраживања у правцу комбинације третмана који се могу лако имплементирати у пракси, како би се добили бољи производни резултати и унапредио здравствени статус фарме.

**Захвалница:** Овај рад је резултат пројекта ТР 31033 финансираног од стране Министарства просвете науке и технолошког развоја. Велику захвалност дугујемо др Марку Кировском испред “Ветеринарског завода Суботица” из Суботице. Такође бих се захвалио господину Денешу Кемивешу испред фабрике сточне хране “Геби” из Чантавирана. Своју захвалност такође дугујемо и Саши Ђурићу испед компаније “Big Dutchman” са представништвом у Србији (Нови Сад).

#### Литература

1. Alexandratos N, Bruinsma J, 2012, World Agriculture towards 2030/2050: The 2012 Revision, *ESA Working Paper No. 12-03*, FAO, Rome.
2. Balnave D, 2004, Challenges of accurately defining the nutrient requirements of heat-stressed poultry, *Poult Sci*, 83, 5-14.
3. Borges SA, Fischer DA, et al, 2003, Dietary electrolyte balance for broiler chickens under moderately high ambient temperatures and relative humidities, *Poult Sci*, 82, 301-8.
4. Dagher NJ, 2008, Poultry Production in Hot Climates, 2nd Edition, Published by CAB Int, Wallingford, Oxfordshire, UK, 387.
5. Downing JA, Wilkinson SJ, et al, 2002, Effects of conjugated linoleic acid on broiler growth performance and carcass composition, *Proceedings of Australian Poultry Sci Symposium*, 14:152.
6. El-Shafei AA, Al-gamal MA, et al, 2019, Broiler Productive and Physiological Performance under Different Heat Combating Practices during Acute Heat Stress, *Egypt Acad J Biolog Sci*, 11,1, 37- 49.
7. Hahn W, Angadjivand S, Sewadeh M, Edwards S, 2015, ERS Tracks Meat Prices at the Retail, Wholesale, and Farm Levels. *Amber Waves: The Economics of Food, Farming, Natural Resources, and Rural America*, 09,1.
8. Hassan A, Gopal RP, 2012, Early Age Thermal Conditioning Improves Broiler Chick's Response to Acute Heat Stress at Marketing Age, *Am J*

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

*Anim Vet Sci*, 7, 1-6. 9. He SP, Arowolo MA, et al, 2018, Impact of heat stress and nutritional interventions on poultry production, *Worlds Poult Sci J*, 74, 1-18. 10. Kanački Z, Stojanović S, Žikić D, Ušćebrka G, 2017, Influence of modified incubation factors on meat characteristics of broiler chickens. *Anim Sci Pap Rep*, 35, 1, 87-96. 11. Kapetanov M, Pajić M, Ljubojević D, Pelić M, 2015, Heat stress in poultry industry, *Arhiv veterinarske medicine*, 8, 2, 87-101. 12. Lin H, Jiao HC, et al, 2006, Strategies for preventing heat stress in poultry, *Worlds Poult Sci J*, 62, 71-85. 13. McKinney LJ, Teeter RG, 2003, Caloric value of pelleting and the consequential creation of nutritional dead zones, *Poult Sci*, 82, 1, 109. 14. Mujahid A, 2011, Nutritional Strategies to Maintain Efficiency and Production of Chickens under High Environmental Temperature, *Poult Sci*, 48, 3, 145-54. 15. Oral Toplu HD, Nazligül A, et al, 2014, Effects of heat conditioning and dietary ascorbic acid supplementation on growth performance, carcass and meat quality characteristics in heat-stressed broilers, *Vet Fak Derg*, 61, 295-302. 16. Piestun Y, Shinder D, et al, 2008, The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and post-hatch thermoregulation, *Journal of Therm Biol*, 33, 413-8. 17. Ružić Z, Kanački Z, et al, 2019, Uticaj termalnog kondicioniranja samostalno i u kombinaciji sa vitaminom C na pojedine hematološke parametre brojlera tokom toplotnog stresa, Zbornik radova, Zdravstvena zaštita i reprodukcija farmskih životinja, Novi Sad, 193-200. 18. Sahin K, Sahin N, et al, 2001, Protective role of supplemental vitamin E on lipid peroxidation, vitamins E, A and some mineral concentrations of broilers reared under heat stress, *Veterinary Medicine*, 46, 5, 140-4. 19. Smith MO, Teeter RG, 1988, Effect of potassium chloride and fasting on broiler performance during summer, *Animal Research Report*, 125, 255-8. 20. Soleimani AF, Zulkifli I, Omar AR, Raha AR, 2011, Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress, *Poult Sci*, 90, 7, 1435-40. 21. Teeter RG, Smith MO, Owens FN, 1985, Chronic heat stress and respiratory alkalosis occurrence and treatment in broiler chicks, *Poult Sci*, 64, 1060-4. 22. Trivedi SP, Patil SS, et al, 2018, A review on the nutritional management of climatic heat stress in poultry, In book: Recent Research Trends in Veterinary Sciences and Animal Husbandry. 23. Yahav S, Plavnik I, 1999, Effect of early-age thermal conditioning and food restriction on performance and thermotolerance of male broiler chickens, *Br Poult Sci*, 40, 1, 120-126. 24. Zaboli G, Rahimi S, et al, 2016, Thermal manipulation during Pre and Post-hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress, *Poult Sci*, 0, 1-8.

