

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKЕ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 57 Dodatak 7 - 8 str. 381 - 536 Beograd, 2003.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Stanimirović Z., Fišter Svetlana, Ćirković D.: Delovanje cimiazol hidrohlorida na razmenu sestrinskih hromatida, mitotski i proliferativni indeks u kulturama humanih limfocita
Effects of Cymiazole Hydrochloride on Sister - chromatid Exchanges, Mitotic and Proliferation Indices in Cultured Human Lymphocytes
Действование гидрохлорид цимазола на обмен сестринских хроматидов, митотический и пролиферативный индекс в культурах гуманных лимфоцитов **385**
- Fišter Svetlana: Učestalost prekida i gapova na hromozomima šarana (*Cyprinus carpio*, L)
Frequency of Breaks and Gaps on the Carp (*Cyprinus carpio*, L) **393**
Частота перерыва и гапов на хромосомах сазана (*Cyprinus carpio*, L)
- Đoković R., Šamanc H., Bošković-Bogosavljević Snežana: Koncentracije slobodnih masnih kiselina, glikoze i insulina u krvi kod visoko-produktivnih mlečnih krava u peripartalnom periodu
Blood Concentration of Free Fatty Acids, Glycose and Insulin in High Producing Dairy Cows in Peripartal Period
Концентрации свободных жирных кислот, глюкозы и инсулина в крови у высоко-продуктивных молочных коров в перипартальном периоде **405**
- Jeremić Svetlana: Infestacije gastrointestinalnog trakta cestodama kod mladi šarana (*Cyprinus carpio*, L) na ribnjacima u Srbiji
Gastrointestinal Tract Infestations with Cestodes in Jounge Carp (*Cyprinus carpio*, L) in Fishers in Serbia
Инфестации пищеварительного тракта цестодами у молодежи сазана (*Cyprinus carpio*, L) на прудах в Сербии **415**
- Cristina T. R., Morariu S.: The Dinamics of Infectious Cyathostomines Larvae in Pastures of Western Romania
Dinamika pojavljivanja infektivnih larvi cijatostomina na pašnjacima zapadne Rumunije
Динамика инфекционных личинок циатостомина на пастбищах западной Румынии **421**
- Jakić-Dimić Dobrila, Nešić Ksenija, Sinovec Z.: Pregled kvaliteta hrane za goveda
Survey of Quality of Bovine Feeds
Осмотр качества корма для крупного рогатого скота **429**

PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Đurišić S., Lazić S., Petrović T., Lupulović Diana, Velhner Maja: Novija saznanja o važnijim biološkim karakteristikama goveđeg herpesvirusa-1
 Latest Knowledge on Major Biological Characteristics of Bovine Herpesvirus-1
 Более новые познания о более важных характеристиках говяжьего герпес вируса-1 **439**
- Petrović T., Lazić S., Lupulović Diana, Lalić M., Đurišić Bosiljka: Štete nastale kao posledica infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda i mogućnosti njene kontrole
 Damages Caused by BVDV infection and Possibilities for its Control
 Ущербы причинённые ВДКРС (DVB) инфекцией и возможность её контроля **449**
- Lazić S., Petrović T., Lupulović Diana, Jovičin M.: Značaj latentne infekcije goveda uzrokovane IBR virusom i mogućnosti njene eradikacije
 Importance of Latent IBR Viral Infection in Cattle and Possibilities for its Eradication
 Значение латентной инфекции крупного рогатого скота ИБР вирусом в возможности его искоренения **463**
- Milutinović Marija, Oreščanin Zorana, Zarić Marija, Radulović Ž.: Virusne hemoragične groznice
 Viral Hemorrhagic Fevers
 Вирусные геморрагические лихорадки **473**

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Kosec M., Mrkun J. Kadunc-Kos V.: One Embryo Elimination in Twin Pregnancies in Mares Using Ultrasound Guided Puncture
 Redukcija broja plodova kod kobila primenom punkcije vođene ultrazvukom
 Уничтожение одного из близнецов у кобыл применением пункции ведёной ультразвуком **481**
- Jokić Ž., Todorović Mirjana, Petrović Milica: Uticaj mikotoksina na neke reproduktivne pokazatelje svinja
 Effect of Mycotoxins on Some Reproductive Characteristics of Swine
 Влияние микотоксинов на некоторые репродуктивные показатели свиней **487**
- Ivanović Snežana: Nalaz *Campylobacter jejuni/coli* kod zaklane živine na koži i visceralnim površinama pre i posle pranja
 Findings of *Campylobacter jejuni/coli* in Slaughtered Poultry on Skin and Visceral Surfaces Before and After Washing
 Результат *Campylobacter jejuni/coli* у убитой домашней птицы на коже и висцеральных поверхностях до и после мытья **495**

PRIKAZI – PRESENTATIONS – ПРИКАЗИ

- Ilić Tamara, Knežević Milijana, Aleksić-Kovačević Sanja, Dimitrijević Sanda: Imunski odgovor pilića na kokcidijalnu infekciju
 Immunological Response of Chichen to Coccidial Infection
 Иммунологический ответ цыплят на кокцидиальную инфекцию **501**

<ul style="list-style-type: none"> ■ Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara: Najvažniji aspekti imunogenosti <i>Eimeria</i> spp. Most Important Aspects of Immunogenity of <i>Eimeria</i> spp. Самые важные аспекты иммуногенности <i>Eimeria</i> spp. 	505
STRUČNI PRIKAZI – PROFESSIONAL PRESENTATIONS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Hadžimilić M.: Hematom ušne školjke kod pasa (<i>Haemathoma auricularis</i>) Auricular Hematoma (<i>Haemathoma auricularis</i>) Гематома ушной раковины собак (<i>Haemathoma auricularis</i>) 	509
<ul style="list-style-type: none"> ■ Pavličević A., Petričević S., Pavlović I., Stajković N., Pižurica A.: Prilog forenzičkoj proceni dermanisoze Contribution to Forensic Evaluation of Dermanyssosis Приложение судебной оценке дерманисоза (<i>Dermanyssosis</i>) 	517
PRIKAZI KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ	
IN MEMORIAM – IN MEMORIAM – IN MEMORIAM	
KALENDAR – CALENDER – КАЛЕНДАР	
DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS - DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – ДИПЛОМИРОВАННЫЕ СТУДЕНТИ - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ	
	533

**DELOVANJE CIMIAZOL HIDROHLORIDA NA RAZMENU
SESTRINSKIH HROMATIDA, MITOTSKI I PROLIFERATIVNI
INDEKS U KULTURAMA HUMANIH LIMFOCITA***
*EFFECTS OF CYMIAZOLE HYDROCHLORIDE ON SISTER-CHROMATID
EXCHANGES, MITOTIC AND PROLIFERATION INDICES IN
CULTURED HUMAN LYMPHOCYTES*

Z. Stanimirović, Svetlana Fišter, D. Ćirković**

Cimiazol hidrohlorid je aktivna komponenta akaricida Apitol®-a i Apihem®-a koji se koriste kao varoacidi u pčelarstvu. Imajući u vidu da su rezidue cimiazol hidrohlorida ustanovljene u svim pčelinjim proizvodima koji su u upotrebi u ljudskoj ishrani, kao i u humanoj i veterinarskoj medicini – kao alternativni medikamenti, cilj ovog proučavanja je bio da se proceni sposobnost ove supstancije da izazove genotoksične efekte u kulturama limfocita periferne krvi čoveka i njen mogući uticaj na mitotsku aktivnost i kinetiku ćelijskog ciklusa. Genotoksični efekti su proučavani primenom SCE-testa in vitro. Rezultati su pokazali statistički vrlo značajno povećanje SCE-a ($p < 0,001$) u poređenju sa negativnom kontrolom; tj. cimiazol hidrohlorid je ispoljio genotoksična svojstva. Sve eksperimentalne koncentracije cimiazol hidrohlorida su statistički značajno ($p < 0,001$) povisile vrednosti mitotskog indeksa (MI) i indeksa proliferacije (PI), takođe. Tako, dobijeni rezultati ukazuju na značajne citomodulirajuće efekte i genotoksična svojstva.

Ključne reči: cimiazol hidrohlorid, akaricidi, pčelarstvo, genotoksičnost, SCE-test, mitotski indeks, indeks proliferacije

Uvod / Introduction

Cimiazol hidrohlorid se nalazi kao aktivna komponenta u mnogim sredstvima koja se koriste kao akaricidi, tj. varoacidi u pčelarstvu. Supstancija je

* Rad primljen za štampu 2. 6. 2003. godine

** Dr Zoran Stanimirović, vanredni profesor, dr Svetlana Fišter, viši naučni saradnik, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Dragan Ćirković, Ministarstvo za poljoprivredu i vodoprivredu Srbije, Novi Pazar.

rastvorljiva u vodi, što znači da može da se rastvori i u medu. Rezidue cimiazol hidrohlorida su tako nađene ne samo u medu, već i u vosku i drugim pčelinjim proizvodima [7, 5, 14, 8, 2, 1, 20, 21, 11,12]. Pčelinji proizvodi imaju vrlo široku i raznovrsnu primenu, kako u ishrani, tako i kao alternativni lekovi. Razumljivo je da je potrebno da se zna da li ova materija, čiji se ostaci detektuju, može da ima štetnih, toksičnih i genotoksičnih osobina. Postoje neki raniji nalazi da su određene koncentracije cimiazol hidrohlorida uzrokovale povišenje učestalosti prekida i ahromatskih lezija, kao i pojave poliploidnih ćelija u nekim test sistemima [15, 16, 19]. Kako se smatra da je test na genotoksičnost u kome se primenjuje pojava razmene sestrinskih hromatida (SCE), izuzetno osetljiv u detekciji hemijskih genotoksičnih agenasa [22, 18, 19], cilj ovoga rada je bio da se korišćenjem ovog testa ispitaju eventualna genotoksična svojstva ove supstancije, kao i njen mogući uticaj na mitotski indeks i indeks proliferacije.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Korišćen je cimiazol hidrohlorid (Apitol® JKL: 03 6,6/005-011/005; Evrotom, Ruma) u koncentracijama od 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml i 1 mg/ml. Za pozitivnu kontrolu je korišćen ciklofosamid (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) u koncentraciji od 40 µg/ml; kao negativna kontrola korišćen je 0,9% NaCl.

Kulture humanih limfocita postavljane su na klasičan način [6], a diferencijalno bojenje SCE-a obavljeno je prema proceduri Perryja i Wolffa [17].

Mitotski indeks je određivan na 1000 ili više ćelija, dok je kinetika ćelijskog ciklusa procenjavana na osnovu indeksa proliferacije.

Statističke analize obavljene su primenom Student t-testa.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

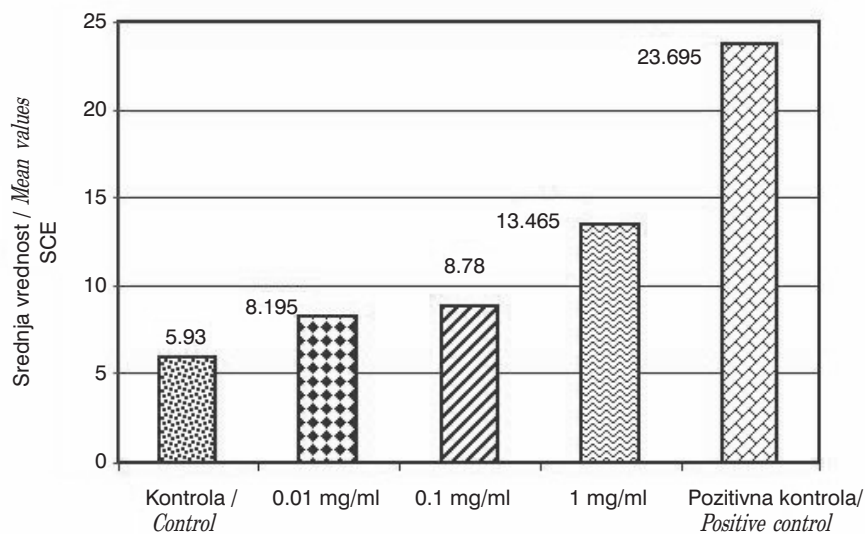
Rezultati istraživanja su prikazani na tabelama 1, 2 i 3 i slikama 1, 2 i 3.

Kao što se uočava na tabeli 1 i slici 1, srednje vrednosti SCE-a, u negativnoj kontroli, bile su $5,93 \pm 0,13$, dok su u svim ostalim slučajevima bile više (tabela 1, slika 1); odnosno tretman cimiazol hidrohloridom, kod svih primenjenih doza ove supstancije, izazvao je statistički značajno ($p < 0,001$) povećanje SCEa, što je, kako se i očekivalo, očigledno i u pozitivnoj kontroli.

Tabela 1. Uticaj cimiazol hidrohlorida na učestalost SCEa u kulturama limfocita periferne krvi čoveka

Table 1. Influence of cymiazole hydrochloride on SCE frequency in cultures of human peripheral blood lymphocytes

Koncentracija cimiazol hidrohlorida / <i>Cymiazole hydrochloride concentrations</i>	Opseg / <i>Range SCE</i>	Srednja vrednost / <i>Mean value SCE</i>	Standardna devijacija / <i>Standard deviation SD</i>	Standardna greška / <i>Standard error SE</i>	Procenat srednje vrednosti SCEa u odnosu na kontrolu / <i>Percent of mean value of SCE in respect to control X_k</i>
Kontrola / <i>Control</i>	3 – 9	5.930	1.9008	0.1344	100.00
0,01 mg/ml	3 – 10	8.195	1.8120	0.1281	138.20
0,10 mg/ml	5 – 12	8.780	1.8022	0.1274	148.06
1,00 mg/ml	7 – 16	13.465	1.8832	0.1332	227.06
Pozitivna kontrola / <i>Positive control</i>	9 – 29	23.695	4.4599	0.3154	399.58



Slika 1. Uticaj cimiazol hidrohlorida na učestalost SCEa u kulturama limfocita periferne krvi čoveka

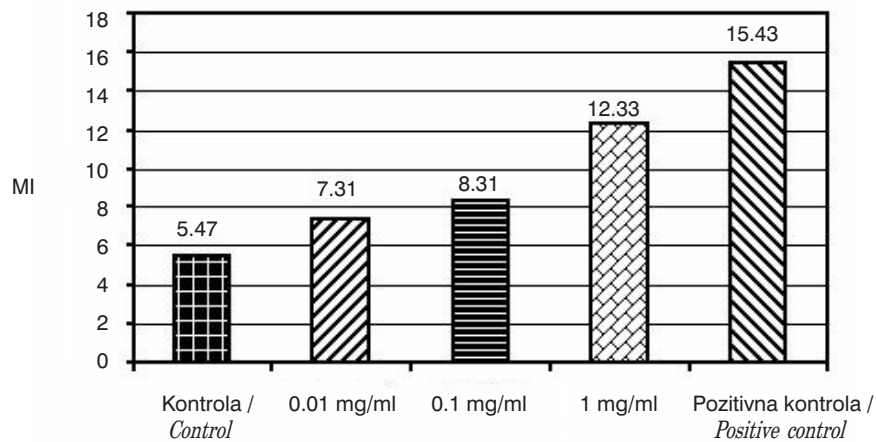
Figure 1. Influence of cymiazole hydrochloride on SCE frequency in cultures of human peripheral blood lymphocytes

Cimiazol hidrohlorid, pri svim eksperimentalnim koncentracijama omogućio je statistički značajno povećanje vrednosti mitotskog indeksa (MI) i indeksa proliferacije (PI).

Tabela 2. Uticaj cimiazol hidrohlorida na vrednosti mitotskog indeksa (MI) u kulturama limfocita periferne krvi čoveka

Table 2. Influence of cymiazole hydrochloride on mitotic index (MI) in cultures of human peripheral blood lymphocytes

Koncentracija cimiazol hidrohlorida / <i>Cymiazole hydrochloride concentrations</i>	Srednja vrednost / <i>Mean value</i> MI	Minimum	Maximum	Standardna devijacija / <i>Standard deviation</i> SD	Standardna greška / <i>Standard error</i> SE
Kontrola / <i>Control</i>	5.47	5.13	6.05	0.3494	0.0902
0,01 mg/ml	7.35	7.11	7.81	0.1850	0.0478
0,10 mg/ml	8.31	8.02	8.81	0.1989	0.0514
1,00 mg/ml	12.33	11.99	12.97	0.2517	0.0650
Pozitivna kontrola / <i>Positive control</i>	14.57	14.02	15.43	0.4429	0.1144



Slika 2. Uticaj cimiazol hidrohlorida na mitotski indeks (MI) u kulturama limfocita periferne krvi čoveka /

Figure 2. Influence of cymiazole hydrochloride on mitotic indices (MI) in cultures of human peripheral blood lymphocytes

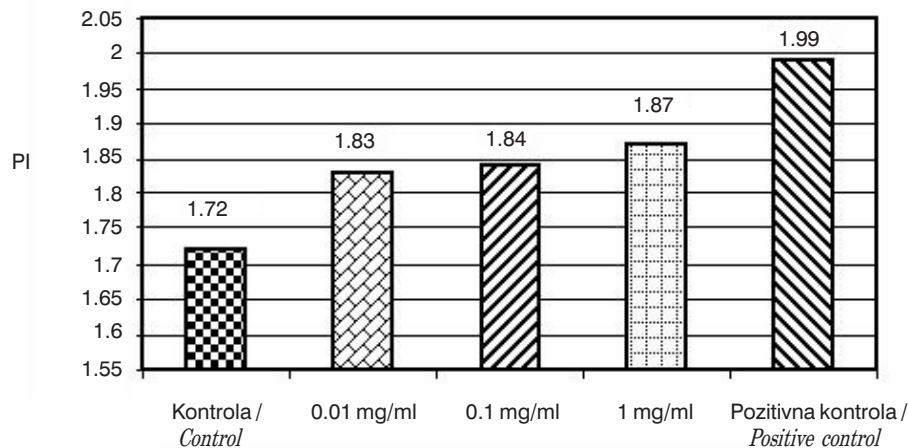
Rezultati dobijeni za vrednosti mitotskog indeksa prikazani su na tabeli 1 i slici 1. Vrlo značajne statističke razlike ($p < 0,001$) javljaju se između vrednosti negativne kontrole i svih koncentracija cimiazola u tretiranim kulturama.

Slični rezultati su dobijeni i za vrednosti indeksa proliferacije (tabela 3 i slika 3).

Tabela 3. Uticaj cimiazol hidrohlorida na vrednosti indeksa proliferacije (PI) u kulturama limfocita periferne krvi čoveka

Table 3. Influence of cymiazole hydrochloride on proliferation index (PI) in cultures of human peripheral blood lymphocytes

Koncentracija cimiazol hidrohlorida / <i>Cymiazole hydrochloride concentrations</i>	Srednja vrednost / <i>Mean value PI</i>	Minimum	Maximum	Standardna devijacija / <i>Standard deviation SD</i>	Standardna greška / <i>Standard error SE</i>
Kontrola / <i>Control</i>	1.72	1.695	1.790	0.028452	0.007346
0,01 mg/ml	1.83	1.820	1.860	0.012659	0.003268
0,10 mg/ml	1.84	1.830	1.875	0.011310	0.002920
1,00 mg/ml	1.87	1.830	1.905	0.017948	0.004634
Pozitivna kontrola / <i>Positive control</i>	1.99	1.965	2.025	0.022615	0.005839



Slika 3. Uticaj cimiazol hidrohlorida na indeks proliferacije (PI) u kulturama limfocita periferne krvi čoveka

Figure 3. Influence of cymiazole hydrochloride on proliferation indices (PI) in cultures of human peripheral blood lymphocytes

Na osnovu ovih rezultata moglo bi da se zaključi da cimiazol hidrohlorid omogućava značajno citomodulirajuće dejstvo kao i to da ova supstancija iskazuje genotoksična svojstva.

Mnogi istraživači su zapazili da cimiazol hidrohlorid iskazuje nepoželjna dejstva na same pčele. Tako Omar i Shoriete [13] ukazuju na zaostajanje u razviću hipofaringealnih žlezda i povećanje kiselosti rektalnog sadržaja, dok Stanimirović i sar [19] navode postojanje efekata na nivou spermatogeneze i oogeneze. Kezić i sar [10] navode povećanje aktivnosti nekih enzima kao što je benzo-(a)-pyrene monooksidaza, do 300 posto.

Prema podacima Evropske agencije za procenu medicinskih proizvoda [4] (The European Agency for Evaluation of Medicinal Products), posle primene metoda nakapavanja preporučenih doza ovoga leka, rezidue cimiazol hidrohlorida bile su: u medu u opsegu od 0,01 do 1,1 mg/kg, od 0,2 do 9,3 mg/kg u pčelinjem saću i od 0,37 do 1,25 mg/kg u vosku. Posle metode hranjenja, koncentracije cimiazol hidrohlorida su bile niže: od 0,01 do 0,34 mg/kg u medu, od 0,33 do 2,4 mg/kg u pčelinjem saću i od 0,3 do 1,02 mg/kg u vosku.

U nekim zemljama utvrđene su najveće moguće dozvoljene doze (MRL), za rezidue cimiazola i one se razlikuju u raznim državama. Tako, maksimalna dozvoljena doza (MRL) cimiazola u medu iznosi 0,01 ppm u Italiji i Nemačkoj, 1 ppm važi za EU, dok u SAD-u, maksimalno dozvoljena doza uopšte nije propisana.

Pčele su u stanju da razgrađuju ovu supstanciju [2, 3] u izvesnoj meri. Nažalost, veliki broj podataka iz literature o njenom štetnom delovanju, a posebno rezultati ovog, prikazanog istraživanja, koji upućuju na njena genotoksična svojstva, ukazuju na to da je izuzetno važno poštovanje pravila pri njenoj upotrebi i da je potrebna velika opreznost u odnosu na prisustvo mogućih rezidua, da ne bi umesto zdrave hrane i bezbednih medikamenata imali proizvode dalekosežno štetne po žive organizme.

Zaključak / Conclusion

Rezultati testiranja cimiazol hidrohlorida su pokazali statistički vrlo značajno povećanje SCE-a ($p < 0,001$) u poređenju sa negativnom kontrolom; tj. cimiazol hidrohlorid je u kulturi humanih limfocita, u primenjenim koncentracijama, ispoljio genotoksična svojstva. Sve eksperimentalne koncentracije cimiazol hidrohlorida su statistički značajno ($p < 0,001$) povisile vrednosti mitotskog indeksa (MI) i indeksa proliferacije (PI), takođe. Tako, dobijeni rezultati ukazuju na značajne citomodulirajuće efekte i genotoksična svojstva ove supstancije.

Rad je izrađen u okviru zadatka projekta br. 1870 koji je finansiralo Ministarstvo za nauku Srbije.

Literatura / References

1. Bogdanov S., Kolchenmann V., Imdorf A.: *J Apic Res*, 37, 57-67, 1998. – 2. Cabras P., Melis M., Spanedda L.: *J AOAC* 76, 92-93, 1993. – 3. Cabras P., Martini M. G., Floris I., Spanedda L.: *J Apic Res*, 33, 83-86, 1994. – 4. Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report, Cymiazole. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/067/96-FINAL March 1996. <http://www.Fedesa.Be/Events/Medaviability/013000en.pdf>, 1996. – 5. Eischen F. A., Cardoso-Tamez D., Dietz A., Ware G. O.: *Apidologie*, 19, 4, 367-376, 1988. – 6. Evans H. J., O' Riordan M.: *Mutat Res*, 31, 135-148, 1975. – 7. Eyrich U., Ritter W.: *Apidologie*, 17, 4, 379-381, 1986. – 8. Eyrich U., Ritter W.: *Zeitschrift für Angewante Entomologie*, 109, 15-20, 1990. – 9. Iannuzzi L., Di Meo G. P., Perucatti A., Ferrara L., Gustavsson I.: *Hereditas*, 114, 201-205, 1991. – 10. Kezić N., Lucić D., Sulimanović Đ.: *Apidologie*, 23, 217-223, 1992. – 11. Korta E., Bakkali A., Berrueta L. A., Gallo B., Vicente F., Kilchenmann V., Bogdanov S.: *J Agric Food Chem*, 49, 5835-5842, 2001. – 12. Korta E., Bakkali A., Berrueta L. A., Gallo B., Vicente F.: *J Food Prot* 65, 161-166, 2002. – 13. Omar M. O. M., Shoriete M. N.: *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 23, 4, 203-215, 1992. – 14. Patetta A., Manino A.: *Apicoltura Moderna*, 79, 3, 109-114, 1988. – 15. Pejović D., Stanimirović Z., Jovanović N.: Abstracts from EEMS-99 (29th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society) Vol 85, Suppl I, July 4-9, pp 45. Copenhagen, Denmark, 1999. – 16. Pejović D., Stanimirović Z., Đelić N., Raičević Nevena.: In: Trailović D, Lazarević M, editors, Proceedings of the 2nd Symposium in Animal Clinical Pathology and Therapy *Clinica Veterinaria*, June 12-16, pp 231-234, Budva, YU, 2000. – 17. Perry P., Wolff S.: *Nature*, 251, 156-158, 1974. – 18. Ronne M.: *Gen Sel Evol* 23 suppl. 1, 49-55, 1991. – 19. Stanimirović Z., Stevanović Jevrosima, Mladenović M.: editors Book of abstracts. The 2nd international exhibition "INTERMIOD-2001", Sep 14, pp 202-203. Moscow, Russia, 2001. – 20. Volante M., Galarini R., Miano V., Cattaneo M., Pecorelli I., Bianchi M., Cossignati L., Damiani P.: *Chromatographia*, 54, 3-4, 241-246, 2001. – 21. Wallner K.: *Apidologie*, 30, 2-3, 235-248, 1999. – 22. Zimonjić D., Savković N., Anđelković M.: *Genotoksični agensi [Genotoxic agents]* Naučna knjiga, Beograd, 1990.

ENGLISH

EFFECTS OF CYMIAZOLE HYDROCHLORIDE ON SISTER-CHROMATID EXCHANGES, MITOTIC AND PROLIFERATION INDICES IN CULTURED HUMAN LYMPHOCYTES

Z. Stanimirović, Svetlana Fišter, D. Ćirković

Cymiazole hydrochloride is the active component of the acaricides Apitol® and Apichem® which are used as varroacide in beekeeping. Since residues of cymiazole hydrochloride were detected in all bee products being used for human nutrition and as alternative medications in human and veterinary medicine, the aim of this study was to evaluate the capability of this substance to produce genotoxic effects in peripheral human blood lymphocytes and its possible influence on mitotic activity and cell cycle kinetics. The genotoxic effects were studied by in vitro SCE-test. The results that were obtained for all doses applied in cultures (0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml and 1 mg/ml) showed the very significant in-

creases in frequencies of SCEs ($p < 0.001$) in comparison to negative controls; i.e. the cymiazole hydrochloride exhibited genotoxic properties. All experimental concentrations of cymiazole hydrochloride caused statistically highly significant ($p < 0.001$) increased mitotic index values (MI) and proliferation index (PI), too. Thus, the obtained data indicate significant cytomodulating effects and genotoxic properties.

Key words: cymiazole hydrochloride, acaricides, beekeeping, genotoxicity, SCE-test, mitotic index, proliferation index

РУССКИЙ

ДЕЙСТВОВАНИЕ ГИДРОХЛОРИД ЦИМИАЗОЛА НА ОБМЕН СЕСТРИНСКИХ ХРОМАТИДОВ, МИТОТОЧЕСКИЙ И ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ИНДЕКС В КУЛЬТУРАХ ГУМАННЫХ ЛИМФОЦИТОВ

З. Станимирович, Светлана Фиштер, Д. Чиркович

Гидрохлорид цимиазола активный компонент акарицидов Apitol-a и Aриhem-a, используемые в качестве варроацидов в пчеловодстве. Имея в виду, что остатки гидрохлорид цимиазола, установленные во всех пчелиных продуктах, используемые в человеческом питании, словно и в гуманной ветеринарной медицине как альтернативные медикаменты, цель этого изучения была оценить способность этой субстанции, вызвать генотоксические эффекты в культурах лимфоцитов периферической крови человека и её возможное влияние на митотическую активность и кинетику клеточного цикла. Генотоксические эффекты изучены применением SCE-теста *in vitro*. Результаты показали статистически очень значительное увеличение SCE-а ($p < 0,001$) в сравнении с отрицательным контролем; т.е. гидрохлорид цимиазола проявил генотоксические свойства. Все экспериментальные концентрации гидрохлорид цимиазола статистически значительно ($p < 0,001$) повысили стоимости митотического индекса (МИ) и индекса пролиферации (ПИ), также. Так, полученные результаты указывают на значительные цитомодулирующие эффекты и генотоксические свойства.

Ключевые слова: гидрохлорид цимиазола, акарициды, пчеловодство, генотоксичность, SCE-тест, митотический индекс, индекс пролиферации

UČESTALOST PREKIDA I GAPOVA NA HROMOZOMIMA
ŠARANA (*Cyprinus carpio*, L)*
FREQUENCY OF BREAKS AND GAPS ON THE CARP
(*Cyprinus carpio*, L) CHROMOSOMES

Svetlana Fišter**

Prikazan je kariotip šarana (*Cyprinus carpio*, L) i učestalost strukturnih promena tipa prekida i gapa na hromozomima primeraka uhvaćenih na lokalitetima Pančevačkog Rita, Tamiša, kanala Sebeš i ribnjaka Sutjeska kod Zrenjanina u tri uzastopne godine: 1986, 1987. i 1988.

Kariotip šarana čini diploidan broj $2n=104$ hromozoma: 24 metacentrika (M), 12 submetacentrika (SM), 24 subakrocentrika (SA) i 44 akrocentrika (A). Vrednost broja kraka iznosi $NF=164$. U ispitivanim vodama nisu ustanovljene jedinice sa $2n=98$, ili $2n=100$ hromozoma.

Ispitivanje učestalosti gapova i prekida na hromozomima jedinki šarana, sa različitih lokaliteta, pokazuje povišen nivo učestalosti – iznad kritične zone (3,0 – 3,5 %) na lokalitetu Tamiša, što bi, kao i postojanje statistički vrlo značajnih razlika u poređenju ovog sa ostalim ispitivanim lokalitetima, moglo da ukaže na povremeno ili stalno prisustvo genotoksičnih agenasa u vodi ove reke u vreme kada su istraživanja obavljena.

Ključne reči: ribe, *Cyprinus carpio*, L, kariotip, genotoksični agensi, hromozomi, strukturne aberacije, prekidi, gapovi

Uvod / Introduction

Mnogi hemijski agensi, kao i radioaktivna zračenja mogu da uzrokuju promene naslednih struktura. Mehanizmi delovanja nekih agenasa (kao što su analozi baza, azotasta kiselina i akridinske boje), na molekule DNK su poznati ili su bili proučavani. Spisak materija koje deluju, ili bi mogle da deluju, na različite

* Rad primljen za štampu 1. 4. 2003. godine

** Dr Svetlana Fišter, viši naučni saradnik, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

načine na nasledni materijal, ne samo direktno na DNK, već i posredno, ugrožavajući različite procese vezane za očuvanje i prenošenje naslednih struktura, veoma je dugačak. Zimonjić i sar. 53, daju jednu od predloženih sistematizacija grupa materija među kojima se nalaze agensi:

- a) genotoksični agensi prirodnog porekla,
- b) genotoksični agensi industrijskih procesa,
- c) farmaceutska sredstva
 - antibiotici,
 - citostatici,
 - narkotici i anestetici,
 - kontraceptivi,
- d) pesticidi,
- e) genotoksični agensi u hrani,
- f) genotoksični agensi vode,
- g) kozmetička sredstva.

Neke od ovih materija mogu da uzrokuju promene na hromozomima živih organizama koje mogu da se utvrde primenom citogenetičkih metoda.

Najprostije promene koje nastaju na hromozomima živih organizama, kao posledica dejstva genotoksičnih agenasa, su prekidi i gapovi. Tako prekidi i gapovi postaju koristan pokazatelj prisustva genotoksičnog zagađenja [6].

Prekid hromozoma znači prekid – diskontinuitet DNK, dok se gapom smatra oštećenje koje se vizuelno detektuje kao šupljina, prazan prostor, unutar hromozoma, pri čemu je, kako se smatra, očuvan integritet jednog lanca dvostruke spirale molekula DNK. Kako se najčešće radi o velikom području oštećenja DNK, koje ne može da se popravi mehanizmima popravka, već u sledećoj mitozu, ova promena će se manifestovati kao prekid. Mnogi istraživači naglašavaju sposobnost hemijskih agenasa da izazovu ovakva oštećenja. Tako Brogger [6], kaže da povećana učestalost pojavljivanja ovih promena može da bude koristan pokazatelj dejstva i samog prisustva ovih materija. Međutim, ove promene, sa vrlo niskom učestalošću dešavaju se kod svih organizama i najčešće se nazivaju – spontanim. Uzroci ovih – spontanih promena mogu da budu vrlo različiti. Navode se izvori prirodnih radijacija i različiti – nepoznati agensi u okruženju, kao i virusne infekcije, ali takođe i – genetički razlozi koji se kriju u načinu organizacije i funkcije samih genetičkih struktura koji mogu da budu specifični za vrstu, čak i individu [53]. Od čitave definicije spontanih promena, tako ostaje samo onaj deo koji se odnosi na njihovu – vrlo nisku učestalost.

Ako se promene na hromozomima riba koriste kao indikator prisustva genotoksičnih supstancija, postavilo se pitanje kako razdvojiti takozvana – spontana, od nesumnjivo – izazvanih dejstava.

Svaki istraživač koji se bavi ovom materijom zna da u kontrolama kod kultura tkiva, kao i kod kontrolnih laboratorijskih životinja, nivo prekida i gapova najčešće nije viši od 1 do 2 posto. Ovome u prilog idu i naša istraživanja na ribama iz čistih, tj. – najviše moguće čistih, ili – relativno čistih voda [15, 28], koje su

daleko od neposredne blizine ljudskih naselja ili industrijskih centara. Lilp i sar [38], analizirajući učestalost pojavljivanja ovih promena kod miševa različite starosti – kod starih životinja, kao i kod miševa dobijenih visokim inbridingom, takođe ističu da – nivo ovih promena nije bio viši od 3 posto. Na osnovu ovih i sličnih podataka, prepostavila sam – kritičnu zonu, koja obuhvata nivo promena između 3,0 i 3,5 posto promena, iznad koje bi vrednosti za učestalost nesumnjivo ukazivale na delovanje i prisustvo genotoksičnih agenasa u životnoj sredini ispitivanih riba. Ovaj kriterijum primenjen je u ranijim istraživanjima na različitim vrstama riba [15, 16, 18, 19, 22, 23, 24, 26, 28].

Kariotip šarana iz voda Srbije, opisan je i u našim ranijim radovima [15, 17, 19, 25, 27] i čini ga diploidan broj $2n=104$ hromozoma: 24 metacentrika (M), 12 submetacentrika (SM), 24 subakrocentrika (SA) i 44 akrocentrika (A). Vrednost broja kraka iznosi $NF=164$. U literaturi postoje različiti podaci prema kojima ovaj $2n$ broj varira od 98 do 104 hromozoma. Tako su Szollar i sar. [50] i Al-Sabti [2, 3, 4], našli 98 hromozoma, dok drugi autori [39, 45, 41, 46, 37], navode 100 hromozoma u kariotipu ove vrste. Ohno i sar [42, 43, 44], navode da je diploidni broj $2n=104$ hromozoma (tabela 1). U našim dosadašnjim istraživanjima [15, 17, 19, 25, 27], nismo našli šarane sa $2n=98$ ili $2n=100$ hromozoma.

Međutim, cilj ovoga istraživanja je bio, pre svega, da se utvrdi učestalost prekida i gapova na hromozomima šarana, kod primeraka ove vrste koji su lovljeni u tri uzastopne godine na različitim lokalitetima, koji su različiti i po prisustvu opšteg antropogenog zagađenja i da se na taj način proceni mogući genetički rizik od prisustva genotoksičnih agenasa u životnoj sredini.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Citogenetički su analizirani primerci šarana (*Cyprinus carpio* L), koji su u tri uzastopne godine, od 1986 do 1998. godine, lovljeni u Pančevačkom Ritu, Tamišu, kanalu Sebeš i ribnjaku Sutjeska kod Zrenjanina.

Kariotip je analiziran uvek kod 5 do 10 primeraka sa istog lokaliteta (u jednoj seriji), a kod svakog primerka analizirano je oko 30 mitotskih, metafaznih figura hromozoma.

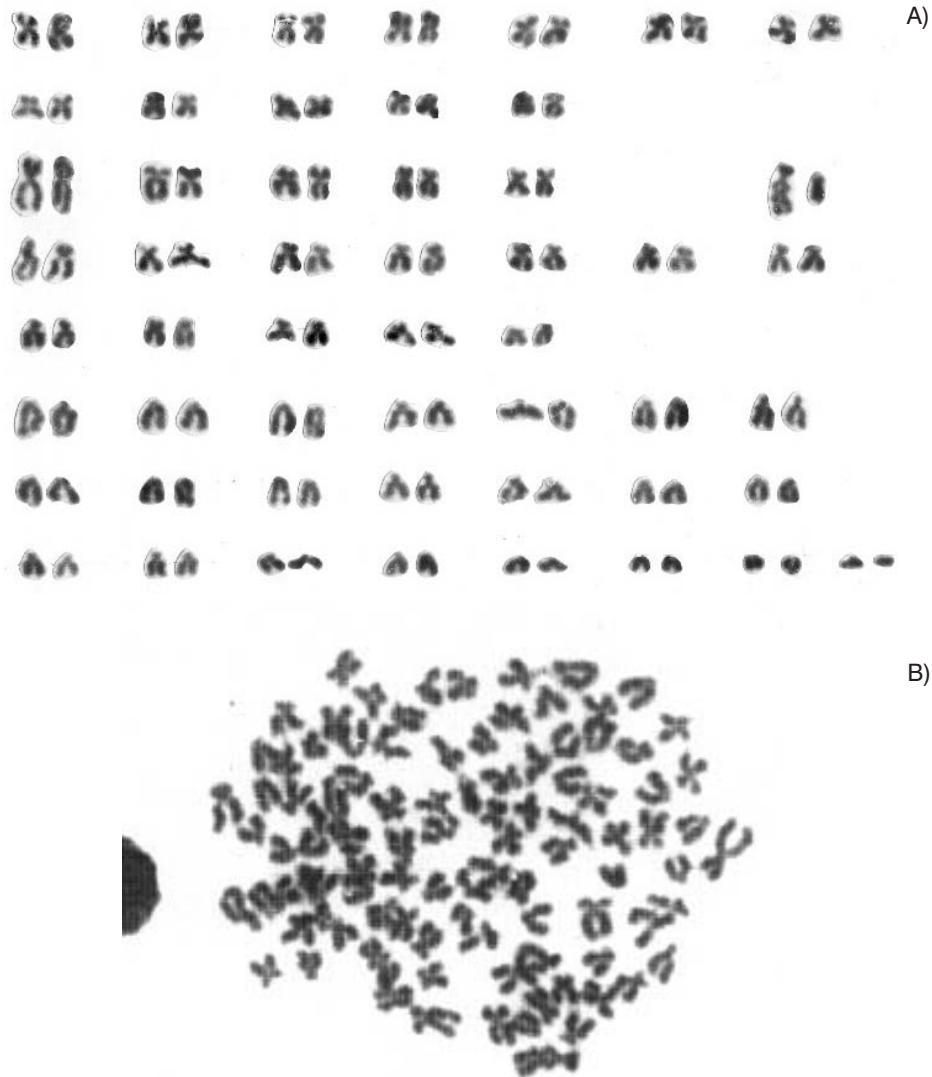
Hromozomi za analizu dobijeni su preparacijom iz tkiva bubrega, prema metodi Fontana i sar [29].

Utvrdivan je broj prekida i gapova na hromozomima primeraka šarana sa različitih lokaliteta. Rezultati su analizirani primenom statističkih metoda.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Kariotip šarana je prikazan na slici 1. Kariotip šarana čini diploidan broj $2n=104$ hromozoma: 24 metacentrika (M), 12 submetacentrika (SM), 24 subakro-

centrika (SA) i 44 akrocentrika (A). Vrednost broja kraka iznosi $NF=164$. U ispitivanim vodama Srbije nisu ustanovljene jedinice sa $2n=98$, ili $2n=100$ hromozoma, kakve su, prema podacima iz literature, nađene na nekim ispitivanim lokalitetima u bivšoj Jugoslaviji. Al-Sabti [2,3,4], navodi nalaz šarana sa $2n=98$ u nekim barama kraj Zagreba.



Slika 1. Kariotip šarana (*Cyprinus carpio* L) – A) i mitotski hromozomi iz tkiva bubrega B
Figure 1. Karyotype of the carp (*Cyprinus carpio* L) – A) and mitotic chromosomes from the kidney tissue – B)

Podaci o nađenim kariotipovima šarana, kod šarana koji potiču iz različitih voda, prikazani su na tabeli 1. Kod ispitivanih primeraka nije ustanovljeno variranje broja hromozoma, iako je moguće da broj, kao i morfologija hromozoma, kod ove vrste, u nekim slučajevima, varira (tabela 1).

Tabela 1. Podaci o kariotipu šarana (*Cyprinus carpio* L)
Table 1. Karyotype data of the carp (*Cyprinus carpio* L)

Istraživači/ <i>Investigators</i>	2n	Kariotip/ <i>Karyotype</i>	NF
Makino (1939)	100	12M+36SM,SA+52A	148
Ojima i Hitotsumachi (1967)	100	12M+63SM,SA+52A	148
Ohno i sar. (1966, 1967,1968)	104	46M,SM+18SA+36A+4min	168
Szollar i sar. (1971)	98		
Raicu i sar. (1972)	100	24M+24SM,SA+52A	148
Nygren i sar. (1975)	100		
Marian and Krasznai (1978)	104		
Sola i sar. (1981)	104	46M,SM+28SA+30A	150
Al-Sabti (1987)	98	50M,SM+48SA,A	
Krupka i sar. (1989)	100	28M+36SM+2NORSM+22SA+12A	188
Fišter (1992; 1999; 2002)	104	24M+12SM+24SA+44A	164
Fišter i Cakić (1997; 1998)	104	24M+12SM+24SA+44A	164

Najveći broj riba familije *Cyprinidae* poseduje kariotip koga čini diploidni broj 50 do 52 hromozoma [33, 9, 12, 13, 30, 31, 32, 1], mada ima vrsta i sa $2n=48$ [15, 18, 23]. Međutim, danas je nesumnjivo da u okviru *Cyprinidae* postoje vrste tetraploidnog porekla kao što je to slučaj sa šaranom; šta više, tetraploidizacija se izgleda nezavisno dogodila u okviru tri roda *Cyprinidae* i to rodovima: *Cyprinus*, *Barbus* i *Carassius* [33]. Kao dokaz ovome prilažu se citogenetski podaci – o očitom dupliranju broja hromozoma [42, 43, 44, 7, 8, 48], podaci o dupliranju količine jedarne DNK i elektroforetski podaci o duplikatnoj genskoj ekspresiji [5, 34, 11, 51, 12, 13]. Broj hromozoma šarana izgleda da se kreće između 98 i 104 (tabela 1). Ohno i sar [42, 43, 44], dozvoljavaju mogućnost da broj hromozoma šarana varira; takođe uočavaju da poslednja četiri, najsitnija akrocentrika u toku profaze prve mejotičke deobe grade kvadrivalentnu formaciju, dok ostali parovi homologa normalno sinapsiraju kao bivalenti. Pojava se tumači kao – ostatak prvobitne tetraploidije, predstavlja stanje slično onome kada su prvobitno postojala i sinapsirala četiri homologa. Međutim, dešavanje ovakvog sinapsiranja može da bude uzrok „gubljenja” ovih sićušnih hromozoma. Ako ne nastane pravilno i pravovremeno razdvajanje ovih hromozoma iz kvadrivalentne formacije, ovo takođe može da uzrokuje nastajanje „aneuploidnih” gameta. Drugo je pitanje verovatnoće sa kojom će ovakvi gameti nastajati ili hoće li oni biti vijabilni i sposobni za oplodjenje. Ipak, izgleda da je ova pojava uzrok numeričke varijabilnosti kod šarana [45, 46, 15, 17, 25, 27]. Čini se, međutim, da je još jedan par akrocentrika, kako smatramo, podložan gubitku. Tome u prilog idu nalazi šarana sa diploidnim brojem hromozoma $2n=98$ [50, 2, 3, 4]. Nedostatak ovih hromozoma,

očito ne pokazuje neke uočljive fenotipske efekte i sasvim jasno, nije letalan. Iako tokom naših istraživanja šarana iz naših voda nismo našli jedinke kod kojih bi broj hromozoma odstupao od $2n=104$, izgleda da kod vrsta ciprinida tetraploidnog porekla, ovakvi gubici nisu retkost. U tom smislu vrlo slične odlike u pogledu numeričke varijabilnosti hromozoma, pokazuje vrsta *Carassius auratus gibelio* B [14, 15, 17, 20, 21, 25, 45, 47, 35, 36].

Vrednosti za učestalost prekida i gapova na hromozomima šarana lovljenih na različitim lokalitetima u tri uzastopne godine prikazane su na tabeli 2 i grafikonu 1.

Tabela 2. Učestalost promena tipa prekida i gapa kod šarana (*Cyprinus carpio*, L)
Table 2. Frequency of breaks and gap-type changes in the carp (*Cyprinus carpio*, L)

Godina / Year	Broj jedinki Number of individuals	Pregledano mitoza / Mitoses examined	Ukupan broj prekida i gapova / Total number of breaks and gaps
Lokalitet / Locality Pančevački Rit			
1986.	10	320	10
1987.	11	345	9
1988.	10	320	9
Lokalitet / Locality reka Tamiš / Tamiš river			
1986.	6	160	6
1987.	8	245	8
1988.	7	190	7
Lokalitet / Locality Sebeš kanal / Sebeš canal			
1986.	5	150	5
1987.	6	190	5
1988.	6	170	4
Lokalitet / Locality Sutjeska ribnjak / Sutjeska fishing pond			
1986.	6	183	4
1987.	10	315	6
1988.	10	310	6

Kod riba ulovljenih u Pančevačkom Ritu, učestalost prekida i gapova bila je najviša u prvoj godini kada su istraživanja obavljena (3,12 %) i vrednost se nalazila u oblasti kritične zone. U toku sledeće dve godine, vrednosti su bile znatno niže (2,61 %; 2,81 %) i bile su niže od kritičnog nivoa. Srednja vrednost promena za tri godine bila je $2,85 \pm 0,26$ sa koeficijentom varijacije $Cv=9,12$.

Kod riba uhvaćenih u Tamišu, dve srednje vrednosti za učestalost prekida i gapova su bile više od nivoa kritične zone (3,75 %; 3,68 %). Ove vrednosti,

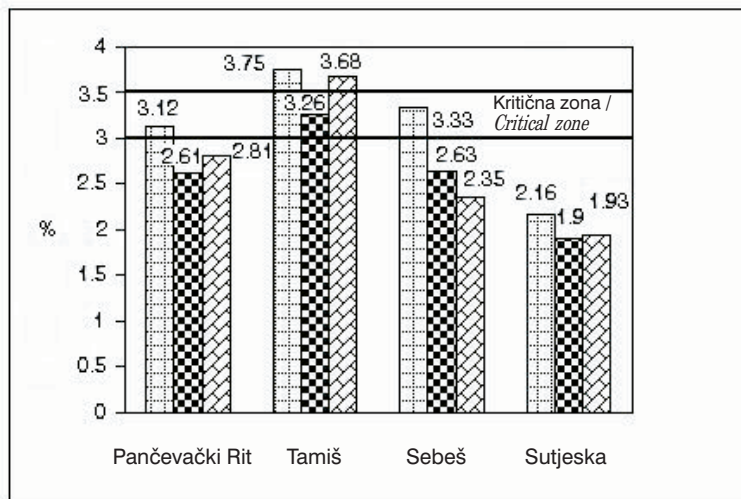
prema kriterijumu koji je postavila Fišterova [15], ukazuju na prisustvo genotoksičnih agenasa u Tamišu u vreme kada su ova istraživanja obavljena. U toku 1987. godine, srednja vrednost je bila nešto niža i u okviru same zone (3,26 %). Međutim, nijedna zabeležena vrednost nije se nalazila niže od kritičnog nivoa. Srednja vrednost promena bila je $3,56 \pm 0,26$, sa varijacijom $Cv=7,30$.

Kod jedinki šarana uhvaćenih u Sebešu, samo je jedna vrednost (3,33 %), zabeležena u toku prve godine istraživanja, bila u okvirima kritične zone. U ostalim godinama sve su vrednosti bile niže od nivoa kritične zone (2,63 %; 2,35 %). Srednja vrednost za tri godine bila je $2,77 \pm 0,50$, sa koeficijentom varijacije $Cv=7,00$.

Kod riba iz ribnjaka Sutjeska kod Zrenjanina, sve dobijene vrednosti bile su niže od kritičnog nivoa u sve tri godine kada su istraživanja obavljena (2,16 %; 1,90 %; 1,93 %). Srednja vrednost za tri uzastopne godine bila je $2,00 \pm 0,14$, sa koeficijentom varijacije $Cv=7,00$.

Prema dobijenim rezultatima za učestalost prekida i gapova na hromozomima šarana može da se pretpostavi postojanje genetičkog rizika, tj. genotoksičnih agenasa u životnoj sredini na nekim ispitanim lokalitetima, kao na primer u Tamišu, gde su vrednosti ulazile u okvire kritične zone ili su bile više od nje (3,75 %; 3,22 %; 3,68 %), pa bi moglo da se zaključi da je Tamiš povremeno ili stalno bio zagađen genotoksičnim agensima.

Za Pančevački Rit i kanal Sebeš, prema dobijenim podacima, ne može pouzdano da se tvrdi da takav rizik postoji, dok u ribnjaku Sutjeska, kod Zrenjanina, dobijene vrednosti ne ukazuju na postojanje bilokakvog rizika.



Grafikon 1. Učestalost prekida i gapova kod šarana (*Cyprinus carpio* L) sa različitih lokaliteta

Graf 1. Frequency of breaks and gaps in carps (*Cyprinus carpio* L.) from different localities

Ovome u prilog ide postojanje značajnih statističkih razlika između nivoa učestalosti promena između lokaliteta Tamiša i ostalih ispitanih lokaliteta. Tako su razlike vrlo značajne između Tamiša i ribnjaka Sutjeska ($p < 0,001$), Tamiša i Pančevačkog Rita, kao i kanala Sebeš ($p < 0,05$). Nema značajnih razlika između Pančevačkog Rita i kanala Sebeš, ali se one javljaju između ova dva lokaliteta i ribnjaka Sutjeska ($p < 0,01$) takođe, jer je kod riba iz ovog ribnjaka ustanovljena vrlo niska učestalost promena tokom sve tri godine, sa svim godišnjim srednjim vrednostima nižim od nivoa kritične zone.

Slični rezultati dobijeni su kod srebrnog karaša, linjaka i crvenperke (*Carassius auratus gibelio* B, *Tinca tinca*, L, *Scardinius erythrophthalmus*, L), tj. najčešće su se statistički značajne razlike javljale između istih lokaliteta; odnosno kod ovih vrsta riba najviše vrednosti zabeležene su takođe u Tamišu, dok su redovno, najniže vrednosti utvrđivane kod riba iz ribnjaka Sutjeska [15, 16, 18, 19, 23], tokom istih godina istraživanja u kojima su citogenetički analizirani i primerci šarana.

Postojanje povišenog efekta na hromozomima riba ukazuje na prisustvo genotoksičnih supstancija u nekim vodenim basenima, ili na pojedinim lokalitetima za koje je karakteristično opšte zagađenje. Međutim, postojanje opšteg zagađenja ne znači da su prisutne i genotoksične materije. Ipak je prisustvo takvih supstancija verovatnije tamo gde postoji i opšte zagađenje raznovrsnim materijama. Poznato je da neki od genotoksičnih agenasa mogu da se akumuliraju u tkivima riba i drugih organizama, najčešće u masnom tkivu, i na taj način, preko lagnaca ishrane oni mogu da dospeju do ostalih članova, uključujući i čoveka. Poznato je da se među genotoksičnim supstancijama nalaze i one koje mogu da budu kancerogene. Kancerogene efekte u smislu povećanog broja poliploidnih i aneuploidnih ćelija, tokom ovog istraživanja nismo ustanovili. Promene nastale u somatskim ćelijama mogu da se eliminišu, ali genotoksični agensi mogu da izazovu promene u germinativnim ćelijama i omoguće nastanak nevijabilnih gameta ili onih gameta koji nose promene koje će se odraziti na potomstvo. Tako nastaje smanjenje plodnosti i rađanje potomstva sa mnogobrojnim malformacijama, ili rađanje potomstva koje će nadalje da prenosi promenu i izaziva slične posledice u potomstvu. Na kraju, u pogledu evolutivnih zbivanja, nije moguće jasno da se predvide posledice promena u strukturi populacija i postojećih vrsta i iz tog aspekta je nejasno ono što može da se odigra u budućnosti.

Zaključak / Conclusion

Šaran u našim vodama poseduje kariotip od $2n=104$ hromozoma. Jedinke sa 98 ili 100 hromozoma nisu nađene. Ispitivanje učestalosti gapova i prekida na hromozomima riba sa različitih lokaliteta, pokazuje povišen nivo učestalosti – više od kritične zone (3,0 – 3,5 %), ili unutar nje, kod primeraka šarana iz Tamiša. Ustanovljene su statistički vrlo značajne razlike u nivou promena tipa pre-

kida i gapa kod riba sa lokaliteta Tamiša, gde je učestalost promena bila najviša, i riba lovljenih na drugim ispitivanim lokalitetima, gde je nivo ovih promena bio znatno niži. Ovi rezultati ukazuju da je povremeno ili stalno bilo prisustvo genotoksičnih agenasa u vodi ove reke u vreme kada su istraživanja obavljena. Slični rezultati koji su dobijeni na drugim vrstama riba lovljenih u Tamišu u istom vremenskom periodu, očitio idu u prilog pretpostavci o postojanju genetičkog rizika uslovljenog mogućim prisustvom genotoksičnih materija u vodi ove reke.

Literatura / References

1. Allendorf F. W., Thorgaard G. H.: Evolutionary Genetics of Fishes (ed. Bruce J. Turner) Plenum Press, New York and London, 1984. – 2. Al-Sabti K.: Cytobios, 47, 19-25, 1986a. – 3. Al-Sabti K.: Cytobios, 48, 143-150, 1986b. – 4. Al-Sabti K.: Cytobios, 49, 175-188, 1987. – 5. Bender K., Ohno S.: Biochem. Genet., 2, 101-107, 1968. – 6. Brogger A.: Cytogenetics and Cell Genetics, 33, 14-19, 1982. – 7. Berberović Lj., Sofradžija A.: Ichthyologia, 4, 1-21, 1972. – 8. Berberović Lj., Hadžiselimović R., Pavlović B., Sofradžija A.: Bull. Sci. Acad. RFS Ygosl., 18, 10-11, 1973. – 9. Cataudella S., Sola L., Muratori R. A., Capanna E.: Genetika, 47, 161-171, 1977. – 10. Chiarelli B., Ferranteli O., Cucchi C.: Experientia, 25, 426-427, 1968. – 11. Engel W., Faust J., Wolf V.: Anim. Blod Groups Biochem. Genet., 2, 127-133, 1971. – 12. Ferris S. D., Whitt G. S.: Nature, 265, 258-260, 1977a. – 13. Ferris S. D., Whitt G. S.: Experientia, 33, 1299-1301, 1977b. – 14. Fišter Svetlana: Acta Veterinaria, 39, 99 -108, 1989. – 15. Fišter Svetlana: Genetičko-populaciona analiza nekih vrsta riba familije Cyprinidae. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, 1992. – 16. Fišter Svetlana: Veterinarski glasnik, 53, 159-171, 1999. – 17. Fišter Svetlana: Veterinarski glasnik, 53, 199-219, 1999. – 18. Fišter Svetlana: Veterinarski glasnik, 54, 107-116, 2000. – 19. Fišter Svetlana: Zbornik radova XIII savetovanja DDD i zaštita sredine, sa međunarodnim učešćem, Kikinda, 29.5 -1.6.2002, 251-260, 2002. – 20. Fišter Svetlana, Soldatović B.: Acta Veterinaria, 39, 259-268, 1989. – 21. Fišter Svetlana, Soldatović B.: Acta Veterinaria, 41, 81 - 90, 1991. – 22. Fišter Svetlana, Marković M., Soldatović B.: Acta Veterinaria, 44, 37-44, 1994. – 23. Fišter Svetlana, Soldatović B.: Veterinarski glasnik, 50, 833-952, 1996. – 24. Fišter Svetlana, Soldatović B., Cakić P.: Acta Veterinaria, 46, 359-366, 1996. – 25. Fišter Svetlana, Cakić P.: Ninth International Congress of European Ichthyologists, 24.-30.08.1997. Trieste, Italy, p. 35, 1997. – 26. Fišter Svetlana, Cakić P., Đorđević M.: 32. Konferenze der IAD - International Arbeitsgemeinschaft Donauforschung der Societas Internationalis Limnologiae. 01.-05.09.1997. Wien, Osterreich, pp. 367-371, 1997. – 27. Fišter Svetlana, Cakić P.: Acta Veterinaria, 48, 157-162, 1998. – 28. Fišter Svetlana, Cakić P., Kataranovski D.: Acta Veterinaria, 49, 385-392, 1999. – 29. Fontana F., Chiarelli B., Rosi A.: Caryologia, 23, 249-564, 1970. – 30. Gold J. R.: Genet. Res. Camb., 35, 157-164, 1980. – 31. Gold J. R., Karel W. J., Strand M. R.: The Texas Agricultural Experiment Station, Texas A and M University Collage Station, Texas, 1979a. – 32. Gold J. R., Whitlock C. W., Karel W. J., Barlow J. A. Jr.: Cytologia, 44, 457-466, 1979b. – 33. Kirpichnikov V. S.: Ichthyologia, 5, 55-77, 1973. – 34. Klose J., Wolf U., Hitzerot H., Ritter H.: Humangenetic, 7, 245-250, 1969. – 35. Kobayasi H., Kawashima Y., Takeuchi N.: Jap. J. Ichthyol., 17, 153-160, 1970. – 36. Kobayasi H., Ochi H., Takeuchi N.: Japan Women s Univ. JY. (Home economics), 20, 83-88, 1973. – 37. Krupka I., Mészáros J., Ráb P., Slechtová V.: Práce VURH Vodnany, 18, 27-33, 1989. – 38. Lilp J. G., Korogodina Yu. V.: Cytologia (USSR) XXIII, No.10, 1174-1179, 1981. – 39. Makino S.: Cytologia, 9, 430-440, 1939. – 40. Marian T., Krasznai, Z.: Biol. Zool., 97, 14-205, 1978. – 41. Nygren A., Andersson J., Jonsson L., Janhke G.: Hereditas, 81, 165-172, 1975. – 42. Ohno S., Atkin N. B.: Chromosoma (Ber.), 18, 455-466, 1966. – 43. Ohno S., Muramoto J., Christian L.: Chromosoma, 23, 1-9, 1967. – 44. Ohno S., Wolf U., Atkin N. B.: Here-

ditas, 59, 169-187, 1968. – 45. Ojima Y., Hitotsumachi S.: Jap. J. Genet., 42, 163-167, 1967. – 46. Raicu P., Taisescu E., Christian A.: Cytologia, 37, 355-358, 1972. – 47. Ruiguang Z.: Acta Genetica Sinica, 7, 72-80, 1982. – 48. Sofradžija A., Berberović Lj.: Bul. Sci. Acad. RFS Yugosl., 18, 77-78, 1973. – 49. Sola L. S., Cataudella S., Capanna E.: Genetica, 54, 285-329, 1981. – 50. Szollar J., Hobor M.: Acta morph. hung., 20, 185-189, 1972. – 51. Triantaphyllidis C. D. Daminakis H., Economidis P. S., Karakousis J.: Comp. Biochem. Physiol., 70B, 278-293, 1981. – 52. Wolf U., Ritter H., Atkin N., Ohno S.: Humangenetic, 7, 240-244, 1969. – 53. Zimonjić D., Savković N., Anđelković M.: Mutageni agensi. [Mutagenic agents]. Belgrade, Naučna knjiga, 1990.

ENGLISH

FREQUENCY OF BREAKS AND GAPS ON CARP (*Cyprinus carpio*, L) CHROMOSOMES

Svetlana Fišter

The paper presents the karyotype of the carp (*Cyprinus carpio*, L) and the frequency of structural changes in the type of breaks and gaps on chromosomes of samples caught in the localities Pančevački Rit, the River Tamiš, the Sebeš Canal, and the Sutjeska Fish Pond near Zrenjanin, during three consecutive years: 1986, 1987 and 1988.

The carp karyotype is a diploid number $2n=104$ chromosomes, namely: 24 metacentrics (M), 12 submetacentrics (SM), 24 subacrocentrics (SA), and 44 acrocentrics (A). The NF value is 164. No animals with $2n=98$ or $2n=100$ chromosomes were established in the examined waters.

Investigations of the frequency of gaps and breaks on chromosomes of carp from different localities showed a higher level of frequency – above the critical zone (3.0-3.5%) on the locality Tamiš, which could indicate, together with the existence of statistically very significant differences in comparison between this and the other examined localities, that there is an occasional or constant presence of genotoxic agents in the waters of this river at the time when these investigations were performed.

Key words: *Cyprinus carpio*, L., karyotype, genotoxic agents, chromosomes, structural aberrations, breaks, gaps

РУССКИЙ

ЧАСТОТА ПЕРЕРЫВА И ГАПОВ НА ХРОМОСОМАХ САЗАНА (*Cyprinus carpio*, L)

Светлана Фиштер

Показан кариотип сазана (*Cyprinus carpio*, L) и частота структурных изменений типа перерыва и гапа на хромосомах экземпляров, схваченных на местах Панчевачкого Рита, Тамиша, канала Себеш и пруда Сутьеска у Зренянина в три следующих друг за другом года: 1986, 1987 и 1988.

Кариотип сазана составляет диплоидное число $2n=104$ хромосом а именно: 24 метацентрика (M), 12 субметацентриков (M), 24 субacroцентрика (A) и 44 акроцентрика (A). Стоимость числа рукава составляет (в сумме) $NF=164$. В испытанных водах не установлены единицы (меры) с $2n=98$, или $2n=100$ хромосом.

Испитание частоты гапов и парерыва на хромосомах единиц (меры) сазана, с различных мест, показывает повышенный уровень частоты – свыше критической зоны (3,0-3,5 %) на месте Тамиша, что бы, словно и существование статистически очень значительных разниц в сравнении этого с остальными испытанными местами, могло указать на повременное или постоянное присутствие генотоксических агентов в воде этой реки во время, когда исследования совершены.

Ключевые слова: рыбы, *Cyprinus carpio*, L, кариотип, генотоксические агенты, хромосомы, структурные aberrации, перерывы, гапы

**KONCENTRACIJE SLOBODNIH MASNIH KISELINA,
GLIKOZE I INSULINA U KRVI KOD VISOKO-
PRODUKTIVNIH MLEČNIH KRAVA U PERIPARTALNOM
PERIODU***

***BLOOD CONCENTRATION OF FREE FATTY ACIDS, GLUCOSE AND
INSULIN IN HIGH PRODUCING DAIRY COWS IN PERIPARTHAL
PERIOD***

R. Đoković, H. Šamanc, Snežana Bošković-Bogosavljević**

Cilj ovoga rada je bio da se utvrdi povezanost između koncentracija slobodnih masnih kiselina, insulina i glikoze u krvi i pojavljivanja ketoze kod visoko-produktivnih mlečnih krava u peripartalnom periodu. Za ispitivanje su odabrane visoko steone (n=20) i tek oteljene krave (n=20) rase holštajn. Odabrane visoko steone krave su podeljene u dve grupe i to na grupu krava (A) (n=10) koje su se nalazile u periodu od 10. do 5. dana pre teljenja i na grupu krava (B) (n=10) koje su se nalazile u periodu od 4. do 1. dana pre teljenja. Odabrane tek oteljene krave su, takođe, podeljene u dve grupe, na grupu krava (C) (n=10) koje su bile klinički zdrave i na grupu krava (D) (n=10) koje su pokazivale kliničke znake ketoze. Od svih ispitivanih krava uzimani su uzorci tkiva krvi punkcijom vene jugularis. Koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu određivana je kolorimetrijskom metodom po Ducombeu (1968). Koncentracija glikoze je određivana enzimskom metodom, specifičnom za glikozu (Dextrostix trake) na „Eyeton” refraktometru. Koncentracija insulina u uzorcima krvnog seruma je određivana RIA-metodom. Statistički značajno veće vrednosti ($p < 0,01$) koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvi utvrđene su u grupi ketoznih krava ($D: \bar{x} = 0,74 \text{ mmol/l}$) u odnosu na vrednosti u krvi kod grupa visoko steonih krava ($A: \bar{x} = 0,27 \text{ mmol/l}$;) i grupe zdravih, tek oteljenih krava ($C: \bar{x} = 0,46 \text{ mmol/l}$), što ukazuje da nekontrolisana lipomobiliza-

* Rad primljen za štampu 9. 6. 2003. godine

** Dr Radojica Đoković, docent, Agronomski fakultet, Čačak; dr Horea Šamanc, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Snežana Bošković-Bogosavljević, Agronomski fakultet, Čačak

cije može da bude jedan od ključnih patofizioloških mehanizama kod ketoze krava. Hipoglikemija je utvrđena kod grupe ketoznih krava ($D:\bar{x}=1,88$ mmol/l) i ove vrednosti su bile statistički značajno manje ($p<0,01$) u odnosu na prosečne koncentracije glikoze u krvi kod grupa zdravih krava u visokom graviditetu ($A:\bar{x}=2,94$ mmol/l; $B:\bar{x}=3,12$ mmol/l) i puerperijumu ($C:\bar{x}=2,71$ mmol/l), što ukazuje na smanjenu sposobnost ćelija jetre da procesom glikoneogeneze sintetišu glikozu kod krava obolelih od ketoze.

Koncentracije insulina u krvi bile su statistički značajno niže ($p<0,01$) kod grupe krava obolelih od ketoze ($D:\bar{x}=19,92$ mIU/l) u odnosu na vrednosti insulina u krvi kod grupe zdravih, tek oteljenih krava ($C:\bar{x}=32,77$ mIU/l), što pokazuje da hipoinsulinemija kod hipoglikemičnih ketoznih krava predstavlja ključni faktor u nastanku pojačane lipomobilizacije i ketogeneze. Ovo stanovište potkrepljuje i značajno negativna korelacija ($r=-0,50$) između koncentracija insulina i slobodnih masnih kiselina u krvom serumu kod ketoznih krava.

Ključne reči : krave, insulin, glikoza, slobodne masne kiseline, ketoza

Uvod / Introduction

Visoka proizvodnja mleka kod krava uslovljava određene metaboličke specifičnosti, koje zahtevaju odgovarajuću hormonsku regulaciju i adekvatno snabdevanje organizma neophodnim hranljivim materijama kako u periodu zasušenja, tako i u vreme laktacije. Ove specifičnosti predstavljaju i predispoziciju za nastajanje metaboličkih poremećaja.

Masna infiltracija i degeneracija ćelija jetre („masna” jetra) i ketoza krava predstavljaju najčešća metabolička oboljenja kod mlečnih krava u peripartalnom periodu [6, 17, 9].

Emery i sar [3] smatraju da „masna” jetra prethodi nastanku ketoze krava, pošto narušeni morfološki i funkcionalni integritet ćelija jetre usled nakupljanja kapljica masti u hepatocitima intenzivira poremećaje metabolizma organskih materija i ketogenezu u organizmu.

U periodu rane laktacije metabolički procesi se intenziviraju kako bi se obezbedili neophodni prekursori za sintezu sastojaka mleka. Posledica takvog stanja je negativan energetski bilans i pojačana mobilizacija masti iz telesnih depoa, koja započinje u visokom graviditetu da bi svoj maksimum dostigla na početku laktacije, što se po mišljenju nekih autora smatra kao najvažniji predisponirajući činioc u etiologiji i patogenezi ketoze mlečnih krava [7, 17].

Intenzitet mobilizacije masti iz telesnih depoa je proporcionalan energetskom disbalansu i stepenu ketogeneze u jetri [14].

Lipomobilizacija iz telesnih depoa ispoljava se povišenim koncentracijama slobodnih masnih kiselina u krvi, koje se esterifikuju i zadržavaju u ćelijama jetre, a istovremeno predstavljaju i osnovni prekursor u procesu ketogeneze u jetri [13, 8, 4].

Više autora je utvrdilo značajno povišenje koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi kod ketoznih krava u odnosu na vrednosti ovog parametra kod zdravih krava u peripartalnom periodu [13, 6, 5]. U skladu sa tim Gaal [6] utvrdio je pozitivnu korelaciju ($r=51$) između koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvi i stepena ketogeneze u jetri kod ketoznih krava. Autor smatra da se slobodne masne kiseline pretvaraju u ketonska tela i esterifikuju i nakupljaju u ćelijama jetre u zavisnosti od stepena lipomobilizacije.

U uslovima negativnog bilansa energije na početku laktacije kod krava koncentracije glikoze i insulina u krvi su niže u odnosu na vrednosti pre teljenja, što po nekim autorima omogućava mlečnoj žlezdi adekvatno snabdevanje hranljivim materijama [15]. Potrebe za glikozom u ranoj laktaciji kod mlečnih krava prevazilaze onu količinu koju organizam može da obezbedi u uslovima visoke proizvodnje mleka i da je to značajan činilac u nastanku hipoglikemije, hipoinsulinemije i hiperketonemije [4].

Kod krava kod kojih su utvrđeni ketoza i „masna” jetra, jetra ima smanjenu sposobnost glikoneogeneze, ispražnjene su rezerve glikogena, što ima kao posledicu smanjenu sintezu glikoze u jetri i hipoglikemiju [1].

Više autora je utvrdilo da su kod krava obolelih od ketoze, na početku laktacije, koncentracije insulina u krvi znatno niže u odnosu na insulinemiju kod zdravih krava [5, 15, 10]. Autori smatraju da je hipoinsulinemija na početku laktacije u skladu sa negativnim energetske bilansom i hipoglikemijom, da podstiče lipomobilizaciju iz telesnih rezervi i razvoj ketoze krava, zato što se tada smanjuje ili potpuno prestaje anabolički efekat insulina na masno tkivo, što ima kao posledicu lipolizu u masnom tkivu i pojačanu lipogenezu i ketogenezu u jetri.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Za ispitivanje su odabrane visoko steone ($n=20$) i tek oteljene krave ($n=20$) rase holštajn. Odabrane visoko steone krave su podeljene u dve grupe, na grupu krava (A) ($n=10$) koje su se nalazile u periodu od 10. do 5. dana pre teljenja i na grupu krava (B) ($n=10$) koje su se nalazile u periodu od 4. do 1. dana pre teljenja. Odabrane tek oteljene krave (od 1. do 6. dana posle teljenja) takođe su podeljene u dve grupe, na grupu krava (C) ($n=10$) koje su bile klinički zdrave i na grupu krava (D) ($n=10$) koje su pokazivale kliničke znake ketoze. Klinički obolelim kravama smatrali smo one životinje u čijoj su mokraći nađena ketonska tela, u koncentracijama višim od 17,20 mmol/l, a pri tome za ispitivanja nisu uzimana u obzir grla kod kojih je ketonurija bila pratilac drugog osnovnog oboljenja (*retentio secundinarum*, mastitis i druge). Krave su bile smeštene u zatvorenoj staji i bile su

vezane. Imale su prosečno tri laktacije i prosečnu mlečnost od 7625 litara mleka. Od svih ispitivanih krava uzimani su uzorci tkiva krvi punkcijom vene jugularis u isto vreme, od 10 do 12 časova pre podne, odnosno od 4 do 6 časova posle muže i hranjenja. Odvajanje krvnog seruma posle spontane koagulacije obavljano je na sobnoj temperaturi i centrifugovanjem na 3000 obrtaja/minuta. Serum je čuvan do ispitivanja na temperaturi od -18 °C.

Koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu određivana je kolorimetrijskom metodom po Ducombeu (1968). Koncentracija glikoze je određivana u svežoj krvi enzimskom metodom specifičnom za glikozu (Dextrostix trake) na „Eyeton” refraktometru. Koncentracija insulina na uzorcima krvnog seruma je određivana RIA-metodom, korišćenjem komercijalnih test - paketa (INEP-Zemun). Na osnovu dobijenih rezultata izračunate su osnovne mere varijacije, a značajnost razlika između dobijenih srednjih vrednosti izračunata je pomoću T-testa.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Rezultati ispitivanja koncentracija ($\bar{x} \pm SD$) slobodnih masnih kiselina (SMK), u krvi kod krava u peripartalnom periodu prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Koncentracija slobodnih masnih kiselina (SMK) (mmol/l) u krvnom serumu kod visoko produktivnih mlečnih krava u peripartalnom periodu
Table 1. Concentration of free fatty acids (FFA) (mmol/l), in blood serum of high-producing dairy cows in peripartal period

Grupa (n=10) / Group	Visoki graviditet / <i>High pregnancy</i>		Puerperijum / <i>Puerperium</i>	
	A	B	C	D
SMK (mmol/l) / FFA	0,27±0,14	0,54±0,26	0,46± 0,10	0,74 ±0,12

$p < 0,05$, C:D; $p < 0,01$, A:D

Legenda: A- zdrave krave u periodu od 10. do 5. dana pre teljenja; B-zdrave krave u periodu od 4. do 1. dana pre teljenja; C-zdrave krave u puerperijumu; D-ketozne krave u puerperijumu /

Legend: A-high pregnant cows in period of 10. to 5. days before calving; B-high pregnant cows in period of 4. to 1. days before calving; C-healthy cow in puerperium; D-ketotic cows in puerperium

Prema podacima mnogobrojnih autora, najbolji pokazatelj negativnog energetskog bilansa i stepena mobilizacije masti iz telesnih depoa kod krava u peripartalnom periodu su povećane koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi [11, 12, 18, 17].

Iz prikazanih rezultata može da se vidi da je u krvnom serumu ketoznih krava utvrđena značajno veća koncentracija ($p < 0,01$) slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu ($\bar{x} = 0,74 \pm 0,12$ mmol/l) u odnosu na vrednosti u krvi dobijenih kod zdravih krava u periodu od 10. do 4. dana pre teljenja ($\bar{x} = 0,27 \pm 0,14$ mmol/l),

kao i udnosu na vrednosti u krvi kod zdravih tek oteljenih krava ($x=0,46 \pm 0,10$ mmol/l $p<0,05$). Do sličnih rezultata su došli i drugi autori [18, 3, 2, 16]. Prema njihovom mišljenju pojačana i nekontrolisana lipomobilizacija iz telesnih depoa koja započinje još u visokom graviditetu, a maksimum dostiže na početku laktacije glavni je razlog za nastajanje ketoze mlečnih krava. Naime, danas se smatra da proces lipomobilizacije započinje pred sam kraj graviditeta, a da najveći stepen dostiže na početku laktacije. Do određenog stepena, ovaj proces predstavlja fiziološki odgovor organizma na stanje negativnog bilansa enerije, što je slučaj na početku laktacije. Međutim, kod pojedinih životinja se mobilizuju značajno veće količine masnih kiselina nego što su stvarne potrebe organizma, što može da ukaže na odlučujuću ulogu masnih kiselina u etiopatogenezi ketoze kod mlečnih krava na početku laktacije.

Rezultati ispitivanja koncentracija ($x \pm SD$) glikoze u krvi kod krava u peripartalnom periodu prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Koncentracije glikoze (mmol/l) u krvnom serumu kod krava u peripartalnom periodu

Table 2. Concentration of glucose (mmol/l) in blood serum of high-producing dairy cows in peripartal period

Grupa (n=10) / Group	Visoki graviditet / High pregnancy		Puerperijum / Puerperium	
	A	B	C	D
Glikoza, mmol/l / Glucose	2,94 \pm 0,32	3,12 \pm 0,42	2,71 \pm 0,35	1,80 \pm 0,43

$p<0,01$, A:D; B:D; C:D

Iz prikazanih rezultata može da se vidi da je kod krava koje su obolele od ketoze utvrđena hipoglikemija ($x=1,80 \pm 0,43$ mmol/l), a ove vrednosti su bile statistički značajno niže ($p<0,01$) u odnosu na vrednosti glikemije ($x=2,71 \pm 0,35$ mmol/l) kod zdravih tek oteljenih krava, kao i u odnosu na prosečne vrednosti glikemije u krvi kod grupa krava u visokom graviditetu ($x=2,94 \pm 0,32$ mmol/l; $x=3,12 \pm 0,42$ mmol/l). Dobijeni rezultati su u skladu sa mnogobrojnim podacima iz literature koji ukazuju da ketozu i „masnu” jetru obavezno prati hipoglikemično stanje [4, 15, 16]. Smatra se da je masno tkivo osetljivo na promene koncentracije glikoze u krvi, odnosno u uslovima hipoglikemije povećava se intenzitet lipomobilizacije. Na to ukazuje i značajno negativna korelacija ($n=-051$) između koncentracije slobodnih masnih kiselina i glikoze u krvnom serumu kod ketoznih krava [1]. U uslovima izraženog negativnog energetskog bilansa na početku laktacije, intenzivna je mobilizacija masnih kiselina iz telesnih depoa i njihovog zadržavanja u ćelijama jetre, što kao posledicu redovno ima smanjivanje procesa glikoneogeneze u hepatocitima. Ukoliko intenzitet glikoneogeneze ne zadovoljava povećane zahteve organizma za glikozom na početku laktacije nastaje poremećaj metabolizma masti i ugljenih hidrata u organizmu koga karakteriše hipoglikemija, hiperketonemija i ketonurija [4, 18, 17].

Rezultati ispitivanja koncentracija ($\bar{x} \pm SD$) insulina u krvi kod krava u peripartalnom periodu prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3. Koncentracije insulina (mIU/l) u krvnom serumu kod krava u peripartalnom periodu

Table 3. Concentration of insulin (mIU/l) in blood serum of high-producing dairy cows in peripartal period

Grupa (n=10) / Group	Visoki graviditet / High pregnancy		Puerperijum / Puerperium	
	A	B	C	D
Insulin (mIU/l)	15,46 \pm 4,89	18,41 \pm 6,98	32,77 \pm 19,70	19,92 \pm 9,07

$p < 0,01$, A:C; B:C; C:D

Postoje mišljenja da neadekvatna aktivnost (hipofunkcija) endokrinog pankreasa i smanjena koncentracija insulina u krvi u periodima izrazitih metaboličkih opterećenja (visok graviditet, početak laktacije) kod visoko-produktivnih mlečnih krava predstavlja jedan od značajnih predisponirajućih činilaca u nastanku masne infiltracije i degeneracije ćelija jetre i ketoze krava [15, 16]. Rezultati ispitivanja ovoga rada ukazuju da su koncentracije insulina u krvnom serumu kod krava obolelih od ketoze značajno manje u odnosu na vrednosti insulina u krvi kod zdravih, tek oteljenih krava (19,92:32,77 mIU/l, $p < 0,01$). Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora [17, 15, 16, 10], koji ukazuju da u uslovima smanjene koncentracije insulina u krvi mlečnih krava skoro da prestaje anaboličko delovanje insulina na metabolizam masti u telesnim depozitima, što ima kao posledicu naglu i nekontrolisanu lipolizu i mobilizaciju masnih kiselina koja počinje još u visokom graviditetu, a najveći intenzitet dostiže na početku laktacije. U prilog ovome ukazuje i u ovom radu utvrđena značajna negativna korelacija ($r = -0,50$) između koncentracije insulina i slobodnih masnih kiselina u krvi kod krava koje su obolele od ketoze. Dobijeni rezultati ukazuju da je opadanje koncentracije insulina u krvi kod ketoznih krava direktno proporcionalno sa povišenjem koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi, odnosno hipoinsulinemija uzrokuje nekontrolisanu mobilizaciju slobodnih masnih kiselina. Sama činjenica da je u ovome radu kod ketoznih krava utvrđena značajno viša koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvi u odnosu na koncentracije u krvi kod grupa zdravih krava ukazuje na mogućnost da promene koncentracije insulina u krvi kod krava na početku laktacije imaju značajnu ulogu u etiopatogenezi ketoze mlečnih krava.

Zaključak / Conclusion

1. Značajno viša koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu kod krava obolelih od ketoze u odnosu na vrednosti u krvi kod zdravih krava u visokom graviditetu i puerperijumu ($p < 0,01$), ukazuje da je kod ovih životinja

prisutna intenzivna lipomobilizacija i da je ona jedan od ključnih činilaca u etiopatogenezi ketoze krava.

2. Kod krava obolelih od ketoze utvrđena je hipoglikemija koja je bila značajno niža u odnosu na vrednosti glikemije kod zdravih visoko gravidnih i tek oteljenih krava ($p < 0,01$). To ukazuje na smanjenu sposobnost ćelija jetre da procesom glikoneogeneze sintetišu glikozu kod krava obolelih od ketoze.

3. Značajno niže koncentracije insulina u krvnom serumu kod ketoznih krava u odnosu na vrednosti u krvi kod zdravih, tek oteljenih krava ($p < 0,01$), kao i značajno negativna korelacija ($r = -0,50$) između koncentracije insulina i slobodnih masnih kiselina u krvi kod ketoznih krava ukazuje na pojačanu lipomobilizaciju. Pri niskoj insulinemiji izostaje stimulatívni uticaj insulina na proces lipogeneze, pa se proporcionalno tome pojačava proces lipolize.

Literatura / References

1. Bertics Sandra, Grummer R., Valiono C., Stodderd E.: Effect of prepartium dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75, 1914-1992, 1992.
2. Damnjanović Z., Šamanc H., Jovanović M. J., Marković S.: Koncentracija lipida i lipoproteina u krvnom serumu zdravih i ketoznih krava. *Vet. glasnik* 47, 4-5, 335-342, 1993.
3. Emery R. S., Leisman J. S., Herdt T. H.: Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122, 3, 832-837, 1992.
4. Forenbacher S.: Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja, svezak 2, jetra. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb, 1993.
5. Furl M., Schafer M.: Niacinwirkung bei milchkuehenwahrend futtermittelzug. *Mh. Vet. Med.* 48, 13-15, 1993.
6. Gaal T.: Sindrom masne jetre u mlečnih krava. *Vet. glasnik*, 47, 4-5, 311-317, 1993.
7. Johannsen U., Solveig Manager, Staufenbiel R., Klukas H.: Untersuchungen zur morphologie und funktion der leber von hochleistungskueher 2, Wochen postpartum. *Dtsch. Tierarzti. Wschr.* 100, 168-208, 1993.
8. Jovanović M. J., Šamanc H., Damnjanović Z., Marković S., Đoković R.: Funkcionalno stanje jetre krava u visokom graviditetu i ranoj laktaciji. *Vet. glasnik*, 47, 4-5, 295-310, 1993.
9. Jovanović M., Šamanc H., Damnjanović Z.: Patološko-morfološke promene u jetri krava u peripartalnom periodu. Zbornik radova 2. simpozijum: „Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda” Svilajnac. 131-135, 1996.
10. Nikolić Judith Anna, Šamanc H., Kovačević Mira., Đoković R., Bugarski D.: Hormonal status in cows during peripartal period. *Lucrari Stiintifice, Medicina veterinara* 33, 1-18, Timisora, 2000.
11. Reid I. M., Collins R. A., Baird C. D., Roberts C. J.: Lipid production rates and the pathogenesis of fatty liver in fasted cows. *J. Agric. Sci., Cambridge* 93, 253-256, 1979.
12. Reid I. M., Rowlands G. J., Dew A. M., Collins R. A., Roberts C. J.: The relationship between post-parturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. Agric. Sci., Cambridge* 101, 473-480, 1983.
13. Staufenbiel R., Meier R., Hachbart K. H., Staufenbiel Beate: Untersuchungen zum optimalen fettsalz bei der Milchkuh. *Mh. Vet. Med.* 47, 125-136, 1992.
14. Staufenbiel R., Staufenbiel Beate, Rossow, Weidemann F.: Energie-und fettstoff wechsel des Rindes. Vergleich der Aussage der Rucken fett dicke mit anderen Untersuchungsformen. *Mh. Vet. Med.* 48, 167-174, 1993.
15. Šamanc H., Nikolić J. Anna, Stojić V., Đoković R., Damnjanović Z., Ivanov I.: Glucose tolerance and propionate loading tests in the assessment of endocrine pancreas function in healthy and ketotic cows. *Acta Veterinaria* 46, 5-6, 245-254, 1996.
16. Šamanc H., Nikolić J. Anna, Đoković R., Damnjanović Z., Ivanov I.: Blood insulin, lipids and glucose concentrations in healthy and ketotic cows. *Lucrari Stiintifice, Medicina veterinara*

33, 19-23, Timisora. Romania, 2000. - 17. Vazquez-Anon M., Bertics S., Luck M., Grummer R.: Peripartium liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. J. Dairy Sci. 77, 1521-1528, 1994. - 18. Veenhuizen J. J., Drackley J. K., Richard M. J., Sanderson T. P., Miller L. D., Joung J. W.: Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of Experimental Fatty liver and ketosis in cows. J. Dairy Sci. 74:4238-4253, 1991.