ИСПИТИВАЊЕ ЕФИКАСНОСТИ ФЛУРАЛАНЕРА ПРОТИВ ЦРВЕНЕ КОКОШИЈЕ  
ГРИЊЕ - *DERMANYSSUS GALLINAE*

EXAMINATION OF THE EFFICACY OF FLURALANER AGAINST POULTRY RED MITE,  
*DERMANYSSUS GALLINAE*

Филип Штрбац, Драгица Стојановић, Зорана Ковачевић

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

**Кратак садржај**

Црвена кокошија гриња (lat. *Dermanyssus gallinae*) представља једног од најзначајнијег паразита модерног живинарства који причањава велике штете. Услед недовољне ефикасности и развоја резистенције према досадашњим акарицидима, проблем је постао још већи, због чега се јавила потреба за проналаском нове активне супстанце која ће ставити под контролу овог паразита. Флураланер, активна супстанца из групе изоксазолина, примењен у дози 0,5 mg/kg t.m., двократно у размаку од 7 дана се наметнуо као могућа опција. Према досадашњим истраживањима, флураланер поседује изузетно високу ефикасност и брзину паразитицидног дејства против *Dermanyssus gallinae* у трајању од најмање три недеље, а такође утиче и на репродуктивни циклус гриња. При свему томе је знатно ефикаснији од осталих, постојећих акарицида. Поред тога, утиче и на повећање производње јер третирање заражених јата флураланером побољшава недељну стопа полагања код кока носиља. Међутим, с обзиром на ограничен број података у досадашњој литератури, потребна су додатна испитивања како би се потврдили досадашњи резултати, а флураланер треба примењивати заједно са другим мерама контроле *Dermanyssus gallinae*.

**Кључне речи:** акарициди, *Dermanyssus gallinae*, ефикасност, флураланер, гриња

**Summary**

Poultry red mite (lat. *Dermanyssus gallinae*) is one of the most important parasites of modern poultry that causes great damage. Due to inadequate efficacy and development of resistance to previous acaricides, the problem has become even greater, which has led to the need to find a new active substance that will put red mite under control. Fluralaner, as an active substance from the group of isoxazoline, administered at a dose of 0,5 mg/kg b.w., twice at the 7-day interval was imposed as a possible option. According to recent research, the fluralaner possesses extremely high efficacy and speed of parasitic kill against *Dermanyssus gallinae* for at least 3 weeks and also affects the reproductive cycle of mites. In all this, it is significantly more efficient than the other existing acaricides. In addition, it also affects the increase in production because the treatment of infected flocks with fluralaner improves the weekly rate of laying on laying hens. However, given the limited number of data in the literature so far, further tests are needed to confirm the results, and the fluralaner should be applied along with other control measures of *Dermanyssus gallinae*.

**Key words:** acaricides, *Dermanyssus gallinae*, efficacy, fluralaner, mite

**УВОД**

Црвена кокошија гриња (lat. *Dermanyssus gallinae*) представља опасног паразита модерног живинарства који чини све веће штете, а чак се тренутно сматра и најштетнијим паразитом кока носила у свету. Инфестација овим паразитом проузрокује озбиљно нарушавање здравља и добробити код животиња, утиче на продуктивност индустрије јер смањује производњу и квалитет јаја, а има и велики утицај на јавно здравље јер је потенцијални вектор патогена. Додатни проблем јесте развој резистенције према постојећим акарицидима, климатске промене као и недостатак одрживог приступа за контролу инфестација. Због свега тога је хитно потребно развити ефективни и одрживи третман против ове гриње, укључујући интегрисано сузбијање штеточина и употребу нових фармаколошко активних супстанци (Flochlay и сар., 2017).

Флураланер припада групи изоксазолина, новој групи антиектопаразита, који се користи искључиво у ветеринарској медицини, и то у терапији паразитских обољења живине, паса и мачака. До сада нису позната нежељена дејства и контраиндикације за примену ове активне супстанце. Механизам дејства флураланера се заснива на некомпетитивним антагонизму према рецепторима гама аминобутерне киселине (ГАБА), и то са израженом селективношћу ка бескичмењацима у односу на сисаре. Код експонираних паразита се затим јавља парализа и угинуће (Junqueira, 2018). Предност активних супстанци из групе изоксазолина у односу на конвенционалне пестициде се састоји у томе што не показују унакрсну резистенцију у *ин vivo* и *ин vitro* студијама против различитих врста паразита у поређењу са класичним активним супстанцама (Jiang и сар., 2017).

Циљ рада јесте да се кроз преглед и разматрање досадашњих радова на тему испитивања ефикасности флураланера против *Dermanyssus gallinae* објасни ефикасност и потенцијалне могућности ове нове активне супстанце, као и да се представи широј научној јавности у Србији.

**ЕФИКАСНОСТ И ПОТЕНЦИЈАЛНЕ МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ФЛУРАЛАНЕРА ПРОТИВ ЦРВЕНЕ КОКОШИЈЕ ГРИЊЕ**

Испитивањем ефикасности флураланера су се бавили Zoller и сар. (2018), у истраживању које је је заправо представљало шест одвојених студија спроведених широм Европе и света. Циљ је био испитати осетљивост изолата *Dermanyssus gallinae* према флураланеру, која се испитвала путем одређивања LC<sub>50</sub> и LC<sub>90</sub> након различитих начина примене (тест филтер папира, имерзиони тест, тест храњења). Без обзира на метод тестирања, флураланер је био константно активан при ниским концентрацијама против свих тестираних изолата *Dermanyssus gallinae*. Највећа активност је уочена при тесту храњења (осликава системску активност), и то при екстремно ниским леталним концентрацијама (LC<sub>90</sub> < 0.1 ppm), које су приближно 1.000 пута ниже од оних добијених током теста контакта са филтер папиром (осликава контактну активност). Овај резултат показује да је флураланер најефикаснији уколико се примени системски. Потентнија системска него контактна активност флураланера је због тога што иновативни начин примене (у води за пиће) омогућава употребу мање и прецизније количине активне супстанце у поређењу са применом спреја.

Zoller и сар. (2018) су затим извршили упоредно испитивање LC<sub>90</sub> појединих изолата из различитих држава за флураланер, пиретроиде (делтаметрин, циперметрин), фоксим, пропоксур и спиносад. Резултати су демонстрирали апсолутну доминацију флураланера у смислу знатно веће осетљивости црвене кокошије гриње у поређењу са поменути акарицидима, према којима је очигледно развила извесну дозу резистенције. Наиме, код већине испитиваних изолата, LC<sub>90</sub> за флураланер је била мања од 15,6, док је код свих осталих испитиваних акарицида износила преко 1.000. То значи да је осетљивост *Dermanyssus gallinae* према флураланера око 100 пута већа у поређењу са пиретроидима, фоксимом, пропоксуром и спиносадом, а уочава се и да та разлика расте са временом због пораста резистенције према поменути акарицидима.

Брзину паразитицидног дејства флураланера против *Dermanyssus gallinae* су испитивали Brauneis и сар. (2017) у истраживању које је вршено над здравим кокама подељеним у две испитиване групе које су у више наврата инфестриране са ненахрањеним адултима. Једна група је третирана флураланером у препорученој дози (0,5 mg/kg t.m., два пута у размаку од недељу дана), а друга је била контрола. До дванаест дана након апликације лека ефикасност је била чак 98,7 –



### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

100% у свим временским тачкама од инфестације паразитима (4h, 8h, 12h и 24h). 15. дана експеримента након апликације, акарицидна ефикасност 4h након инфестације је износила 82,6%, да би након тога у наредним часовима расла и износила 95,2% (након 8h), 99,3% (након 12h) и 100% (након 24h). Тек 19.-ог дана од апликације, ефикасност након 4h од инфестације је била слаба и износила 3,3%, након чега је расла (15,2% након 8h и 31,1% након 12h) до 74,8%, након 24h од инфестације. Резултати овог испитивања су доказали високу ефикасност флуруаланера и брзину паразитицидног дејства у периоду од 19 дана у условима константне изложености грињама.

Са друге стране, у истраживању које су спровели Thomas и сар. (2018), оглед је био подешен тако да не постоји константан извор инфестације већ су на свакој фарми два слична јата настањивана у два слична објекта заражена црвеном кокошијом грињом, а након тога није било додатних артефицијалних инфестација као у претходном истраживању. У овом случају, ефикасност дејства флуруаланера на свакој фарми је процењена поредећи редукцију броја гриња у третираним објектима у односу на контролне објекте. У оваквим условима, флуруаланер примењен на уобичајен начин је задржао висок проценат ефикасности (>90%) од два до осам месеци, у зависности од фарме. При томе, највећу ефикасност (99-100%) флуруаланер је имао 9-14 дана након апликације.

Vraunelis и сар. (2017) су испитивали и утицај флуруаланера на репродуктивне параметре гриња. Међутим, током 15 дана након апликације флуруаланера, 100% гриња је угнуло у року од 24h након инфестације тако да није ни дошло до овипозиције у групи третираној флуруаланером. Због тога су параметри репродукције гриња, као што су број јаја по женки, број испиљених ларви, нимфална конверзија (пресвлачење) и виталност нимфи, испитивани 19., 22. и 26. дана од апликације флуруаланера. Резултати су доказали утицај флуруаланера на све поменуте параметре, и то нарочито на редукцију броја виталних нимфи (чак 90,8%) и редукцију броја јаја по женки (48,1%), на дан 19. Овај утицај је временом слабио, тако да је на дан 26. редукција броја виталних нимфи износила 15,2%, а редукција броја јаја по женки 10,6%.

Утицај флуруаланера на повећање недељне стопе полагања јаја у јатима зараженим црвеном кокошијом грињу су испитивали Thomas и сар. (2018). Истраживање је спроведено на осам различитих фарми кока носилца широм Европе, приликом чега су на свакој фарми посматрана два слична јата заражена грињом од којих је једно третирано на уобичајен начин, а друго не (контролна група). Ефекат апликације флуруаланера се мерио и изразио кроз разлику између огледне и контролне групе у просечној недељној стопи полагања јаја пре и након третмана. Добијени резултати су приказали да се недељна стопа полагања јаја између третиране и контролне групе разликовала за 4,48% пре третмана, а након третмана за чак 30,46% у корист огледне групе. То значи да се недељна стопа полагања јаја побољшала за чак 25,98% након апликације флуруаланера у односу на период пре третмана, из чега се може закључити да третман јата заражених *Dermanyssus gallinae* флуруаланером у значајној мери побољшава производњу јаја.