ENGLISH

BLOOD CONCENTRATION OF FREE FATTY ACIDS, GLUCOSE AND INSULIN IN HIGH PRODUCING DAIRY COWS IN PERIPARTHAL PERIOD

R. Đoković, H. Šamanc, Snežana Bošković-Bogosavljević

The paper was aimed at establishing the interdependence between the concentrations of free fatty acids, glucose and insulin in the blood serum and ketosis appearance in 40 high producing Holstein dairy cows in the peripartual period. Cows were assigned into two groups. Group 1 consisted of high pregnancy dairy cows (n=20), while Group 2 (n=20) comprised cows 1 to 5 days after calving. High pregnancy cows were distributed into two groups: group A (n=10) with cows in the period from 10 to 5 days before calving, and group B (n=10) with cows in the period of 4 to 1 days before calving. Cows in the earliest phase of lactation were distributed into two groups: group C (n=10) were clinically healthy cows, and group D (n=10) were cows which exhibited clinical symptoms of ketosis.

Blood tissue samples were taken from all the tested cows by puncture of the jugular vein. Separation of the blood serum after spontaneous coagulation was performed at room temperature by centrifugation at 3000 rotations/min. The serum was kept at 18 °C till testing. The concentration of free fat acids in the blood serum was determined colorimetrically after Ducomber (1968), that of glucose in the fresh blood by the enzymatic method specific to glucose (Dextrostix trake) on the „Eyeton” refractometer, while that of insulin was ascertained in the blood serum samples by the RIA method, using commercial test packages (INEP-Zemun) .

Significantly higher concentration of free fatty acids ($p < 0.01$) existed in the blood serum of ketotic cows (D:x=0,74 mmol/l) compared to that in the healthy ones (A:x=0,27 mmol/l; B:x=0,54 mmol/l) denoting a presence of more intensive lipomobilization in ketotic cows. The presence of hypoglycemia (D:x= 1,88 mmol/l) was observed in ketotic cows being significantly lower ($p < 0.01$) than the values of glycemia applying to healthy cows (A:x=2,94 mmol/l; B:x=3,12 mmol/l; C:x=2,71 mmol/l) $x=3$, which might suggest a lower ability of the cells to, through gluconeogenesis, synthesise glucose in the ketotic cows. Finally, a significantly lower insulin concentration in the blood serum of ketotic cows (D:x=19,92 mIU/l) related to the values of the blood in the healthy, recently calved ones ($X=32.77$ mIU/l, $P < 0.01$) as well as negative correlation ($r = -0,50$) between the concentrations of free fatty acids and the level of insulin in the blood serum, may be one of the factors responsible for the lower lipogenesis, subsequently leading to increasing lipolysis process.

Key words: cows, free fatty acids, glucose, insulin, ketosis

КОНЦЕНТРАЦИИ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ГЛЮКОЗЫ И ИНСУЛИНА В КРОВИ У ВЫСОКО-ПРОДУКТИВНЫХ МОЛОЧНЫХ КОРОВ В ПЕРИПАРТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Р. Джокович, Х. Шаманц, Снежана Бошковиц-Богосавлевич

Цель этой работы была установить связь между концентрациями свободных жирных кислот, инсулина и глюкозы в крови и явления кетоза у высоко-продуктивных молочных коров в перипартальном периоде. Для испытания отобраны высокотельные ($n=20$) и свежие отеленные коровы ($n=20$) породы Холштайн. Отобранные высоко стельные коровы разделены на две группы, а именно на группу коров (А) ($n=10$), находившиеся в периоде от 10 до 5 дня до теляния и на группу коров (В) ($n=10$), находившиеся в периоде от 4 до 1 дня до теляния. Отобранные свежие отеленные коровы также разделены на две группы а именно на группу коров (С) ($n=10$), которые были клинически здоровые и на группу коров (D) ($n=10$), показавшие клинические знаки кетоза. Из всех испытанных коров браны образчики крови пункцией вены *jugularis*. Концентрация свободных жирных кислот в кровяном сыворотке определена колориметрическим методом по Discombe (1968). Концентрация глюкозы определена энзимным методом специфический для глюкозы (Dextrostix trake) на „Eyeton” рефрактометру. Концентрация инсулина в образчиках кровяного сыворотки определена RIA-методом. Статистически значительно большие стоимости ($p<0,01$) концентрация свободных жирных кислот в крови установлены в группе кетозных коров ($D:\bar{x}=0,74$ mmol/l) в отношении стоимости в крови у групп высокотельных коров ($A:\bar{x}=0,27$ mmol/l) и группы здоровых свежих отеленных коров ($C:\bar{x}=0,46$ mmol/l), что указывает, что неконтролируемая липомобилизация может быть один из ключевых патофизиологических механизмов у кетоза коров. Гипогликемия установлена у группы кетоза коров ($D:\bar{x}=1,88$ mmol/l) и эти стоимости были статистически значительно более маленькие ($p<0,01$) в отношении средних концентраций глюкозы в крови у групп здоровых коров в высокой беременности ($A:\bar{x}=2,94$ mmol/l; $B:\bar{x}=3,12$ mmol/l) и пуерперия ($C:\bar{x}=2,71$ mmol/l) что указывает на уменьшенную способность клеток печени у коров, заболевших кетозом, что процессом глюконеогенеза синтезируют глюкозу.

Концентрации инсулина в крови были статистически значительно более низкие ($p<0,01$) у группы коров, заболевших кетозом ($D:\bar{x}=19,92$ mIU/l) в отношении на стоимости инсулина в крови у группы здоровых свежих отеленных коров ($C:\bar{x}=32,77$ mIU/l), что показывает, что гипоинсулинемия у гипогликемичных, кетозных коров, может представлять ключевой фактор в возникновении усиленной липомобилизации и кетогенеза. Эта точка зрения подкрепляет и значительно отрицательная корреляция ($r=-0,50$) между концентрациями инсулина и свободных жирных кислот в кровяном сыворотке у кетозных коров.

Ключевые слова: коровы, инсулин, глюкоза, свободные жирные кислоты, кетоз

**INFESTACIJE GASTROINTESTINALNOG TRAKTA
CESTODAMA KOD MLAĐI ŠARANA (*Cyprinus carpio* L)
NA RIBNJACIMA U SRBIJI***
*GASTROINTESTINAL TRACT INFESTATIONS WITH CESTODES IN
YOUNG CARP (*Cyprinus carpio* L) IN FISHERIES IN SERBIA*

Svetlana Jeremić**

Infestacije gastrointestinalnog trakta cestodama kod mlađi šarana su redovno prisutan i aktuelan problem na ribnjacima. U toku trogodišnjeg perioda u našoj laboratoriji je pregledano 699 uzoraka ovogodišnje mlađi (0+), jednogodišnje (1+) i dvogodišnje mlađi (2+) šarana uzorkovanih sa 15 ribnjaka u Srbiji. Za parazitološki pregled uzimani su crevni sadržaji i strugotine zida creva, a kod nađenih cestoda mereni su određeni morfološki parametri, radi determinacije porasta.

Od ukupnog broja pregledanih riba, crevne cestode su utvrđene kod 217 primeraka (31,04%). Najveći procenat infestiranosti je uočen kod jednogodišnje mlađi šarana (50,69%), nešto manji kod ovogodišnje mlađi (35,95%). U navedenom periodu uočili smo manje prisustvo cestoda u crevima dvogodišnje mlađi šarana.

*Našim ispitivanjima smo utvrdili prisustvo tri vrste crevnih cestoda kod mlađi šarana na ribnjacima u Srbiji: *Bothriocephalus acheilognathi*, *Caryophyllaeus fimbriceps* i *Khawa sinensis*.*

Ključne reči: Intestinalne cestode, mlađ šarana

Uvod / Introduction

Intenzivno gajenje šarana se svrstava u najefikasniju i najekonomičniju proizvodnju proteina životinjskog porekla. U svrhu uspešnosti ove proizvodnje, neophodno je da se obezbedi održavanje vitalnih i proizvodnih funkcija

* Rad primljen za štampu 2. 4. 2003. godine

** Svetlana Jeremić, viši naučni saradnik - Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Odeljenje za zdravstvenu zaštitu riba, Beograd

ribe u okviru fizioloških granica. Prisustvo i širenje bolesti riba, a među njima i parazitskih, izaziva poremećaje u gajenju i tovu, što direktno uzrokuje ekonomske gubitke u proizvodnji. Poseban uticaj na nastanak i širenje parazitskih bolesti šarana ima nesprovođenje osnovnih preventivnih mera kao što su: isušivanje ribnjaka u jesenjem periodu, primarna obrada ribnjačkog dna, razbacivanje negašenog kreča, povremeno izmuljavanje mladičnjaka i neblagovremena i neredovna dehelmintizacija. Značajne su i velike gustine nasada u intenzivnom gajenju i poremećaji abiotičkih činilaca sredine. Ptice ihtiofagi su vektori za mnoge parazitske bolesti, pa treba da se onemogući njihovo zadržavanje na ribnjaku. Infestacije gastrointestinalnog trakta cestodama ubrajaju se u najčešće endoparazitoze mlađi šarana.

U ovom radu smo prikazali intenzitet ovih parazitoza na šaranskim ribnjacima u Srbiji.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

U toku trogodišnjeg perioda (2000 - 2002), u našoj laboratoriji pregledano je 699 uzoraka ovogodišnje (0+), jednogodišnje (1+) i dvogodišnje (2+) šaranske mlađi. Riba je uzorkovana metodom slučajnog uzorka sa 15 ribnjaka u Srbiji i transportovana do laboratorije u velikim PVC kesama sa vodom i vazduhom da bi se sprečilo uginjavanje. Usmrćivanje riba smo obavljali presecanjem kičmene moždine, posle čega smo pristupili otvaranju trbušne šupljine, oslobađanju kompletnog crevnog trakta (od proširenog dela creva do anusa) i rasecanju crevnog zida, celom dužinom. Za parazitološki pregled uzimani su crevni sadržaj i strugotine zida creva. Pregledi su obavljani makroskopski i nativno svetlosnom mikroskopijom, posle čega su mereni određeni morfološki parametri nađenih cestoda, radi determinacije vrsta.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Problemi koji se javljaju pri infestaciji mlađi šarana crevnim cestodama prvenstveno zavise od broja prisutnih parazita, opšte kondicije i starosti domaćina. Ovogodišnja mlađ je najosetljivija, dok dvogodišnji šarani pokazuju veliku otpornost i pri prisustvu velikog broja parazita. Prisustvo većeg broja parazita kod starijih kategorija može da prođe bez uočljivih patoloških promena ili eventualno sa smanjenjem prirasta i konverzije hrane. Veći broj parazita kod mlađi izaziva inflamatorne procese na zidu creva, hemoragije i proliferaciju epitela, začepljenje lumena i perforaciju creva, sa posledičnim uginućem mlađi [7, 8, 9].

Od ukupnog broja pregledanih riba, crevne cestode su utvrđene kod 217 primeraka (31,04%). Procenat infestiranosti po starosnim kategorijama mlađi prikazan je u tabeli 1.

Tabela 1. Procenat infestiranosti mlađi šarana crevnim sestodama
Table 1. Percent infestation of young carp with intestinal cestodes

Starosna kategorija mlađi / Age category	Broj pregledanih riba / Number of examined fish	Broj infestiranih riba / Number of infected fish	Procenat infestiranih riba / Percent infected fish
0+	242	87	35,95
1+	326	112	50,69
2+	131	18	13,74
Ukupno / Total	699	217	31,04

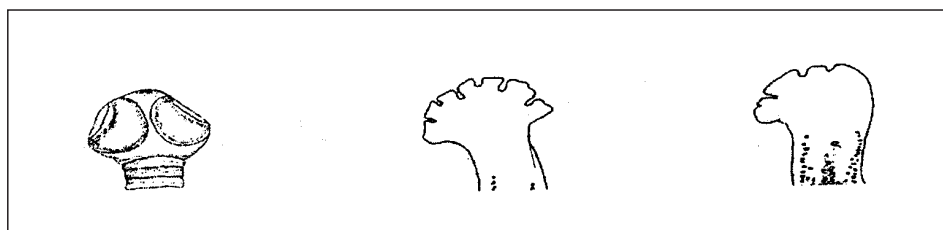
Najveći procenat infestiranosti se uočava kod jednogodišnje mlađi, što po našim podacima i podacima iz literature nije slučaj samo sa crevnim endoparazitima, već sa većinom parazita šarana [1, 2, 4]. U navedenom periodu uočili smo manje prisustvo cestoda u crevima dvogodišnje mlađi.

Determinacijom nađenih parazita utvrđeno je prisustvo tri vrste cestoda:

Bothriocephalus acheilognathi – ovu cestodu u literaturi nalazimo i pod sinonimima: *B. gowkongensis*, *B. phoxini*, *B. opsariichthydis* i druge [3, 6]. To je beličasti parazit sa skoleksom srcolikog oblika, dužine i do 25 cm (slika 1).

Caryophyllaeus fimbriceps – to je parazit nesegmentisanog tela, dužine do 4 cm, sa proširenim skoleksom koji podseća na cvet karanfila (slika 2).

Khawia sinensis – to je kratka cestoda, dužine do 1,7 cm. Po obliku skoleksa slična je prethodnom parazitu (slika 3).



Slika 1. *Bothriocephalus acheilognathi*
Figure 1. *Bothriocephalus acheilognathi*

Slika 2. *Caryophyllaeus fimbriceps*
Figure 2. *Caryophyllaeus fimbriceps*

Slika 3. *Khawia sinensis*
Figure 3. *Khawia sinensis*

Razvojni ciklus nađenih cestoda odvija se preko prelaznih domaćina, vodenih račića iz roda *Cyclops* (*Bothriocephalus*), tj. oligoheta iz roda *Tubifex* (*Caryophyllaeus* i *Khawia*) [2,4, 5].

B. acheilognathi je dijagnostikovana kod 175 pregledanih primeraka mlađi šarana (25,03%), *C. fimbriceps* kod 91 ribe (13,01%), a *K. sinensis* kod 42 primerka (6,00%), što je prikazano u tabeli 2.

Tabela 2. Zastupljenost utvrđenih crevnih cestoda /
Table 2. Presence of determined intestinal cestodes

Vrsta utvrđenih cestoda / <i>Determined cestode specie</i>	Ukupan broj pregledane mlađi / <i>Total number of examined young fish</i>	Broj infestiranih riba / <i>Number of infected fish</i>	Procenat infestiranih riba / <i>Percent infected fish</i>
<i>B. acheilognathi</i>	699	175	25,03
<i>C. fimbriceps</i>	699	91	13,01
<i>K. sinensis</i>	699	42	6,00

U većem broju slučajeva, mlađ je bila infestirana samo jednom vrstom cestoda, iako su kod određenog broja primeraka utvrđene i mešane infestacije.

Sprečavanje i suzbijanje navedenih parazitoza na ribnjacima obavlja se sprovođenjem neophodnih agrotehničkih mera (radi uništavanja prelaznih domaćina i održavanja abiotičkih činilaca sredine u normalnim granicama) i preventivnim i terapijskim delovanjem antihelminticima u hrani.

Zaključak / *Conclusion*

Infestacije gastrointestinalnog trakta cestodama kod mlađi šarana su redovno prisutan i aktuelan problem na ribnjacima. Stalan rad na zdravstvenoj zaštiti riba podrazumeva i neophodne mere u suzbijanju ovih parazitoza, koje u određenim situacijama mogu da uzrokuju ekonomske gubitke nastale uginjavanjem ili slabim prirastom šarana.

Našim ispitivanjima smo utvrdili prisustvo tri vrste navedenih cestoda kod mlađi šarana na ribnjacima u Srbiji: *Bothriocephalus acheilognathi*, *Caryophyllaeus fimbriceps* i *Khawia sinensis*, od kojih je najzastupljeniji *B. acheilognathi*.

Literatura / *References*

1. Agapova A.I.: Changes in the parasitofauna of fishes acclimatized in Kazakhstan. „Parasitic worms and aquatic conditions”, 39-44, rague, 1962. - 2. Caira J., Olson P.: On the coevolutin of cestodes and their fishes, Symp. (B) I Parasit. Internat. 47 (Suppl.), 99, Japan 1998. - 3. Eckert J., Kutzer E., Rommel M., Burger H. J., Korting W.: Veterinarmedizinische Parasitologie, 822-826, Berlin und Hambur, 1992. - 4. Kakacheva-Avramova D., Menkova I.: The cestode *Khawia sinensis* Hsu, 1935 (Caryophyllaeidae) in carp in Bulgaria, Khelmintologiya, No. 13, 32-34, Sofia, 1982. - 5. Kapustina N. I.: Host-parasite relationships

in the system *Khawia sinensis*-carp in low intensity infection. Parazity, bolesti ryb i ikh parazity, 27, 75-87, 1978. - 6. Kolarova V.: The parasite fauna of young carp. Veterinarna Sbirka 87, 5, 45-46, 1989. - 7. Nakajima K., Egusa S.: Notes of *Khawia sinensis* Hsu found in cultured carp. Fish Pathology 12, 4, 261-263, Japan, 1978. - 8. Noga J. E.: Fish disease, 170-173, USA 1996. - 9. Roberts J. R.: Fish pathology, 179 -180, London, 1978.

Napomena: Sredstva za izradu ovog rada obezbeđena su iz projekta „Nekonvencionalna animalna proizvodnja“ (Br. 505.0541B) Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije.

ENGLISH

GASTROINTESTINAL TRACT INFESTATIONS WITH CESTODES IN YOUNG CARP (*Cyprinus carpio* L) IN FISHERIES IN SERBIA

Svetlana Jeremić

Gastrointestinal tract infestations with cestodes in young carp are a regular and acute problem in fisheries. Over a period of three years, our laboratory examined 699 samples of this year' young (0+), one-year (1+), and two-year old (2+) carp sampled from 15 fisheries in Serbia. Parasitological examinations were performed on the gut content and gut wall shavings, and certain morphological parameters were determined in the found cestodes in order to establish growth.

Intestinal cestodes were determined in 217 samples (31.04%) of total number of examined fish. The highest percentage of infestation was found in one-year carp (50.69%), and somewhat less in this year's fish (35.95%). During the observed period, a smaller presence of cestodes was determined in intestines of two-year carps.

The performed examinations determined the presence of three species of intestinal cestodes in young carp in fish ponds in Serbia: *Bothriocephalus acheilognathi*, *Caryophyllaeus fimbriceps* and *Khawa sinensis*.

Key words: Intestinal cestode, young carp

РУССКИЙ

ИНФЕСТАЦИИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЦЕСТОДАМИ У МОЛОДИ САЗАНА (*Cyprinus carpio* L) НА ПРУДАХ В СЕРБИИ

Светлана Еремич

Инфестации пищеварительного тракта цестодами у молоди сазана регулярная присутствующая и актуальная проблема на прудах. В течение трёхлетнего периода в нашей лаборатории осмотрено мной 699 образчиков этого года молоди (0+), однолетней (1+) и двухлетней молоди (2+) сазанов, образчикованных с 15 прудов в Сербии. Для паразитологического осмотра браны кишечные содержания и стружки стенки кишок, а у найденных цестод мерены определённые морфологические параметры, с целью определения роста.

Из совокупного числа осмотренных рыб, присутствие кишечных цестод установлено мной у 217 образчиков (31,04%). Наибольший процент инфицирован-

ности замечен у однолетней молодежи сазана (50,69%), кое-что меньше у щтого года молодежи (35,95%). В приведённом периоде мы заметили менее присутствие цестод в кишках двухлетней молодежи сазана.

Нашими испытаниями мы установили присутствие 3 вида кишечных цестод у молодежи сазана на прудах в Сербии а именно: *Bothriocephalus acheilognathi*, *Caryophylleus fimbriiceps* и *Khawa sinensis*.

Ключевые слова: пищеварительные цестоды, молодежь сазана

**THE DYNAMICS OF INFECTIOUS CYATHOSTOMINES
LARVAE IN PASTURES OF WESTERN ROMANIA***
*DINAMIKA POJAVLJIVANJA INFEKTIVNIH LARVI CIJATOSTOMINA
NA PAŠNJACIMA ZAPADNE RUMUNIJE*

R. T. Cristina, S. Morariu**

The paper presents results obtained by following the dynamics of the incidence of infective cyathostomines larvae (L3) in pastures of western Romania in the period from October 2002 until March 2003. Grass samples were collected for a period of eight months and microscopic examinations established the presence of parasitic larvae. The authors concluded that infectious cyathostomines larvae do not survive the winter period and that their number is the highest in the autumn and spring. Cyathostomines larvae develop most readily when humidity is not high and if air temperatures range from 10-25 °C.

Key words: Cyathostomines, dynamic of infectious, pasture

Introduction / Uvod

During the last 25 years of large strongyle infections as a result of widespread use of modern anthelmintics, the clinical importance of small strongyle infections has become underlined and these nematodes have been recognised as an important cause of weight loss, diarrhoea and colic, poor growth, anaemia, debilitation and rough hair coat [4, 6, 8, 9, 12, 13, 14].

Cyathostomines are ubiquitous in grazing horses and are now considered as the major targets of equine parasite control programs. Treatment times are based on knowledge of seasonal patterns of infection risk which include faecal egg output, parasite development within the horse, development and survival of free-living stages under differing conditions of climate and pasture management [5, 7, 10, 13].

* Rad primljen za štampu 27. 7. 2003. godine

** Dr Romeo Teodor Cristina, docent, dr Sorin Morariu, predavač, Faculty of Veterinary Medicine Timisoara, Romania

In general, peaks of L3 counts on pasture occur during the late summer to early autumn in the northern temperate climatic zone when conditions are ideal for development and survival. L3 sharply decrease during cold winter months [1, 2, 3, 11, 14].

The objective of this study was to define the seasonal dynamics of cyathostomine transmission patterns. The L3 levels were monitored in eight months, during the period from October 2002 to May 2003.

Materials and methods / Materijal i metode rada

Grass samples were collected every month, from October 2002, up to May 2003, excepting the months of December, January and February. The samples were collected from surfaces describing a circle with a one meter diameter, around the faeces samples. Each time, 250 g of grass were collected. The weight of grass at the moment of collection and after 30 days of drying at a temperature of 27°C (dry weight) taken into consideration. Up to the moment of being processed, the grass samples were packed in plastic bags.

The collected grass was well washed. The liquid obtained after washing was examined by the Baermann method. At the same time, the liquid obtained after washing the plastic bags was centrifuged for 5 minutes, at 3000 rpm. The sediment was filtered through a very fine sieve (with a 25 µm mesh) and washed with tap water. The larvae remaining on the sieve were suspended in 30 ml of tap water.

One-fifth of the sample (6 ml) was examined in order to count the larvae. The first 100 larvae were identified.

The calculation formulae was the following:

$$\text{No. L3/Kg of dry grass} = [\text{no. of larvae} \times 1000 / \text{dry weight of the grass (in grams)}] \times 5$$

The pasture field was used by horses, sheep and cattle, but the number of horses prevailed. Due to a long winter, when the pasture was covered by snow, no grass was collected in the months of December, January and February.

Results and discussion / Rezultati i diskusija

Table 1 presents the results obtained after the examination of the grass samples.

Table 1. Results obtained after the examination of the grass samples /
Tabela 1. Rezultati istraživanja uzoraka trave

Species / Vrsta	No. L3 on month (%) / Broj L3 mesečno (%)				
	Oct. / oktobar	Nov. / novembar	Mar. / mart	Apr. / april	May / maj
<i>Cyathostomines</i>	11648 (68%)	7817 (57%)	178 (3%)	5613 (49%)	12374 (71%)
<i>Strongylus equinus</i>	171 (1%)	274 (2%)	0 (0%)	114 (1%)	349 (2%)
<i>Strongylus edentatus</i>	343 (2%)	549 (4%)	0 (0%)	229 (2%)	871 (5%)
Digestive strongyles (other species) / <i>Strongilide tankih creva</i> (druge vrste)	3426 (20%)	2194 (16%)	1123 (19%)	2978 (26%)	2963 (17%)
Free-living nematodes / <i>Slobodne nematode</i>	1542 (9%)	2880 (21%)	4612 (78%)	2520 (22%)	871 (5%)
Total / <i>Ukupno</i>	17130	13714	5913	11454	17428

One can notice that L3 of cyathostomines are the most abundant on the pasture: 68% in October 2002, 57% in November 2002, 49% in April 2003 and 71% in May 2003. The smallest number of cyathostomines was in March, when only 178 L3 (3%) were identified.

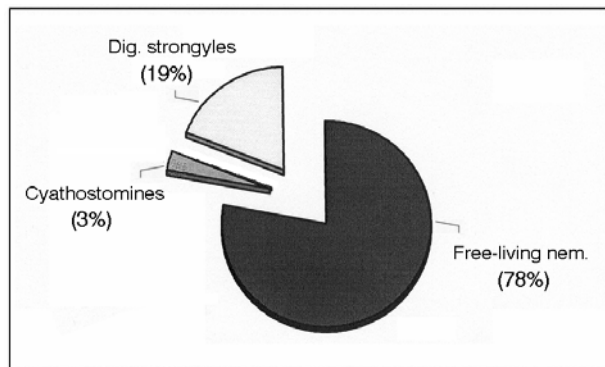
In the second place were L3 of different digestive strongyles, which are parasites in sheep and cattle, and which had relatively constant values, during the months under consideration (minimum 16 %, in November 2002 and maximum 26%, in April 2003). The percentage decrease in May 2003, after a peak in April 2003, can be explained as follows: a) the sheep went out for grazing earlier; b) the phenomenon of „peri-parturient rise” or „spring rise”, which led to an abundant pollution of the pasture, at the beginning of spring; c) the horses went out for grazing relatively later.

The free nematodes have a contradictory quantitative presence: a small number in months with favourable conditions (1,542 = 9% in October 2002 and 971=5% in May 2003) and a great number in less favourable months (2,880=21 % in November 2002; 4,612=78% in March 2003 and 2,520=22% in April 2003). So, the population peak was recorded in March 2003, which means and proves the fact that these nematodes survive in winter conditions. The other two identified species *S. equinus* and *S. edentatus* had a low quantitative presence, which varied between 1% and 2% for *S. equinus*, and, between 2% and 5% for *S. edentatus*. In March 2003, the two species were not identified.

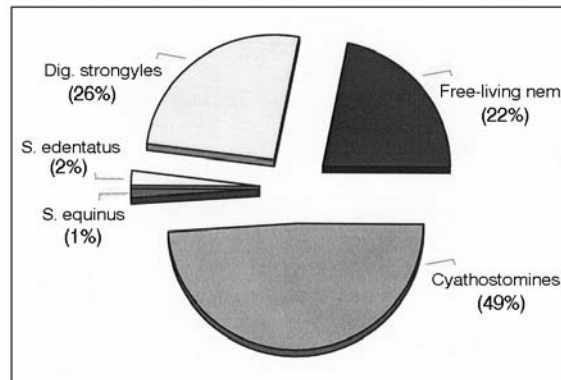
The graphs 1-5, show the quantitative presence of the categories identified during the study.

Graph 1. L3 dynamics on pasture in October 2002.
Grafikon 1. Dinamika L3 na pašnjaku oktobra 2002.

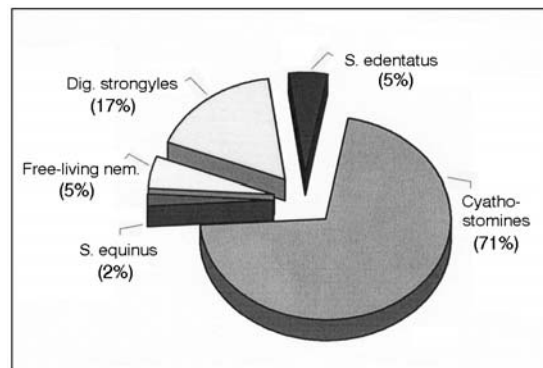
Graph 2. L3 dynamics on pasture in November 2002.
Grafikon 2. Dinamika L3 na pašnjaku novembra 2002.



Graph 3. L3 dynamics on pasture in March 2003..
Grafikon 3. Dinamika L3 na pašnjaku marta 2003.



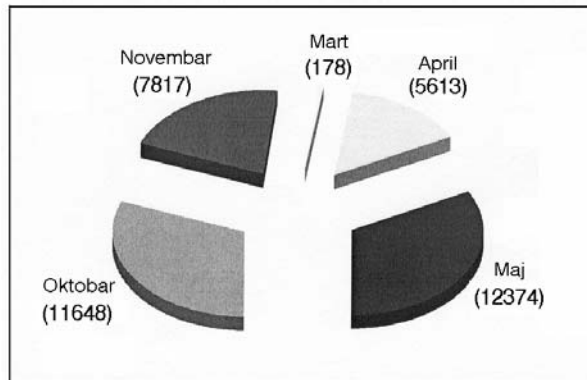
Graph 4. L3 dynamics on pasture on April 2003.
Grafikon 4. Dinamika L3 na pašnjaku aprila 2003.



Graph 5. L3 dynamics on pasture in May 2003.
Grafikon 5. Dinamika L3 na pašnjaku maja 2003.

As far as the dynamics of cyathostomine population is concerned (Graph 6), we can notice a seasonable distribution of L3, on the pasture. In October and November 2002, when there was enough humidity and the day-time temperatures varied between 4 - 18°C, the L3 of cyathostomines were abundant. In winter months, when the temperature went down to 0°C and more, the larvae did not survive; this was proved by the fact that, in March 2003, only a small number of L3 (3%) were recovered.

As the weather got warmer and the horses went out for grazing, a constant increase of the pollution degree was noticed: 49% (5,613 L3/kg dry grass) in April, at temperatures of over 15°C, and 71% (12,374 L3) in May, at day-time temperatures of over 23°C.



Graph 6. *Cyathostomine L3 dynamics on pasture in October 2002 – May 2003.*
Grafikon 6. Dinamika cijastomina L3 na pašnjaku od oktobra 2002. do maja 2003.

Consequently, we can notice that the resistance of L3 of cyathostomines during winter is minimal, which leads us to consider the pastures as being non-infective during early spring time. On the contrary, during autumn and in late spring, L3 of cyathostomines develop correspondingly, reaching population peaks. As a matter of fact, it was reported that these L3 develop optimally when the temperature varies between 10 - 33°C and the excessive humidity negatively influence their development, although it is necessary for evolution [1, 11]

Conclusions / *Zaključak*

1. L3 of cyathostomines do not survive during winter, on pastures located in the Pâncota area;
2. The population peaks of L3 of cyathostomines, on pastures from Pâncota, were recorded in autumn and spring months;
3. L3 of cyathostomines develop easier and survive longer when the humidity is not excessive and the temperatures are between 10 – 25°C.

References / *Literatura*

1. Baudena M. A., Chapman M. R., French D. D., Klei T. R.: Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Vet. Parasitol.*, 88, 51- 60, 2000. - 2. Dărăbus Gh., Cosoroabă I., Oprescu I. Morariu S., Murany M., Dema D.: Cercetări etiologice și epizootologice privind parazitismul cu strongili la cabalinele din două ferme ale județului Timis. *Lucr. St. Med. Vet. Timiosara*, XXXIV, 231-238, 2001. - 3. Courtney C. H.: Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. *Vet. Parasitol.*, 85, 173-177, 1999. - 4. Drudge J. H., Lyons E. T.: Internal parasites of equids with emphasis on treatment and control. *Monograph. Hoechst –Roussel Agri-Vet.*, Somers-

ville, NJ., USA, 1986. - 5. Duncan J. L.: Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infection in the horse. *Vet. Rec.*, 94, 337-345, 1974. - 6. Larsen J.: Acute colitis in adult horses. A review with emphasis on aetiology and pathogenesis. *Vet. Quart.*, 19, 72-80, 1997. - 7. Love S., Duncan J. L.: The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies. *Vet. Parasitol.*, 44, 127-142, 1992. - 8. Lyons E. T., Tolliver S. C.: Larval cyathostomiasis. *Equine practice.* 16, 501-513, 2000. - 9. Lyons E. T., Tolliver S. C., Drudge J. H.: Historical perspective of cyathostomes: Prevalence, treatment and control programs. *Vet. Parasitol.*, 85, 97-112, 1999. - 10. Mathee S., Krecek R. C., Milne S. A., Boshoff M., Guthrie A. J.: Impact of management interventions on helminth levels, and body and blood measurements in working donkeys in South Africa. *Vet. Parasitol.*, 107, 103-113, 2002. - 11. Mfitlodze M. W., Hutchinson G. W.: Development of free-living stages of equine strongyles in faeces on pasture in a tropical environment. *Vet. Parasitol.*, 26, 285-296, 1988. - 12. Morariu S., Cosoroabă I., Dărăbus, Gh., Serban R., Oprescu I., Ilie M.: Epidemiologia infestatiei cu strongiliile intestinale la cabalinele din Statiunea Didactică Experimentală Timisoara. Al IV-lea Simpozion International Tinerii i Cercetarea Multidisciplinară – Timisoara, 328-333, 2002. - 13. Ogbourne C. P.: Epidemiological studies in horses infected with nematodes of the family trichonematidae. *Int. J. Parasitol.*, 5, 667- 672, 1975. - 14. Uhlinger C.: Equine small strongyles: Epidemiology, pathology and control. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 13, 863-869, 1991.

SRPSKI

DINAMIKA POJAVLJIVANJA INFEKTIVNIH LARVI CIJATOSTOMINA NA PAŠNJACIMA ZAPADNE RUMUNIJE

R. T. Cristina, S. Morariu

U ovom radu prikazani su rezultati dobijeni praćenjem dinamike pojavljivanja infektivnih larvi cijatostomina (L3) na pašnjacima zapadne Rumunije u periodu od oktobra 2002. godine do marta 2003. godine. Uzorci trave su prikupljeni tokom oktobra, novembra, marta, aprila i maja i u njima je utvrđivano prisustvo larvi parazita mikroskopskim pregledom. Autori su zaključili da infektivne larve cijatostomina ne preživljavaju zimski period i da je njihov broj najveći tokom jeseni i proleća. Larve cijatostomina se lakše razvijaju ako vlažnost nije visoka i ako se spoljašnja temperatura kreće u granicama od 10 do 25 °C.

Кljučне речи: Cyathostomines, dinamika infekcije, pašnjaci

РУССКИЙ

ДИНАМИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЛИЧИНОК ЦИАТОСТОМИНА НА ПАСТБИЩАХ ЗАПАДНОЙ РУМЫНИИ

R. T. Cristina, S. Morariu

В этой работе показаны результаты, полученные сопровождением динамики появления инфекционных личинок Циятостомина (L3) на пастбищах западной Румынии в периоде от октября 2002 года до марта 2003. года. Образчики травы,

собранные в течение восьми месяцев и в них установлено присутствие личинок паразитов микроскопическим осмотром. Авторы сделали вывод, что инфекционные личинки Циатостостомина не переживают зимний период и что их число самое большое в течение осени и весны. Личинки Циатостостомина легче развиваются если влажность не высокая и если внешняя температура движется в пределах от 10-25°C.

Ключевые слова: *Cyathostomines*, динамика инекционных личинок, пастбищах западной Румынии

PREGLED KVALITETA HRANE ZA GOVEDA*
SURVEY OF QUALITY OF BOVINE FEEDS

Dobrića Jakić-Dimić, Ksenija Nešić, Z. Sinovec**

U radu su prikazani rezultati analize hemijskog sastava 220 uzoraka, mikrobiološke analize 204 uzorka i mikotoksikološke analize 27 uzoraka hrane namenjene za različite kategorije goveda. Hrana je pristizala u ovlašćene laboratorije na kontrolu sa teritorije Republike Srbije u periodu od 1993. do 2003. godine.

Analizom smeša za ishranu goveda, od ukupno 202 uzorka utvrđeno je da čak u 71 slučaju smeše ne ispunjavaju uslove kvaliteta u pogledu sadržaja proteina predviđenog zakonskom regulativom, a najveći stepen odstupanja utvrđen je u smešama za tov junadi I. Ispitivanjem sadržaja Ca i P utvrđeno je da u velikom broju slučajeva smeše sadrže nedovoljne ili nedozvoljene količine ovih makroelemenata. Ispitivanjem sadržaja celuloze utvrđeno je da u izvesnom broju slučajeva smeše sadrže količine koje su iznad zakonskih limita, a u velikom broju, iako odgovaraju Pravilniku, i nedovoljne količine.

*Broj saprofitskih bakterija vrlo varira, ali su svi pregledani uzorci sadržali dozvoljen broj saprofitskih bakterija. Determinacijom bakterija najčešće su izolovani *Bacillus* spp., koliformne bakterije, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. i *Proteus* spp. Većina ispitivanih uzoraka za ishranu goveda sadržala je dozvoljen broj klostridija, a u manjem broju uzoraka, uglavnom za junad, utvrđen je nedozvoljen broj klostridija. Broj gljivica plesni u smešama je značajno povećan, naročito u smešama za ishranu mladih životinja. Determinacijom plesni najčešće su izolovani *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. i *Rhizopus* spp.*

Od 27 analiziranih smeša na prisustvo mikotoksina u dozvoljenim granicama je bilo svega 59.3 posto smeša, pri čemu je neophodno da se istakne da u proteklom periodu uopšte smeše za telad nisu mikotok-

* Rad primljen za štampu 10. 12. 2003. godine

** Dr Dobrića Jakić-Dimić, naučni saradnik; mr Ksenija Nešić, istraživač, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Zlatan Sinovec, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

sikološki ispitivane. Najčešće prisutni mikotoksini su zearalenon i ohratoksin.

Ključne reči: goveda, hrana, kvalitet

Uvod / Introduction

Kvalitet stočne hrane je bitan preduslov za postizanje optimalnih proizvodnih rezultata u govedarstvu, pa je neophodno da se obavlja stalna kontrola sirovina i gotovih smeša. Pod terminom „kvalitet stočne hrane” podrazumevaju se odgovarajuće organoleptičke osobine, optimalan hemijski sastav i zadovoljavajuća higijenska ispravnost.

Svako odstupanje od normalnog kvaliteta u smislu promena organoleptičkih svojstava, hranljive vrednosti i higijenske ispravnosti označava se kao kvarenje stočne hrane. Ovakva hrana najčešće je škodljiva, mada ne mora uvek da ispolji takvo dejstvo. Škodljivost se ogleda u postizanju lošijih proizvodnih rezultata životinja, kao i pojavljivanju oboljenja i uginuća. Uzrok ovakvih promena su različiti hemijski, fizički i biološki činioci, pri čemu najčešće njih uzrokuju prisutne bakterije i plesni.

Za postizanje optimalnih proizvodnih rezultata u intenzivnom govedarstvu veliku važnost ima hranljiva vrednost, tj. hemijski sastav hrane. Iako zakonska regulativa predviđa stalnu kontrolu, kako sirovina, tako i gotovih smeša, njihovi korisnici često nisu zadovoljni postignutim proizvodnim rezultatima, pa zahtevaju dodatne hemijske analize.

Učestalost kontaminacije hraniva plesnima u prirodnim uslovima je velika (više od 60%), a kontaminisana hraniva i krmne smeše mogu da sadrže mikotoksine u različitim količinama. Štete u stočarstvu koje nastaju usled mikotoksikoza mogu da budu veoma značajne. One se ispoljavaju u vidu direktnih gubitaka zbog uginjavanja životinja ili još češće, nastaju indirektno zbog pada proizvodnih i reproduktivnih sposobnosti domaćih životinja. Poseban problem predstavlja mogućnost da se u organizmu životinja koje su uzimale kontaminisanu hranu mogu da nađu različite koncentracije rezidua mikotoksina i njihovih metabolita koje mogu da izazovu štetne efekte i kod ljudi.

Redovnom kontrolom hrane za goveda, na koju obavezuje zakonska regulativa, obezbeđuju se optimalni proizvodni rezultati životinja i prevenira pojavljivanje oboljenja i uginuća. U ovom radu je prikazan kvalitet smeša za ishranu goveda u svetlu važećih zakonskih propisa.

Materijal i metode rada / Materials and methods

U ovlašćenim laboratorijama za ispitivanje stočne hrane (Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd i Fakultet veterinarske medicine, Beograd)

tokom desetogodišnjeg perioda (1993-2003) obavljena je analiza hemijskog sastava 220 uzoraka, mikrobiološka analiza 204 uzorka i mikotoksikološka analiza 27 uzoraka hrane namenjene za različite kategorije goveda. Uzorci su poticali sa teritorije Republike Srbije [7], a u ovlašćene laboratorije su poslani manjim delom radi redovne kontrole, a većim u slučaju sumnje na kvalitet i eventualne uzročno-posledične veze sa slabijim proizvodnim rezultatima i poremećajem zdravstvenog stanja.

U uzorcima smeša osnovni hemijski sastav se određivao modifikovanim Weende postupkom, a sadržaj mineralnih materija spektroskopskim metodama [1]. Rezultati su poređeni sa Pravilnikom o kvalitetu stočne hrane [5, 6] i prikazani prema vrsti krmne smeše.

Za mikrobiološku analizu uzoraka korišćene su standardne metode [9], a za analizu kontaminacije smeša mikotoksinima korišćena je metoda tankslojne hromatografije [7]. Dobijeni rezultati su poređeni i tumačeni u skladu sa Pravilnikom o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani [8].

Rezultati ispitivanja / Results of investigations

Analizom smeša za ishranu goveda, od ukupno 202 uzorka utvrđeno je da čak u 71 slučaju (35%) smeše ne ispunjavaju uslove kvaliteta u pogledu sadržaja proteina predviđene zakonskom regulativom (tabela 1). Najveći stepen odstupanja utvrđen je u smešama za tov junadi I (44.9%) i u smešama za telad (38.5%). Nezadovoljavajuća količina proteina u smešama za tov junadi II utvrđena je u 25.5 posto uzoraka, a u smešama za krave muzare u 14.8 posto uzoraka.

Tabela 1. Sadržaj proteina u hrani za goveda [%]
Table 1. Protein content in bovine feeds

Smeša / Mix	n	$\bar{x} \pm Sd$	Iv	Ne odgovara / Inadequate
GT	13	16.70 ± 3.29	10.02 - 22.58	5
GJ-1	107	14.03 ± 1.95	8.33 - 19.96	48
GJ-2	55	12.97 ± 1.88	9.80 - 18.77	14
KM	27	13.86 ± 2.03	9.98 - 18.56	4

Ispitivanjem sadržaja kalcijuma i fosfora u hrani za goveda utvrđeno je da u velikom broju slučajeva uzorci sadrže nedovoljne ili nedozvoljene količine ovih makroelementa (tabela 2).

Tabela 2. Sadržaj makroelemenata u hrani za goveda, [%]
Table 2. Macroelement content in bovine feeds

Smeša / <i>Mix</i>	n	$\bar{x} \pm Sd$	Iv	Neodgovara / <i>Inadequate</i>
Kalcijum / <i>Calcium</i>				
GT	7	0.99 ± 0.23	0.67 - 1.32	3
GJ-1	28	0.94 ± 0.96	0.61 - 1.09	6
GJ-2	27	0.89 ± 0.28	0.49 - 1.90	15
KM	7	0.83 ± 0.22	0.51 - 1.11	3
Fosfor / <i>Phosphorus</i>				
GT	7	0.75 ± 0.22	0.44 - 1.03	3
GJ-1	28	0.62 ± 0.13	0.42 - 1.01	11
GJ-2	27	0.64 ± 0.24	0.35 - 1.69	11
KM	10	0.66 ± 0.17	0.40 - 0.96	5

Sadržaj kalcijuma znatno je odstupao od vrednosti predviđenih zakonskim normativima. Posebno je interesantno da je gotovo isti broj uzoraka imao manju količinu kalcijuma, kao i onih uzoraka sa sadržajem većim od dozvoljene granice. Posmatrajući rezultate u celini može da se konstatuje da je broj uzoraka koji ne odgovara izuzetno veliki u smešama za telad (42.9%) i junad (21.4% i 55.6%), kao i za krave muzare (42.9%).

Sadržaj fosfora je takođe pokazao znatna odstupanja, kao i za kalcijum u oba smera, tj. i ispod i iznad dozvoljene granice u gotovo jednakom broju analiziranih uzoraka. Posmatrajući rezultate u celini može da se konstatuje da su odstupanja u približno velikoj meri izražena za sve kategorije: telad (42.9%), junad (39,3% i 40.7%) i krave muzare (50%).

Ispitivanjem sadržaja celuloze u smešama utvrđeno je da se u izvesnom broju slučajeva prevazilaze zakonski limiti, a da u velikom broju, iako odgovaraju Pravilniku, sadrže i nedovoljne količine (tabela 3). Kod teladi odstupanja su se pojavila u 18.2 posto uzoraka, kod junadi u 9.5 posto i 14 posto, a kod krava muzara u 20.7 posto analiziranih uzoraka.

Tabela 3. Sadržaj celuloze u hrani za goveda, [%]
Table 3. Fibre content in bovine feeds

Smeša / <i>Mix</i>	n	$\bar{x} \pm Sd$	Iv	Neodgovara / <i>Inadequate</i>
GT	11	5.38 ± 2.53	1.89 - 10.55	2
GJ-1	105	5.95 ± 2.09	1.91 - 11.81	10
GJ-2	50	5.78 ± 2.08	1.40 - 13.59	7
KM	29	5.86 ± 2.03	2.37 - 10.31	6

Ispitivanjem kontaminacije hrane za goveda bakterijama uočeno je da broj saprofitskih bakterija veoma varira, ali u svim pregledanim uzorcima nije utvrđen broj iznad dozvoljenih granica. Determinacijom bakterija najčešće su izolovani *Bacillus* spp. (95%), koliformne bakterije (78%), *Streptococcus* spp. (65%), *Staphylococcus* spp. (56%) i *Proteus* spp. (22%). Većina ispitivanih uzoraka za ishranu goveda sadržala je dozvoljen broj klostridija (78.5%), a u manjem broju uzoraka, uglavnom za junad, utvrđen je nedozvoljen broj klostridija koji je bio do 5000 CFU/g.

Tabela 4. Sadržaj plesni u hrani za goveda, [CFU/g]
Table 4. Fungi content in bovine feeds

Smeša / <i>Mix</i>	n	lv	Neodgovara / <i>Inadequate</i>
GT	13	1 000 - 300 000	7
GJ-1	99	100 - 900 000	20
GJ-2	42	1 000 - 1 200 000	9
KM	36	100 - 1 000 000	11

Broj gljivica plesni u hrani za mlade životinje bio je od 1000 do 300000 CFU/g, pri čemu je čak 53.9 posto ispitivanih uzoraka sadržalo nedozvoljen broj plesni. U hrani za odrasle životinje utvrđeno je od 100 do 1200000 CFU/g, pri čemu je 22.6 posto ispitivanih uzoraka sadržalo nedozvoljen broj plesni. Determinacijom plesni najčešće su izolovani *Penicillium* spp. (57.4%), *Mucor* spp. (53.7%), *Aspergillus* spp. (43.7%), *Fusarium* spp. (10.5%) i *Rhizopus* spp. (10%).

Tabela 5. Sadržaj mikotoksina* u hrani za goveda, [mg/kg]
Table 5. Mycotoxin content in bovine feeds

Smeša / <i>Mix</i>	n	AB1	F-2	OA	Neodgovara / <i>Inadequate</i>
GJ-1	15	0.01 / 0.05	4.20 / 10.7	0.24 / 0.69	6
GJ-2	7	–	3.05 / 6.40	0.22 / 0.80	2
KM	5	–	3.08 / 4.30	0.21 / 0.35	3

*Vrednost data kao \bar{X}/X_{\max}

Posmatrano zbirno za ceo period (tabela 5), od 27 analiziranih smeša na prisustvo mikotoksina u dozvoljenim granicama je bilo svega 59.3 posto smeša, pri čemu je neophodno da se istakne da smeše za telad u proteklom periodu uopšte nisu mikotoksikološki ispitivane. Najčešći uzroci higijenske neispravnosti smeša u pogledu količine mikotoksina odnosile su se na prisustvo zearaleona i ohratoksina.

Diskusija / Discussion

Rezultati dobijeni ispitivanjem hranljive vrednosti hrane za goveda ukazuju na greške koje se javljaju u proizvodnji i rezultiraju njenim lošim kvalitetom. Osnovni problem koji se javlja u proizvodnji smeša je nedovoljna količina proteina, što se naročito ispoljava u hrani za mlade životinje, odnosno telad i junad u prvoj fazi tova. Posmatrajući hranljivu vrednost smeša za tov junadi II i za krave muzare, generalno se uočava poboljšanje u odnosu na ranije ispitivani period [10], mada ne zadovoljavajuće.

Sadržaj makroelemenata i velike varijacije u količini kalcijuma i fosfora, predstavljaju zabrinjavajući podatak sa aspekta kvaliteta hrane, odnosno postizanja zadovoljavajućih proizvodnih rezultata i očuvanja zdravlja [11]. Neadekvatne količine ovih makroelemenata, kao i drugih parametara hrane, poput celuloze, u ispitivanim uzorcima uglavnom su posledica nekvalitetnih sirovina, a samo obezbeđivanje optimalnih, nutritivno potrebnih količina obezbeđuje i njihov pravilan odnos i iskorišćavanje.

Poseban stručni problem u planiranju obroka predstavlja usklađivanje odnosa pojedinih vrsta ugljenih hidrata koje životinja unosi obrokom, s obzirom na njihovo dejstvo, pre svega, na mikrofloru buraga, a posledično i na niz drugih parametara koji se uglavnom odnose na sintezu masnih kiselina u buragu, mlečnost i zdravstveno stanje životinje [12]. Potrebno je da se istakne značaj celuloze, kao prekursora sirćetne kiseline, a time i mlečne masti, ali i uloga vlaknastih materija u pravilnoj motorici predželudaca i odvijanju procesa varenja u digestivnom traktu, kao i značaj u preveniranju ketoze i acidoze. S obzirom da je dobro poznato da obrok za muzne krave treba da sadrži celuloze minimalno 14-15 posto SM, potpuno je jasno da se korišćenjem smeša ispitivanog kvaliteta ni izdaleka ne može da obezbedi optimalan obrok za visokoproizvodne životinje. Pored toga, mali sadržaj celuloze u obrocima za telad ne obezbeđuje maksimalan razvoj predželudaca, a kod tovne junadi predstavlja stalnu opasnost od pojavljivanja naduna.

Problemi u proizvodnji hrane za životinje i greške koje se tom prilikom javljaju uglavnom su posledica uticaja ljudskog faktora, a odnose se na korišćenje neadekvatne opreme, nepoznavanje samog procesa proizvodnje, kao i upotrebu sirovina lošeg kvaliteta. Posebna pažnja treba da se obrati upravo na poslednji uzrok, jer bez kvalitetnih sirovina nema ni kvalitetnog proizvoda [17]. Zato je veoma važna kontrola ulaznih sirovina u fabrikama stočne hrane, zatim kontrola gotovih proizvoda kojom se potvrđuje kvalitet stočne hrane i na kraju kontrola gotovih proizvoda u prometu.

Takođe, neophodno je istaći da hemijski sastav ne može i ne sme da se posmatra izolovano od higijenske ispravnosti, jer oba parametra čine nedeljivu i kompleksnu celinu, iako su normirani različitim podzakonskim aktima [14].

Mada saprofitske bakterije predstavljaju redovan nalaz u ispitivanim uzorcima njihov broj ni u jednom slučaju nije bio razlog higijenske neispravnosti

smeša. Međutim, njihovo prisustvo ne treba zanemariti, s obzirom na to da bakterije za svoje metaboličke funkcije i procese koriste hranljive sastojke iz smeša, smanjujući njihovu opštu hranljivu vrednost. Takođe, dospevši u smeše, uz odgovarajuću vlagu i temperaturu, saprofiti se razmnožavaju i pretvaraju hranljive sastojke u raznovrsne metaboličke produkte koji menjaju organoleptička svojstva smeša. Sve su to razlozi koji ne dozvoljavaju šturo tumačenje zakonskih odredaba koje se odnose na dozvoljen broj saprofitskih bakterija u smešama za ishranu životinja, jer je očigledno da njihovo prisustvo indirektno utiče na kvalitet smeša.

Prisustvo klostridija u ispitivanim uzorcima ukazuje na retku, ali ipak konstantnu kontaminiranost hrane za goveda na našem podneblju ovim bakterijama [2]. Međutim, pitanje kriterijuma procenjivanja hrane pri prisustvu ovih bakterija nije rešeno na zadovoljavajući način. Nalaz klostridija ne mora da znači da one predstavljaju etiološki faktor poremećaja zdravstvenog stanja, ali isto tako hrana u kojoj nije utvrđeno prisustvo klostridija može da sadrži njihove toksine. Zato prisustvo ovih bakterija može da bude uzrok zdravstvenog poremećaja samo ukoliko se njihov broj tumači u svetlu dokazivanja toksin-produkujućih sojeva, odnosno samog toksina u hrani.

Osnovni uzrok neispravnosti pregledanih uzoraka, kao i u prethodno ispitivanom periodu [16] bio je povećan broj saprofitskih gljivica plesni. S obzirom na to da su uglavnom izolovani rodovi plesni [4] koji kontaminiraju hraniva i smeše u skladištima, jasno je da je ovako veliki broj neodgovarajućih uzoraka prouzrokovano greškama pri skladištenju i manipulaciji hranivima, kao komponentama od kojih se proizvode smeše, kao i gotovim smešama, odnosno lošim ambijentalnim uslovima u kojima se čuvaju. U uzorcima je utvrđeno i povećano prisustvo takozvanih poljskih plesni, što situaciju čini još složenijom.

Prosudivanje ispravnosti ispitivanih uzoraka na osnovu utvrđenog broja mikroorganizama znatno otežavaju nejasno formulisane odredbe Pravilnika o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani [8] za mlade i odrasle životinje. Diskutabilno je šta su to mlade, a šta odrasle životinje i prema kojim kriterijumima je izvršena ta podela, a naročito s obzirom na raznolikost proizvodnih kategorija različitih životinjskih vrsta. Takođe je i procenjivanje upotrebljivosti hrane samo sa aspekta broja i vrste plesni nepotpuno, jer postoji mogućnost prisustva njihovih sekundarnih metabolita (mikotoksina) koji se luče pod određenim uslovima.

Broj analiziranih uzoraka na prisustvo mikotoksina, u dve laboratorije, izuzetno je mali s obzirom na zastupljenost drugih vrsta ispitivanja i dužinu obuhvaćenog perioda. Pa ipak, raspolažući i ovako šturim podacima može da se zaključi da je ovo veoma prisutan problem. Naročito zabrinjavaju velike količine zearalenona i ohratoksina, čije rezidue u mleku i mesu utiču i na zdravlje ljudi. Sporadična pojava aflatoksina, koja nije bila karakteristična za prethodne periode, ukazuje da i u našoj zemlji gljivice producenti ovog toksina nailaze na po-

godne uslove. Stoga je neophodno primenjivati sve do sada poznate načine preveniranja štetnih efekata mikotoksikoza, a naročito nutritivni tretman.

Radi efikasnog preveniranja poremećaja zdravstvenog stanja i obezbeđivanja zadovoljavajućih proizvodnih rezultata goveda [15] neophodno je da se praktikuje stalni višestepeni monitoring hranljive vrednosti i higijenske ispravnosti sirovina i gotovih smeša, baziran na znatno većem broju uzoraka. Stalni monitoring je, pored primene biotehnologije, jedini način čijom se primenom obezbeđuje zadovoljavajući kvalitet proizvoda i zaštita potrošača [18]. Pored toga, potrebno je korigovati odredbe Pravilnika [8] o dozvoljenom broju klostridija u smešama, kao i definisati kategoriju mladih i odraslih životinja ili uvesti novu nomenklaturu po kojoj će se tumačiti broj i vrsta utvrđenih mikroorganizama. U praksi je potrebno proširiti broj ispitivanih mikotoksina, kao i preispitati maksimalno dozvoljene količine mikotoksina predviđene Pravilnikom [13], s obzirom da se korišćenjem hrane sa sadržajem mikotoksina u zakonski dozvoljenim granicama, u praksi, vrlo često dobijaju slabiji proizvodni rezultati. Pored toga, neophodni su oštriji kriterijumi za otvaranje i rad fabrika i mešaonica hrane za životinje čije bi sprovođenje bilo zakonski obezbeđeno, kao i jedinstveni i usaglašeni zakonski akti kojima se regulišu proizvodnja, promet, kontrola i upotreba stočne hrane.

Zaključak / Conclusion

1. Kvalitet hrane za goveda, hranljiva vrednost i higijenska ispravnost, nije zadovoljavajući, odnosno korišćenjem hrane opisanog kvaliteta ne mogu da se očekuju zadovoljavajuće zdravstveno stanje i optimalni proizvodni rezultati.

2. Neophodni su oštriji kriterijumi za otvaranje i rad fabrika i mešaonica hrane za životinje, kao i jedinstveni i usaglašeni zakonski akti kojima se regulišu proizvodnja, promet, kontrola i upotreba stočne hrane.

3. Stalni višestepeni monitoring kvaliteta sirovina i gotovih proizvoda je jedini način čijom se primenom obezbeđuje kvalitet proizvoda i zaštita potrošača.

Literatura / References

1. A.O.A.C. Official methods of analysis 15th ed., Washington DC, 1990. - 2. Jakić-Dimić Dobrila, Sinovec Z., Marković Maja: Prisustvo uzročnika iz grupe klostridija u stočnoj hrani. Zbornik kratkih sadržaja radova 7. savetovanja veterinaru Srbije, 7, 1994. - 3. Jovanović N., Nedejković Jelena, Šefer D., Sinovec Z.: Pregled hranljive vrednosti krmnih smeša za ishranu goveda. I sav. Ishrana, reprodukcija i zdravstvena zaštita goveda, 9, 1993. - 4. Leeson S., Diaz G., Summers J. D.: Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books. Guelph, Ontario, Canada, 1995. - 5. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje: Službeni list SRJ, 20, 2000. - 6. Pravilnik o izmenama i dopunama Pravilnika o kvalitetu i drugim zahtevima za hranu za životinje: Službeni list SRJ, 38, 2001. - 7. Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mik-

robioloških analiza stočne hrane. Sl. list SFRJ, 15, 1987. - 8. Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani. Sl. list SFRJ, 2, 1990. - 9. Quinn J., Carter E., Mardex B., Carter R.: Clinical Veterinary Microbiology, 367-439. Mosby-Yec. Book Europe United, London, England, 1994. - 10. Sinovec Z.: Uloga ishrane u etiopatogenezi zdravstvenih poremećaja krava u peripartalnom periodu. Vet. glasnik, 57, 137-148, 2003. - 11. Sinovec, Z., Jovanović, N. Nutritivna profilaksa puerperalne pareze. Vet. glasnik, 50, 697-704. - 12. Sinovec Z., Jovanović N.: Utrđivanje bilansa ishrane u održavanju homeostaze prometa energije kod krava u visokom graviditetu. II. Simpozijum Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda, 45-60, 1996. - 13. Sinovec, Snežana, Sinovec, Z.: Zakonska regulativa o mikotoksinima. XV Savetovanje veterinarara Srbije, 87-96, 2003. - 14. Sinovec Z., Ševković N.: Ishrana kao faktor unapređenja stočarstva. VII kongres veterinarara Jugoslavije, 119-129, 1998. - 15. Sinovec Z., Sinovec Snežana, Ševković N.: Zakonska regulativa o proizvodnji, prometu i kontroli stočne hrane. IX simp. tehnologije stočne hrane, 1-7, 2001. - 16. Šefer D., Jovanović N., Nedeljković J., Sinovec Z.: Kontaminacija krmnih smeša za ishranu goveda bakterijama i plesnima. I simpozijum Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda, 8, 1993. - 17. Šefer D., Nedeljković Jelena, Jovanović N., Sinovec Z.: Kvalitet stočne hrane. Zbornih kratkih sadržaja radova 8. savetovanja veterinarara Srbije, 125, 1995. - 18. Ševković N., Sinovec Z., Sinovec Snežana: Značaj kontrole kvaliteta stočne hrane. VI simp. Tehnologije stočne hrane, 89-94, 1996.

ENGLISH

SURVEY OF QUALITY OF BOVINE FEEDS

Dobrila Jakić-Dimić, Ksenija Nešić, Z. Sinovec

The paper presents the results of the analyses of the chemical composition of 220 samples, microbiological analyses of 204 samples, and mycotoxicological analyses of 27 samples of bovine feeds for different categories of cattle which arrived for control at authorized laboratories from the territory of the Republic of Serbia during the period from 1993 until 2003.

The analyses of 202 bovine feed mix samples showed that as many as 71 feed mixes do not meet the quality condition on protein content envisaged by legal regulations, and the highest discrepancy was determined in feed mixes for heifers. Analyses of Ca and P contents showed that the mixes in a large number of cases contain insufficient or not permitted quantities. The analyses of fibre content showed in a certain number of samples that the mixes contain quantities which are above legal regulations, and in a large number of cases insufficient quantities, although legally adequate.

The number of saprophytic bacteria greatly varied, but all examined samples contained a permitted number of saprophytic bacteria. These analyses most often isolated *Bacillus* spp., colyform bacterias, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. and *Proteus* spp. Most examined samples contained a permitted number of Clostridia, and a smaller number of samples, mostly for heifers, showed an impermissible number of Clostridia. The quantity of mold fungi in mixes was significantly higher, especially in mixes for young animals. The determination of fungi most frequently resulted in the isolation of *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Rhizopus* spp.

The mycotoxin analyses of 27 feed mixes showed that only 59.3% were within permitted levels, but it is important to emphasize that mixes for calves were not mycotoxi-

cologically tested at all. The mycotoxins most often present were zearalenone and ochratoxin.

Key words: cattle, feed, quality

РУССКИЙ

ОСМОТР КАЧЕСТВА КОРМА ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Добриła Якич-Димич, Ксения Нешич, З. Синовец

В работе показаны результаты анализа химического состава 220 образчиков, микробиологического анализа 204 образчика и микотоксического анализа 27 образчиков корма, предназначенного для различных категорий крупного рогатого скота, который прибывал в уполномоченные лаборатории на контроль с территории Республики Сербии в периоде от 1993 до 2003 года.

Анализом смесей для кормления крупного рогатого скота, из совокупно 202 образчика утверждено, что даже 71 случае смеси не выполняют условия качества в отношении содержания протеинов, предвиденного законной регулятивной, а наивысшая степень отступления утверждена в смесях для откорма телят. Испытанием содержания Са и Р утверждено, что в большем числе случаев смеси содержат недостаточные или недозволённые количества этих макроэлементов. Испытанием содержания целлюлозы утверждено, что в известном числе случаев смеси содержат количества, которые сверх законных лимитов, а в большем числе, хотя отвечают Инструкции, и недостаточные количества.

Число сапрофитических бактерий очень варьирует, но все осмотренные образчики содержали дозволённое число сапрофитических бактерий. Определением бактерий чаще всего изолированы *Bacillus* spp., колиформные бактерии, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и *Proteus* spp. Большинство испытанных образчиков для кормления крупного рогатого скота содержало дозволённое число клостридий, а в меньшем числе образчиков, главным образом для телят утверждено недозволённое число клостридий. Число грибов плесни в смесях значительно увеличено, особенно в смесях для кормления молодняка. Определением плесни чаще всего изолированы *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. и *Rhizopus* spp.

Из 27 анализированных смесей на присутствие микотоксинов в дозволённых границах было всего 59,3% смесей, при чём необходимо выдвинуть, что смеси для телят в истекшем периоде вообще не микотоксически испытаны. Наиболее часто присутствующие микотоксины зearаленон и охратоксин.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, корм, качество

NOVIJA SAZNANJA O VAŽNIJIM BIOLOŠKIM
KARAKTERISTIKAMA GOVEĐEG HERPESVIRUSA-1*
*LATEST KNOWLEDGE ON MAJOR BIOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF BOVINE HERPES VIRUS-1*

S. Đurišić, S. Lazić, T. Petrović, Diana Lupulović, Maja Velhner**

Goveđi herpesvirus-1 (BHV-1) izaziva više oboljenja goveda od kojih su infektivni bovini rinotraheitis i infektivni pustularni vulvovaginitis (IBR/IPV) najčešća oboljenja. Tokom poslednjih nekoliko desetina godina više autora je utvrdilo strukturu virusa na molekularnom nivou i uspeeli su da ustanove funkcionalni značaj genoma ovog virusa radi njegovog održavanja u prirodi. Ustanovljavanjem funkcije pojedinih gena BHV-1 i njihovih produkata, ne samo što se došlo do saznanja o uspostavljanju latentne infekcije i patogenezi bolesti, već su se utvrdile mogućnosti njihove primene radi zaštite od infekcije, dijagnostike i eradicacije ove virusne bolesti u zaptima goveda.

U radu je opisana struktura genoma BHV-1, dat je prikaz genskih produkata i njihov značaj za replikaciju virusa. Opisana je dosadašnja primena rezultata ispitivanja virusa na molekularnom nivou sa mogućnostima razvoja i unapređenja zaštite zdravlja životinja od inficiranja ovim virusom.

Ključne reči: goveđi herpesvirus-1, genom glikoproteini

Uvod / Introduction

Tokom proteklih nekoliko decenija zabeležen je vidan napredak u istraživanju na molekularnom nivou goveđeg herpesvirusa 1 i bioloških karakteristika njegovih komponenti [1, 2, 3, 4]. Poznato je da goveđi herpesvirus 1 (BHV-1) izaziva čitav niz oboljenja, od kojih su infektivni bovini rinotraheitis i infektivni pus-

* Rad primljen za štampu 4. 6. 2003. godine

** Dr Slavko Đurišić naučni savetnik, dr Sava Lazić, viši naučni saradnik, mr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, Diana Lupulović, istraživač pripravnik, dr Maja Velhner, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

tularni vulvovaginitis (IBR/IPV) najčešća oboljenja sa najvećim posledicama. Prema tome, upoznavanje strukture i biološkog značaja genoma BHV-1 i njegovih produkata doprinelo je, ne samo boljem upoznavanju patogeneze, kliničkih manifestacija, nastanka latentne infekcije, već i razvoju novih imunoprolifaktičkih i dijagnostičkih sredstava, koji se danas uspešno primenjuju u imunoprolifaksi i dijagnostici IBR/IPV-a. Veliki naponi virusologa, molekularnih biologa i imunologa uloženi su radi rasvetljavanja strukture, a posebno biološkog značaja glikoproteina omotača i nukleokapsida ovog virusa. Tendencija današnjeg razvoja imunoprolifaktičkih, pa i dijagnostičkih sredstava, usmerena je ka izbegavanju upotrebe kompletnog virusa, kao glavnog nosioca imunogenih svojstava, što je inače slučaj kod konvencionalnih vakcina. Istraživanja sastava i funkcije svih komponenta BHV-1 verovatno će se u narednom periodu još više intenzivirati, jer to zahtevaju potrebe, ne samo radi boljeg razumevanja patogeneze bolesti koje ovaj virus izaziva, već, pre svega, zbog razvoja novih imunoprolifaktičkih i dijagnostičkih sredstava. Prema tome, sadržaj ovog saopštenja odnosi se na prikaz najnovijih saznanja o strukturi i funkciji genoma i strukturnih komponenti omotača i kapsida BHV-1.

Važnije karakteristike viriona BHV-1 /

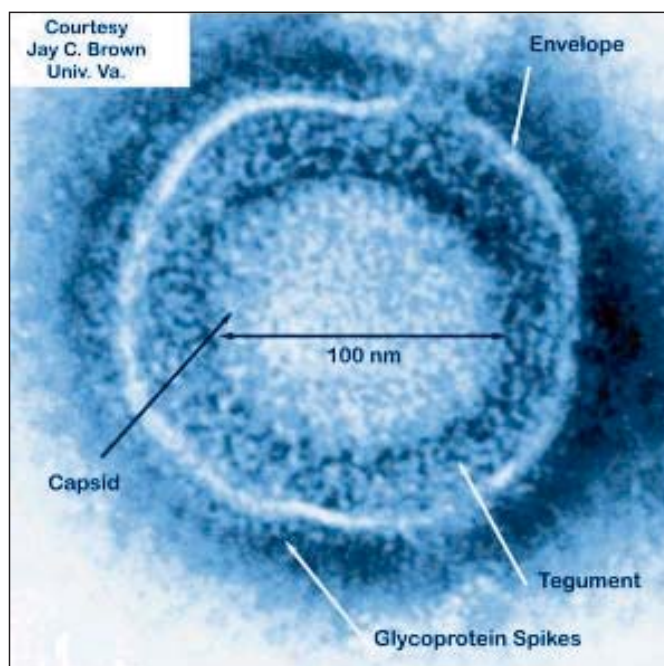
Major characteristics of BHV-1 virion

A. Mesto virusa u prirodi / *The place of the virus in nature*

Morfološki izgled i fizikohemijske osobine virusa bili su osnova za njegovo svrstavanje u familiju *Herpesviridae*, u podfamiliju *Alphaherpesvirinae* i genus *Varicellovirus* [5]. Dosadašnje konvencionalne serološke analize izolovanih BHV-1 sojeva nisu ukazivale na njihove međusobne razlike, ali novije analize genoma sa restrikcionim endonukleazama ukazuju na značajne varijacije među izolatima. Na osnovu analiza genoma i polipeptida, sojevi BHV-1 virusa su klasifikovani u pet podtipova: 1, 2a, 2b, 3a i 3b. Između izolata virusa različitog kliničkog porekla i njihove molekularne podtipske pripadnosti postojala je parcijalna korelacija. Tako se podtip 1 virusa izoluje u slučajevima infektivnog rinotraheitisa, podtip 2 kod pustularnog vulvovaginitisa, a podtip 3 iz neuralgičnih slučajeva oboljenja. Izolati virusa podtipa 3 od nedavno su nazvani bovini encefalitis herpesvirus-BEHV [1, 6].

B. Struktura viriona / *The virion structure*

Elektronskim mikroskopom visoke rezolucione moći ustanovljeno je da virion ima nukleokapsid, ikosaedralne simetrije, prečnika od 95 do 110 nm. Nukleokapsid je sastavljen od 162 kapsomere koje okružuju linearnu dvolančanu DNK. Dužina svake kapsomere je oko 12 nm, a širina 11,5 nm. Nukleokapsid je okružen zonom veće elektronske gustine nazvane tegument, a virion je obavijen dvoslojnim lipidnim omotačem [1].



Slika 1. Struktura viriona
Figure 1. Virion structure

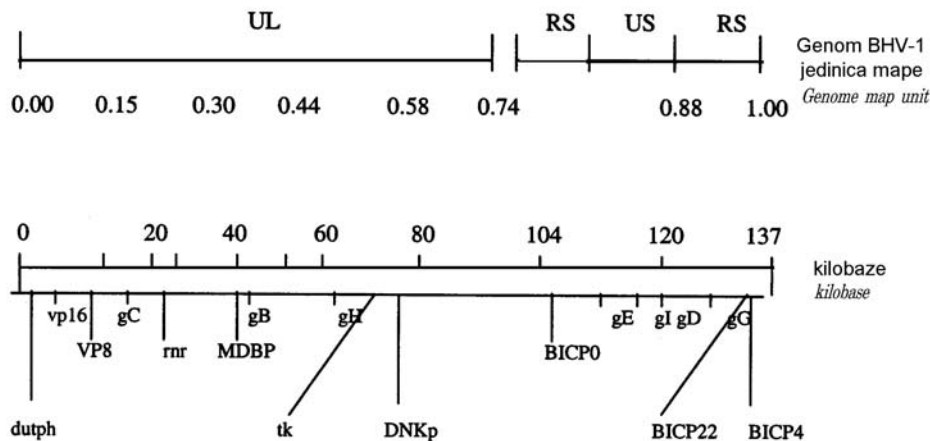
C. Virusna infekcija na nivou ćelije /

The virus as an infectious agent in the animal organism

Kao i drugi virusi, BHV-1 je agens nećelijske strukture koji je u stanju da se umnožava samo u odgovarajućim ćelijama organizma. Izvan ćelije virus opstaje kao virion, ili kao virusna čestica, ili korpuskula. Virion je inertni oblik virusa, odnosno, ne poseduje metaboličku aktivnost i ne proizvodi molekule. Virion postaje infektivan tek kada dođe u kontakt sa prijemčivom ćelijom u kojoj može da se razmnožava. Životni ciklus herpesvirusa goveda uključuje dve faze. Prvu „virion” fazu i drugu „replikativnu” fazu. Virion faza predstavlja period u kojem virion napušta ćeliju i postaje inertan, sve dok ne inficira drugu ćeliju i započne replikativni ciklus. Replikativna faza obuhvata period u kojem virus ulazi u ćeliju i replikuje se preciznim mehanizmima, koji omogućavaju stvaranje mnogih viriona od samo jedne infektivne čestice virusa. Ovaj replikativni tip interakcije virusa i ćelije često se naziva „litični rast”, jer najčešće rezultira propadanjem ćelije.

D. Genom virusa i njegova organizacija / *Viral genome and its organisation*

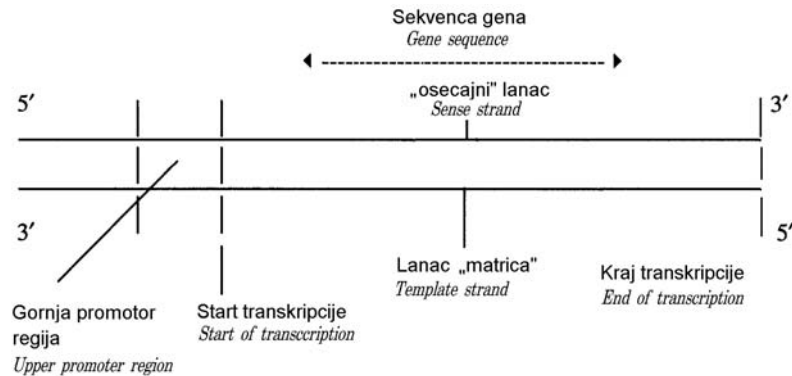
Genom BHV-1 je jedna linearna, dvolančana DNK, dužine oko 135 do 140 kilobaznih parova (kbp), a bazni par čini purinska i pirimidinska baza. Kod ovog virusa, kao i drugih herpesvirusa, genom se sastoji od neobično dugog segmenta (UL) dužine od oko 102 do 104 kbp i neobično kratkog segmenta (US), prosečne dužine od 10,5 do 11 kbp. Sa strane US segmenta nalazi se obrnut segment za ponavljanje (RS), dužine od 24 kbp. To dozvoljava US segmentu da se obrne u UL sekvenci, što daje mogućnost genomu da ima dva izomerična oblika [1, 6].



Skica 1. Struktura BHV-1 genoma
Drawing 1. BHV-1 genome structure

Funkcionalne jedinice genoma su geni. Gen se sastoji od jedne sekvence nukleotida, pri čemu oni i njihov redosled nose informaciju za produkt toga gena. Jednostavan izgled jednog gena izgledao bi ovako:

Gen, da bi obavljao svoju funkciju, mora da se „izrazi”, odnosno da bi nastao produkt mora da dođe do njegove ekspresije. Za većinu gena, genski produkt je jedan polipeptid ili protein. Da bi to ostvario gen prvo mora da prođe proces transkripcije, odnosno da bude kopiran (prepisan) u vidu jednog molekula mRNK. Ova mRNK, koja nosi informaciju o sintezi polipeptida, mora da prođe kroz proces translacije da bi se ostvarila sinteza polipeptida. Druge regulatorne sekvence promotora, „enhansera” (povećivača) i drugih, participiraju u transkripciji i kontroli ekspresije gena. Prosečna dužina jednog gena je 1 kb, a to je jednako 1000 nukleotida.



Skica 2. Jednostavan izgled gena
Drawing 2. BHV-1 genome simplified

E. Glikoproteini koje kodiraju geni BHV-1 / Glicoproteins coded by BHV-1 genes

Do nedavno se verovalo da BHV-1 kodira oko 70 proteina. Međutim, ispitivanjima koja su obavljena početkom devedesetih godina, ustanovljeno je da BHV-1 kodira samo 33 strukturalna proteina od kojih je 13 vezano za omotač virusa, 14 za nukleokapsid viriona, dok 6 proteina još nije klasifikovano [7]. U ćelijama inficiranim BHV-1, sličnim analizama otkriveno je 15 nestrukturalnih proteina koje su sintetisale ćelije „programirane” genomom BHV-1.

Od 13 strukturalnih proteina vezanih za omotač viriona, naknadnim ispitivanjima monoklonskim antitelima identifikovano je 10 glikoproteina molekulske mase od 42 000 do 180 000 Dal. Naknadna ispitivanja su ukazala da ovih 10 glikoproteina nastaju primarno od 6 neobičnih glikoproteina nazvanih gpl, gpII, gpIII, gpIV, gp93 i gp42. Mnogi od ovih glikoproteina BHV-1 su homologni u funkciji i strukturi glikoproteinima humanog *Herpes simplex*-a 1. Da ne bi dolazilo do zablude odlučeno je da se oformi jedinstven sistem obeležavanja homolognih glikoproteina svih herpesvirusa, bez obzira na vrstu organizma koju inficiraju. Prihvatajući takve sugestije Tikoo i saradnici su 1995. godine [1] predložili novu nomenklaturu za glikoproteine bovinog porekla (tabela 1).

Glikoprotein gB je ustanovljen u omotaču viriona i u citoplazmatskoj membrani ćelija inficiranih BHV-1. Gen koji kodira ovaj glikoprotein lociran je u neobično dugom regionu (UL) genoma. On indukuje snažan imuni odgovor stvaranjem neutralizujućih antitela. Pretpostavlja se da ovaj glikoprotein učestvuje u inicijalnim interakcijama virusa i ćelije, odnosno u procesima vezivanja virusa za ćelije, u penetraciji i u fuziji virusa sa ćelijom. Najnovija saopštenja sugerišu da bi gB mogao da bude značajan i u procesu prelaženja virusa sa ćelije na ćeliju.

Tabela 1. *Nomenklatura BHV-1 glikoproteina*
Table 1. BHV-1 glycoprotein nomenclature

BHV-1 glikoproteini / <i>BHV-1 glycoprotein</i>	
Dosadašnji naziv / <i>Current</i>	Predloženi naziv / <i>Suggested</i>
gpI	gB
gpII	gH
gpIII	gC
gpIV	gD
gpE	gE
gpC	gG
gp1	gI

Glikoprotein gH je, takođe, ustanovljen u omotaču viriona. Gen koji kodira gH je lociran, takođe, u UL regionu genoma. Pošto se ovaj glikoprotein sačuvao tokom evolucije kod različitih herpesvirusa, pretpostavlja se da je veoma važan kod replikacije svih herpesvirusa. Ovaj glikoprotein bi mogao da bude značajan i za penetraciju virusa u ćeliju, kao i u procesu širenja virusa sa ćelije na ćeliju.

Glikoprotein gC nalazi se u omotaču viriona, kao i citoplazmatskoj membrani ćelija inficiranih BHV-1. Gen ovog glikoproteina lociran je između 0.122 i 0.135 jedinice mape genoma. Ovaj glikoprotein indukuje imuni odgovor sa stvaranjem neutralizujućih antitela, a prepoznaju ga B, Th i Tc-limfociti. Pretpostavlja se da ovaj glikoprotein ima važnu ulogu u adheziji virusa za ćelije u sistemu kulture ćelija preko receptora sličnih heperinu.

Glikoprotein gD nalazi se u omotaču viriona i citoplazmatskoj membrani ćelija inficiranih BHV-1. Gen ovog glikoproteina lociran je u US regionu genoma. Važan je za replikaciju virusa i uključen je u procesima vezivanja i penetracije, kao i fuzije sa ćelijom. Indukuje jak imuni odgovor stvaranjem neutralizujućih antitela, a prepoznaju ga Th i Tc limfociti. Zbog toga je ovaj glikoprotein potencijalni kandidat za proizvodnju subjedinične vakcine.

Glikoproteini gE, gI i gG homologni su sa istoimenim glikoproteinima *Herpes simplex 1* virusa ljudi.

Ispitivanjima sintetisanih proteina u ćelijama inficiranim BHV-1 utvrđena su tri proteina koja su označena kao „neposredno-rani” (immediata early-IE) proteini. Obeležavaju se skraćenicama BICP0, BICP4 i BICP22, što potiče od početnih slova engleskih reči: „Bovine Infected Cell Protein”. Prva dva proteina deluju kao transaktivatori i depresori, dok se o trećem proteinu za sada ne zna mnogo.

Pored ova tri „neposredno-rana” proteina otkriven je i jedan DNA-vezujući MDBP protein. Gen za ovaj protein je lociran u UL regiji genoma između

0.35 i 0.38 jedinice mape genoma. On ima regulatornu ulogu i stabilizuje DNK replikativni kompleks za vreme replikacije virusa.

Nedavno je otkriven i jedan akcesorni molekul nazvan glikoprotein gL, koji takođe kodira genom BHV-1. Ovaj glikoprotein formira kompleks sa gH koji je neophodan za postizanje pravog antigenskog ustrojstva virusa, ali i za transportovanje gH za vreme posttranslacionog procesa, pri čemu nastaje gH modifikacija [2].

U tegumentu viriona, kao i u ćelijama inficiranim virusom najzastupljeniji je VP8. Njegov gen je lociran između 0.088 i 0.108 jedinica mape genoma BHV-1. Pretpostavlja se da je ovaj protein modulator transaktivacije IE gena sa BtIF genskim produktom. Drugi značajniji protein je Vp16 koji je uključen u aktivaciju transkripcije gena BHV-1. Pored navedenih, otkriveni su i drugi proteini, ali se o njima, za sada, ne zna dovoljno.

F. Enzimi koje kodira BHV-1 /

Enzymes coded by BHV-1

BHV-1 kodira timidin kinazu (tk), deoksiuridin trifosfatazu (dUTP), ribonukleotid reductase (rnr) i DNK polimerazu (DNKp) [1]. Ranija izučavanja ćelija inficiranih BHV-1 pokazala su da virus indukuje timidin kinazu, koja se razlikuje od ćelijske timidin kinaze, pre svega u specifičnosti supstrata, termostabilnosti, sposobnosti korišćenja različitih nukleotid-trifosfata kao izvora fosfata. Pošto je izolovan mutant virus, bez ove enzimske aktivnosti, javila su se i razmišljanja da enzim timidin kinaza nije neophodan za replikaciju virusa. Međutim, uklanjanjem gena za timidin kinazu, nije se smanjila virulencija BHV-1 u *in vivo* uslovima.

Deoksiuridin trifosfataza je drugi enzim koji je sačuvan među alfaherpes virusima. On je katalizator degradacije dUTP do dTMP i PPI i održava intraćelijske vrednosti dUTP. Pretpostavlja se da ovaj enzim nije potreban za replikaciju virusa u *in vitro* uslovima.