Претпоставку да ће нови акарицид флуруаланер због своје евидентне ефикасности довести до побољшања ситуације у контроли црвене кокошије гриње износе и Pavličević и сар. (2018). Међутим, исти аутори наводе да ће флуруаланер довести само до краткотрајног побољшања, а да је за потпуну контролу и елиминисање овог паразита потребно следеће: искључити токсиколошке ризике; одредити краткорочан (ефикасно сузбијање) и дугорочан циљ (ерадикација); увести принципе биосигурности, превентиве и рационалне контроле; обезбедити стручну формулацију и повећати квалитет мониторинга. У преводу, примена флуруаланера је само једна од карика коју треба применити у стратегији контроле *Dermanyssus gallinae*, док је за потпун успех потребно применити и друге мере.

#### ЗАКЉУЧАК

Из свега наведеног се може закључити да је флуруаланер ефикасно средство у борби против *Dermanyssus gallinae*, знатно ефикасније од досадашњих акарицида (пиретроиди, фоксим, пропоксур и спиносад). Најбољи начин примене јесте путем медицинисане воде за пиће, два пута у размаку од 7 дана, у дози 0,5 mg/kg t.m., када флуруаланер испољава најефикасније дејство у трајању од око три недеље уколико је извор инфекције константно присутан, а уколико није онда и

### 30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ

---

знатно више, до неколико месеци. Флураланер поседује брзо паразитицидно дејство против црвене гриње живине и утиче на њен циклус развоја, и то нарочито на редукацију броја јаја по женки и редукацију броја виталних нимфних облика. Такође, резултати показују да третирање заражених јаја флураланером у великој мери побољшава недељну стопу полагања јаја кока носиља, што говори у прилог томе да флураланер поред контроле црвене кокошије гриње и побољшања здравља и добробити јаћа утиче и на повећање производње. Ипак, потребна су додатна испитивања да потврде досадашње резултате, а флураланер треба примењивати заједно са другим мерама контроле *Dermanyssus gallinae*.

#### Литература

1. Brauneis M, Zoller H, Williams H, Zschiesche E, Heckerth A, 2017, The acaricidal speed of kill of orally administered fluralaner against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens and its impact on mite reproduction, *Parasit Vectors*, 10,1,594. 2. Flochlay A, Thomas, E, Sparagano O, 2017. Poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a significant challenge for the egg-laying industry in Europe, *Parasit Vectors*, 10,357. 3. Jiang S, Tsikolia M, Bernier U, Bloomquist J, 2017, Mosquitocidal Activity and Mode of Action of the Isoxazoline Fluralaner, *Int J Environ Res Public Health*, 14,2,154. 4. Junquera P, 2018, Fluralaner: Safety Summary for Use on Dogs and Cats, доступно на: [https://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2867&Itemid=2970](https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2867&Itemid=2970). 5. Pavličević A, Ratajac R, Stojanov I, Pavlović I, 2018, The Control Program of Red Poultry Mite (*Dermanyssus Gallinae*), Today, *Arhiv Vet Med*, 11,2,71-88. 6. Thomas E, Chiquet M, Sander B, Zschiesche E, Flochlay A, 2017, Field efficacy and safety of fluralaner solution for administration in drinking water for the treatment of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestations in commercial flocks in Europe. *Parasit Vectors*, 10,1,457. 7. Zoller H, Thomas E, Liebisch G, Alves L, Chiummo R, Vettorato L et al, 2018, In vitro activity of fluralaner and commonly used acaricides against *Dermanyssus gallinae* isolates from Europe and Brazil. *Parasit Vectors*, 11, 361.

ПАРАЛИЗА НОГУ КОД КОКА НОСИЉА У ПЕРИОДУ ОДГОЈА

*Марко Пајић, Слободан Кнежевић, Далибор Тодоровић, Биљана Ђурђевић, Милена Самојловић, Сузана Видаковић Кнежевић, Милош Пелић, Душан Лазич, Владимир Полачек*

Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад

**Кратак садржај**

На три фарме за одгој кока носиља у току 2018. и 2019. године уочена је парализа ногу код одређеног броја јединки. Пилићи су били пореклом из Мађарске и Србије, а одгој се одвијао у кавезном систему држања. У току 2018. године око 50.000 пилића хибрида *Hu-Line Silver Brown* је усељено на фарму А, на фарму Б око 96.000 пилића хибрида *Tetra SL*, а на фарму В 37.700 пилића хибрида *Lohmann Brown* и 6.300 пилића хибрида *Lohmann LSL*. Први клинички симптоми појавили су се на фарми А 46. дана, на фарми Б 31. дана, а на фарми В 29. дана старости кока. Током 2019. године појавио се нови случај парализе на фарми В при старости пилића 32 дана, где је усељено 52.200 пилића хибрида *Lohmann Brown*. Коке су испољавале следеће симптоме: отежано кретање, тешко су се ослањале на ноге, парализа једног или оба екстремитета, прсти савијени, перје наокошено, а крила опуштена. Због проблема са кретањем, оболеле јединке нису одлазиле до хране и воде, па је сходно томе долазило до угинућа након 2-3 дана. Број јединки које су биле захваћене парализом на фарми А износио је око 2,7%, на фарми Б око 3%, а на фарми В 4,42% (2018) и 5,11% (2019). Јединке које нису испољавале горе наведене клиничке симптоме, биле су у доброј кондицији, нису имале проблема са кретањем, а конзумација хране и воде, као и телесна тежина били су у границама предвиђеним технолошким нормативима. Нови случајеви парализе престали су да се појављују на фарми А у 14. недељи узраста, на фарми Б у 13. недељи, а на фарми В у 14. недељи (2018 и 2019). За дијагностичке анализе узорковани су унутрашњи органи (јетра, црева, плућа, скочни зглобови, нерви, дуге цевасте кости) пореклом од оболелих кока. Урађена су патохистолошка и бактериолошка испитивања. Због карактеристичне клиничке слике, посумњало се на вирус узрочник Марекове болести, као и периферну неуропатију.