Ribonukleotid reduktaza je ključni enzim za replikativne procese DNK virusa. Genom BHV-1 verovatno, kodira enzim ribonukleotid reduktazu, ali za to, za sada ne postoji biohemijska verifikacija. BHV-1 kodira DNK polimerazu, a gen za ovaj enzim je lociran u UL regionu genoma.

G. Mogućnosti primene stečenih saznanja /

Possibilities for elementary acquired knowledge

Mogućnosti primene stečenih saznanja su mnogobrojne i veoma značajne za sprovođenje efikasne imunoprolifakse i eradikacije infekcija BHV-1. Saznanja o strukturi i funkciji genoma BHV-1 su omogućila uvid u glavne antigenske determinante ovog virusa koje su odgovorne za indukciju humoralnog i ćelijskog imunog odgovora. Do sada je ustanovljeno da poseban značaj imaju geni koji kodiraju glikoproteine gB, gC i gD. Ovi glikoproteini su vrlo efektivni imunogeni i mogu da zaštite goveče od inficiranja virulentnim virusom. Danas se sma-

tra da je glikoprotein gD najbolji „kandidat” za proizvodnju subjedinične vakcine. On indukuje imunu reakciju humoralnog i ćelijskog tipa, a posle veštačke infekcije izazvane visoko virulentnim virusom redukuje kliničke znake infekcije i izlučivanje virusa. Jedan broj gena koji kodiraju manje važne glikoproteine za replikaciju virusa, kao što su gE, gI i gG genetskim inženjeringom mogu da se odstrane iz genoma BHV-1, što bi, verovatno, smanjilo virulenciju virusa. Takvi oblici virusa bi mogli da posluže za proizvodnju atenuisanih vakcina. Najbolje atenuisane vakcine bi bile one vakcine koje sadrže virus u čijem je genomu „izbačen” jedan ili više gena koji kontrolišu sintezu nukleinske kiseline.

Mnogi od ovih gena u genomu BHV-1 mogu da budu zamenjeni genom drugih virusa goveda. Tako bi se stvorila mogućnost stvaranja himeričnih virusa, odnosno vakcina koje bi štatile životinje od više infekcija, istovremeno. Proizvodnja himeričnih vakcina u praksi se pokazala mogućom, jer već postoji vakcina pripremljena od himeričnog virusa Aujeskijske bolesti u čiji je genom ugrađen deo genoma virusa klasične kuge svinja.

Korišćenjem rekombinantne DNK tehnologije i glikoproteina gD BHV-1 postiže se imunizacija životinja takozvanim neinfektivnim plazmidom DNK protiv BHV-1 infekcije i to veoma rano posle rođenja, dok su kod životinja još prisutna maternalna antitela.

Zahvaljujući ovim saznanjima postoji realna mogućnost da se u programu eradikacije ove virusne infekcije primeni imunizacija životinja vakcinama pripremljenih od mutanata virusa, nastalih delecijom gena. Istovremeno, razvijaju se serološke metode koje omogućavaju razlikovanje vakcinisanih od latentno inficiranih životinja [8]. Za ovakav poduhvat jedan od „kandidata” za pripremanje dijagnostičkih testova je gB, jer indukuje veoma rano imunu reakciju, a nastali imunitet dugo traje.

Tri velike farmaceutske kompanije (Bayer, Intervet i Phizer) razvile su tehnologiju proizvodnje vakcina u kojima je virusni genom delimično skraćen ili je deo genoma isečen i inkorporisan u genom drugih živih sistema kao što je kultura ćelija, radi proizvodnje tačno definisanog glikoproteina. Kompanije „Bayer” i „Intervet” razvile su tehnologiju proizvodnje vakcina u kojima je genomu BHV-1 isečen segment (gen), koji kodira jedan glikoprotein. Takve vakcine su nazvane „marker” vakcinama, zato što omogućavaju identifikaciju vakcinisane i inficirane životinje. Uložen je veliki napor da se utvrdi kojim isecanjem genoma može da se dobije imunogena vakcina. Pokušalo se sa isecanjem gena koji kodira gB, ili gena koji kodira gC. Međutim, tek isecanjem gena koji kodira gE dobijena je konačno dovoljno imunogena vakcina koja može značajno da prevenira infekciju kod još neinficiranih životinja ili, da kod inficiranih životinja smanji izlučivanje virusa za više od 1000 puta. Na taj način dobijen je virus mutant, bez gE, koji je umnožavan a potom atenuiran ili inaktivisan i takav upotrebljen za dobijanje „marker” vakcine.

Istovremeno, sa razvojem ovih imunoprofilaktičkih sredstava veoma intenzivno se radilo i na polju razvoja i unapređenja dijagnostičkih sredstava. Kompanije „IDEXX” i „Dr Bommeli-Intervet” razvile su imunoenzimske testove u

kojima su monoklonska antitela za gE konjugovana enzimom. Ovim testovima je omogućena diferencijacija inficiranih i vakcinisanih životinja „marker” vakcinama protiv BHV-1.

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj R. Srbije po projektu BTR 4331.

Literatura / References

1. Tikoo S. K., Campos M., Babiuk A.: Bovine herpes virus 1 (BHV1): Biology, Pathogenesis and Control Advances in virus Reserch, 45, 191-223, 1995. - 2. Khattar S. K., Van Drunen S. *et al.*: Identification and characterization of Bovine herpes virus 1 (BHV-1) glikoprotein gL which is required for proper antigenicity, processing and transport of BHV-1 glycoprotein gH Virology, 219, 66 -76, 1996. - 3. Engels Monika, Palatini Monika *et al.*: Interaction of bovine end caprine hepes viruses with the natural and the foreign hosts, Vet. Microbiol., 33, 69-78, 1992. - 4. Franz J., Hampl J. *et al.*: Immunogenicity of infectious bovine rhinotracheitis virus (BHV-1) proteins integrated into ISCOMs or liposomes, Vet. Med. Czech., 41, 7, 213-218, 1996. - 5. Raizman B., Carmichael L. *et al.*: Herpesviridae: Definition, provisional nomenclature and taxonomy Intervirology, 16, 201-217, 1982. - 6. Wyler R., Engels M., Scwyzer M.: In „Herpes virus disease of cattle, horses and pigs”, Kluwer, Dordrecht, Netherlands, 1-72, 1989. - 7. Misra V., Blumenthal R. M., Babiuk L. A.: Proteins specified by bovine herpes virus 1 (infectious bovine rhinotracheitis virus), J. Virol., 40, 367-378, 1981. - 8. Lehmann D., Sodoyer R. *et al.*: Improvement of serological discrimination between herpesvirus-infected animals and animals vaccinated with marker vaccines, Vet. Microbiol., 8659-8668, 2002. - 9. Campos M, Griebel P, Bielefeldt Ohmann, Babiuk L. A.: Cell-mediated cytotoxic responses in lungs following a primary bovine herpes virus type 1 infection, Immunology, 75, 47-52, 1992. - 10. Denis M., Slaoui M., Keil G., Babiuk L. A., Ernst E., Pastoret P., Thiry E.: Identification of different target glycoproteins for bovine herpes virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes depending on the method of in vitro stimulation, Immunology, 78, 7-13, 1993. - 11. Rijsewijk F. A. M., Kaashoek M. J., Langeveld J. P. M., Meeloen R., Judek J., Bienkowska-Szewczyk K., Maris-Veldhuis M. A., van Oirschot J. T.: Epitopes on glycoprotein C of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) that allow differentiation between BHV-1.1 and BHV-1.2 strains, Jurnal of General Virology 80, 1477-1483, 1999. - 12. Gregeresen J. P., Pauli G., Ludwig H.: Bovine Herpesvirus 1: Differentiation of IBR and IPV Viruses and Identification and Functional Role of Their Major Immunogenic Componentes, Archives of Virology, 84, 91-103, 1985. -13. Kit S., Qavi H., Gaines J. D., Billingsley Peggy, McConnell S.: Thymidine Kinase negative Bovine Herpesvirus Type 1 Mutant Is Stable and Highly Attenuated in Calves, Archives of Virology, 86, 63-83, 1985. - 14. Ašanin Ružica, Milić N., Radojčić Marina, Krnjajić D.: Prilog poznavanju opštih karakteristika herpesvirusa I njihove uloge u patogenezi respiratornih infekcija domaćih životinja, Zbornik radova „Clinica veterinaria” 78-81, 2002. - 15. Metzler A. E., Schudel A. A., Engels M.: Bovine Herpesvirus 1: Molecular and Antigenic Characteristics of Variant Viruses Isolated from Calves with Neurological Disease, Archives of Virology, 87, 205-217, 1986. - 16. Van Drunen Littel van den Hurk A., Parker M. D., Massie B., van den Hurk J. V., Harland R., Babiuk L. A., Zamb T. J.: Protection of cattle from BHV-1 infection by immunization with recombinant glycoprotein gIV, Vaccine, 11, 25-35, 1993. - 17. Đurišić S., Košarčić S., Milanov D., Lazić S., Petrović T., Lupulović D.: „V jugoslovenski epizootiološki dani, Subotica, 2-5. april 2003. Zbornik referata i kratkih sadržaja, 290-299, 2003. - 18. Lazić S., Perović G., Ašanin Ružica, Dražić L., Milanov Dubravka, Vidić Branka: Acta Veterinaria, 48, 2-3, 99-104, 1998. - 19. Lazić S., Jermolenko Gordana, Milić N.: VII kongres veterinarara Jugoslavije, Zbornik radova, 241-257, 1998. - 20. Velhner Maja, Petrović T., Savić-Jevđenić Sara, Lazić S.: Veterinarski glasnik, 56,

ENGLISH

LATEST KNOWLEDGE ON MAJOR BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BOVINE HERPES VIRUS-1

S. Đurišić, S. Lazić, T. Petrović, Diana Lupulović, Maja Velhner

The bovine herpes virus-1 (BHV-1) is the cause of several diseases in cattle, of which infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) are the most frequent. Over the past few decades, several authors have established the viral structure at the molecular level and managed to establish the functional importance of the genome of this virus in order to maintain it in nature. The determination of the function of the certain BHV-1 genes and their products not only led to knowledge on the establishment of a latent infection and the pathogenesis of the disease, but also to the establishment of possibilities for their implementation as protection against infection, in diagnostics, and in eradicating this viral disease in cattle herds.

The paper describes the structure of the BHV-1 genome, and presents the gene products and their importance in viral replication. It describes the application so far of results of viral examinations at molecular level, with possibilities for advancing and promoting the protection of animals from infection with this virus.

Key words: bovine herpes virus-1, genome, glycoproteine

РУССКИЙ

БОЛЕЕ НОВЫЕ ПОЗНАНИЯ О БОЛЕЕ ВАЖНЫХ ХАРАКТЕРИСТИКАХ ГОВЯЖЕГО ГЕРПЕСВИРУСА-1

С. Джуришич, С. Лазич, Т. Петрович, Диана Лупулович, Мая Велхнер

Говяжий герпесвирус-1 (ГГВ-1) вызывает больше заболеваний крупного рогатого скота из которых инфекционный бовини ринотрахеит и инфекционный пустикулярный вульвовагинит (ИБР/ИПВ) наиболее частое заболевание. В течение последних несколько лет десять больше авторов установили структуру вируса на молекулярном уровне и успели установить функциональное значение генома этого вируса ради его содержания в природе. Устанавливанием функции отдельных генов ИТВ-1 и их продуктов, не только, что пришло до познания о устанавливании латентной инфекции и патогенезе болезни, уже и до устанавливания возможности их применения с целью охраны от инфекции, диагностики и искоренения этой вирусной болезни в племенном приплоде крупног рогатого скота.

В работе описана структура генома ГГВ-1, дан показ продуктов и их значение для репликации вируса. Описано бывшее до сих пор применение результатов испытания вируса на молекулярном уровне с возможностями развития и продвижения вперед охраны здоровья животных от инфекции этим вирусом.

Ключевые слова: говяжьего герпесвируса-1, генома, гликопротеа

**ŠTETE NASTALE KAO POSLEDICA INFEKCIJE IZAZVANE
VIRUSOM VIRUSNE DIJAREJE GOVEDA I MOGUĆNOSTI
NJENE KONTROLE***

***DAMAGES CAUSED BY BVDV INFECTION AND POSSIBILITIES FOR
ITS CONTROL***

T. Petrović, S. Lazić, Diana Lupulović, M. Lalić, Bosiljka Đuričić**

U zemljama sa razvijenim stočarstvom, a posebno govedarstvom, procenat serološki pozitivnih goveda na virus virusne dijareje goveda kreće se između 60 i 90 posto. S obzirom na veliku rasprostranjenost ove infekcije i na našim epizootiološkim područjima, neophodno je poznavanje njenog ekonomskog značaja, načina i mogućnosti njene kontrole.

Najveće štete koje virusna dijareja goveda (BVD) nanosi govedarstvu su direktne posledice transplacentarne infekcije, kao rezultat fetalnih uginuća, kongenitalnih malformacija, neonatalnog i postnatalnog mortaliteta, uključujući i bolest sluznica, slab rast i performanse preživelih životinja. Ekonomski gubici prouzrokovani infekcijom virusa virusne dijareje goveda mogu da se ispoljavaju u zapatu i do nekoliko godina posle infekcije. Ovo oboljenje se smatra trećom bolesti po ekonomskom značaju u govedarstvu, odmah iza kuge goveda i sli- navke i šapa.

Od prvih pokušaja kontrole oboljenja pa do današnjih dana iskri- stalisala su se dva, odnosno tri osnovna načina suzbijanja i iskorenji- vanja. Prvi način je eradikacija infekcije utvrđivanjem prisustva i ukla- njanjem perzistentno inficiranih (PI) životinja. Drugi način se odnosi na primenu različitih programa vakcinacije, dok treći način predstavlja kombinaciju prethodna dva.

Primarni zadatak kontrole ovog oboljenja je prevencija prenatalne infekcije. Ovaj postupak obuhvata otkrivanje i uklanjanje PI jedinki iz

* Rad primljen za štampu 4. 9. 2003. godine

** Mr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, dr Sava Lazić, viši naučni saradnik, DVM Diana Lupulović, istraživač pripravnik, dr Milan Lalić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr Bosiljka Đuričić, redovni profesor, Katedra za zarazne bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

zapata. Posle uklanjanja PI životinja, velika pažnja treba da se posveti unošenju novih grla u zapat i sprečavanju pojavljivanja transplacentalne infekcije.

Na osnovu ustanovljenih podataka i realnih pretpostavki o rasprostranjenosti oboljenja na području naše države, velikih ekonomskih šteta do kojih ono dovodi, kao i na tendenciju rešavanja problema u evropskim državama, postoji potreba da se ispitivanja intenziviraju u područjima u kojima se nisu obavljala, a da se u područjima u kojima je dokazana ova bolest pristupi planskom suzbijanju i iskorenjivanju.

Ključne reči: virusna dijareja goveda, ekonomske štete, kontrola infekcije

Uvod / Introduction

Virusna dijareja goveda/bolest sluznica (BVD/MD) je virusno oboljenje goveda koje je značajno rasprostranjeno u celom svetu, a postaje sve značajnije oboljenje i za stočarstvo u našoj zemlji. U zemljama sa razvijenim stočarstvom, procenat serološki pozitivnih goveda na virus virusne dijareje goveda kreće se između 60 i 90 posto. Ova virusna infekcija predstavlja stalnu nepoznanicu kako za veterinare kliničare, tako i naučne radnike, i ako je prošlo više decenija od prvog opisa oboljenja koji su dali Olafson i saradnice 1946. godine.

Uzročnik bolesti je jedan od najmanjih RNA virusa, svrstan u rod *Pestivirus* i familiju *Flaviviridae*. Shodno promenama koje izaziva na kulturi ćelija, virus se javlja u dva biotipa: necitopatogenom (ncp) i citopatogenom (cp). Necitopatogeni biotip virusa je „normalan” oblik virusa u kome je on zastupljen u prirodi, dok se za cp biotip smatra da nastaje mutacijom iz ncp virusa u perzistentno inficiranoj (PI) životinji. Do sada je poznato da se virus virusne dijareje goveda javlja u dva genotipa: BVDV-I i BVDV-II. Genotip II virusa BVD je dijagnostikovao krajem osamdesetih i početkom devedesetih godina. Necitopatogeni sojevi ovog genotipa uzrokuju teže kliničke simptome sa izraženim krvarenjima i većim mortalitetom inficiranih životinja u odnosu na one koje izazivaju sojevi BVDV I genotipa.

Najznačajniji izvor infekcije su perzistentno inficirana i bolesna goveda, a mogu da budu i druge prijemčive vrste. Infekcija virusom virusne dijareje goveda, osim kod goveda, javlja se kod ovaca, svinja, koza i divljih preživara. Između goveda, ovaca i svinja zabeležene su i unakrsne infekcije ovim virusom. Ove životinje mogu da budu i rezervoari virusa, a samim tim i izvor infekcije. Infekcija ljudi uzrokovana virusom virusne dijareje goveda je povezana sa malformacijama novorođenčadi, pre svega, u vidu mikroencefalije, kao i neobjašnjenim prolivima kod dece.

Od prvih saznanja o prisustvu BVD-e na području Srbije, pa do današnjih dana, mali broj autora se bavio ovom problematikom. Najčešće su ispi-

tivani pojedinačni ili manji broj zapata sa ograničenim brojem životinja. Belić i sar. [1] u 6 zapata i 224 ispitana krvna seruma goveda ustanovili su 166 ili 74 posto seropozitivnih životinja. Procenat pozitivnih životinja na pojedinim farmama bio je između 38,8 posto i 91 posto. Kurčubić [2] je prikazao podatke serološkog ispitivanja goveda na dve farme. Na farmi tovnih junadi (uzrasta od 6 do 7 meseci) od 86 ispitanih uzoraka krvnih seruma autor je utvrdio 48 ili 55,81 posto seropozitivnih grla, dok se na farmi mlečnih krava od ukupno 178 grla, procenat seropozitivnih životinja kretao, u zavisnosti od starosne kategorije, između 30,55 posto i 52,24 posto. Petrović i sar [3] od ukupno 160 ispitanih krvnih seruma mlečnih goveda na jednoj farmi, utvrdili su 133 ili 83,12 posto seropozitivnih grla. Procenat seropozitivnih životinja je zavisio od starosne kategorije. U starosnoj kategoriji goveda do 18 meseci utvrđeno je 28,57 posto seropozitivnih, u starosnoj kategoriji goveda između 1.5 i 2.5 godine utvrđeno je 50 posto seropozitivnih, u starosnoj kategoriji goveda između 2.5 i 3.5 godine utvrđeno 94,74 posto seropozitivnih, dok je u starosnoj kategoriji goveda preko 3.5 godine utvrđeno 98,94 posto seropozitivnih grla.

U periodu od 1999. do 2001. godine obavljena su opsežnija ispitivanja prisustva serum-neutralizacionih (SN) antitela protiv virusa virusne dijareje u krvnim serumima goveda sa područja Južnobačkog i Sremskog okruga. Ispitivanjem prisustva SN antitela protiv ovog virusa u krvnim serumima priplodnih goveda starijih od 6 meseci, ustanovljeno je prisustvo infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda na celom epizootiološkom području Južnobačkog i Sremskog okruga. Prisustvo SN antitela za NADL soj, virusa virusne dijareje goveda, ispitivano je u 2657 uzoraka krvnih seruma. Prisustvo ovih antitela je utvrđeno u 1354 (50,96 %) uzoraka. Od ukupno ispitanih, 2076 uzoraka krvnih seruma potiču od goveda iz 13 zapata u farmskom, a 581 uzorak potiče od goveda u individualnom načinu držanja sa područja 7 opština. Ispitivanjem je na ovaj način obuhvaćeno celo epizootiološko područje Južnobačkog i Sremskog okruga [4, 5, 6].

Molnar i sar. 2003. godine [7] ustanovili su serološki pozitivne životinje na području svih pet opština Severnobačkog okruga. U ispitivanjima sprovedenim na Niškom i Južnomoravskom području, a koja su obuhvatila manji broj životinja sa područja 9 opština, ustanovljeno je prisustvo seropozitivnih životinja na virus virusne dijareje goveda u 5 opština. Procenat serološki pozitivnih životinja bio je od 3,8 posto do 45 posto. I pored relativno niskog procenta serološki pozitivnih životinja, ovi rezultati ukazuju na značajnu rasprostranjenost infekcije izazvane virusom virusne dijareje kod goveda na području juga Srbije [8].

U proteklih nekoliko godina (1999-2002) na epizootiološkom području Vojvodine izolovana su tri BVDV izolata. Ovi izolati su potvrđeni u OIE referentnoj laboratoriji za virusnu dijareju goveda (VLA) u Weybridgeu, Velika Britanija. Posle izolacije i potvrde *PCR* (*polymerase chain reaction*) tehnikom, obavljeno je sekvencioniranje (tipizacija) virusnih izolata, pri čemu je ustanovljeno da se dva izolata ubrajaju u BVDV genotip 1 subtip „f”, a jedan izolat u BVDV genotip 1 subtip „b” [9].

S obzirom na veliku rasprostranjenost ove infekcije na našim epizootičkim područjima, neophodno je poznavanje njenog ekonomskog značaja, kao i načina i mogućnosti njene kontrole.

Štete uzrokovane infekcijom goveda izazvanom virusom virusne dijareje / *Damages caused by BVDV infection*

Infekciju goveda izazvanu virusom virusne dijareje karakteriše široki spektar kliničkih manifestacija i raznih oblika poremećaja zdravstvenog stanja kao što su: prolazna groznica, dijareja, leukopenija i imunosupresija, respiratorni poremećaji, pad mlečnosti, izostanak i smanjena koncepcija, problemi upornog povadanja, embrionalni mortalitet, dug servis period, rađanje mrtve teladi sa kongenitalnim malformacijama, abortusi i mumifikacije, imunitolerancija i perzistentna infekcija, kao i akutna i hronična bolest sluznica [10].

Najveće štete koje ova infekcija nanosi govedarstvu su direktne posledice transplacentarne infekcije, kao rezultat fetalnih uginuća, kongenitalnih malformacija, neonatalnog i postnatalnog mortaliteta uključujući i bolest sluznica, slab rast i performanse preživelih životinja [11]. Ekonomski gubici prouzrokovani infekcijom goveda izazvanom virusom virusne dijareje mogu da se ispoljavaju u zapatu i nekoliko godina posle infekcije. Ovi gubici mogu da budu veoma značajni. Ispitivanja sprovedena u jugoistočnim delovima Norveške ukazuju da je 15 posto svih abortusa ili mrtvorodne teladi u mlečnim zapatima prouzrokovano infekcijom goveda izazvanom virusom virusne dijareje [12]. Ekonomske štete na 14 holandskih farmi po jednoj kravi kretale su se između 24 i 161-og dolara, sa prosekom od 77 dolara [13]. U Velikoj Britaniji ukupne ekonomske štete nastale zbog ove infekcije, na godišnjem nivou, se kreću oko 120 miliona funti. S obzirom da se računa da u Velikoj Britaniji ima oko 4,5 miliona teljenja godišnje, ukupni gubici na milion teljenja iznose 27 miliona funti [13]. U Danskoj ove štete se obračunavaju na 17 miliona dolara goje [14]. Na primeru 8 danskih farmi, sa oko 115 životinja po farmi, ustanovljeno je da su ekonomski gubici iznosili između 2380 i 2980 dolara po farmi, a obračunati su samo po osnovu gubitaka nastalih od bolesti sluznica [13].

Posledice infekcije goveda izazvane virusom virusne dijareje su veoma ilustrativno prikazane na primeru jedne farme u kojoj je u momentu infekcije bilo oko 100 grla, odnosno 67 mlečnih krava. Infekcija na farmi je postala očigledna posle uginuća junice uzrasta od 10 meseci sa kliničkom slikom bolesti sluznica. Ispitivanjem je ustanovljeno da je od preostalih 15 junica 7 junica bilo perzistentno inficirano (PI) i da su slabije konstitucije od ostalih. U toj godini su se otelile 43 krave, koje su na svet donele 44 teleta, dok je kod preostalih steonih životinja ustanovljeno 2 abortusa, 2 mrtvorodena teleta, 2 žrtvovana teleta usled kongenitalne katarakte, jedno tele sa oštećenjem CNS-a, kao i rađanje slabe i kahetične teladi. Posle uginuća još jedne PI junice, preostalih 6 je poslato na klanje. Neka od kasnije rođene teladi takođe su bila PI. Izračunati su minimalni i maksimalni

malni gubici u zavisnosti od toga da li su PI životinje odstranjene odmah ili kasnije. Ustanovljeni minimalni gubici u zapatu iznosili su 2295 funti, a maksimalni gubici 4115 funti. Najveći deo gubitaka je ušao u jednu finansijsku godinu [15].

U literaturi je, pomoću modela Markovog lanca, opisan primer obračuna ekonomskih šteta uzrokovanih infekcijom goveda izazvanom virusom virusne dijareje. Model je podrazumevao posledice unošenja perzistentno inficirane junice u zatvoren zapat od 100 neimunih krava, bez intervencije i bez reinfekcije tog zapata u periodu od 10 godina. Obračunati totalni gubici su iznosili 46000 funti sterlinga, od čega je 61 posto otpadalo na reproduktivne gubitke (26% junica i 36% krava), 28 posto na perzistentnu infekciju i 6 posto na druge gubitke kod teladi kao posledice imunosupresije. Gubici su varirali između godina i najveći su bili tokom druge i treće godine (po 10000 funti). U toku druge godine reproduktivni poremećaji kod krava su predstavljali 80 posto ukupnih gubitaka u toj godini. Na osnovu navedenih gubitaka Gunn i sar [16] smatraju da se rešenje problema ogleda u eradikaciji infekcije.

Iz svega navedenog proističe značaj koji virusna dijareja goveda ima u stočarstvu, naime ova bolest se smatra trećom bolesti po ekonomskom značaju u govedarstvu, odmah iza kuge goveda i slinavke i šapa. Ovo su samo neka od saznanja o zdravstvenoj problematici i ekonomskim štetama do kojih dovodi infekcija izazvana virusom virusne dijareje goveda. Iz navedenih primera jasno se vide razlozi za ispitivanje prisustva, suzbijanje i iskorenjivanje virusne dijareje goveda, kao i pozitivni proizvodni rezultati koji se posle toga mogu da očekuju. U pozitivne rezultate se ubraja i prodaja priplodnog materijala „slobodnog” od infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda, što se danas sve češće pojavljuje kao uslov u međunarodnom prometu priplodnih grla goveda.

Kontrola infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda / *Control of BVDV infection*

Pojam kontrole infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda obuhvata mere opšte i imunoprofilakse, kao i mere suzbijanja i eradikacije, odnosno iskorenjivanja ove virusne infekcije. „Visoki stepen učestalosti oboljenja, putevi prenošenja, česte inaparentne infekcije i postojanje rezervoara infekcije među drugim životinjskim vrstama, čine eradikaciju ove infekcije veoma teškom” [11]. Luzzago [17] smatra da se program eradikacije mora da bazira na širenju informacija o posledicama ovog oboljenja, na racionalnoj „screening” proceduri radi utvrđivanja prisustva i razmera problema, vakcinaciji radi zaštite mladih životinja i uklanjanju PI jedinki.

Primarni zadatak kontrole ove infekcije je prevencija prenatalne infekcije. Ovaj postupak obuhvata i otkrivanje i uklanjanje perzistentno inficiranih jedinki iz zapata. Po Harknessu [18] postoje tri tipa kontrole infekcije. Prvi tip podrazumeva nepreduzimanje bilo kakvih mera kontrole, već omogućavanje infekciji da prođe kroz zapat. Ovo je moguće u zapatima u kojima se virus brzo širi,

uzrokujući sve svoje posledice, ali zapat ostaje neprijemčiv za narednu infekciju. Međutim, u odsustvu seroloških ispitivanja, ovakav tip kontrole infekcije može da predstavlja problem, jer je zabeleženo i sporo širenje infekcije kroz zapat i mnogo veće i dugotrajnije posledice po njega. Na osnovu navedenog Harkness [18] smatra da je ovakav tip kontrole infekcije samo privremeno rešenje. Drugi tip kontrole se zasniva na otkrivanju i uklanjanju PI jedinki, kao i svih ostalih mogućih izvora infekcije, da bi se stvorio zapat potpuno „slobodan” od BVD virusa. Ovaj tip kontrole ima i izvestan rizik koji se, pre svega, zasniva na teškoj održivosti potpuno „slobodnog” zapata od infekcije, a zbog velike prijemčivosti zapata i opasnosti od velikih gubitaka u slučaju infekcije. Mere u ovom tipu kontrole su veoma stroge. Treći tip kontrole predstavlja kombinaciju prethodnih uz korišćenje vakcinacije, koja omogućava održavanje imunog zapata i mnogo blaže mere kontrole. Na ovaj način se znatno umanjuje mogućnost većih ekonomskih šteta [18].

U merama kontrole, prvi neophodan korak je utvrđivanje prisustva PI jedinki u zapatu [11] i njihovo uklanjanje [19]. To često zahteva pregled svih životinja u zapatu na prisustvo virusa, što predstavlja prilično skup postupak [19]. Često je mnogo praktičnije prvo obaviti serološka ispitivanja svih životinja u zapatu SN testom, a zatim obaviti detekciju virusa kod životinja koje nemaju ili imaju nizak titar serum neutralizujućih antitela protiv virusa virusne dijareje goveda [20]. Perzistentno inficirana životinja je viremična i po pravilu je seronegativna. Perzistentno inficirane životinje mogu da budu i seropozitivne i to u slučaju kada je u pitanju maternalni imunitet kod mladih životinja (zato se pregledaju životinje starije od četiri meseca) i u slučaju postojanja niskog titra serum neutralizujućih antitela protiv heterolognog soja virusa virusne dijareje goveda. Potvrda viremije kod takvih životinja je neophodna, najčešće posle ponovljenog pregleda 3 do 4 nedelje posle, da bi se proglasile perzistentno inficiranim. Ukoliko se viremija u ponovljenom pregledu ne dokaže u pitanju je bila akutno, a ne perzistentno inficirana životinja, koju ne treba ukloniti iz zapata. Jedan od mogućih načina ispitivanja je i vakcinacija inaktivisanom vakcinom svih životinja starijih od 6 meseci, kao i revakcinacija u predviđenom vremenskom periodu. Životinje koje nisu serološki odgovorile na vakcinaciju, kao sumnjive se ispituju na prisustvo virusa metodama za dokazivanje virusa ili njegovog antigena. Posle uklanjanja perzistentno inficiranih životinja, velika pažnja treba da se posveti unošenju novih grla u zapat [19]. Takva grla obavezno moraju da se pregledaju na prisustvo virusa, a ako su steona, da bi bili sigurni da fetus nije inficiran, te treba pregledati posle rođenja uzimanjem uzorka prekolostralne krvi [19 11]. Posle svih sprovedenih postupaka da bi se prekinuo lanac infekcije i sprečili dalji gubici pažnja treba da se posveti sprečavanju pojavljivanja transplacentarne infekcije [19].

Bitsch i Ronsholt [14] smatraju da se kontrola i eradikacija virusne dijareje goveda bazira na: 1. otkrivanju zapata sa aktivnom infekcijom, 2. uklanjanju izlučivača virusa iz zapata i 3) merama kontrole svih zapata radi preveniranja širenja virusa na neinficirane zapate i reinfekcije zapata iz kojih je virus uklonjen. Lindberg i Alenius [21] imaju slično mišljenje. Po njima, eradikacija virusne dija-

reje goveda u zapatima, takođe, uključuje tri koraka: 1. podelu populacije na inficirane i neinficirane zapate; 2. praćenje i sertifikacije neinficiranih zapata i 3. praćenje izlučivanja virusa u inficiranim zapatima. Međutim, pre ovih koraka neophodno je da se odredi status infekcije u zapatu. Utvrđivanje prisustva specifičnih antitela protiv virusa virusne dijareje goveda je indirektan način ispitivanja prisustva PI jedinki u zapatu. U ovim ispitivanjima se, u dosadašnjoj praksi, najčešće upotrebljavala *ELISA* tehnika za pregled zbirnih uzoraka mleka iz tanka sa farme ili uzoraka seruma i mleka od manjeg broja životinja određene starosne kategorije („spot test”). Bitsch i Ronsholt [14] smatraju da je ispitivanje krvi od tri mlade životinje („spot test”) na prisustvo kako virusa tako i antitela, dovoljno za utvrđivanje realne slike stanja infekcije u zapatu, odnosno prisustva ili odsustva PI životinja. Utvrđivanje prisustva specifičnih antitela kod tri životinje iz grupa steonih junica i prvotelkinja koristilo se za utvrđivanje vremena u kojem je infekcija nastupila. Drugi autori [22] smatraju da je za takve analize potrebno da se ispita uzorak od 10, odnosno 5 životinja. Ispitivanjem zbirnih uzorka mleka indirektnom *ELISA* tehnikom utvrđuje se nivo antitela koji je u korelaciji sa titrom antitela utvrđenim metodom serum neutralizacije i prevalencijom seropozitivnih životinja u zapatu [14]. Stoga se, u nekim programima kontrole i eradikacije virusne dijareje goveda, „skrining” populacije, ispitivanjem prisustva antitela u zbirnom uzorku mleka iz tanka sa farme, koristio za isključivanje sigurno „slobodnih” zapata od infekcije i određivanje onih zapata koji treba da prođu kroz podrobija, a samim tim i skuplja ispitivanja [12].

Ispitivanje zbirnog uzorka mleka *ELISA* tehnikom ima više prednosti. Ispitivanja se jednostavno izvode, mnogo su jeftinija, a jednim uzorkom „pokriva” se ceo zapat. Lindberg i Alenius [21] smatraju da je ova metoda dobra za praćenje infekcije u zapatima koji su više godina „slobodni” od virusne dijareje goveda. U takvim zapatima ovom tehnikom se vrlo rano može da otkrije prisustvo infekcije, čak i pre rođenja prve PI životinje. Ispitivanjima je utvrđeno da se uzorak mleka od jedne životinje sa visokim nivoom antitela može da razredi od 256 do 1024 puta, a da se pri tome dobija pozitivna reakciju indirektnom *ELISA* tehnikom. S obzirom na ove rezultate, Lindberg i Alenius [21] smatraju da može da se ustanovi i jedna seropozitivna životinja u inače serološki negativnom zapatu od 250 do 500 krava, pa i više. S druge strane, „spot testom” najčešće nije moguće da se tako rano ustanovi početak infekcije u zapatu. Jedini nedostatak *ELISA* tehnike je da se ispitivanja mogu da obavljaju samo kod mlečnih životinja u fazi laktacije i u zapatima koji nisu vakcinisani. Visok nivo antitela u ovakvom uzorku ukazuje, u tom trenutku, na prisutnu ili u skorašnje vreme prošlu infekciju. S obzirom da se antitela protiv virusa virusne dijareje goveda dugo zadržavaju, neophodno je da se u zapatima, posle uklanjanja izvora infekcije, sprovedu ispitivanja u određenim vremenskim intervalima i ukoliko je infekcija prošla, doći će do laganog pada nivoa antitela na nedetektibilni nivo posle tri do četiri godine (ukoliko je godišnja zamena životinja u zapatu na nivou od 25 do 30%). U međuvremenu, zapat može da se ispituje drugim metodama kao što je „spot test” kod mladih ili novona-

bavljenih životinja. Ovakav način testiranja može da se koristi i za utvrđivanje prisustva virusa, ali je on u manjoj upotrebi zbog mnogo manje mogućnosti otkrivanja prisustva PI životinja među mlečnim kravama.

Pored određivanja prisustva ili odsustva infekcije u momentu ispitivanja, „spot test” pruža mogućnost određivanja perioda u kojem je infekcija bila prisutna u zapatu. Sve životinje posle otklanjanja PI životinja biće seronegativne, osim teladi koja će imati kolostralna antitela ili su bila inficirana u drugom delu intrauterinog razvoja. „Spot test” među mladim životinjama predstavlja indikator prisustva ili odsustva infekcije [21].

U toku trajanja i nakon eradikacije virusne dijareje goveda treba da se vodi računa da se ona ponovo ne unese u zapat. Osnovni činioci rizika za širenje virusa su prodaja i kretanje životinja između zapata, atenuirane (žive) vakcine, seme i embrioni. Preveniranje unošenja inficiranog semena se postiže redovnim serološkim pregledom seronegativnih bikova i/ili testiranjem semena svih seropozitivnih bikova [21]. Propisima za centre za veštačko osemenjavanje u Evropskoj uniji uvedena je stroga kontrola bikova u odnosu na infekciju izazvanu virusom virusne dijareje goveda [14]. Embrioni predstavljaju opasnost ukoliko nisu pravilno isprani, a donor je ili PI ili akutno inficirana životinja. Atenuirane vakcine, takođe, predstavljaju stalnu opasnost usled česte kontaminacije virusima virusne dijareje goveda oba genotipa [21].

Neka iskustva i mere u eradikaciji virusne dijareje goveda /

Certain experiences and measures in the eradication of BVDV infection

Programski regulisana kontrola i eradikacija virusne dijareje goveda počele su da se obavljaju prvo u skandinavskim zemljama. Program je bio isključivo zasnovan na otkrivanju i uklanjanju PI životinja iz zapata. Norveška je prva zemlja koja je shvatila problem virusne dijareje goveda i 1993. godine krenula u eradikaciju ove bolesti. Upotrebom indirektno-ELISA tehnike pregledani su zbirni uzorci mleka iz 26 430 mlečnih zapata. Druge skandinavske zemlje su sledile njen primer. Program se bazirao na: 1. identifikaciji „slobodnih” zapata, 2. preveniranju infekcije u ovim zapatima i 3. redukciji broja inficiranih zapata. Redukcija broja inficiranih zapata postizala se otkrivanjem i uklanjanjem PI jedinki iz zapata, kao i sprečavanjem mogućnosti pojavljivanja akutne infekcije [23, 14]. Ukoliko je u zapatu preko uzorka mleka ustanovljeno prisustvo antitela, ispitivan je zbirni uzorak mleka tri do pet prvotelkinja. Ukoliko je i kod prvotelke ustanovljeno prisustvo antitela, za dalja ispitivanja se uzimao uzorak krvnog seruma tri do pet mladih životinja uzrasta između 8 i 12 meseci. Za zapate za koje se sumnjalo da imaju jednu ili više PI životinja, primenjivane su stroge mere zabrane prodaje žive stoke ili njihovo isterivanje na zajedničku ispašu, sve dok ponovljenim ispitivanjima, uz sprovođenje mera kontrole, nije ustanovljeno da su „slobodna” od virusne dijareje goveda [24]. Da bi zapati bili proglašeni „slobodnim” od virusne dijareje goveda morali su da imaju dva uzastopna serološki negativna nalaza i to prvi u

uzorku zbirnog mleka iz tanka sa farme, zbirnom mleku prvotelkinja i zbirnom uzorku seruma mladih životinja, a drugi u zbirnom uzorku seruma mladih životinja pregledanih barem četiri meseca kasnije.

Nacionalni, dobrovoljni, program kontrole i eradikacije virusne dijareje goveda bez upotrebe vakcinacije otpočeo je u Švedskoj posle 10 godina iskustva na lokalnom i regionalnom nivou. Eradikacija infekcije se sprovodila otkrivanjem i uklanjanjem PI životinja, pri čemu se dobijala populacija „slobodna” od infekcije. Posle uklanjanja PI životinja, osnovna mera programa je bila kontrola unošenja infekta u zapat preko direktnog kontakta životinja sa PI jedinkom ili preko unošenja životinja koje nose PI fetuse, kao i prevencija širenja oboljenja preko indirektnih puteva širenja, kao što su transportna sredstva, aukcije i posetioci. Mere koje su se odnosile na neinficirane zapate obuhvatale su zabranu kontakta životinja iz tih zapata sa govedima i ovcama iz drugih zapata, sa izuzetkom onih koja su imala sertifikat da su „slobodna” od virusne dijareje goveda. Sve životinje za prodaju morale su da imaju individualni sertifikat da su „slobodne” od virusne dijareje goveda i da potiču iz takvog zapata. Vlasnicima i držaocima životinja u slučaju „slobodnog” zapata od infekcije preporučeno je da nabavljaju nove životinje samo iz „slobodnih” zapata. Steonim životinjama nije dozvoljeno da uđu u zapat, osim ako je dokazano da su bile seropozitivne pre koncepcije. Mere u inficiranim zapatima su se odnosile na zabranu kontakta sa životinjama iz drugih zapata, zabranu prodaje životinja i unošenja novih životinja sve dok traje program. Tokom tri godine programom kontrole je bilo obuhvaćeno 11120 (70%) mlečnih i 3075 (20%) tovnih zapata goveda. Tokom ovog perioda 7585 (47%) mlečnih i 1456 (10%) tovnih zapata dobili su sertifikat da su „slobodni” od virusne dijareje goveda. Prevalencija inficiranih mlečnih zapata je opala sa 51 posto u 1993. na 24 posto u 1995. godini. U program nije bila uključena vakcinacija. Alenius i saradnici [25] smatraju da je za vakcinaciju prethodno potrebno da se odredi status zapata. Međutim, po autorima, dugo korišćenje vakcine nema svrhe. „Korišćenje atenuirane i/ili mrtve vakcine u neodređenom vremenskom periodu i bez poznavanja infektivnog stanja zapata predstavlja hazard, a i ekonomski je neprihvatljivo” [25].