**Кључне речи:** парализа, коке носиље, одгој, кавезни систем

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројекту технолошког развоја ТР 31071 финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије

ИСПИТИВАЊЕ АНТИБИОТСКИХ РЕЗИДУА У КОНЗУМНИМ ЈАЈИМА  
СА ПИЈАЦА НА ПОДРУЧЈУ НОВОГ САДА

*A SURVEY OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN TABLE EGGS  
FROM MARKETPLACES IN NOVI SAD*

*Сузана Видаковић Кнежевић, Милош Пелић, Јелена Вранешевић, Слободан Кнежевић,  
Марко Пајић, Драгана Љубојевић Пелић, Сандра Јакшић,  
Бранкица Карталовић, Милица Живков-Балош*

Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад

**Кратак садржај**

Честа употреба ветеринарских лекова и антибиотика у сврху лечења, профилаксе или као промотора раста изазива појаву антибиотских резидуа у намирницама анималног порекла, укључујући и конзумна јаја. Присуство антибиотских резидуа у храни изнад максимално дозвољених концентрација може довести до ризика по здравље људи, било директно или индиректно развојем антибиотске резистенције, која изазива неуспех антибиотске терапије у клиничким случајевима. Ово истраживање је спроведено како би се добиле информације о употреби лекова и присуство антибиотских резидуа у конзумним јајима са пијаца на подручју Новог Сада применом методе „четири плоче“. Овај скрининг тест представља микробиолошки агар дифузни тест који се састоји од четири плоче агара инокулисаних микроорганизмима *Bacillus subtilis* и *Kocuria rhizophila* при различитим рН вредностима. Присуство одређених антибиотских супстанци у узорку уочава се појавом инхибиционе зоне раста једног или оба микроорганизма. У истраживању је испитано тридесет насумично узоркованих конзумних јаја. Резултати испитивања конзумних јаја показују да су сви испитивани узорци били негативни на присуство антибиотских резидуа, укључујући пеницилине, тетрациклине, аминогликозиде, макролиде и сулфонамиде. Конзумна јаја произведена на пољопривредним газдинствима су се показала као сигурна, без присуства антибиотских резидуа.

**Кључне речи:** антибиотске резидуде, микробиолошки скрининг тест, конзумна јаја

**Summary**

The frequent use of veterinary drugs and antibiotics either for curative, prophylactic or growth promotion purposes causes the occurrence of antibiotic residues in various food products of animal origin including table eggs. Presence of antibiotic residues in food above the maximum acceptable level might constitute a health risk, either direct or indirect through development of antibiotic resistance, which causes failure antibiotic therapy in clinical situations. This study was designed to obtain information on drug use and to screen table eggs for antibiotic residues distributed locally on marketplaces in Novi Sad using the four-plate test. This screening test is a microbiological agar diffusion test, comprised of four plates of agar medium inoculated with *Bacillus subtilis* and *Kocuria rhizophila* at different pH values. Certain antibiotic substances present in the samples are shown by the formation of inhibition zones of one or both microorganisms. Thirty commercial eggs were collected randomly and examined for antibiotic residues. The results of screening for the presence of antibiotic residues in table eggs revealed that none of thirty samples of the prepared eggs were positive for antibiotic substances, including penicillin, tetracycline, aminoglycoside, macrolides antibiotics and sulfa drugs. In fact, table eggs produced by

### **30. ЈУБИЛАРНО САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ**

---

locals in backyards are shown to be very safe and meet the highest standards to exclude antibiotic residues.

**Key words:** antibiotic residues, microbial screening test, table eggs

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројектима технолошког развоја ТР31084 и ТР31071 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

### ЗНАЧАЈ ПРОСТИРКЕ У БРОЈЛЕРСКОЈ ПРОИЗВОДЊИ

#### *SIGNIFICANCE OF BEDDING MATERIAL IN BROILER PRODUCTION*

*Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Сузана Видаковић Кнежевић, Симиша Грубач, Душан Лазич, Ненад Попов, Далибор Тодоровић, Дубравка Миланов, Милица Живков-Балош*

Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад

#### **Кратак садржај**

Један од кључних фактора успешности бројлерске производње је одабир адекватне простирке. Простирка представља мешавину различитих материјала органског и неорганског порекла који спадају у споредне производе пољопривреде и шумарства. Сврха простирке је да обезбеди удобност и топлотну изолацију између живине и тла. Како простирка представља мешавину различитих материјала (слама, хобловина, шушка и др.) и фецеса, она представља врло погодну средину за развој микроорганизама, који својим метаболизмом синтетишу амонијак чија емисија представља озбиљан проблем у тову бројлера. Лезије на табанском делу јастучића бројлерских пилића могу имати за последицу инфекције са различитим микроорганизмима, смањење покретљивости пилића и повећан број искључених јединки у тову. Предмет овог истраживања је био испитивање могућности примене мешавине следећих материјала: тресета, целулозног пелета, дрвеног чипса и рН стабилизатора као простирке у бројлерској производњи. У циљу имплементације *M-classic bedding* у бројлерској производњи пилића, укупно је испитано 80 узорака простирке на микробиолошке и физичко-хемијске параметре. Такође, анализирани су и параметри добробити. На основу добијених и анализираних резултата може се рећи да је ово нови тип материјала на нашим просторима, који до сада није коришћен као простирка у живинарској индустрији. У погледу физичко-хемијских својстава, здравственог стања и добробити животиња, простирка *M-classic* је дала задовољавајуће резултате. Ова простирка испуњава следеће услове: здравствено безбедна је за јединке у тову, обезбеђује удобност током периода това, има добру апсорпциону моћ, доступна је на тржишту, не садржи токсичне материје и не испољава негативне ефекте на запослене. Након завршетка производног циклуса, простирка се користи за производњу органског ђубрива, па је према томе еколошки прихватљива и биоразградива.

**Кључне речи:** простирка, бројлерска производња, лезије на табанском делу јастучића, амонијак

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројектима технолошког развоја ТР 31084 и ТР 31071 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

ИСПИТИВАЊЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ И ОСЕТЉИВОСТИ ELISA ТЕСТА  
ЗА ДЕТЕКЦИЈУ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА БОЛЕСТИ КВРГАВЕ КОЖЕ

*TESTING OF ELISA SPECIFICITY AND SENSITIVITY FOR DETECTION  
OF ANTIBODIES AGAINST LUMPY SKIN DISEASE VIRUS*

*Милена Самојловић<sup>1</sup>, Тамаш Петровић<sup>1</sup>, Владимир Полачек<sup>1</sup>, Диана Лунуловић<sup>1</sup>,  
Госпава Лазих<sup>1</sup>, Марко Пајић<sup>1</sup>, Биљана Ђурђевић<sup>1</sup>, Драган Роган<sup>2</sup>, Сава Лазих<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад,

<sup>2</sup>Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај**

Серолошка дијагностика болести квржаве коже (LSD) и даље представља изазов. Познато је да код животиња са слабо израженом клиничким сликом или вакцинисаних животиња често долази до стварања хуморалног имунолошког одговора који се не може детектовати доступним серолошким тестовима, као и да ниво антитела није сразмеран нивоу заштите од вируса болести квржаве коже (LSDV). Вирус неутрализациони тест (ВНТ) представља златни стандард серолошке дијагностике LSD, док за сада ниједан ELISA тест није наишао на препоруку од стране ОИЕ. Циљ нашег истраживања био је да испитамо специфичност и осетљивост тренутно доступног комерцијалног ELISA теста за детекцију антитела против LSDV у односу на ВНТ. Према препорукама произвођача специфичност овог теста је врло висока и у регионима слободним од *Carpriovirusa* износи >99,7%. Такође, произвођач наводи побољшану осетљивост у односу на ВНТ, са могућношћу детекције антитела од 20 дана све до 7 месеци после вакцинације. За испитивање специфичности смо користили узорке крвних серума говеда из банке серума Научног института за ветеринарство “Нови Сад” пре појаве LSD у Републици Србији, док смо за испитивање осетљивости ELISA теста у односу на ВНТ користили узорке крвних серума вакцинисаних крава и крвних серума телади пореклом од вакцинисаних крава. Испитивањем узорака из банке серума на присуство антитела против LSDV утврђено је да специфичност ELISA теста износи 99,2%, а ВНТ 100%. Осетљивост ELISA теста у односу на ВНТ за детекцију поствакциналних антитела против LSDV код крава је износила 88,24%, док је осетљивост ELISA теста у односу на ВНТ за детекцију матерналних антитела против LSDV код телади износила 86,44%. Резултати добијени у овом испитивању су у складу са резултатима других аутора, стога сматрамо да комерцијални ELISA тест има потенцијал као једноставна, брза и поуздана серолошка метода за детекцију антитела против LSDV.

**Кључне речи:** Болест квржаве коже, ELISA, ВНТ, специфичност, осетљивост

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројектима технолошког развоја ТР 31084 и ТР 31071 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

КОНТРОЛА ПАРАЗИТСКИХ БОЛЕСТИ КОД ШАРАНА (*Cyprinus carpio*) ГАЈЕНОГ У  
РИБЊАЦИМА

*CONTROL OF PARASITIC DISEASES IN CARP (Cyprinus carpio) BRED IN FISH FARMS*

Милош Пелић, Драгана Љубојевић Пелић, Душан Лазић, Милена Самојловић,  
Сузана Видаковић Кнежевић, Слободан Кнежевић, Марко Пајић,  
Јелена Вранешевић, Мирослав Ђирковић

Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад

**Кратак садржај**

При интензивном шаранском рибарству долази до промена абиотичких и биотичких чинилаца и до њихове комплексне интеракције. Интензивирање производње захтева и исхрану високо квалитетним комплетним крмним смешама. Велика густина насада, метаболички продукти као и део неискоришћене хране, нарушавају сам квалитет воде и као последицу имају поремећај основних амбијенталних услова. Сви ови поменути фактори доводе до појаве стреса и пада имунитета код риба, па се стварају услови за инфекцију риба са већим бројем паразита и појаве паразитоза.