U Finskoj je iste 1993. godine upotrebom indirektno *ELISA* tehnike za detekciju antitela u zbirnim uzorcima mleka pregledano 34115 mlečnih zapata. Ustanovljeno je da je manje od 1 posto stada inficirano virusom virusne dijareje goveda [14]. Ispitivanjem zbirnog uzorka mleka u toku programa kontrole infekcije u Danskoj je pregledano 16113 mlečnih zapata i u 39 posto je ustanovljeno prisustvo PI životinja. U kontroli infekcije u Danskoj su, osim otkrivanja i eliminacije viremičnih PI životinja, bile uključene i mere profilakse: 1. samo one životinje koje su bile ispitane i nisu PI mogle su da uđu u zapat; 2. ukoliko se u zapat uvođila serološki pozitivna steona junica, morala je da bude izolovana do teljenja i nije mogla da se uvede u zapat, sve dok se ne potvrdi da tele nije PI; 3. da bi se izbeglo unošenje akutne infekcije u zapat, sve novonabavljene životinje su morale da budu u izolaciji tokom tri nedelje; 4. životinje nisu mogle da se napasaju u područjima u kojima susedni zapati možda imaju PI jedinke; 5. zajednički pašnjak je

morao da bude „slobodan” od PI jedinke; 6. životinje koje su poslate na izložbe i aukcije morale su da se ispitaju i morale su da imaju sertifikat da nisu PI životinje; 7. na inficiranim farmama ispitivanjem su bili obuhvaćeni i mali preživari; 8. veterinari su morali da vode stroge mere opreza da ne bi preneli infekciju iz jednog zapata u druge [14]. Isti autori, na osnovu ispitivanja, smatraju da uklanjanje PI životinja može da rezultira eradikacijom virusne dijareje goveda, a da se posle eradikacije zapati mogu da smatraju „slobodnim” od infekcije ukoliko se testiraju tri teleta starija od 8 meseci, posle 12 ili više meseci od uklanjanja PI jedinki. Testirana telad moraju da budu bez specifičnih antitela i virusa u uzorku krvi.

U okviru nacionalnog programa eradikacije bruceloze i leukoze, u rimskoj provinciji Italije počelo se sa sprovođenjem program kontrole virusne dijareje goveda, koji je bio zasnovan na identifikaciji i uklanjanju PI jedinki [26]. U program su bila uključena 174, pretežno mlečna zapata, u kojima su uzimani uzorci krvi od svih životinja starijih od jedne godine. Na bazi seroloških ispitivanja zapati su klasifikovani kao negativni, ukoliko nije ustanovljena ni jedna seropozitivna životinja i kao pozitivni ukoliko je ustanovljena jedna ili više seropozitivnih životinja. U negativnim zapatima životinje su se testirale ponovo posle 30 dana. Ukoliko se i u drugom ispitivanju nije otkrila seropozitivna životinja, zapati su dobijali status „slobodnog” zapata od virusne dijareje goveda. Radi kontrole i održavanja „slobodnog” statusa, ispitivanja su ponavljana svakih 6 meseci i to pregledom zbirnog uzorka mleka iz tanka sa farme ili uzoraka krvi u slučaju zapata tovnih goveda. U pozitivnim zapatima je ispitivano prisustvo specifičnih antitela u uzorcima seruma svih životinja uzrasta od 6 do 12 meseci. Na osnovu ovih ispitivanja zapati su mogli da se podele na zapate sa ili bez skorašnje infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda. U zapatima bez skorašnje infekcije, seronegativan status životinja u dobu između 6 i 12 meseci proveravan je svakih 6 meseci. U ovom slučaju zapat je dobijao status „slobodnog” zapata od virusne dijareje goveda ukoliko su životinje uzrasta od 6 do 12 meseci bile konstantno seronegativne u toku perioda od 18 meseci (3 ispitivanja u razmaku od 6 meseci). U zapatima u kojima je ustanovljena skorašnja infekcija (1 ili više seropozitivne teladi između 6 i 12 meseci) sve životinje su ispitane na prisustvo specifičnih antitela, a sve seronegativne životinje su ispitane i na prisustvo virusa virusne dijareje goveda. Životinje su klasifikovane kao PI ukoliko je virus ustanovljen u dva ispitivanja sa razmakom od 30 dana. Seronegativne životinje, za koje nije ustanovljeno da su PI, ispitivane su svakih 6 meseci radi utvrđivanja novih slučajeva infekcije. Zapat je postajao „slobodan” od virusne dijareje goveda kada su životinje u uzrastu između 6 i 12 meseci, a rođene 12 meseci posle uklanjanja zadnje PI životinje, bile serološki negativne, kao i ukoliko nije ustanovljen pozitivan serološki odgovor u grupi seronegativnih životinja [26].

U programu kontrole i eradikacije virusne dijareje goveda u Italiji razmatrala se i koristila mogućnost upotrebe vakcinacije. Ferrari i sar [26] u zapatima sa visokom seroprevalencijom preporučivali su vakcinaciju seronegativnih životinja pre koncepcije. Osnovni zahtev je bio poznavanje statusa infekcije u zapatu

pre upotrebe vakcine, radi utvrđivanja adekvatnog programa vakcinacije. Istovremeno su se primenjivale mnoge profilaktične mere kao što su „sve unutra - sve napolje”, česta i detaljna dezinfekcija, korišćenje karantina i izolacija, a osim ovih i stroge higijenske mere prilikom teljenja. Cancelloti i Carlotto [27] ističu da je prilikom sprovođenja kontrole virusne dijareje goveda neophodno, pre svega, obaviti serološka i virusološka ispitivanja radi ustanovljavanja nosioca virusa. U Italiji se prilikom kontrole infekcije upotrebljavala atenuirana vakcina. Posle odgovarajuće kontrole, tri godine terenskog iskustva i 100 000 vakcinisanih životinja Cancelloti i Carlotto [27] smatraju da je vakcinacija sigurna i uspešna profilaktična mera, naročito za telad. Pri tome, autori smatraju da se na mlečnim farmama junice moraju vakcinisati u uzrastu od 12 do 14 meseci.

U poslednjih nekoliko godina u većem broju evropskih zemalja počelo se sa programom eradikacije virusne dijareje goveda. Inicijatori ovih programa u nekim zemljama su vlade tih zemalja, a u drugim udruženja farmera, potpomognuta njihovim vladama. Primenjivani su prethodno objašnjeni programi uz manje modifikacije i kombinacije.

Epizootiološka situacija u odnosu na virusnu dijareju goveda na teritoriji Srbije i Crne Gore nije poznata, jer serološka i virusološka istraživanja većih razmera nisu obavljena. Međutim, u odnosu na sva do sada obavljena ispitivanja i utvrđen stepen rasprostranjenosti virusne dijareje goveda na nekim epizootiološkim područjima, kao i na osnovu kliničke manifestacije oboljenja goveda, može da se pretpostavi da je virusna dijareje goveda značajno rasprostranjena na celoj teritoriji Srbije i Crne Gore. Na osnovu ustanovljenih podataka i realnih pretpostavki o rasprostranjenosti infekcije izazvane virusom virusne dijareje goveda na području naše države, velikih ekonomskih šteta do kojih ona dovodi, kao i na tendenciju rešavanja problema u evropskim državama, postoji potreba da se ispitivanja intenziviraju u područjima u kojima se nisu obavljala, a da se u područjima u kojima je dokazana ova bolest pristupi planskom suzbijanju i iskorenjivanju.

1. Belić L., Mihajlović B., Jermolenko G.: Veterinarski glasnik 8, 565-568, 1973.
- 2. Kurčubić V.: Magistarski rad, Veterinarski fakultet univerziteta u Beogradu, Katedra za mikrobiologiju, Beograd, 1993. - 3. Petrović T., Lazić S., Savić-Jevđenić Sara, Lupulović Diana,

Literatura / References

Velhner

Maja: Simpozijum „III jugoslovenski epizootiološki dani”, Kladovo, 18. do 21. aprila 2001. godine, Zbornik referata i kratkih sadržaja, 29, 134-143, 2001. - 4. Petrović T.: Magistarska teza, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, 2002. - 5. Petrović T., Milošević B., Đuričić Bosiljka, Knežević N., „5th Pestivirus symposium”, 26-29. avgusta 2002, Cambridge UK, poster No 18, 2002. - 6. Petrović T., Lazić S., Bosiljka Đuričić: „14 savetovanje veterinara Srbije”, Zlatibor, 10-14. septembra 2002., Zbornik radova i kratkih sadržaja, 299, 2002. - 7. Molnar T., Kiškarolj F., Molnar Olga: „5 Jugoslovenski Epizootiološki Dani”, Palić Subotica, 3.-5. aprila 2003., Zbornik referata i kratkih sadržaja, str 56-59, 2003. - 8. Petrović M. M., Đuričić Bosiljka, Ignjatović R., Stojanović G., Petreski I.: Simpozijum „IV jugoslovenski epizootiološki dani”, Mataruška Banja, Zbornik referata i kratkih sadržaja, 224-226, 3-6. aprila 2002. - 9. Petrović

- T., Đuričić Bosiljka, Toplak I., Lazić S., Darja Barlić-Maganja, Grom J., Sandvik T.: „5 jugoslovenski epizootiološki dani”, Subotica, 3-5. aprila 2003, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 2003. - 10. Petrović T., Lazić S., Đuričić Bosiljka, Milošević B.: Veterinarski žurnal Republike Srpske, ISBN 99938-626-1-4, III, 1-2, 21-29, 2003. - 11. Roeder P. L., Harkness J. W.: Prospects for control; Veterinary Record 118, 143-147, 1986. - 12. Waage S., Krogsrud J., Nyberg O.: Proc. „XVIII World Buiatrics Congress”, Bologna, Italy, 773-776, 1994. - 13. Houe Hans, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 11, 3, 521-547, 1995. - 14. Bitsch V., Ronsholt L.: Vet. Clinics of North America: Food Animal Practice, 11, 3, 627-640, 1995. - 15. Duffell S. J., Sharp M. W., Bates D.: Veterinary Record 118, 38-39, 1986. - 16. Gunn G. J., Stott A. W., Scanlan S. A.: „XX Congres of Buiatrics”, AACV Sydney, 1998. - 17. Luzzago C., Piccinini R., Zepponi A., Zecconi A.: Veterinary Microbiology 64, 247-252, 1999. - 18. Harkness J. W., Ann Resh Vet 18, 167-174, 1987. - 19. Baker J. C.: A review; JAVMA, 190, 11, 1449-1458, 1987. - 20. Deregt D., Loewen K. G., Can. Vet. J. Vol. 36, 371-378, 1995. - 21. Lindberg Ann L. E., Alenius S.: Veterinary Microbiology 64, 197-222, 1999. - 22. Houe Hans: Prev. Vet. Med. 19, 241-248, 1994. - 23. Oirschot J. T., Brusckke C. J. M., van Rijn P. A.: Veterinary Microbiology 64, 169-183, 1999. - 24. Waage S., Krogsrud J., Nyberg O., Sandvik T.: Proc. „Third ESVV Symposium on Pestivirus Infections”, Lelystad, 170-172, 1996. - 25. Alenius S., Lindberg A., Larsson B.: Proc. of the „3-rd ESVV Symposium on Pestivirus Infections”, Lelestad, Netherlands, 162-169, 1996. - 26. Ferrari G., Scicluna M. T., Bonvicini D., Gobbi C., Della Ferita F., Valentini A., Autorino G. L.: Veterinary Microbiology 64, 237-245, 1999. - 27. Cancellotti F. M., Carlotto F.: Proc. „EEC Conference on Pestivirus Infections of Ruminants”, Brussels, 183-193, 1985.

ENGLISH

DAMAGES CAUSED BY BVDV INFECTION AND POSSIBILITIES FOR ITS CONTROL

T. Petrović, S. Lazić, Diana Lupulović, M. Lalić, Bosiljka Đuričić

In developed countries, the percentage of seropositive cattle ranges between 60-90%. Having in mind that there is a widespread presence of BVDV infection in our epizootiological areas, it is necessary to know its economic importance, as well as the ways and possibilities for its control.

The greatest damages caused by BVDV infection in cattle farming are the direct consequences of transplacental infection as a result of fetal deaths, congenital malformations, neonatal and postnatal mortality, including mucous diseases, and slow growth and poor performance results of the surviving animals. Economic losses due to BVDV infection can be seen in a cattle herd even several years after the infection. BVDV infection is considered the third most important disease to affect the economy, immediately after cattle plague and the foot-and-mouth disease.

From the first days of attempting to control the infection to the present day, two, or rather three, main ways to curb and eradicate BVDV infection have become clear. The first way is to eradicate the infection by determining the presence of persistently infected (PI) animals and their elimination. The second way is to use different programs of vaccination, while the third way is to apply a combination of the first two.

The primary task of controlling BVDV infection is to prevent prenatal infection. This procedure covers the determination and elimination of PI animals from the herd. After these animals are removed, great attention must be paid to introducing new head into the herd and preventing the occurrence of transplacental infection.

On the grounds of the established data and real suppositions about the distribution of BVDV infection in the territory of our state, the vast economic damages it causes, as well as the general tendency to resolve problems in European states, it is necessary to draft legal regulations in the area of prophylaxis and the eradication of this bovine viral disease in our country.

Key words: BVDV, economic damages, infection control

РУССКИЙ

УЩЕРБЫ, ПРИЧИНЁННЫЕ ВДКРС (DVB) ИНФЕКЦИЕЙ И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕЁ КОНТРОЛЯ

Т. Петрович, С. Лазич, Диана Лупулович, М. Лалич, Босилька Джуричич

В развитых странах, процент серологически положительных крупного рогатого скота двигался среди 60-90%. С учётом на большую распространённость ВДКРС (DVB) инфекции на наших эпизоотических областях, необходимо узнать её экономическое значение, словно и возможности её контроля.

Самые большие ущербы, которые вирусная диарея крупного рогатого скота (ВДКРС) диарея вирусная бовум (DVB) инфекция наносит животноводству прямые последствия трансплацентарной инфекции, в результате фетальных оклолений, конгенитальных малформаций, неонатальной и посленатальной смертности, включая и болезнь слизистых оболочек, слабый рост и перформансы пережитых животных. Экономические убытки причинённые ВДКРС (DVB) инфекцией могут проявляться в племенном приплоде крупного рогатого скота и несколько лет после инфекции, а именно ВДКРС (DVB) инфекция считается третьей болезнью по экономическому значению в животноводстве сразу после чумы крупного рогатого скота и сапа и ящура.

С первых попыток контроля инфекции и до сегодняшних дней искристаллизировались два или три основных способа подавления, и искоренение ВДКРС (DVB) инфекции. Первый способ искоренение инфекции установлением присутствия и устранением персистентно инфицированных (ПИ) животных. Второй способ применением различных программ вакцинации, пока третий способ представляет собой комбинацию предыдущих два.

Первичное задание контроля ВДКРС (DVB) инфекции превенция пренатальной инфекции. Этот поступок охватывает и устанавливание и отстранение персистентно инфицированных (ПИ) единичных животных из племенного приплода. После отстранения (ПИ) животных большое внимание надо посвятить трансплацентарной инфекции.

На основе установленных данных и реальных предпосылок о расширённости ВДКРС (DVB) инфекции на области нашего государства, больших экономических ущербов до которых она приводит, словно и на тенденцию решения проблемы в европейских государствах, существует нужда подвижения законной регулятивы в профилактике и искоренении этой вирусной болезни крупного рогатого скота у нас.

Ключевые слова: ВДКРС (DVB), экономические ущербы, контроль инфекции

**ZNAČAJ LATENTNE INFEKCIJE GOVEDA UZROKOVANE
IBR VIRUSOM I MOGUĆNOSTI NJENE ERADIKACIJE***
*IMPORTANCE OF LATENT IBR VIRAL INFECTION IN CATTLE AND
POSSIBILITIES FOR ITS ERADICATION*

S. Lazić, T. Petrović, Diana Lupulović, M. Jovičin**

Mehanizmi nastanka i održavanja latentne infekcije goveda uzrokovane IBR virusom još nisu u potpunosti rasvetljeni, ali posledice ove infekcije su veoma dobro poznate. Poznato je da su latentno inficirane životinje seropozitivne na goveđi herpesvirus (BHV, IBR), da izlučuju virus, ne ispoljavaju simptome bolesti, ali pod uticajem stresa infekcija može da dobije sve karakteristike akutne infekcije. Takođe je poznato da je smanjena proizvodnja latentno inficiranih životinja. Utvrđeno je da latentno inficirane krave dnevno proizvode 0,92 kilograma mleka manje, teže koncipiraju i da se za koncepciju potroši više doza sperme.

Navedene posledice infekcije uzrokovane goveđim herpesvirusom, ali i mnoge druge, pre svega, zabrana prometa inficiranih priplodnih grla, uslovile su potrebu iskorenjivanja ove infekcije u mnogim državama. U radu su opisana iskustva zemalja u kojima je infektivni bovini rinotraheitis (IBR) uspešno iskorenjen, još u drugoj polovini dvadesetoga veka, kao i iskustva zemalja u kojima se sada intenzivno radi na iskorenjivanju ovog oboljenja. Planska kontrola i sistematska upotreba imunoprofilaktičnih sredstava, uz upotrebu određenih dijagnostičkih testova, što je regulisano programom eradikacije, koji je obavezujući za sve odgajivače goveda, osnovne su karakteristike iskorenjivanja IBR-a u Holandiji, Sloveniji i Mađarskoj. U radu su opisana i naša iskustva stečena tokom iskorenjivanja IBR-a u više zapata goveda.

Ključne reči: BHV-1, eradikacija, latentna infekcija, patogeneza

* Rad primljen za štampu 4. 9. 2003. godine

** Dr Sava Lazić, viši naučni saradnik, mr Tamaš Petrović, istraživač saradnik, Diana Lupulović, istraživač pripravnik, dr Milovan Jovičin, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Uvod / Introduction

Infekcija uzrokovana goveđim herpesvirusom-1 (BHV-1) ili virusom IBR-a rasprostranjena je u celom svetu, a posebno u zemljama sa razvijenim stočarstvom i intenzivnim načinom odgoja goveda. Oboljenja koja nastaju inficiranjem ovim virusom su različita. Uslovljena su uzrastom, načinom odgoja goveda i virulencijom uzročnika. Ipak, najčešće oboljenje koje ovaj virus izaziva je infektivni bovini rinotraheitis (IBR) kod mlađih, a kod starijih kategorija goveda je infektivni pustularni vulvovaginitis (IPV). IBR i IPV se često koriste kao sinonimi za infekciju uzrokovanu goveđim herpesvirusom-1 i ne samo što definišu patološki proces, već ukazuju na bolest poznate etiologije sa svim kliničkim manifestacijama i posledicama. Navedena oboljenja su najčešće sistemskog karaktera, odnosno patološkim procesom je zahvaćeno više organa, ali nije retka pojava da se infekcija uzrokovana goveđim herpesvirusom-1 manifestuje kroz oboljenje jednog organa kao što su endometritis, *oophoritis*, ovarijalne ciste kod ženskih, a kod muških jedinki *orchitis*, *balanoposthitis*, što često može da ima kao posledicu neplodnost. Klinička pojava keratokonjunktivitisa i meningitisa kod teladi ili mastitisa kod krava moguća je kod infekcije uzrokovane goveđim herpesvirusom-1, bilo u sklopu opšte, ili lokalne manifestacije bolesti. Pored navedenih kliničkih manifestacija, posledica infekcije može da bude i pojava latentne infekcije, kada se na životinji ne uočavaju bilo kakvi simptomi bolesti. Nastanak i razvoj infekcije ćelija životinje domaćina uzrokovane goveđim herpesvirusom-1 uglavnom su poznati, dok uspostavljanje i održavanje latentne infekcije ovim virusom još predstavlja nedovoljno izučen problem. Virus se preko svojih površinskih glikoproteina gP i gC adsorbuje za receptore (*heparin sulfat-Glycosaminoglycan*) na ćelijskoj membrani, a zatim preko glikoproteina gD, gB i gH ulazi u prijemčivu ćeliju domaćina. U citoplazmi inficirane nastaje dezintegracija nukleokapsida virusa i prodor njegove DNK u jedro ćelije, u kome se odvija replikacija virusa.

Poznata je činjenica da herpesvirusi, pa prema tome i BHV-1, u ćeliji inhibiraju proces translacije ćelijske mRNK. Ribozomi postaju slobodni, ne sintetizuju ćelijske proteine, već se uključuju u sintezu virusnih proteina. Na taj način virus obezbeđuje nesmetanu produkciju novih viriona. Posle umnožavanja virusne DNK i sinteze kapsomera nastaje njihovo udruživanje i formiranje nukleokapsida, koji prolaskom kroz membranu jedra dobijaju omotač, a zatim kao zreli virioni egzocitozom napuštaju ćeliju. Ćelija u kojoj se obavila replikacija virusa najčešće završava propadanjem.

Mehanizmi nastanka, održavanja i posledice latentne infekcije / *Mechanism of occurrence and persistence of latent infection and its consequences*

Pored akutne infekcije, kada inficirana ćelija završava lizom, BHV-1 izaziva i latentnu infekciju, ali bez propadanja inficirane ćelije. Dugo se verovalo da BHV-1 izaziva samo latentnu infekciju senzornih neurona, međutim, istraživa-

njima Winklera i sar [1] utvrđeno je prisustvo virusne DNK i u limfnim folikulima tonzila latentno inficirane teladi. Mehanizmi nastanka i održavanja latentne infekcije uzrokovane herpesvirusima kod životinja dugo su bili nepoznati, ali novijim istraživanjima došlo se do saznanja da je kod latentno inficiranih ćelija goveđim herpesvirusom-1 sprečena programirana smrt ćelija – apoptoza [2]. Tokom latentne infekcije nema ekspozicije antigena virusa na površini inficiranih ćelija, pa su time one neprepoznatljive za mehanizme imunog sistema organizma. Genom virusa je prisutan u jedru inficirane ćelije u vidu ekstrahromozomalnog materijala, koji je cirkularnog oblika, što je razlog ograničene ekspresije virusnih gena. Obavlja se transkripcija samo jednog gena virusa koji je odgovoran za blokiranje mehanizama apoptoze inficiranih ćelija. Gen virusa koji je odgovoran za latentnu infekciju (LR gen-latency related) kodira LR protein. Ovaj protein sa ćelijskom ciklin zavisnom kinazom 2 inhibira produktivnu infekciju i sprečava programiranu smrt ćelija. Pod uticajem stresa ili tretmanom latentno inficiranih životinja kortikosteroidima nastaje pad imunog statusa životinja, drugačije obrade mRNK LR gena i aktivacija drugih virusnih gena, što omogućava produkciju virusnih proteina i novih viriona. Prema tome, reaktivacijom virusnog genoma ponovo se uspostavlja litički ciklus u ćelijama i njegovo izlučivanje iz organizma. Latentno inficirana životinja periodično izlučuje virus, kao i klinički obolela i to od 1 000 do 100 000 virusnih čestica u jednom mililitru eksudata [3]. Reaktivacijom latentne infekcije pod uticajem stresa (transport, loši zoohigijenski uslovi držanja, neadekvatna ishrana i drugo) ili tretman životinja kortikosteroidima nastaju viremija i distribucija virusa u ćelije parenhimatoznih organa kao što su organi respiratornog, urogenitalnog trakta i drugi [4]. Međutim, u slučajevima inficiranja ćelija apatogenim i vakcinalnim sojevima virusa otkrivene su još i izvesne „cevaste strukture” koje, verovatno, imaju određenu ulogu u procesu intracelularnog transportovanja nekih virusnih antigena [5].

Infekcija izazvana goveđim herpesvirusom-1 u zdravstveno-ekonomskom pogledu predstavlja svojevrsan problem, a štete koje nastaju su velike i mnogobrojne. Utvrđeno je da latentno inficirana krava tokom prvih 10 nedelja laktacije dnevno manje proizvede mleka za 0,92 kilograma [6]. Takođe, značajno su produženi servis period i međutelidbeni interval, pa se zbog toga godišnje po jednoj kravi gubi oko 150 DM [7]. Pored ovih i još mnogih drugih direktnih gubitaka, latentna infekcija izazvana goveđim herpesvirusom-1 nanosi još i mnoge druge indirektno gubitke koji često ne mogu da se prikažu numeričkim iznosima. Zabrana prometa priplodnih goveda, sperme i embriona iz zaraženih zapata, pa i regiona primeri su indirektnih gubitaka. Ove zabrane mogu da nanesu veće gubitke nego pojavljivanje epidemije IBR-a. Analitičari iz više zemalja su utvrdili da infekcija uzrokovana goveđim herpesvirusom-1 nanosi velike štete koje se mere millionskim iznosima nacionalnih valuta.

Primenom tehnika molekularne biologije, tokom prethodnih nekoliko godina, delimično se uspelo da se objasni nastanak, održavanje i reaktivacija latentne infekcije kod goveđeg herpesvirusa-1. Međutim, ostali su i dalje neraz-

jašnjeni neki elementi biološkog ciklusa ovog virusa, koji mogu da budu značajni kod geneze latentne infekcije. Verovatno će se u narednom periodu istraživanja u tom pravcu još više intenzivirati, ne samo radi rasvetljavanja faktora latencije, već pre svega radi preveniranja infekcije goveda uzrokovane herpesvirusom-1.

Iskorenjivanje IBR-a / *Eradication of IBR*

Nacionalne ekonomije mnogih zemalja Evrope, Severne Amerike, Bliskog Istoka i drugih, iz navedenih razloga pristupile su organizovanom suzbijanju i iskorenjivanju IBR-a. Zapati goveda u Švajcarskoj, Austriji, Belgiji i skoro u svim skandinavskim zemljama „slobodni” su od IBR-a [8]. U ovim zemljama organizovanom kontrolom na IBR iskorenjivanje je započelo još u drugoj polovini dvadesetoga veka. Iskorenjivanje se zasnivalo na principu „ispitaj i ukloni” [9], što je podrazumevalo utvrđivanje seropozitivnih životinja i njihovo fizičko uklanjanje iz zapata. Činjenica je da se infekcija uzrokovana goveđim herpesvirusom-1 u pojedinim zapatima kretala na nivou od 10 posto, kao i da su mnogi zapati već prilikom prvog pregleda bili „slobodni” od IBR-a. Prema tome, princip iskorenjivanja „ispitaj i ukloni” imao je punu zdravstvenu, a i ekonomsku opravdanost.

Iskorenjivanje IBR-a u Holandiji / *Eradication of IBR in the Netherlands*

Zemlje kao što su Holandija, Nemačka, Mađarska, Francuska, Slovenija i druge, uspostavile su i sprovode organizovani vid kontrole, suzbijanja i iskorenjivanja, sa ciljem da se oslobode i dobiju status zemalja „slobodnih” od IBR-a. Program kontrole, suzbijanja i iskorenjivanja IBR-a veoma je sličan u svim navedenim zemljama. On se sastoji u čestim pregledima uzoraka krvnih seruma i mleka, na prisustvo antitela za BHV-1, najčešće *ELISA* tehnikom, a zatim uklanjanjem seropozitivnih životinja, ili se obavlja planska vakcinacija, ako se utvrdi da je u zapatu rasprostranjena infekcija ovim virusom. Ipak, mora da se kaže da je Holandija jedina zemlja koja je organizovanom iskorenjivanju IBR-a poklonila najveću pažnju. Naime, u Holandiji je suzbijanje i iskorenjivanje IBR-a bilo na dobrovoljnoj bazi odgajivača i nije dalo zadovoljavajuće rezultate. Međutim, od 1.5.1998. godine započet je program obaveznog iskorenjivanja, koji je regulisan zakonskim aktima, sa ciljem da do 2005. godine svi zapati budu „slobodni” od IBR-a. Holandija ima 1,7 miliona muznih krava, 1,5 miliona priplodnog podmlatka i oko pola miliona grla tovnog materijala. U Holandiji se nalazi oko 33000 muznih i 30000 tovnih farmi goveda. Rasprostranjenost IBR-a kod muznih krava i priplodnih goveda je velika i računa se da je u Holandiji oko 40 posto ovih životinja seropozitivno na IBR. Gubici nastali zbog supkliničkih i kliničkih pojava IBR-a, smanjene proizvodnje mleka seropozitivnih krava, a posebno zbog zabrane izvoza priplodnog podmlatka, sperme i embriona u zemlje Evropske ekonomske zajednice uticali su da se u Holandiji sačini program iskorenjivanja i kontrole IBR-a, koji je usvojen u vidu zakonskog akta i obavezan je za sve odgajivače goveda.

Stručnjaci Poljoprivrednog univerziteta u Wageningu razradili su detaljan program suzbijanja i iskorenjivanja IBR-a, a njegovu osnovu čini vakcinacija svih goveda starijih od tri meseca, dva puta godišnje marker vakcinama i čestim dijagnostičkim ispitivanjima, najmanje jednom mesečno, uzoraka mleka iz cisterni ili uzoraka krvnih seruma. Dijagnostička ispitivanja se obavljaju *ELISA* tehnikom koja omogućava diferencijaciju postvakcinalnih od postinfektivnih antitela, odnosno otkrivanje inficiranih životinja. Inficirane životinje se posle ekonomskog iskorišćavanja upućuju na klanje. Zapat se smatra „slobodnim” od IBR-a, ukoliko se utvrdi da više nema inficiranih životinja, bez obzira što se u njemu sprovodi vakcinacija. Program predviđa rigoroznu kontrolu životinja koje se uvode u zapat i one posle višekratnih ispitivanja moraju da budu „slobodne” od IBR-a, ali i da potiču iz zapata u kojem je iskorenjen IBR. Posle sticanja statusa „slobodnog” zapata od IBR-a prekida se vakcinacija i kontrola, a obavlja se samo monitoring. Zapat se oslobađa zabrane prometa i trgovine grlima namenjenim za priplod. Troškovi iskorenjivanja IBR-a regulisani su zakonskim aktima i delom ih snosi farmer, a većim delom holandski fond za zaštitu životinja od zaraznih bolesti [10, 11].

Iskorenjivanje IBR-a u Sloveniji / *Eradication of IBR in Slovenia*

U Sloveniji se, takođe, obavlja planska eradikacija IBR-a, koja je obavezna za sve odgajivače goveda, a zasniva se na vakcinaciji i isključivanju seropozitivnih grla iz proizvodnje. U Sloveniji se posebna pažnja poklanja kontroli priplodnih bikova, bikovima u testnim stanicama i bikovskim majkama. Poslednji seropozitivni bik u Sloveniji je otkriven 1979. godine. Bikovi u centrima za veštačko osemenjavanje i testnim stanicama, kao i njihove majke moraju da budu seronegativne, a kontrola se obavlja dva puta godišnje. U zapatima mlečnih stada, koja su zaražena IBR virusom, obavlja se vakcinacija konvencionalnim vakcinama. Sva seropozitivna grla su pod veterinarskom kontrolom, a njihov promet može da se obavlja samo prodajem na klanje [12].

Iskorenjivanje IBR-a u Mađarskoj / *Eradication of IBR in Hungary*

U Mađarskoj je početkom devedesetih godina dvadesetoga veka formiran Odbor za suzbijanje i iskorenjivanje IBR u mlečnim zapatima goveda. Odbor je propisao metode iskorenjivanja koje su obavezne za sve odgajivače goveda, a iskorenjivanje IBR-a može da se obavi na tri načina:

1. Iskorenjivanje putem selekcije,
2. Iskorenjivanje putem smene generacije i
3. Iskorenjivanje putem zamene stada.

Iskorenjivanje IBR-a putem selekcije podrazumeva odvajanje, u istom zapatu, seropozitivnih od seronegativnih životinja. Seropozitivne životinje se vakcinišu i posle ekonomskog iskorišćenja se upućuju na klanje. Iskorenjivanje putem smene generacije podrazumeva dvokratnu vakcinaciju svih životinja u

stadu tokom godine, dok se telad posle uzimanja kolostruma iznose iz zapata i prebacuju na drugu lokaciju. Telad se podvrgava serološkim kontrolama tek pri uzrastu od šest meseci. Kontrolišu se dva puta u razmaku od tri meseca i posle dvokratnog uzastopno negativnog nalaza zadržavaju u proizvodnji, ili u suprotnom, upućuju na klanje. Treći vid iskorenjivanja IBR-a podrazumeva uklanjanje svih grla, temeljno čišćenje i dezinfekciju svih objekata na farmi i useljavanje stada slobodnog od IBR-a. Radi očuvanja statusa „slobodnog” zapata od IBR-a odgoj goveda se odvija u uslovima pune zatvorenosti. Životinje koje se uvode u zapat drže se u karantinu i moraju da budu seronegativne na dan uvođenja u karantin i mesec dana kasnije. Tek posle dvostruko negativnog nalaza u razmaku od mesec dana životinje iz karantina mogu da se uvedu u zapat. Kontrola „slobodnog” zapata obavlja se serološkim ispitivanjem 10 posto životinja, dva puta godišnje. Ukoliko se utvrdi da u zapatu ima seropozitivnih životinja onda se ceo zapat podvrgava serološkom pregledu. Posle serološkog pregleda i utvrđivanja broja inficiranih životinja određuje se status stada. Naime, ako je broj seropozitivnih životinja manji od 1 posto sva seropozitivna grla se upućuju na klanje, a u suprotnom slučaju u zapatu se sprovodi metoda iskorenjivanja IBR-a putem selekcije. Centri za veštačko osemenjavanje se kontrolišu serološkim pregledom svih bikova dva puta godišnje i svi bikovi moraju da budu seronegativni [13, 14].

Naša iskustva u suzbijanju i iskorenjivanju IBR-a / *Our experience in curbing and eradication IBR*

Poznato je da su mnogi naši zapati zaraženi goveđim herpesvirusom-1. Procenat seropozitivnih grla po zapatima je različit i u pojedinim regionima je od 5 do 90 posto [15]. Međutim, istraživanjima obavljenim tokom poslednje dve godine ustanovljeno je da se broj seropozitivnih grla povećao u odnosu na period od pre desetak godina u mnogim zapatima goveda. Preliminarnim serološkim ispitivanjima, koja su sprovedena u 10 zapata goveda, utvrđeno je da je infekcija izazvana goveđim herpesvirusom-1 prisutna u 8 zapata, a procenat seropozitivnih od ispitanih grla iznosio je od 37 do 98 posto, po zapatu. Uzorci krvi za ova ispitivanja uzeti su od 10 do 30 posto slučajno odabranih grla u ovim zapatima, a metodom mikroserum neutralizacije obavljeno je utvrđivanje specifičnih antitela za BHV-1. Dobijeni rezultati, ovih, preliminarnih ispitivanja prikazani su u tabeli 1.

Prema tome, mogućnosti suzbijanja i iskorenjivanja su različiti i uslovljeni su različitim činiocima. Tako je u poslednjih deset godina u više zapata, ili već sproveden, ili se sprovodi program iskorenjivanja IBR-a. Uspeh iskorenjivanja je različit i može da se kaže da je opredeljenost i spremnost rukovodećeg kadra farmi bilo presudno za uspešno sprovođenje programa. Naš program suzbijanja i iskorenjivanja IBR-a je sličan programima u Mađarskoj i Sloveniji. Zasniva se na isključivanju iz proizvodnje svih zaraženih, ako je broj seropozitivnih životinja manji od 5 posto, ili na vakcinaciji u slučaju inficiranosti većeg broja životinja. Tako je, u jednom zapatu broj seropozitivnih životinja bio na nivou od 4 posto i za jednu

godinu višekratnim pregledom krvnih seruma, mikroneutralizacionim testom i isključenjem iz proizvodnje seropozitivnih životinja uspelo je da se dođe do statusa „slobodnog” zapata. U drugom zapatu procenat seropozitivnih goveda bio je na nivou od oko 70 posto, kada se pristupilo iskorenjivanju IBR-a. Posle dve godine odvojenog uzgoja seropozitivnih od seronegativnih grla, planske serološke kontrole seronegativnih životinja, vakcinacije seropozitivnih i serološkom kontrolom teladi koja potiču od vakcinisanih krava uspelo je da se dostigne nivo od 70 posto seronegativnih i 30 posto seropozitivnih jedinki u zapatu. Posle četiri godine broj seropozitivnih životinja pao je na oko 5 posto i njihovim upućivanjem na klanje zapat je postao „slobodan” od infekcije izazvane virusom IBR-a.

Tabela 1. Prikaz rezultata preliminarnih seroloških ispitivanja za BHV-1 u 10 zapata goveda

Table 1. Results of preliminary serological investigations of BHV-1 in 10 cattle herds

Zapati goveda / Cattle herd	Broj ispitivanih uzoraka / Number of examined samples	Serološki nalaz / Serological finding	
		Broj seropozitivnih uzoraka / Number of sero- positive samples (%)	Broj seronegativnih uzoraka / Number of sero- negative samples (%)
A	570	417 (73,16)	153 (26,84)
B	37	22 (59,46)	15 (40,54)
C	30	19 (63,33)	11 (36,67)
D	45	0	45 (100)
E	35	31 (88,57)	4 (11,43)
F	103	61 (59,22)	42 (40,78)
G	91	89 (97,80)	2 (2,20)
H	22	8 (36,36)	14 (63,64)
I	76	0	76 (100)
J	50	38 (76,00)	12 (24,00)
Ukupno / Total	1059	685 (64,68)	374 (35,32)

Tokom poslednjih 7 godina u zapatu bikovskih majki, u kome je utvrđena infekcija uzrokovana goveđim herpesvirusom-1, uspelo je da se izdvanjem teladi i planskom serološkom kontrolom dobiju 154 seronegativna bika razmeštena u više centara za veštačko osemenjavanje. Naime, muška telad od bikovskih majki su posle dva dana od rođenja izmeštena u drugi objekat, u kome im je bio organizovan prihvata i odgoj do isporučivanja u centre za veštačko osemenjavanje. Sa serološkim ispitivanjima otpočelo se pri uzrastu od tri meseca, jednom mesečno, sve dok se nisu dobila tri uzastopno negativna nalaza i tek tada je telad upućena u centre. Uzrast teladi pri isporuci bio je različit, od 6 do 10 me-

seci. Njihova kontrola je nastavljena i u centrima, dva puta godišnje i uvek se dobijao negativan serološki nalaz na IBR virus [16].

Metodom radikalnog isključivanja seropozitivnih životinja, odmah posle serološkog ispitivanja, uspelo se u jednom centru za veštačko osemenjavanje za samo mesec dana da se postigne status zapata „slobodnog” od IBR-a. Posle prve serološke kontrole, od 63 ispitana bika 6 je bilo seropozitivno. Druga serološka kontrola obavljena je 15 dana posle prve, kada su otkrivena još dva seropozitivna grla. Narednim serološkim ispitivanjima, koja su usledila svakih 15 dana i jednom posle 6 meseci, nije utvrđeno ni jedno seropozitivno grlo. U ovom centru status „slobodnog” zapata kontrološe se svakih 6 meseci, a novonabavljena grla kontrolišu se dva puta tokom mesec dana sve dok se ne uvedu u zapat [17].

Naša iskustva ukazuju da se planskim serološkim kontrolama, mikroneutralizacionim testom, odvajanjem seropozitivnih od seronegativnih životinja, kao i upotrebom konvencionalnih vakcina može da dostigne status zapata „slobodnog” od IBR-a [18, 19]. Efikasnost iskorenjivanja ovog oboljenja bila bi svakako veća kada bi se postojeći Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje IBR-a dosledno sprovodio, a posebno kada bi se inovirao prema novim saznanjima etiogeneze virusa i uskladio prema zahtevima standarda Evropske ekonomske zajednice [20]. Iskorenjivanje IBR-a treba da bude obavezno za sve odgajivače goveda. U centrima za veštačko osemenjavanje ni jedan bik ne sme da bude seropozitivan na IBR virus. Primenom adekvatnih administrativnih mera, uz upotrebu savremenih imunoprofilaktičkih i dijagnostičkih sredstava, postoje velike mogućnosti da se kod većine stada u našoj zemlji, u bliskoj budućnosti, postigne status zapata „slobodnih” od IBR-a.

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj R. Srbije po projektu BTR 4331.

Literatura / References

1. Winkler M. T., Doster A., Jones C.: *J. Virol.* 74, 11, 5337-5346, 2000.
2. Ašanin Ružica, Milić N., Radojčić Marina, Krnjajić D.: *Clinica veterinaria*, 78-81, 2002.
3. Siebert S., Auer S., Heinen E., Kretzdorn D., Strube W.: *Tierartzt. Umschau*, 9, 82-87, 1995.
4. Lazić S., Petrović T., Lupulović Diana, Jovičin M.: Institut za stočarstvo Beograd-Zemun, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 91 - 96, 2003.
5. Tyshehenko I. P.: *Veterinaria*, Moskva, 11, 26-28, 1991.
6. Straub O. C.: *Dtch. Tierartzt. Wachr.* 108, 419-422, 2001.
7. Krage Von E., Tezffert J., Ziegler L., Bergmann H.: *Monatschrift fur Veterinarmedizin*, 2, 41-44, 1989.
8. Bommeli W., Kihm U. *XIIth World congress on diseases of cattle the Netherlands*, 1, 153-156 1982.
9. Oirschot Van J. T.: *Advances in veterinary medicine*, 41, 197-216, 1997.
10. Franken P.: *The 1st Middle-European Buiatrics Congress*, May 27-29.1999., Balatonfuured, Hungary, *Proceedings*, 14-20, 1999.
11. Wit de J. J., Hage J. J., Brinkhof J., Westernbrink F.: *Vet. Microbiology* 61, 153-163, 1998.
12. Hostnik P.: *The 1st Middle-European Buiatrics Congress*, May 27-29.1999., Balatonfuured, Hungary, *Proceedings*, 62-63, 1999.
13. Varga J.: *Magyos Allatorvosok lapja*, 46, 6, 333-345, 1991.
14. Visnyei L.: *Magyos Allatorvosok lapja*, 46, 6, 442-445, 1992.
15. Lazić S., Pavlović R., Lalić M., Đurišić S., Jovičin M.: *Vet. glasnik*, 49, 2-3, 99-103, 1995.
16. Lazić S., Lalić M., Boroš I., Nemeš Ž.,

Šamanc H., Kašić M., Etinski N., Saravolac D.: Biotehnologija u stočarstvu, 5-6, 365-370, 1997. - 17. Lazić S., Petrović T., Lupulović Diana, Dimitrijević V., Jovičin M.: Clinica veterinaria, 92-96, 2002. - 18. Lazić S., Ašanin Ružica, Đurišić S., Vidić Branka, Knežević N.: Acta Veterinaria, 48, 1, 37-44, 1998. - 19. Lazić S., Ašanin Ružica, Šajgalik M., Gagić Maja, Vidić Branka, Milanov Dubravka: Acta Veterinaria, 51, 1, 27-34, 2001. - 20. Lazić S., Lalić M., Milanov Dubravka, Jovičin M., Đurišić S., Boboš S., Petrović T., Gagić Maja: Simpozijum „I jugoslovenski epizootiološki dani”, Žabljak, 10-13. oktobar 1999. godine. Zbornik plenarnih radova i kratkih sadržaja koreferata, 87, 1999. - 21. Yoshikawa T.: Nippon Rinsho, 58 4, 807-814, 2000. - 18. Siebert S., Auer S., Heinen E., Kretzdorn D., Strube W.: Tierartzt. Umschau, 8, 72-77, 1995. - 22. Siebert S., Auer S., Heinen E., Kretzdorn D., Strube W.: Tierartzt. Umschau, 9, 82-87, 1995. - 23. Siebert S., Auer S., Heinen E., Kretzdorn D., Strube W.: Tierartzt. Umschau, 9, 82-87, 1995. - 24. Straub O. C.: Tierartzt. Umschau, 45, 682-689, 1990. - 25. Whetstone C.A., Miller J. M., Bortner D.M., Van der Maaten M. J., Arch. Virol., 106, 261-279, 1989. - 26. Whetstone C. A., Miller J. M., Seal B. S., Bello L. J.: Arch. Virol. 122, 207-214, 1992.