Економски губици на рибњацима који могу да буду проузроковани паразитима потичу од директних угинућа, смањеног прираста, ниске репродуктивне ефикасности, повећане подложности према другим инфекцијама, високе цене лечења и смањења цене рибе и рибљих производа на тржишту.

У односу на узрочнике вирусних и бактеријских болести које су до сада доста више изучаване, мања пажња се посвећује паразитским инфекцијама и њиховој контроли. Тренутно на тржишту не постоје комерцијалне вакцине, а ни антипаразитици за употребу у аквакултури нису доступни на тржишту. Поред тога, јавља се стварање резистенције на постојеће антипаразитике. Проблеме стварају и токсичност појединих антипаразита и перзистенција њихових резидуа у месу риба. Такође, нека средства која су била широко распрострањена у рибарству сада су забрањена јер угрожавају животну средину. Имајући горе наведено у виду потребно је развити нове и ефикасне лекове који би се користили у контроли паразитских инфекција код риба.

У контроли паразитских болести на шаранским рибњацима неопходно је примењивати и опште технолошке мере које обухватају, употребу квалитетне хране, оптималну густину насада, одржавати добар квалитет воде и избегавати сваку непотребну манипулацију са рибом како би се ниво стреса код риба свео на најмањи могући ниво.

**Кључне речи:** *Cyprinus carpio*, шарански рибњаци, паразитске болести, интензивна производња, стрес.

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројекту технолошког развоја ТР 31011 финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.



ЛАБОРАТОРИЈСКА ДИЈАГНОСТИКА И ЕПИЗООТИОЛОШКА АНАЛИЗА ПРОЛЕЋНЕ  
ВИРЕМИЈЕ ШАРАНА НА ПОЈЕДИНИМ РИБЊАЦИМА АП ВОЈВОДИНЕ

*LABORATORY DIAGNOSTICS AND EPIZOOTIOLOGICAL ANALYSIS  
OF SPRING VIREMIA OF CARP ON THE INDIVIDUAL FISHPONDS IN AP VOJVODINA*

Душан Лазих<sup>1</sup>, Николина Новаков<sup>2</sup>, Милена Самојловић<sup>1</sup>, Диана Лупуловић<sup>1</sup>,  
Милош Пелић<sup>1</sup>, Слободан Кнежевих<sup>1</sup>, Марко Пајић<sup>1</sup>, Мирослав Ђирковић<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научни институт за ветеринарство Нови Сад;

<sup>2</sup> Пољопривредни факултет, Департман за ветеринарску медицину, Универзитет у Новом Саду

**Кратак садржај**

Пролећна вирамија шарана (ПВШ) је вирусно, акутно, контагиозно оболење, првенствено шаранских врста риба, чији је узрочник *Rhabdovirus carpio*, који припада фамилији *Rhabdoviridae*. Шаран (*Cyprinus carpio*) је најугрженија врста риба, и то у свим категоријама и узрасту, мада најчешће оболева млађ од једне до две године. Експанзија интензивне производње шаранских врста риба је довела и до брзог ширења многих патогена, па тиме и вируса пролећне вирамије шарана. С обзиром, да ова болест може да доведе до значајних економских губитака, Законом о ветеринарству, као Правилницима о програму мера здравствене заштите животиња, који се доносе сваке године, прописано је да се континуирано прати здравствено стање шаранских врста риба на ову болест. Поред описа болести, према научним и стручним сазнањима о болести пролећне вирамије шарана, у раду је дат приказ резултата у протеклих четири године испитивања, за период 2015 – 2018. године у Научном институту за ветеринарство „Нови Сад“. Провера присуства вируса пролећне вирамије шарана, у овом периоду, спроведена је на око 30% рибњака на територији АП Војводине. Укупно је контролисано 47 рибњака, и прегледано је 272 узорака пореклом од једногодишње и двогодишње млађи, као и одраслих риба. Већи број узорака је прикупљен као део редовно спровођеног мониторинга по Програму мера здравствене заштите животиња, а мањи број узорака је достављен на испитивање на захтев власника. Испитивања су вршена комерцијалним ЕЛИСА сет китом “SVCV Ag ELISA”, по упутству произвођача “TEST LINE” (Брно, Република Чешка). Узорци са позитивним налазом су испитани и RT-PCR методом, чиме је потврђено присуство вируса пролећне вирамије шарана у испитаним узорцима ткива риба. Присуство антигена вируса пролећне вирамије шарана је утврђено у 4,41% (12/272) прегледаних узорака. Највише позитивних налаза дијагностиковано је 2018. године 8,21% (6/73) затим 2017. године, 6,25% (5/80), 2016. године дијагностиковано 1,47% (1/68) позитивних налаза, а 2015. године није дијагностикован ниједан позитиван налаз. Присуство позитивних налаза утврђено је у 4,83% (6/124) узорака пореклом од једногодишње млађи, у 6,75% (5/74) узорака пореклом од двогодишње млађи и у 1,47% (1/68) узорака пореклом од одраслих риба. На основу изнетих резултата можемо закључити да је пролећна вирамија шарана највише заступљена у категоријама двогодишње и једногодишње шаранске млађи, док је нешто мање присутна код сатарџијих риба. Потребно је наставити даља испитивања, што има за циљ бољу контролу болести и имплементацију профилактичких, биосигурносних мера на рибњацима.

**Кључне речи:** пролећна вирамија шарана, епизоотиологија, лабораторијска дијагностика, ЕЛИСА, RT-PCR

САДРЖАЈ ВОДЕ И ЕЛЕКТРИЧНА ПРОВОДЉИВОСТ КАО ИНДИКАТОРИ  
КВАЛИТЕТА МЕДА ПОРЕКЛОМ ИЗ РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ

*PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS AS AN INDICATOR OF THE QUALITY OF  
HONEY ORIGINATING FROM REPUBLIC SERBIA*

*Ненад Попов, Жељко Михаљев, Сандра Јакшић, Бранкица Карталовић,  
Слободан Кнежевић, Марко Пајић, Милица Живков Балаш*

Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“, Нови Сад

**Кратак садржај**

Мед представља природну храну која се може користити без икакве обраде. Одликује се сложеним саставом који је уско повезан са његовим ботаничким пореклом, као и географским подручјем са којег потиче. Физичко-хемијске анализе имају важну улогу у дефинисању укупних карактеристика меда и процени квалитета меда. У овом раду одређивани су садржај воде и електрична проводљивост различитих врста меда прикупљених из малопродајних ланаца у Републици Србији током октобра 2018. године. Укупно је испитано 80 узорака од којих су 42 узорка ливадског, 19 багремовог, 7 липовог, 6 шумског и 6 узорака сунцокретовог меда. Садржај воде је одређен рефрактометријском техником, мерењем индекса преламања према методи датој у *International Honey Commission Methods (2009)*, коришћењем стандардног модела *Abbetype* рефрактометра на температури од 20°C. Електрична проводљивост је мерена у растворима узорака меда (20,0 g суве материје меда растворено у 100 ml дестиловане воде) на температури од 20 °C, кондуктометријски по методи описаној у *International Honey Commission Methods (2009)*. Вредности садржаја воде измерене у испитиваним узорцима кретале су се од 13,80 до 20,80%, а електричне проводљивости су биле у опсегу између 0,11 и 1,30 mS/cm. У поређењу са вредностима прописаним Правилником о квалитету меда и других производа пчела (*"Службени гласник РС", 101/2015*) може се закључити да су само у 3 узорка вредности садржаја воде биле изнад максимално дозвољене вредности (20%). У 5 узорка испитаног меда, измерена електрична проводљивост није одговарала условима квалитета прописаним наведеним Правилником. Од укупног броја анализираних узорака, 92% задовољава прописане критеријуме за испитане параметре квалитета. Резултати испитивања указују да је неопходно пратити већи број физичко-хемијских параметара квалитета током целе године ради боље процене квалитета меда.

**Кључне речи:** мед, садржај воде, електрична проводљивост

**Захвалница:** Истраживања су реализована према пројектима технолошког развоја ТР 31084 и ТР 31071 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

**COMPASSION FATIGUE - ЗАМОР ИЗАЗВАН САОСЕЋАЈНОШЋУ - ОСНОВНА  
ИНФОРМАЦИЈА**

*Владимир Терзин*

Ветеринарска амбуланта Terzin Pet & Vet, Београд, Србија

**Кратак садржај**

Замор изазван саосећајношћу (ЗИС) је група симптома у чијој је основи емоционална исцрпљеност изазвана стресом кога је проузроковао рад са трауматизованим пацијентима и пацијентима који пате, било да су у питању животиње или људи. Још се назива посредна трауматизација и најпре погађа пружаоце помоћи и пружаоце прве помоћи разних професионалних профила.

Људи који професионално брину о животињама су трауматизовани на исте начине као и други професионални пружаоци помоћи. Штавише, истраживања показују да су људи који се професионално баве бригом о животињама највише подложни ЗИС-у. Алармантан је податак да је међу овом популацијом број самоубистава у порасту.

Због сталне изложености тешким случајевима и акумулирања осећања, јавља се стрес услед чега долази до исцрпљености, љутње и губитка ентузијазма, доброг расположења и оптимизма. Ови симптоми ометају концентрацију, изазивају депресивност и раздражљивост, а ако не постоји свест о њима и њиховим негативним ефектима, последице могу да буду трајна промена личности и губитак емпатије.

Када у ветеринарској амбуланти или клиници већина запослених доживи замор изазван саосећајношћу, цела организација послата је угрожена. Истраживања су показала да се код ЗИС-а више ради о емоционалним последицама него о немогућности да се пружи адекватна помоћ клијенту.

За разлику од ЗИС-а, синдром професионалног сагоревања (*Burnout*) се начешће спорије развија и зависи од многих других фактора као што су оптерећеност административним обавзама, окружење, колеге и свакодневна рутина.

Особе које пате од синдрома замора изазваног саосећајношћу треба да се информишу благовремено и довољно добро да могу да препознају симптоме, да буду упорни у спровођењу бриге о себи, да јасно одреде границе у свом приватном и професионалном животу и да разумеју због чега се јавља такво негативно понашање.

**Кључне речи:** замор изазван саосећајношћу, посредна траума, пружаоци помоћи, симптоми