ENGLISH

IMPORTANCE OF LATENT IBR VIRAL INFECTION IN CATTLE AND POSSIBILITIES FOR ITS ERADICATION

S. Lazić, T. Petrović, Diana Lupulovic, M. Jovičin

The mechanisms of the occurrence and persistence of a latent IBR viral infection in cattle have not been completely explained, but the consequences of this infection are very well known. It is known that animals with a latent infection are seropositive to the bovine herpes virus (BHV; IBR), that they excrete the virus, show no signs of the disease, but through the influence of stress, the infection can acquire all the characteristics of an acute infection. It is also known that the production results of animals with a latent infection are smaller. It has been determined that cows with a latent infection daily yield 0.92 kilograms of milk less, that they have difficulty in conceiving, and that they need several sperm doses in order to conceive.

These consequences of BHV infection, but other effects as well, primarily the ban on sales of infected breeding head of cattle, have made it necessary to eradicate this infection in many countries. The paper describes the experiences of countries in which infectious bovine rhinotracheitis (IBR) has been successfully outrooted already in the second half of the 20th century, as well as the experiences of countries where intense efforts are under way to eradicate this disease. The planned control and systematic use of immunoprophylactic means with the use of certain diagnostic tests, regulated under the eradication programme compulsory for all cattle breeders, are the main characteristics of the eradication of IBR in The Netherlands, Slovenia, and Hungary. The paper describes also our experience acquired in the course of eradicating IBR in several cattle herds.

Key words: BHV-1, eradication, latent infection, pathogenesis

ЗНАЧЕНИЕ ЛАТЕНТНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ИБР ВИРУСОМ В ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ИСКОРЕНЕНИЯ

С. Лазич, Т. Петрович, Диана Лупулович, М. Йовчин

Механизмы возникновения и сохранения латентной инфекции крупного рогатого скота ИБР вирусом ещё не вполне освещены, но последствия этой инфекции очень хорошо известны. Известно, что латентно инфицированные животные сероположительные не госяжий герпес вирус (БГВ, ИБР), что излучают вирус, не проявляют симптомы болезни но влиянием стресса инфекция может получить все характеристики острой инфекции. Также известно, что производство латентно инфицированных животных уменьшена. Установлено, что латентно инфицированные коровы дневно производят 0,92 килограмма молока меньше, что тяжелее конципируют и что им для концепции нужно больше доз спермы.

Приведённые последствия инфекции говяжим герпесвирусом, но и многие другие, прежде всего запрещение оборота инфицированных племенных голов, обусловили нужду искоренения этой инфекции в многих государствах. В работе описаны опыты стран в которых инфекционный бовини ринотрахеит (ИБР) успешно искоренен ещё во второй половине двадцатого века, словно и опыты стран в которых теперь интенсивно работает на искоренении зого заболевания. Плановый контроль и систематическое употребление иммунопрофилактических средств, при употреблении определённых диагностических тестов, что регулировано программой искоренения, которая обязательствующая для всех людей, разводящих крупны рогатый скот, основные характеристики искоренения ИБР-а в Голландии, Словении и Венгрии. В работе описаны и наши опыты, приобретённые в течение искоренения ИБР-а в больше племенных приплодов крупного рогатого скота.

Ключевые слова: БГВ-1, искоренение, латентная инфекция, патогенез

VIRUSNE HEMORAGIČNE GROZNICE* VIRAL HEMORRHAGIC FEVERS

Marija Milutinović, Zorana Oreščanin, Marija Zarić, Ž. Radulović**

Hemoragične groznice su svrstane u grupu prirodno žarišnih oboljenja koja se razlikuju po etiologiji i kliničkoj slici, a zajednička im je osobina hemoragični sindrom, koji se javlja kod većine obolelih tokom akutnog stadijuma bolesti. Hantavirusi čine rod antigenski, epidemiološki i genetički srodnih virusa porodice Bunyaviridae i jedini su iz te porodice koje prenose glodari. Ostale viruse, članove porodice Bunyaviridae, prenose zglavkari i svrstani su u četiri roda, od kojih je jedan Nairovirus uzročnik krimsko-kongo hemoragične groznice (Crimean-Congo Hemorrhagic Fever – C-CHF). Ekologija svakog virusa je odraz ekologije vektora.

*Od 1952. godine, sa pojavom prvih zabeleženih slučajeva hemoragične groznice sa bubrežnim sindromom (HFRS) u bivšoj Bosni i Hercegovini i Sloveniji, epidemijski i sporadični slučajevi klinički blažih i težih oblika bolesti HFRS javljali su se širom bivše Jugoslavije, kao i Srbije i Crne Gore. Krimsko-kongo hemoragična groznica je prvi put otkrivena u balkanskim zemljama 1954. godine. Gligić i saradnici su 1973. godine izolovali tri soja C-CHF (Čiflik 1,6 i 11) iz dva krpelja *Hyalomma plumbeum plumbeum* i jednog *Ixodes ricinus*. Od tada, C-CHF se javlja svake godine u balkanskim zemljama sa brojnošću koja odgovara broju inficiranih krpelja.*

Ključne reči: hemoragične groznice, virusi, Bunyaviridae, glodari, krpelji

Uvod / Introduction

Virusne hemoragične groznice su danas jedan od vodećih zdravstvenih problema širom sveta, pa i kod nas. One pripadaju grupi prirodno žarišnih infekcija. Hantavirusi su etiološki uzročnici zoonoznih oboljenja, poznatih kao

* Rad primljen za štampu 28. 10. 2003. godine

** Dr Marija Milutinović, naučni savetnik, mr Zorana Oreščanin, istraživač saradnik, Marija Zarić, istraživač pripravnik, Željko Radulović, istraživač pripravnik, Institut za medicinska istraživanja, Beograd

Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS) u Evropi i Aziji i *Hantavirus pulmonary syndrome (HPS)* u Americi. *Hantaan* virus je prvi put identifikovan 1930. godine kao uzročni agens *HFRS*, a 1993. godine kao agens *HPS*. Hantavirusi čine rod antigenski, epidemiološki i genetički srodnih virusa porodice *Bunyaviridae* i jedini su iz te porodice koje prenose glodari. Ostale viruse, članove porodice *Bunyaviridae*, prenose zglavkari i svrstani su u četiri roda, od kojih je jedan *Nairovirus*, uzročnik *C-CHF*. Bolest izazvana hantavirusom je jedna od nekoliko, ako ne i jedina zoonoza koju prenose glodari, pa su zato virus i glodari, kao njihovi nosioci u tesnoj vezi, odnosno ekologija svakog virusa je odraz ekologije vektora.

Za *HFRS* se znalo i pre 1930. godine pod različitim nazivima u zavisnosti od područja u kojima se bolest javila: u Kini – songo groznica, u Japanu, Kini i Istočnoj Evropi – epidemijaska hemoragična groznica, u Koreji – korejska hemoragična groznica, u Rusiji – hemoragični nefrozonefritis, u skandinavskim zemljama – endemska nefropatija [2]. Teža forma *HFRS*, korejska hemoragična groznica, otkrivena je za vreme korejskog rata 1951. godine, kada je umrlo 10-15 posto obolelih [1]. Doktor Ho Wang Lee sa svojim saradnicima izolovao je *Hantaan* virus (naziv je dobio prema reci koja se nalazi nedaleko od mesta virusnog žarišta) tek 1978. godine [8]. Od 1952. godine sa pojavom prvih zabeleženih slučajeva *HFRS* u bivšoj BiH i Sloveniji, sporadični slučajevi klinički blažih i težih oblika bolesti javljali su se širom Jugoslavije sve do njenog raspada. U tom periodu registrovano je više od 6000 obolelih. Prva epidemija je zabeležena 1961. godine u vojnom kampu na Fruškoj Gori, druga 1967. godine na području BiH, Hrvatske i Crne Gore, kada je ukupno registrovano 200 obolelih, a 2,5 posto bolesnika je umrlo. *HFRS* se 1986. godine proširio na celu zemlju (161 inficiran, 6,8 posto umrlih). U Srbiji, Hrvatskoj i BiH epidemija je bila 1989. godine sa 226 obolelih, od 609 suspektih pacijenata. U epidemiji virusnih hemoragičnih groznica na Kosovu i Metohiji odigrale su se istovremeno dve epidemije: *HFSR*, od koje je obolela 41 osoba sa letalitetom od 7,34 posto i *C-CHF* od koje je obolelo 60 osoba, sa letalitetom od 21,60 posto [4, 5, 21,30].

Promene u životnoj sredini nastale delatnošću ljudi i specifični klimatski i biotički uslovi okoline doprinose brojnosti populacije glodara. Visoka prevalencija hantavirusne infekcije u glodarima povećava rizik od kontakta sa inficiranim životinjama, a tako i pojavu humanih oboljenja. Enzooski ciklus predstavlja kruženje uzročnika oboljenja u prirodnom žarištu i u njemu učestvuju životinje kao donatori ili receptijenti virusa, a čovek samo kao receptijent.

Virus može da ostane infektivan u vazduhu i nekoliko dana posle ekskrecije glodara. Zato je verovatno, najvažniji mehanizam hantavirusne transmisije na čoveka aerosolna inhalacija zaraženog urina i drugih tečnosti prenosioca. Sasušeni ekskreti (izlučevine) glodara koji se udišu, zaražena hrana, direktan kontakt preko ranica na koži i što je ređe, ujedi glodara, predstavljaju dodatne načine prenošenja infekcije. *HFRS* prati visoka temperatura, mijalgija, izraženo crvenilo gornjeg dela grudnog koša, krvarenje po telu, do otkazivanja ili prestanka rada bubrega.

HFERS na našem području ima dva sezonska pika – letnji i kasnoje-senji. Njeni uzročnici u balkanskim zemljama su *Hantaan*, *Beograd (Dobrava)*, *Puumala*, *Tula* i *Seoul* virusi čiji su rezervoari šest vrsta glodara: *Apodemus flavicollis*, *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus agrarius*, *Clethrionomys glareolus*, *Mus musculus* i *Rattus norvegicus*. Interhumani prenos infekcije nije zabeležen. Ovom virusu su najizloženiji izletnici, šumski, građevinski i poljoprivredni radnici, kamperi i mamolozii [5].

S obzirom da mnoga oboljenja, čije uzročnike prenose krpelji (zoonoze) pripadaju grupi prirodnih žarišnih infekcija, čija je odlika endemičnost i sezonsko javljanje, od značaja su istraživanja elementarnih žarišta, tj. mesta koja su u endemskom području jezgra infekcije. Aktivnost žarišta se intenzivira uz kontaktne površine antropogenih i šumskih ekosistema, dolina i brda i između šumskih i ravničarskih predela. S toga je u biocenološka istraživanja uključena populacija čoveka koja neseljava zaraženo područje [11, 12, 14, 15, 16, 19, 22].

U osnovi, epidemiologija zavisi od sadejstva velikog broja činilaca: virulencije pojedinih uzročnika oboljenja, starosti i imunskog stanja domaćina, nivoa izazova krpelja i stresa životinja [9].

U endemskoj oblasti, u kojoj postoje mnogobrojni inficirani krpelji, imunitet domaćina se održava na visokom nivou kroz ponovljeni izazov krpelja, pa je retka pojava akutnog oboljenja. Nasuprot tome, tamo gde se nalazi mali broj krpelja ili kada su oni ograničeni na određeno područje, imunitet populacije domaćina je nizak. Ako se u tim okolnostima broj krpelja iznenada poveća, zahvaljujući povoljnim klimatskim uslovima i drugim činiocima, incidencija kliničkih slučajeva može naglo da poraste. Ova pojava je poznata kao enzootična nestabilnost [9].

Sušтина navedenog sadržana je u epidemiologiji *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (C-CHF)*. Virus *C-CHF* je enzootik. Humane infekcije mogu da budu klinički inaparentne, ali kod pacijenata obolelih od *C-CHF* stopa smrtnosti je od 15 do 40 posto i viša [9].

Sinonimi za *C-CHF* su krimaska i centralnoazijska hemoragična groznica. Ubraja se u grupu visokorizičnih zaraza sa mortalitetom do 30 posto. Uzročnik je *Nairovirus* iz familije *Bunyaviridae*. Krpelj je vektor virusa (arbovirus, *Nairovirus*) koji u njemu opstaje barem jednu godinu [32].

Virus *C-CHF* opstaje transstadijumski i intersezonalno u nekoliko vrsta krpelja, a prenose ga transovarijumski pripadnici *Hyalomma marginatum* kompleksa (virus može da se održi do četvrte generacije krpelja). U 27 vrsta i podvrsta krpelja, rezervoara i vektora *C-CHF*, ubrajaju se vrste rodova *Boophilus* i *Hyalomma*, krpelji *Hyalomma marginatum* kompleksa, vrste *H. anatolicum* i *Rhipicephalus bursa*. Krpelj *Hyalomma plumbeum plumbeum* (syn. *Hyalomma marginatum marginatum*) je primarni rezervoar/vektor *C-CHF* na prostorima bivše Jugoslavije i Srbije i Crne Gore. Krpelji rodova *Haemaphysalis*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma* i *Rhipicephalus* su uglavnom odgovorni za održavanje enzootičnog žarišta cirkulacije virusa *C-CHF* među krpeljima i divljim i domaćim ži-

votinjama kada nema epidemije. Ovi krpelji takođe ubadaju ljude. Isto tako, povoljni klimatski uslovi – blage zime i proleća, kao i ekološke promene nastale kao posledica ratnih dejstava, mogu da budu „okidač“ virusa *C-CHF* [14, 17, 18, 20, 23, 26, 32].

Čovek se inficira ubodom zaraženog odraslog oblika krpelja *Hyalomma plumbeum plumbeum*. Drugi razvojni oblici krpelja, larve i lutke, „pokupe“ infekciju od životinja kao domaćina. Krimsko-kongo hemoragična groznica prenosi se interhumano, što ovu bolest čini značajnom i kao intrahospitalnu infekciju. Inkubacioni period traje od 3 do 12 dana. Bolest počinje naglo, a simptomi su: povišena telesna temperatura, groznica, drhtavica, razdražljivost, glavobolja, bolni ekstremiteti i abdomen, gubitak apetita, povraćanje, muka, dijareja, krvarenje iz nosa, desni, mekog nepca, pluća, creva i uterusu. Centralni nervni sistem je zahvaćen kod 10 do 25 posto obolelih. Takođe, bolesnik je pospan i depresivan, često se javlja crvenilo po celom telu, a jetra je uvećana kod 50 posto obolelih pacijenata. Mortalitet je između 30 i 50 posto, nekad i više zato što je bolesnik u stanju šoka, zbog sekundarnog gubitka krvi ili novonastalih infekcija. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničkih i epidemioloških informacija potvrđenih i specifičnim serološkim testovima [32].

Krpelji *Hyalomma marginatum* kompleksa i *H. anatolicum* su od izuzetnog značaja za nastanak i širenje epidemije *C-CHF* na račun njihove brojnosti i agresivnosti u traženju ljudi kao domaćina. Epidemija *C-CHF* se pojavljuje u kombinaciji povoljnih uslova spoljašnje sredine koji omogućuju preživljavanje velikog broja *Hyalomma* i njihovih domaćina. Neuobičajeno oštro zimsko-prolećno vreme rezultira smanjenjem populacije krpelja *Hyalomma* i odgovorno je za prelazak cirkulacije virusa iz epizootičnog (epidemičnog) u endemični intenzitet [13, 24, 25, 9].

Prve publikacije jugoslovenskih autora ukazuju na mogućnost postojanja prirodnog žarišta *C-CHF* u bivšoj Jugoslaviji [7]. Podatak je zasnovan na biogeografskim karakteristikama Jugoslavije i nalazima krpelja koji su poznati kao vektori *C-CHF* [6, 10]. Prva epidemija *C-CHF* se pojavila u bivšoj Jugoslaviji, u selu Čiflik u blizini Tetova u Makedoniji, 1970. godine [29]. Tri godine kasnije, izolovana su tri soja virusa *C-CHF* iz krpelja *Hyalomma savignyi* (*syn. Hyalomma plumbeum plumbeum*) i *Ixodes ricinus* sakupljenih u selu Čiflik [3]. Na osnovu istraživanja humanih seruma [27] i nalaza antitela prema *C-CHF* u serumima domaćih životinja [27] neka područja u Jugoslaviji su označena kao prirodna žarišta *C-CHF* virusa (Makedonija, Crna Gora i područja Srbije, Piroć, Bela Palanka, Zaječar i Kosovo). Poslednje epidemije *C-CHF* su zabeležene na Kosovu 1995 [16] i 2001. godine, sa 69 suspektnih slučajeva, odnosno, 18 je laboratorijski i klinički potvrđeno, a šest pacijenata je umrlo [31]. Tada je prvi put urađena genetička detekcija i izolacija *C-CHF* virusa sa područja Kosova. [28].

U okviru problematike Laboratorije za medicinsku arahnentomologiju i projekta: „Krpelji kao rezervoari i vektori uzročnika zaraznih bolesti“, u 2003. godini istraživači su obišli žarišna područja hemoragičnih groznica u Srbiji

(Vranje, Vladičin Han, Ravna Banja, Ivanjica, Loznica i Fruška Gora) i obradili prikupljeni materijal (glodari, krpelji, humani i animalni serumi). Dobijeni rezultati govore u prilog tome da 2003. godina nije epidemijska, a što potvrđuju i rezultati Instituta za imunologiju i virusologiju „Torlak”, gde je ove godine registrovano 16 pacijenata iz Crne Gore i 11 iz Srbije. U 2002. godini registrovano je oko 100 pacijenata sa prostora Srbije i Crne Gore.

Zaključak / Conclusion

Hemoragične groznice se ubrajaju u grupu prirodno žarišnih oboljenja koja se razlikuju po etiologiji i kliničkoj slici, a zajednička im je osobina hemoragični sindrom, koji se javlja kod većine obolelih tokom akutnog stadijuma bolesti. Hantavirusi čine rod antigenski, epidemiološki i genetički srodnih virusa familije *Bunyaviridae* i jedini su iz te familije koje prenose glodari. Ostale viruse, članove familije *Bunyaviridae*, prenose zglavkari i svrstani su u četiri roda, od kojih je jedan *Nairovirus* uzročnik krimsko-kongo hemoragične groznice (*C-CHF*). Ekologija svakog virusa je odraz ekologije vektora.

Ovaj rad je potpomognut i podrškom i finansijskim sredstvima Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije

Literatura / References

1. Earle A. R.: Symposium on epidemic hemorrhagic fever. Am. J. Med., 16, 617-793, 1954. - 2. Gajdusek D. C.: Virus hemorrhagic fevers. Special reference to hemorrhagic fever with renal syndrome (Epidemic hemorrhagic fever). J. Pediatr., 3, 841-857, 1962. - 3. Gligić A., Stamatović L., Stojanović R., Obradović M., Bošković R.: Prva izolacija virusa krimsko hemoragične groznice u Jugoslaviji. Vojnosanit. Pregl., 34, 318, 1977. - 4. Gligić A., Frusić M., Obradović M., Stojanović R., Hlaca D., Gibbs C. i dr: Hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia: antigenic characterization of Hantaviruses isolated from *Apodemus flavicollis* and *Clethrionomys glareolus*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 41, 109-115, 1989. - 5. Gligić A., Stojanović R., Obradović M., Hlaca D., Dimković N. i sar: Hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia: Epidemiologic and Epizootiologic features of a nationwide outbreak in 1989. Eur. J. Epidemiol., 8, 816-825, 1992. - 6. Heneberg N., Heneberg D. J., Milošević J. i dr: Rasprostranjenost krpelja u autonomnoj pokrajini Kosovo i Metohija. Poseban osvrt na *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panzer – rezervoara i vektora krimsko hemoragične groznice čoveka. Zb. Vojnosanit. Akadem. 30-36, 1966. - 7. Heneberg D. J.: Prirodna žarišta zaraznih bolesti u svetlosti učenja akademika EN Pavlovskog. Med. Glas., 11-12, 421-425, 1966. - 8. Lee H. W., Lee P. W., Johnson K. M.: Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. J Infect Dis., 137, 298-308, 1978. - 9. Kettle D. S.: Med. Vet. Entom. London-Sidney, 444-450, 1984. - 10. Matvejev S.: Biogeografija Jugoslavije, Beograd 1961. - 11. Milutinović Marija: Diverzitet krpelja (*Acari, Ixodidae, Argasidae*) Jugoslavije In: Biodiverzitet Jugoslavije, 363-70, 1995. - 12. Milutinović Marija: Ekološka istraživanja krpelja (*Acarina, Ixodoidea, Ixodidae*) Srbije, Doktorska disertacija, Beograd 1992. - 13. Milutinović Marija, Bobić B.: Ecological investigation on ticks (*Acari, Ixodidae*) in the area of East Serbia with emphasis on the species *Ixodes ricinus* and *Hyalomma savignyi*. Arq. Bras. Med. Ve. Zootec., 49, 531-41, 1997. - 14. Milutinović Marija, Petrović Z.: Epidemiološki i epizootiološki značaj krpelja (*Acari: Ixodidae, Argasidae*). Srp. Arh. celok.

- lek., 11-12, 387-391, 1999. - 15. Milutinović Marija: Fauna i ekologija krpelja (*Acarina, Ixodoidea, Ixodidae*) severoistočnog dela Srbije. Magistarski rad, Sarajevo 1984. - 16. Milutinović Marija, Ivović V., Mišćević Z., Pavlović I.: Studies on tick populations (*Acari: Ixodidae*) in East and South-East Serbia. 4rd Int. Con. of sheep and goat production and 2nd Sym on the reproduction of domestic animals, Ohrid; Proceedings: 133-140, 1996. - 17. Milutinović Marija, Mišćević Z., Aleksić N., Pavlović I., Kulišić Z.: Uticaj makroklimatskih faktora na dinamiku populacije krpelja (*Acarina, Ixodidae*) Srbije. Zbornik rezimea XXII skup entomologa Jugoslavije, Palić, 33, 1995. - 18. Milutinović Marija, Mišćević Z., Ivović V., Pavlović I.: Ecological notes on ticks (*Acari: Ixodidae*) in the area of east Serbia with emphasis on the species *Ixodes ricinus* and *Hyalomma savignyi*. Parassitologia, 38, 388, 1996. - 19. Milutinović Marija, Mišćević Z., Katić-Radivojević S.: Ticks (*Acarina, Ixodoidea, Ixodidae*) of Serbia: Fauna and Ecology. Acta Vet., 45, 37-48, 1995. - 20. Milutinović Marija, Mišćević Z., Petrović Z., Cakić P.: The effect of macroclimatic factors on the dynamics of tick (*Acari: Ixodidae*) populations in east and south-east Serbia. Acta Vet., 45, 137-146, 1996. - 21. Milutinović Marija, Pavlović I., Kulišić Z.: Fauna of ticks (*Acari: Ixodidae, Argasidae*) of South-East Kosovo. Acta Vet., 47, 167-170, 1997. - 22. Milutinović Marija, Pavlović I., Kulišić Z., Ivović V.: Uticaj makroklimatskih činilaca na dinamiku populacije krpelja (*Acarina, Ixodidae*) Srbije. Vet. glasnik, 50, 753-759, 1996. - 23. Milutinović Marija, Petrović Z.: Diverzitet krpelja (*Acari: Ixodidae, Argasidae*) Beograda. Naučni simpozijum u povodu 50 godina Instituta za medicinska istraživanja, Beograd, 162-168, 1997. - 24. Milutinović Marija, Petrović Z., Mišćević Z.: Fauna i ekologija krpelja (*Acarina, Ixodoidea, Ixodidae*) severoistočnog dela SR Srbije. V jugoslovenski kongres infektologov, Zbornik del, 1, 140-145, 1987. - 25. Milutinović Marija, Aleksić-Bakrač N., Pavlović I.: Research on ticks populations (*Acari, Ixodidae*) in eastern parts of Serbia. Ars Vet., 14, 227-234, 1998. - 26. Milutinović Marija, Radulović Ž.: Ecological notes on ticks (*Acari: Ixodidae*) in Serbia (Central regions). Acta Vet., 52, 49-58, 2002. - 27. Obradović M., Gligić A., Stojanović R. i sar: Serološka i arahnoentomološka ispitivanja prirodnih žarišta krimske hemoragične groznice u nekim lokalitetima Jugoslavije. Vojnosan. pregl., 4, 253-56, 1978. - 28. Papa A., Božović B., Vassiliki Pavlidou *et al*: Genetic detection and isolation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Kosovo, Yugoslavia. Emerg Infect Dis., 8, 852-854, 2002. - 29. Stamatović Lj., Panev D., Gerovski V., Miladinović T., Grdanovski S., Radović S.: Epidemija krimske hemoragične groznice. Vojnosanit. Pregl., 28, 337-341, 1971. - 30. Tmušić K., Parlić M., Kavasi A. i sar: Epidemija hemoragične groznice na Kosovu i Metohiji u 1995. U: Savet DDD u zaštiti životne sredine. God. zb. rad. Sutomore, 18-21, 1996. - 31. World Health Organization. Crimean-Congo hemorrhagic fever (C-CHF) in Kosovo-update 29 June 2001. Available from: URL: http://w.w.who.int/disease-outbreak_news/june/29june2001.html. - 32. World Health Organization. Armed Forces Pest Management Board. Disease Vector Ecology Profil Former Yugoslav Republics. Available from: <http://134.152/pubs/dveps/yugo.htm/3december1996>; 6-7.

ENGLISH

VIRAL HEMORRHAGIC FEVERS

Marija Milutinović, Zorana Oreščanin, Marija Zarić, Željko Radulović

Hemorrhagic fevers belong to the group of natural focal diseases which are distinguished by etiology and clinical features, but their common feature is the hemorrhagic syndrome, which occurs in most of patients during the acute stadium of the disease. Members of the Hantavirus genus are antigenically, epidemiologically and geneti-

cally related viruses of the family *Bunyaviridae* and are the only rodent-borne viruses within the *Bunyaviridae* family. Other viruses of this family are transmitted by arthropods and belong to four genera. One of them, *Nairovirus*, is a causative agent of *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever C-CHF*. The ecology of each virus is reflected in the ecology of that vector.

Since 1952 when the first case of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) was reported in Bosnia and Hercegovina and Slovenia epidemics and sporadic cases of clinically mild and severe HFRS have been recorded annually throughout former Yugoslavia and Serbia and Montenegro. *C-CHF* was first identified in the Balkans in 1954. In 1973, Gligić et al. isolated three *C-CHF* strains (Čiflik 1,6, and 11) from two *Hyalomma plumbeum plumbeum* and one castor bean tick (*Ixodes ricinus*). Since then, *C-CHF* has occurred every year in the Balkan Peninsula, with the number of cases related to the number of ticks infected.

Key words: hemorrhagic fevers, viruses, *Bunyaviridae*, rodents, ticks

РУССКИЙ

ВИРУСНЫЕ ГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ ЛИХОРАДКИ

Мария Милутинович, Зорана Орешчанин, Мария Зарич, Ж. Радулович

Геморрагические лихорадки относятся к групп природно очаговых заболеваний, различаемы по этиологии и клинической картине, а общее им свойство геморрагический синдром, являемый в большинстве заболевших в течение острой стадии болезни. Хантавирусы составляют род антигенны, эпидемиологически и генетически родственных вирусов семейства *Bunyaviridae*, и единственные из этого семейства, переносящие грызуны. Остальные вирусы, члены семейства *Bunyaviridae*, переносят членистоногие и распределены в четыре рода, из которых один *Nairovirus* возбудитель *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (C-CHF)*. Экология каждого вируса отражение экологии вектора.

От 1952. года с явлением первых записанных случаев геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в бывшей Боснии и Герцеговины и Словении, эпидемические и спорадические случаи и клинически более мягких и более тяжёлых видов болезни ГЛПС являлись во всю ширь бывшей Югославии словно и Сербии и Черногорр. *C-CHF* во всю ширь бывшей Югославии словно и Сербии и Черногории. *C-CHF* в первый раз открыта в балканских странах 1954 года. 1973. года Глигич и сотр. изолировали три штамма *C-CHF* (Чифлик 1, 6 и 11) из двух клещей *Hyalomma plumbeum plumbeum* и одного *Ixodes ricinus*. С тех пор *C-CIF* является ежегодно в балканских странах с численностью, отвечающая числу инфицированных клещей.

Ключевые слова: геморрагические лихорадки, вирусы, *Bunyaviridae*, грызуны, клещи

**ONE EMBRYO ELIMINATION IN TWIN PREGNANCIES IN
MARES USING ULTRASOUND GUIDED PUNCTURE***
***REDUKCIJA BROJA PLODOVA KOD KOBILA PRIMENOM
PUNKCIJE VOĐENE ULTRAZVUKOM***

M. Kosec, J. Mrkun, V. Kadunc-Kos**

In the present study the method for elimination of one embryo in twin pregnancies of mares is evaluated. Transvaginal ultrasound guided puncture of yolk sac or allantoic cavity with fluid aspiration was used. The puncture was performed in 11 mares (8 warmblood, 3 standardbred), pregnant between 22 and 46 days. In eight cases (72.7%) the pregnancy continued normally with one embryo while only in three cases (27.3%) both embryos died following the procedure.

Key words: abortion, animal breeding, mares, reduction, ultrasound, twin

Introduction / Uvod

In the mares, double ovulations in the same estrous cycle occur only in 15-33% [6, 14], and triple only in 2% of the cycles. The ratio of double ovulations is influenced by the breed, age, reproduction status and individual properties [7, 9]. Despite numerous double ovulations, only 0.5-3% of twins are born in mares [5, 8]. The reduction occurs in the period from ovulation to birth. The first possible reduction starts in the oviduct, when all egg cells are not fertilized or some of them are degenerated soon after fertilization. The second reduction appears between 7th and 11th day, when the embryo passes to the uterus. The third reduction commences between 16th and 40th day of embryo development, and the fourth one after 40th day in the phase of fetal development [14]. By ultrasonographic examination it was found that 12th day after the ovulation the pregnancy rate with twins and triplets is 15% and 0.98%, respectively [14].

* Rad primljen za štampu 19. 6. 2003. godine

** M. Kosec, J. Mrkun, V. Kadunc-Kos, University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Clinic for Reproduction and Horses, Ljubljana, Slovenia

Due to the fact of low possibilities for the birth of twins and high neonatal loss, twin pregnancies are unfavorable [8, 5, 1]. There are several methods for the reduction of twin pregnancy and for the termination of pregnancy. The use of low-calorie nutrition diet of mares, which lasts from 2 to 4 weeks after gestation is one of the possibilities for twin reductions [11, 12, 13]. Application of prostaglandins could be used to terminate pregnancy up to 36th day of pregnancy. Mares can be expected to return to estrus [15]. Between 16th and 23rd day of pregnancy, a transrectal manual crushing of the embryo in the uterus proved to be a successful method for the reduction of one embryo, particularly in the case of bicornual twins [1].

In the last decade research concerning twin reduction is focused on ultrasound-guided puncture and the removal of fluid from the yolk sac or allantoic cavity [3, 10].

The aim of the present work is to study the possibility of the reduction of one twin by the use of transvaginal ultrasound guided puncture of the yolk sac or allantoic cavity and the aspiration of fluid.

Materials and methods / *Materijal i metode rada*

In 8 warmblood and 3 trotter mares twin pregnancies were diagnosed using 5 MHz transrectal linear transducer. They were pregnant from 22 to 46 days.

Ultrasound ALOKA SSD 500 with needle guidance system incorporated into vaginal sector transducer UST 994P-5 was used for the elimination of one of the twins.

The procedures were performed at the Clinic for Reproduction and Horses, Veterinary Faculty in Ljubljana. The mares were sedated with Domosedan (Orion corpor., Finland) 0.2 mL/100 kg of body weight and with Turbogestic (Fort Dodge Animal Health, USA) 0.15 mL/100 kg of body weight. Labia vulve and perineum were washed and disinfected, the tail of the mare was wrapped. The transducer was placed into the cranial part of the vagina, and the uterus with embryo was transrectally fixed into the puncture line. After the assistant inserted the puncture needle through the needle guidance system into the allantoic cavity or yolk sac, the aspiration of fluid started immediately. The aspirator (Labotect aspirator 4014) with negative pressure between 100 and 180 mmHg was used, whereas in one case the aspiration of fluid was performed by 50 mL injection syringe.

During the aspiration obturation of the needle end also occurred due to tissues of the vaginal wall or the uterus, placental membranes or the embryo itself. Therefore, needles with stylet were used. The stylet was removed just before the aspiration.

The results of the above procedure were evaluated on the basis of pregnancy diagnosis and the vital signs of embryos performed between 10th and

14th day after the reduction using ultrasound examination. The foaling rate was also observed.

Results and discussion / *Rezultati i diskusija*

The puncture was performed successfully in 8 cases (72.72%), whereas in three cases (27.28%) both embryos died (table 1).

Table 1. *The time of pregnancy, amount of aspiration fluid and results of the puncture*
Tabela 1. *Period trudnoće, količina aspirirane tečnosti i rezultati punkcije*

Mare / <i>Kobila</i>	Days of pregnancy / <i>Dan trudnoće</i>	Amount of aspiration fluid / <i>Količina aspirirane tečnosti (mL)</i>	Position of embryos / <i>Položaj embriona</i>	Results of puncture / <i>Rezultati punkcije</i>
1	46	180	unicornual, right / <i>desno</i>	both died / <i>oba uginula</i>
2	24	8	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
3	22	7	unicornual, right / <i>desno</i>	one survived / <i>jedan preživeli</i>
4	28	12	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
5	36	120	bicornual	both died / <i>oba uginula</i>
6	33	70	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
7	26	13	unicornual, left / <i>levo</i>	one survived / <i>jedan preživeli</i>
8	28	18	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
9	45	170	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
10	23	5	bicornual	one survived / <i>jedan preživeli</i>
11	28	3	unicornual, left / <i>levo</i>	both died / <i>oba uginula</i>

In mare number 1, both embryos were in the same uterine horn. Since the puncture was repeated due to obturation of the needle, it is possible that both allantoic cavities were damaged and thus both embryos died. In mare number 5, each of the two embryos was in its own uterine horn. The puncture as well as the fluid aspiration was performed without any problems and therefore no antibiotics

were administered. This seems to be insufficient, since a great danger of infection is reported [16]. Infection without clinical manifestation of endometritis could cause embryo mortality [4]. However, a preventive application of antibiotics and antiphlogistic agents is recommended [3]. In mare number 11, unicornually twins in the left uterine horn were placed closely to each other and shared a quite large area. Since they were in contact, we assume that during the puncture of the target embryo, the placental membranes of the other embryo were also damaged. This resulted in pregnancy termination. This position is more difficult and likely to result in disruption of both embryos. Although one mare remained pregnant with one embryo after the puncture the mare aborted in 9th month of pregnancy with unknown etiology. Other mares foaled normal foals.

Our results of twin reduction by transvaginal guided puncture proved to be a bit better than those reported by Bracher *et al* [4]. On the other hand the present results are not as good as the results obtained by the transrectal method of manual crushing of one of the twin embryo [2]. In the study performed at our Clinic, as well as in the research of Bracher *et al*, only a small number of animals were included in the research. It can be expected that further improvements will yield also better results. In our opinion it can be stated that after 28th day of pregnancy the method mentioned above is the most appropriate for twin reductions.

References / Literatura

1. Allen W. R.: The diagnosis and handling of early gestational abnormalities in the mare. *Anim Reprod Sci*, 28, 31-38, 1992.
2. Allen W. R., Evans S., Mathias S. *et al.*: Modern veterinary management of twinn pregnancy in thoroughbred mares. *Thoroughbred Breeder*. 11, 96-98, 1989.
3. Allen W. R., Bracher V.: Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: II. findings in pregnant mare. *Equine Vet J*, 24, 285-291, 1992.
4. Bracher V, Prlevliet M., Pieterese V., Wiemer M. A., Taverne M., Colenbrander B.: Transvaginal ultrasound – guided twin reduction in mare. *Vet Rec*, 133, 478-479, 1993.
5. Deskur S.: Twining in thoroughbred mares in Poland. *Theriogenology*, 23, 711-718, 1985.
6. Ginther O. J.: Twins: Managment and correction. In: Ginther O. J. editors, *Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare*. Equiservices, Cross Plains USA, S 315-329, 1986.
7. Ginther O. J., Douglas R. H., Lawrence J. R.: Twining in mare: A survey of veterinarians and analyses of. *Theriogenology*, 18, 333-347, 1992.
8. Gordon J.: Introduction to Controlled reproduction in Horses. In: Ginther O. J. editors, *Controlled reproduction in Horses, Deer and Camelides*. Vol. 4: CAB International, Wallingford, 1-35, 1997.
9. Henry M., Coryn M., Vandeplassche M.: Multiple ovulation in the mare. *Zbl Vet Med*, 29, 170-184, 1982.
10. Kosec M., Mrkun J.: Ultraschallgestützte chirurgische Reduktion von Zwillingen beim Pferd bis zum 46. Graviditätstag. *Dtsch Tierärztl Wsch*, 107, 133-172, 2000.
11. Merkt H., Jungnickel S., Klug E.: Reduction of early twin pregnancy to single pregnancy in the mare by the dietetic means. *J Reprod Fert Supp*, 32, 451, 1982.
12. Merkt H., Klug E.: Twin pregnancy in mares: the legal liability of veterinarians and possible interventions. *Pferdheilkunde*, 9, 5, 307-312, 1993.
13. Meyer H.: Dietary effects on the fertility of mares and the viability of newly born foals. *Übersichten zur Tierernährung*, 26, 1, 65-86, 1998.
14. Newcombe J. R.: Incidence of multiple ovulation and multiple pregnancy in mares. *Vet Rec*, 137, 121-123, 1995.
15. Pehzhorn B. L., Bertschinger H. J., Coubrouhgt R. I.: Reconception of mares following termination of pregnancy with prostaglandin F2 α before and af-

Vet. glasnik 57 (Dodatak 7-8) 481 - 485 (2003) M. Kosec *et al.*: One embryo elimination in twin pregnancies in mares using ultrasound guided puncture

ter day 35 of pregnancy. Equine Vet J, 18, 215-217, 1986. - 16. Vos Plam, Pieterese M. C., Van der Weyden G. C., Taverne Mam: Bovine fetal fluid collection: Transvaginal ultrasound – guided puncture technique. Vet Rec, 27, 502 - 504, 1990.

SRPSKI

REDUKCIJA BROJA PLODOVA KOD KOBILA PRIMENOM PUNKCIJE VOĐENE ULTRAZVUKOM

M. Kosec, J. Mrkun, V. Kadunc-Kos

U radu smo prikazali metodu za uništenje jednog od blizanaca koja je bila primenjena kod 11 kobila (8 toplokrvnih i 3 kasača), trudnih sa blizancima i ocenili uspešnost te metode. Punkciju rumenjakovog ili alantoisnog mehura i aspiraciju njegovog sadržaja obavili smo iglom koja je bila vođena ultrazvukom. Metodu smo upotrebili kod 11 kobila u graviditetu od 22. do 46. dana. U osam slučajeva (72,7 %) graviditet se normalno nastavio samo sa razvojem jednog embriona a u tri slučaja (27,3 %) došlo je do odumiranja oba embriona.

Ključne reči: abortus, odgoj životinja, kobile, redukcija, ultrazvuk, blizanci

РУССКИЙ

УНИЧТОЖЕНИЕ ОДНОГО ИЗ БЛИЗНЕЦОВ У КОБЫЛ ПРИМЕНЕНИЕМ ПУНКЦИИ, ВЕДЁННОЙ УЛЬТРАЗВУКОМ

М. Косец, Й. Мркун, В. Кадунц-Кос

В работе мы показали метод для уничтожения одного из близнецов, который был применён у 11 кобыл (8 теплокровных и 3 рысака), беременных с близнецами и оценили успех того метода. Пункция румянякового или аллантаисного пузыря в аспирацию его содержания мы выполнили иглой, которая была ведена ультразвуком. Метод мы употребили у 11 кобыл в беременности от 22 до 46 дней. В восемь случаев (72,7%) беременность нормально проложилась только с развитием одного зародыша, а в три случая (27,3%) пришло до отмирания оба зародыша.

Ключевые слова: аборт, разведение животных, кобылы, редукция, ультразвук, близнецы

**UTICAJ MIKOTOKSINA NA NEKE REPRODUKTIVNE
POKAZATELJE SVINJA******EFFECT OF MYCOTOXINS ON SOME REPRODUCTIVE
CHARACTERISTICS OF SWINE*****Ž. Jokić, Mirjana Todorović, Milica Petrović****

Ispitivanjem su bile obuhvaćene reproduktivne osobine krmača u dva različita perioda. U prvom periodu krmače su hranjene siliranim vlažnim zrnom kukuruza, sojinom i suncokretovom sačmom, u kojima su bili visoki nivoi mikotoksina (tabela 2). U drugom periodu, grla su hranjena obrokom u koji su uključena hraniva koja nisu bila kontaminirana nedozvoljenim količinama mikotoksina (veštački sušeno zrno kukuruza, soja i suncokretova sačma). U oba perioda, ispitivanje je počelo posle odbijanja prasadi i trajalo je u toku dva uzastopna prašenja.

Polni žar se posle zalučanja prvo pojavio kod krmača hranjenih smešom u koju su uključena hraniva sa nižim nivoom mikotoksina (15,87 dana), a kod krmača hranjenih smešom u koju su uključena hraniva sa visokim stepenom kontaminacije polni žar se pojavio za 21,01 dan (drugi period). Uspešnost osemenjavanja krmača bila je bolja u drugom periodu (84,12 %) u odnosu na prvi period (71,44 %). Povađanje je konstatovano u 1120 slučajeva u drugom i 1765 slučajeva u prvom periodu. Procenat oprušenih krmača bio je viši u drugom periodu (80,69%) u odnosu na prvi period (68,56%).

Ranim, odnosno pravovremenim utvrđivanjem prisustva mikotoksina u hrani i posledičnim isključivanjem kontaminisane hrane iz upotrebe i/ili eventualnim razblaživanjem i mešanjem sa hranivima „slobodnim“ od mikotoksina mogu da se ublaže negativni efekti mikotoksina prisutnih u hrani.

Ključne reči: svinje, hrana, mikotoksini, reproduktivni pokazatelji

* Rad primljen za štampu 10. 3. 2003. godine

** Dr Živan Jokić, vanredni profesor, dr Mirjana Todorović, docent, dr Milica Petrović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Zemun

Uvod / Introduction

Mikotoksini su sekundarni produkti metabolizma plesni koji mogu da budu proizvedeni na kontaminisanim hranivima u toku njihove proizvodnje i skladištenja. Ovi metaboliti su najčešće povezani sa mnogim grupama plesni koje pripadaju različitim vrstama (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Claviceps*) i koje rastu na mnogim stočnim hranivima i zrnima žitarica, na polju i u toku njihovog čuvanja [6]. Samo plesni *Fusarium* vrste produkuju više od 100 metabolita koji su potencijalno toksični za životinje [10].

Dugo godina je vladalo mišljenje da se mikotoksini mogu da pojave na malom broju hraniva. Danas je jasno da se oni mogu da nađu na gotovo svim hranivima koja se koriste u ishrani životinja (kukuruz, seno, silaža, sojina i suncokretova sačma, i mnoga druga) i da mogu da izazovu veoma ozbiljna oboljenja (mikotoksikoze) kod životinja koje ih jedu. Procenjuje se da je najmanje 300 metabolita plesni toksično za ljude i životinje i da je čak 25 posto žitarica u svetu kontaminisano poznatim mikotoksinima [2, 14].

Mnogobrojna istraživanja iz ove oblasti su ukazala da su svinje vrsta koja je posebno osetljiva na delovanje mikotoksina, zbog visokog stepena njihove apsorpcije iz digestivnog trakta. Visoka osetljivost svinja utvrđena je prema zearalenonu i vomitoksinu, a slabija prema aflatoksinu, ohratoksinu, fumonizinu i T-2 toksinu.

Prisustvo mikotoksina u hranivima za svinje, pored toga što negativno utiče na prirast i iskorišćavanje hrane [4, 11, 12, 7], veoma često negativno utiče i na reproduktivne performanse [3, 1, 13, 5]. U tom smislu, interesantan mikotoksin je zearalenon ili F-2 toksin koji ispoljava estrogena svojstva i na taj način uzrokuje značajne reproduktivne poremećaje. Njegovo prisustvo u povišenoj koncentraciji (4-5 mg/kg hrane) ispoljava se dugotrajnim anestrijama, hiperemijom i edemom vulve, iscetkom iz vulve, povećanim intrauterinim uginućem, većim procentom pobađanja i ponekad prolapsusom rektuma i/ili vagine [1, 9].

S obzirom da se radi o veoma ozbiljnom problemu kojem se poslednjih godina poklanja izuzetna pažnja i činjenici da je on prisutan na gotovo svim našim svinjogojskim farmama, cilj ovoga rada je bio da se ispita uticaj mikotoksina, koji su najčešće prisutni u hranivima, na neke reproduktivne pokazatelje priplodnih svinja.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Ispitivanjem su bile obuhvaćene reproduktivne osobine krmača u dva različita perioda. U prvom periodu krmače su hranjene siliranim vlažnim zrnom kukuruza, sojinom i suncokretovom sačmom, u kojima su bili prisutni visoki nivoi mikotoksina (tabela 2). U drugom periodu, grla su hranjena obrokom u koji su uključena hraniva koja nisu bila kontaminisana nedozvoljenim količinama mikotoksina (veštački sušeno zrno kukuruza, sojina i suncokretova sačma).

U oba perioda, ispitivanje je počelo posle odbijanja prasadi i trajalo je u toku dva uzastopna prašenja.

Krmače su veštački osemenjavane (po uobičajenoj shemi na farmi), neposredno posle otkrivanja estrusa i 24 časa posle toga.

U toku ispitivanja krmače su od zalučenja do pripusta, kao i u toku suprasnosti, hranjene potpunim smešama (tabela 1). U toku perioda suprasnosti, kao i u periodu do pripusta, krmače su hranjene sa po 2 kg hrane dnevno.

Tabela 1. *Hemijski sastav smeša za ishranu svinja*
Table 1. Chemical composition of swine feed mixes

Hemijski sastav, % / <i>Chemical composition, %</i>	Prvi period / <i>First period</i>	Drugi period / <i>Second period</i>
Proteini / <i>Proteins</i>	12.96	12.30
Mast / <i>Fat</i>	3.25	2.35
Celuloza / <i>Cellulose</i>	3.52	5.43
Kalcijum / <i>Calcium</i>	0.76	0.78
Fosfor / <i>Phosphorus</i>	0.48	0.45
Natrijum / <i>Sodium</i>	0.24	0.26

Hemijska analiza smeša korišćenih u ovim istraživanjima obavljena je u laboratoriji Odeljenja za ishranu domaćih životinja na Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu, a analiza hraniva na mikotoksine u laboratoriji za ishranu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu.

Efekat ispitivanih tretmana ishrane utvrđen je na osnovu rezultata osemenjavanja krmača, pri čemu su praćeni parametri: interval od zalučenja do pojavljivanja polnog žara, broj povađanja, broj pobačaja, uspešnost osemenjavanja (konceptije) i procenat opraćenih krmača.

Statistička obrada dobijenih rezultata obavljena je testiranjem razlika između proporcije osobina krmača u ispitivanim periodima.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Prosečan sadržaj mikotoksina u nekim hranivima korišćenim u različitim periodima ishrane krmača prikazan je u tabeli 2. Podaci ukazuju da su u prvom periodu utvrđene količine mikotoksina bile daleko veće u odnosu na one koje su date u pravilniku [8]. To se posebno odnosi na zearalenon čija je količina bila najveća u suncokretovoj (5,32 mg/kg), a najmanja u sojinoj sačmi (1,6 mg/kg). Količina aflatoksina B-1 i aflatoksina G-1 takođe je bila nešto veća u suncekrotovoj sačmi i siliranom zrnu kukuruza (0,052 i 0,08 mg/kg). Interesantno je da se zapazi i visoka kontaminacija siliranog vlažnog zrna kukuruza sa F-2 toksinom (3,4 mg/kg) i ohratoksinom (3,0 mg/kg). Ovo je posebno značajno zbog toga što

je dugo vladalo mišljenje da je siliranje jedan od postupaka konzerviranja hraniva kojim se sprečava razvoj plesni i lučenje mikotoksina. Međutim, danas se zna da i ovo hranivo, veoma često, može da bude kontaminisano različim mikotoksinima ukoliko se za to stvore optimalni uslovi.

Srednje vrednosti za sadržaj mikotoksina u pojedinim hranivima utvrđene u drugom periodu bile su niže od nivoa koji dozvoljava Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani [8]. Naime, sadržaj F-2 toksina varirao je od 0,07 mg/kg (sojina sačma) do 0,2 mg/kg (suncokretova sačma). Ustanovljene vrednosti za ohratoksin bile su 0,02 mg/kg u suncokretovoj sačmi i 0,1 mg/kg u veštački sušenom zrnu kukuruza, dok prisustvo aflatoksina B-1 i aflatoksina G-1 nije utvrđeno.

Tabela 2. Prosečan sadržaj mikotoksina u pojedinim hranivima
Table 2. Average content of mycotoxins in some fodder

Hranivo / Fodder	Mikotoksini, mg / <i>Mycotoxins, mg</i>			
	Zearalenon / <i>Zearalenon</i>	Aflatoksin B ₁ / <i>Aflatoxin B₁</i>	Aflatoksin G ₁ / <i>Aflatoxin G₁</i>	Ohratoksin / <i>Ochratoxin</i>
Prvi period / <i>First Period</i>				
Silirano vlažno zrno kukuruza / <i>Silaged wet corn kernels</i>	3,4	0,08	0,01	3,0
Sojina sačma / <i>Soybean meal</i>	1,6	–	–	0,1
Suncokretova sačma / <i>Sunflower meal</i>	5,32	0,052	–	0,66
Drugi period / <i>Second Period</i>				
Veštački sušeno zrno kukuruza / <i>Artificially dried corn kernels</i>	0,1	–	–	0,1
Sojina sačma / <i>Soybean meal</i>	0,07	–	–	–
Suncokretova sačma / <i>Sunflower meal</i>	0,2	–	–	0,02

Prisustvo veće količine mikotoksina (posebno zearalenona ili F-2 toksina) u hranivima koja su uobičajene sastavne komponente potpunih smeša za ishranu priplodnih svinja, može da uzrokuje značajne reproduktivne poremećaje [5].

Rezultati osemenjavanja krmača, dobijeni u ovim istraživanjima, direktno su zavisili od sadržaja mikotoksina (tabela 3). U oba perioda ishrane, vreme do pojavljivanja polnog žara krmača trajalo je veoma dugo. Dobijeni rezultati ukazuju da se posle zalučanja polni žar prvo pojavio (za 15,87 dana) kod krmača hranjenih smešom u koju su uključena hraniva sa nižim nivoom mikotoksina, u kojima je kao osnovni izvor energije korišćeno veštački sušeno zrno kukuruza (prvi

period). Međutim, kod krmača hranjenih smešom u koju su uključena hraniva sa visokim stepenom kontaminacije (posebno F-2 toksinom i ohratoksinom) i siliranim vlažnim zrnom kukuruza kao izvorom energije, polni žar se pojavio za 21,01 dan (drugi period).

Daljom analizom podataka uočava se da je uspešnost osemenjavanja krmača bila bolja u drugom periodu (84,12 %) u odnosu na prvi period (71,44 %) i da su ustanovljene razlike statistički vrlo značajne ($p < 0,001$).

Tabela 3. Rezultati osemenjavanja krmača
Table 3. Results of insemination of sows

Parametar / Parameter	Period / Period		Razlika / Difference
	I	II	
Broj pripusta / Number of attempts	6180	7052	
Paritet prašenja / Delivery Parity	3,95	3,83	
Interval zalučenje-estrus (dana) / Drying-estrus interval (days)	21,01	15,87	
Uspešnost osemenjavanja (konceptije) n Success of insemination (conception) %	4415 71,44	5932 84,12	12,68 ***
Povađalo Failure to impregnate n %	1765 28,56	1120 15,88	12,68 ***
Pobačaj Miscarriage n %	86 1,39	95 1,35	0,04 NS
Oprašeno Deliveries n %	4237 68,56	5690 80,69	12,13 ***

Broj povađanja je konstatovan u 1120 slučajeva u drugom i 1765 slučajeva u prvom periodu ili izraženo u relativnim vrednostima 15,88 i 28,56%. Utvrđena razlika (12,68 %) pokazuje da su ispitivani periodi ishrane značajno uticali na ovaj parametar ($p < 0,001$).

Vrednosti ustanovljene za procenat pobačaja (1,35 i 1,39%) nisu se statistički značajno razlikovale između ispitivanih perioda ($p > 0,05$).

Procenat oprašenih krmača bio je veći u drugom periodu (80,69%) u odnosu na prvi period (68,56%), a ustanovljena razlika od 12,13 posto takođe je pokazala statističku značajnost ($p < 0,001$).

Slične efekte usled prisustva povećanih nivoa mikotoksina navode i drugi autori. Oni takođe smatraju da ozbiljne probleme u reprodukciji izaziva zearalenon (F-2) koga sintetiše *Fusarium graminearum*. On ispoljava efekte ženskog polnog hormona estrogena i podstiče feminizaciju pri koncentraciji manjoj od 1 mg/kg hrane. Visoka koncentracija ovog hormona ometa ovulaciju, uspešnu koncepciju, implantaciju i embrionalni razvoj. Kod suprasnih krmača može da

poveća pojavljivanje abortusa i broja mrtvorodne prasadi; živorodena prasad imaju manju životnu sposobnost, kao i znake juvenilnog hiperestrogenizma [5, 13]. Goihl [3] je ustanovio da nivoi F-2 toksina od približno 5 mg/kg hrane uzrokuju ozbiljne reproduktivne problema kod krmača, ali da nivoi od 10 mg u obroku krmača mogu da produže interval od zalučenja do pripusta, smanje veličinu legla i procenat prašenja krmača.

Veći broj istraživanja je ukazao da ishrana krmača obrocima sa povećanom koncentracijom F-2 toksina tokom laktacije, kao i od zalučenja do pripusta ima kao posledicu povećanje procenta povadanja, infertiliteta, pseudogavidnosti, smanjenja broja prasadi u rezultirajućem leglu, povećanje broja mrtvorodne i prasadi sa degenerativnim svojstvima. Neophodno je da se kaže da su na prisustvo zearalenona posebno osetljive mlade nazimice kod kojih nivoi od 0,5 do 1 mg/kg hrane mogu da uzrokuju pseudogavidnost i prolapsus vagine i/ili uterusa [1, 9].

Dosadašnji rezultati, kao i neka praktična iskustva ukazuju da koncentracija više od 4 do 5 mg F-2 toksina/ kg hrane može da predstavlja veliki rizik i značajno smanji reproduktivnu efikasnost krmača. S obzirom da je glavni put unošenja mikotoksina ingestija kontaminisane hrane, optimalno rešenje je prevencija kontaminacije sprečavanjem ili redukcijom rasta toksin-produkujućih plesni na hranivima. Sa druge strane, u slučajevima kada se posumnja ili utvrdi prisustvo mikotoksina u hranivima i/ili hrani eliminacija može da se obavi mehaničkom separacijom, hemijskom ekstrakcijom i dekontaminacijom ili detoksifikacijom primenom fizičkih, hemijskih ili bioloških metoda.

Međutim, za sada je jedino sigurno da se ranim, odnosno pravovremenim utvrđivanjem prisustva mikotoksina u hrani i posledičnim isključivanjem kontaminisane hrane iz upotrebe i/ili eventualnim razblaživanjem i mešanjem sa hranivima „slobodnim” od mikotoksina mogu da ublaže negativni efekti, ali je potreban određeni vremenski period za eliminaciju resorbovane količine mikotoksina i štetnog efekta. Zato u proizvodnim uslovima mora da se praktikuje stalan i višestepeni monitoring higijenske ispravnosti hrane radi brzog i efikasnog reaganja, kao za sada jedinog načina uspešne prevencije štetnih efekata mikotoksina.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata dobijenih u ovim istraživanjima ustanovljeno je da od svih mikotoksina prisutnih u hranivima najveće negativne efekte na reproduktivne performanse priplodnih svinja ispoljava zearalenon ili F-2 toksin. Ovi efekti se ispoljavaju u navedenom:

- Period od zalučenja do pojavljivanja polnog žara traje duže,
- Uspešnost osemenjavanja (konceptije) znatno je manja,
- Veći je procenat krmača koje povadaju, i
- Manji je procenat oprašenih krmača.

Pored toga, isključivanje kontaminisane hrane je sigurno rešenje za ublažavanje negativnih efekata mikotoksina.

Istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologije i razvoj R. Srbije, Projekat 5.2.0. 7103 B.

Literatura / References

1. Blaney B. K., Williams K. C.: Australian Journal of Agricultural Research 42, 993-1012, 1991. – 2. Devegowda G., Raju M. V. L. N., Swamy H. V. L. N.: Feedstuffs, December 7, 12-15, 1998. – 3. Goihl J.: Feedstuffs, March 12, 12-13, 1990. – 4. James L. J., Smith T. K.: J. Anim. Sci. 55, 110-118, 1982. – 5. Johnson P. J., Casteel S. W., Messer N. T.: J. Vet. Diagn. Investigation 9, 219-221, 1997. – 6. Ledoux D. R., Rottinghaus G. E.: In: Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the 15 th Annual Symposium. (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds), Nottingham University Press, UK. Pp 369-379, 1999. – 7. Newman K.: In: Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the 16 th Annual Symposium. (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds), Nottingham University Press, UK. Pp 369-382, 2000. – 8. Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani. Sl. List SFRJ 2, 27-31, 1990. – 9. Rainey M. R., Tubbs R. C., Hardin D. K., Cox N. M.: Agri Practice 12, 35-41, 1991. – 10. Smith T. K., Modirsanei M., MacDonald E. J.: In: Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the 16 th Annual Symposium. (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds), Nottingham University Press, UK. Pp 383-390, 2000. – 11. Smith T. K., McMillan F. G., Castillo J. B.: J. Anim. Sci. 75, 2184-2191, 1997. – 12. Trenholm H. L., Foster B. C., Charmley L. L., Thompson B. K., Hartin K. E., Copock R. W., Albassam M. A.: J. Anim. Sci. 74, 361-369, 1994. – 13. Vanay A., Bata A., Glavits, R., Kovacs, F.: Acta Veterinaria Hungarica 42, 416-433, 1994. – 14. Wood G. E.: J. Anim. Sci. 70, 3941-3949, 1992.

ENGLISH

EFFECT OF MYCOTOXINS ON SOME REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF SWINE

Z. Jokić, Mirjana Todorović, Milica Petrović

Investigations covered reproductive characteristics of sows during two different periods. During the first period, sows were fed silaged wet corn kernels, soybean and sunflower meal, with a high level of mycotoxins (Table 2). During the second period, animals were fed with a ration which included fodder which was not contaminated with higher than permitted levels of mycotoxins (artificially dried corn kernels, soybean and sunflower meal). During both periods, investigations began after weaning of piglets and continued during two consecutive litters.

The sexual urge first appeared after loss of milk in sows fed compounds which included fodder with a lower level of mycotoxins (15.87 days), and it first appeared in sows fed compounds with fodder containing a high degree of contamination after 21.01 days (the second period). The success of insemination was better in the second (84,12%) than in

the first period (71.44%). Sows were not impregnated in 1,120 caes during the second period and 1,765 during the first period. The percent of successfully inseminated sows was bigger in the second (80,69%) than in the first period (68.56%).

The negative effects of mycotoxins present in feed can be eased with the early or timely determination of their presence in fodder and the consequent elimination of contaminated feed from use and/or its possible dilution or mixing with mycotoxin-free fodder.

Key words: swine, fodder, micotoxins, reproductive characteristics

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ МИКОТОКСИНОВ НА НЕКОТОРЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СВИНЕЙ

Ж. Йокич, Миряна Тодорович, Милица Петрович

Испытанием были охвачены репродуктивные свойства свиноматок в два различных периода. В первом периоде свиноматки кормлены силосованным влажным зерном кукурузы, соевой и подсолнечной дробью, в которых были присутствующие высокие уровни микотоксинов (таблица 2). Во втором периоде, головы кормлены пайком в который включен корм, который не был контаминирован недопущенными количествами микотоксинов (искусственно сушенное зерно кукурузы, соевая и подсолнечная дробь). В оба периода, испытание начало после отнимания от груди поросят и продолжалось в течение два следующих друг за другом опороса.

Половой жар после отлучения во первых появился у свиноматок, кормленных смесей в которую включен корм с более низким уровнем микотоксинов (15,87 дней), а у свиноматок, кормленных смесей в которую включен корм с высокой степенью контаминации половой жар появился за 21,01 день (второй период). Успешность осеменения свиноматок была более хорошая во втором (84,12%) в отношении первого периода (71,44%). Повторная течка констатирована в 1120 случаев во втором и 1765 случаев в первом периоде. Процент опоросенных свиноматок был более большой во втором (80,69%) в отношении первого периода (68,56%).

Ранним, а именно своевременным установлением присутствия микотоксинов в корме и являющихся последствием исключением контаминированного корма из употребления и/или эвентуальным разбавлением и мешанием с кормом свободным от микотоксинов могут ослабить отрицательные эффекты микотоксинов, присутствующих в корме.

Ключевые слова: свиней, корм, микотоксинов, репродуктивные показатели

**NALAZ *CAMPYLOBACTER JEJUNI*/ *COLI* KOD ZAKLANE
ŽIVINE NA KOŽI I VISCERALNIM POVRŠINAMA PRE I
POSLE PRANJA***

***FINDINGS OF *CAMPILOBACTER JEJUNI*/ *COLI* IN SLAUGHTERED
POULTRY ON SKIN AND VISCERAL SURFACES BEFORE AND AFTER
WASHING***

Snežana Ivanović**

Ispitujući prisustvo *Campylobacter* spp. kod domaćih i divljih životinja, a naročito kod živine, mnogi autori su došli do zaključka da je ovo zoonozna bakterija. Autori su nalazili *Campylobacter jejuni* u intestinalnom traktu zdrave živine. Tehnološki proces obrade živinskog trupa, mašinska ili ručna evisceracija, čupanje perja i hlađenje u speenchilleru omogućavaju lako prenošenje *Campylobacter jejuni/coli* iz sadržaja digestivnog trakta ili sa površine perja na trupove. Za ispitivanje u ovom radu korišćeno je 80 briseva uzetih sa kože pilića posle šurenja i čupanja, 80 briseva sa visceralne površine neposredno posle evisceracije i 80 briseva sa visceralne površine posle pranja. Uzorci su uzeti od istih pilića koji su zaklani u industrijskoj klanici. Za izolovanje *Campylobacter jejuni/coli* korišćene su tečna i čvrsta selektivna podloga, a za identifikaciju krišćena je proba katalaze, test razlaganja hipurata i temperatura rasta od 30,5°C. *Campylobacter jejuni/coli* je na koži bio prisutan u 75 posto slučajeva, na visceralnoj površini pre pranja u 43,75 posto, dok je na visceralnoj površini posle pranja bio prisutan u 38,75 posto slučajeva.

Ključne reči: Campylobacter jejuni, živina, klanje, čupanje perja, evisceracija

Uvod / Introduction

Campylobacter spp. je poznat od 1913. godine i u prvo vreme je bio svrstan u rod *Vibrio* dok ga Sebald i Veron 1963. godine izdvajaju u poseban rod.

* Rad primljen za štampu 13. 10. 2003. godine

** Dr sci Snežana Ivanović, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

Bakterije iz ovog roda su opisane kao vitki spiralno vijugavi štapići oblika zapete, slova „S” ili oblika galebovih krila. Gram-negativni su i čine karakteristično spiralno kretanje koje im omogućavaju flagele postavljene na jednom ili oba kraja bakterijskog tela. Stvaraju toksin. *Campylobacter* spp. se svrstava u mikroaerofilne mikroorganizme, jer za svoj rast i razmnožavanje traži koncentraciju kiseonika od 3 do 15 posto, CO₂ od 3 do 5 posto i azota od 80 do 85 posto.

Ispitujući prisustvo *Campylobacter* spp. kod domaćih i divljih životinja, a naročito kod živine, mnogi autori su došli do zaključka da je ovo zoonotska bakterija. Obavljali su ispitivanje rasprostranjenosti *Campylobacter* spp. u prirodi i način njegovog prenošenja na životinje, odnosno na ljude. Šesdesetih i sedamdesetih godina prošloga veka, pojedini autori su doveli u epidemiološku vezu prisustvo *Campylobacter* spp. kod živine sa kampilobakteriozom ljudi [11].

Annan-Prah i Janc [2] i Van de Giessen i sar [16] ispitivali su jaja i jednodnevne piliće i u uzetim uzorcima nisu identifikovali ovu zoonoznu bakteriju, ali su je identifikovali kod pilića starih nekoliko nedelja, pa na osnovu toga ukazuju da se *Campylobacter* prenosi horizontalnim putem, ali ne i vertikalnim. Pomenuti autori su nalazili *Campylobacter jejuni* u intestinalnom traktu zdrave živine. Mnogi autori su ispitivali prisustvo ove bakterije u fecesu, kloakalnim brisevima i sluzokoži cekuma. Po podacima Doyle [3] procenat pozitivnog nalaza je bio do 91 posto, a Milaković-Novak [12] u kloakalnim brisevima utvrdila je prisustvo *Campylobacter jejuni* u 40 posto slučajeva. Tokom ispitivanja Ivanović i sar [5] identifikovali su *Campylobacter jejuni/coli* u cekumima brojlera (94,70%) i u cekumima kokošaka (90%), što ukazuje da je *Campylobacter jejuni/coli* čest „stanovnik” digestivnog trakta živine.

Tehnološki proces obrade živinskog trupa, mašinska ili ručna evisceracija, čupanje perja i hlađenje u speenchilleru omogućavaju lako prenošenje *Campylobacter jejuni/coli* iz sadržaja digestivnog trakta ili sa površine perja na trupove. Iz tih razloga cilj ovoga rada je bio da se utvrdi prisustvo *Campylobacter jejuni/coli* na koži i visceralnim šupljinama kod zaklane živine pre i posle pranja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Za ispitivanja u ovome radu koristilo se 80 briseva uzetih sa kože pilića posle šurenja i čupanja, 80 briseva sa visceralne površine neposredno posle evisceracije i 80 briseva sa visceralne površine posle pranja. Uzorci su uzeti od istih pilića koji su zaklani u industrijskoj klanici. Briseve su uzimani sa površine kože živine od oko 10 cm² i odmah, na licu mesta, u pogonu zasejavani u tečnu podlogu *Brucella* bujon koja je, u što kraćem vremenskom periodu, dopremljena u laboratoriju i inkubirana u mikroaerofilnim uslovima tokom 48 časova na temperaturi od 42°C.

Za izolovanje *Campylobacter jejuni/coli* korišćene su tečna i čvrsta selektivna podloga. Tečna podloga je *Brucella* bujon koja se i ranije koristila kao podloga za obogaćenje, a koja je dodavanjem antibiotika (polymyxin B, actidion,

rifampicin, trimethoprim) postala i selektivna (modifikacija po Ivanovićevoj, 1999) [6]. Kao čvrsta podloga koristila se podloga po Skirrowu kojoj je, takođe, dodat antibiotski dodatak koji je u 1 ml sadržao trimethoprim, vancomycin i polymixin. Mikroaerofilni uslovi su se postigli upotrebom posude za anaerobe (po McIntoshu), u kojoj je stvarana atmosfera sa 10 posto ugljen-dioksida, 5 posto kiseonika i 85 posto azota koja odgovara *Campylobacter* bakteriji. Posle ovog vremena sadržaj iz podloge za obogaćenje (u isto vreme i selektivna podloga) prenet je na čvrstu podlogu po Skirrowu i inkubiran na isti način.

Od izraslih karakterističnih kolonija pravljen je mikroskopski preparat i bojen 10% Karbol fuksinom. Na mikroskopskom preparatu bakterijske ćelije karakteristične po morfologiji i boji, smatrane su potvrdom pozitivnog kulturelnog nalaza *Campylobacter* spp. Za identifikaciju *Campylobacter jejuni* koristila su se proba katalaze, test razlaganja hipurata i temperatura rasta od 30,5°C.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Ispitivanja smo obavljali na ukupno 180 briseva uzetih od pilića koji su poticali iz istog jata i zaklani pod istim uslovima.

Tabela 1. Nalaz *Campylobacter jejuni/coli* na koži, visceralnoj šupljini pre pranja i visceralnoj šupljini posle pranja

Table 1. Finding of *Campylobacter jejuni/coli* on skin, visceral cavity before washing, and visceral cavity after washing

Vrsta živine / Type of poultry	Koža / Skin			Visceralna površina pre pranja / Visceral surface before washing			Visceralna površina posle pranja / Visceral surface after washing		
Brojleri / Broilers	broj number of positive	pozitivni %	%	broj number of positive	pozitivni %	%	broj number of positive	pozitivni %	%
	80	60	75	80	35	43,75	80	31	38,75

Iz tabele 1 se vidi da je *Campylobacter jejuni/coli* na koži bio prisutan u 75 posto slučajeva, na visceralnoj površini pre pranja u 43,75 posto, dok je na visceralnoj površini posle pranja bio prisutan u 38,75 posto slučajeva. Ovako visok procenat nalaza ove zoonozne bakterije na koži u skladu je sa ranijim nalazima ovog autora [7] i potvrđuje da se ona nalazi na perju u velikom broju i da se mehaničkim čupanjem perja prenosi na kožu, odnosno nastaje rekontaminacija, [1]. Veliki broj pozitivnih nalaza na koži može da ukaže i da *Campylobacter jejuni/coli* preživljava temperaturu vode za šurenje, što bi bilo u saglasnosti sa navodima Genigeorgisa i sar. [4] koji smatraju da temperatura šurenja ne utiče na nivo kontaminacije kože, odnosno mesa sa *Campylobacter jejuni*.

Kako nalazi pojedinih autora ukazuju da se ovaj mikroorganizam nalazi u intestinalnom traktu zdrave živine [3, 15, 12, 5], jasno je da je kontaminacija

visceralne šupljine nastala prilikom evisceracije. Ovaj procentualni nalaz *Campylobacter jejuni/coli* je u skladu sa ranijim nalazima ovog autora [6, 8]. Nešto niži procenat pozitivnog nalaza *Campylobacter jejuni/coli* na visceralnoj površini posle pranja navodi na zaključak da je jednostavno došlo do mehaničkog spiranja bakterija. Treba naglasiti da je voda za pranje bila hlorisana, pa je moguće da je i rezidualni hlor u vodi uticao na smanjenje broja pozitivnog nalaza *Campylobacter jejuni/coli* na visceralnoj površini posle pranja, što je u saglasnosti sa tvrdnjama Yusufija [18]. Ispitujući prisustvo *Campylobacter jejuni* u pojedinim fazama proizvodnje ćurećeg mesa, on je ustanovio na perju 3,30 posto, u vodi koja se cedila sa čupača perja 94,40 posto, u vodi kojom su se ispirali obrađeni trupovi 27,80 posto, a u vodi za hlađenje 44,40 posto. Pri tome, primena hlorisane vode pri hlađenju može da bude pouzdan način za smanjenje broja *Campylobacter jejuni* sa obrađenog ćurećeg trupa, a sadržaj hlora u vodi od 14 do 18 ppm može da bude pouzdan faktor sigurnosti. Prema ispitivanjima Acuffa i sar [1] procenat ćuraka koje su sadržale *Campylobacter jejuni* tokom gajenja varirao je od 50 do 100 posto. Tokom šurenja uništi se veliki broj ovog mikroorganizma, ali nastaje rekontaminacija pri mehaničkom čupanju perja. Prema ovom autoru, broj *Campylobacter jejuni* na trupovima ćuraka dostiže maksimum posle evisceracije, ali znatno se smanjuje posle pranja.

Nasuprot nalazu Acuffa i sar [1], Genigeorgi i sar [4] smatraju da temperatura šurenja ne utiče na nivo kontaminacije mesa sa *Campylobacter jejuni*. Slična ispitivanja obavljali su Oosterum i sar [13] u Holandiji. Autor je utvrdio da visok stepen kontaminacije sa *Campylobacter jejuni* postoji kod pilića, na opremi, na rukama radnika, na liniji klanja i u vazduhu. Prema ovim ispitivanjima izgleda da pomenuta kontaminacija može da bude samo intestinalnog porekla. Crevni sadržaj pilića sadrži više od 10 na 7 *Campylobacter jejuni/g*. Kontaminacija pilića se smanjuje za vreme šurenja pri temperaturi od 58°C, ali redukcija nije uvek primećena pri temperaturi od 51,8°C. Autori tvrde da se broj *Campylobacter jejuni* povećava tokom čupanja perja i evisceracije. Utvrdili su prisustvo ove bakterije na 50 posto ispitanih trupova.

Pranjic i sar [14] ispitivali su prisustvo *Campylobacter jejuni/coli* na trupovima pilića metodom brisa pleurovisceralne površine na zagrebačkom tržištu. Od ispitanih 70 briseva u 24,30 posto bio je prisutan ovaj mikroorganizam. Na teritoriji Srbije Ivanovićeva [6] ispitivala je prisustvo *Campylobacter jejuni* na visceralnoj površini pilećih trupova neposredno posle evisceracije i utvrdila da se ovaj uzročnik nalazi u velikom broju. U svojim kasnijim ispitivanjima Ivanovićeva i sar [7] takođe su utvrdili visok stepen kontaminacije kože posle šurenja i čupanja perja. Od ispitanih trupova 72 posto je sadržalo *Campylobacter jejuni*. Tokom daljih istraživanja Snežana Ivanović [8] je izolovala *Campylobacter jejuni* sa površine visceralne šupljine i dubine mesa kod zaklane živine. Da bi izolovala ovaj mikroorganizam autorka je uzela 60 briseva sa visceralne površine neposredno posle evisceracije, pri čemu je u 35 briseva bio prisutan ovaj mikroorganizam. Ispitivanjem prisustva *Campylobacter jejuni* u mesu ona je utvrdila pozitivan nalaz ovog mikroorganizma u 20 trupova od 51 ispitanoj trupu, što iznosi 39,20 posto.

Literatura / References

1. Acuff R., Vanderzant C. *et al.*: Prevalence of *Campylobacter jejuni* in turkey carcass, J. Food prot., 49, 9, 712, 1986. - 2. Annan-Prah A., Janc M.: The mode of spread of *Campylobacter jejuni/coli* to il broiler flocks: J. Vet. Med. 35 11-18, 1988. - 3. Doyle M.: *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* an Old Pthogen of New Concern, J. Food prot., 44, 6, 480, 1981. - 4. Genigeorgis C., Hasswneh M., *et al.*: *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry meat contamination during slaughtering, J. Food prot., 49, 11, 895, 1986. - 5. Ivanović Snežana, Bunčić Olivera, Dugalić-Vrndić Nada: Prisustvo *Campylobacter jejuni/coli* u intestinalnom traktu zaklane živine, Nauka o živinarstvu, 3, 1-2, 105-108, 1998. - 6. Ivanović Snežana: Nalaz *Campylobacter*-a na visceralnoj površini, Zbornik radova i kratkih sadržaja „11. savetovanje veterinarara”, Zlatibor, 1999. - 7. Ivanović Snežana, Bunčić Olivera: Rezultati ispitivanja kontaminiranosti kože živine sa *Campylobacter jejuni/coli* posle čupanja perja. Zbornik radova i kratkih sadržaja „12. savetovanje veterinarara”, Zlatibor, 185, 2000. - 8. Ivanović Snežana: Nalaz *Campylobacter jejuni* na površini visceralne šupljine i u dubini mesa kod zaklane živine, Veterinarski glasnik, 55, 1-2, 27-33, 2001. - 9. Ivanović Snežana: Kontaminacija mesa živine sa *Campylobacter jejuni* – epidemiološki značaj, Zbornik rezimea međunarodnog simpozijuma „Hrana u 21. veku”, Subotica, 2001. - 10. Kapperud G., Skjerve E., *et al.*: Epidemiological investigation of risk factor for campylobacter colonization in Norwegian broiler flocks. Epidemiol. Infect. 111, 245-255, 1993. - 11. King Elizabeth: The laboratory of *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio* isolated from cases of human vibriosis, Ann. N.Y. Acad., 8, 700, 1962. - 12. Milaković-Novak Ljubica: *Campylobacter fetus* spp. *jejuni* u peradi, nalaz u probavnom sustavu pilića u tovu i kokoši nosilica, Vet. Arh., 54, 4, 175, 1984. - 13. Oosterum J. *et al.*: Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing, J. Food prot., 46, 4, 339, 1983. - 14. Pranjčić Darinka, Živković J. i sar: Dokaz *Campylobacter jejuni coli* u trupovima zaklanih pilića u prometu na zagrebačkom tržištu, Tehnologija mesa, 11, 360, 1986. - 15. Rosef O., Kapperud S.: *et al.*: Serotyping *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis* from domestic and wild animals. App. Environ. Microbiol., 49, 6, 1507, 1985. - 16. Van de Giessen A., Mazurier S. *et al.*: Study on the epidemiology and control of *Campylobacter jejuni* in poultry broiler flocks. Appl. and Environ Microbiol. 58, 1913, 1992. - 17. Skovgaard A.: Raising of *Campylobacter* free broiler flocks. Report on a WHU consultation on epidemiology and control of *Campylobacteriosis*, Bilthoven The Netherlands, 141-146, 1994. - 18. Yusufi I. *et al*: Prevalence of *Campylobacter jejuni* at different sampling sites in two California turkey processing plants, J. Food prot., 46, 10, 868, 1983.

ENGLISH

FINDINGS OF CAMPILOBACTER JEJUNI/COLI IN SLAUGHTERED POULTRY ON SKIN AND VISCERAL SURFACES BEFORE AND AFTER WASHING

Snežana Ivanović

Examining the presence of *Campylobacter* spp. in domestic and wild animals, in particular in poultry, many authors have reached the conclusion that this is a zoonotic bacteria. Authors have found *Campylobacter jejuni* in the intestinal tract of healthy poultry. The technological processing of poultry carcasses, evisceration by hand of machine, plucking feathers and cooling in a spinchller, enable the easy transfer of *Campylobacter jejuni/coli* from the digestive tract contents or from the surface of the feathers to the carcass. Examining

ations in this work were performed on 80 smears taken from poultry skin following scalding and plucking, 80 smears from the visceral surface immediately after evisceration, and 80 smears from the visceral surface following washing. The samples were taken from the same broilers slaughtered in an industrial abattoir. For the isolation of *Campylobacter jejuni/coli* we used liquid and solid selective basess, and for identification we used the catalase test, hipurate dissolving test, and a growth temperature of 30.55 °C. *Campylobacter jejuni/coli* were found on skin in 75% cases, on the visceral surface before washing in 43.75% cases, while it was present on the visceral surface following washing in 38.75% cases.

Key words: *Campylobacter jejuni*, poultry, slaughter, plucking, evisceration

РУССКИЙ

РЕЗУЛЬТАТЫ САМПУЛОБАКТЕР JEJUNI/COLI У УБИТОЙ ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ НА КОЖЕ И ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЯХ ДО И ПОСЛЕ МЫТЬЯ

Снежана Иванович

Испытывая присутствие *Campylobacter* spp. у домашних и диких животных, а особенно домашних птиц, многие авторы пришли к выводу, что это зоонотическая бактерия. Авторы находили *Campylobacter jejuni* в интестинальном тракте здоровой домашней птицы. Технологический процесс обработки относящей к домашней птице туше, машинная или ручная эвисцерация, щипание перьев и охлаждение в спеехиллере делают возможным лёгкое перенесение *Campylobacter jejuni/coli* из содержимого пищеварительного тракта или с поверхности перьев на туши. Для испытания в этой работе пользовано 80 мазков, взятых с кожи цыплят после ошпаривания и щипания, 80 мазков с висцеральной поверхности непосредственно после эвисцерации и 80 мазков с висцеральной поверхности после мытья. Образчики взятые из таких же цыплят, убитые в промышленной бойне. Для изолирования *Campylobacter jejuni/coli* пользованы жидкая и твёрдая селективная среда, а для идентификации пользована проба каталазы, тест разлагания гипуратов и температур роста од 30,5°Ц. *Campylobacter jejuni/coli* на коже был присутствующий в 75% случаев, на висцеральной поверхности до мытья в 43,75% пока на висцеральной поверхности после мытья был присутствующий в 38,75% случаев.

Ключевые слова: *Campylobacter jejuni*, домашняя птица, убой, щипание перьев, эвисцерация

**IMUNSKI ODGOVOR PILIĆA NA KOKCIDIJALNU
INFEKCIJU***
*IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF CHICKEN TO COCCIDIAL
INFECTION*

**Tamara Ilić, Milijana Knežević, Sanja Aleksić-Kovačević,
Sanda Dimitrijević****

Izučavanje imunskog odgovora pilića na infekciju prouzrokovanu Eimeria spp. značajno je zbog toga, što suzbijanje ovog oboljenja predstavlja specifičan problem u uslovima intenzivne živinarske proizvodnje.

Dosadašnji rezultati u razvoju imunoprofilakse, kao i sumnja u dostupnost novih antikokcidijala, utiču na intenziviranje istraživanja u oblasti suzbijanja kokcidioze imunološkim metodama. Njihovo potpunije poznavanje može da doprinese uspešnijem iskorenjivanju bolesti, koja prati ekonomski značajnu intenzivnu proizvodnju mesa i jaja živine.

Detalji zaštitnih mehanizama, koji su se aktivirali u toku kokcidijalne infekcije, još uvek nisu u potpunosti objašnjeni, ali se zna da imunitet ćelijski posredovan ima dominantnu ulogu u odbrani domaćina od ovog uzročnika.

Ključne reči: pilići, E. tenella, CD₃-T limfociti

Karakter imunskog odgovora / Nature immunological response

Prema kokcidijalnoj infekciji limfociti pokazuju osetljivost na dva načina: proizvodnjom citokina i direktnim citotoksičnim dejstvom na inficirane ćelije. Međutim, egzaktni mehanizmi kojim T ćelije eliminišu parazite ostaju i dalje ne-

* Rad primljen za štampu 25. 9. 2003. godine

** Mr Tamara Ilić, asistent, dr Milijana Knežević, redovni profesor, dr Sanja Aleksić-Kovačević, vanredni profesor, dr Sanda Dimitrijević, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

jasni. U obzir dolazi intestinalni imuni sistem pilića, odnosno crevno limfoidno tkivo koje predstavlja specijalizovanu prvu liniju odbrane mukoznih površina, a obuhvata i imunoregulatorne i efektorske ćelije [4, 6].

GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) je deo imunog sistema MALT-a (Mucosal Associated Lymphoid Tissue) i njegova najvažnija funkcija je da obezbedi zaštitu od invazije i infekcije mukoznih površina izazvane stranim agensima. Obavljanje ovog zadatka zahteva postojanje normalne mukozne flore i sekrecije, kretanje putem peristaltike ili cilijarne aktivnosti i sekreciju izvesnih supstancija u ovom području kao što su: limfa, želudačni sok i žučne soli.

Veoma značajnu ulogu u lokalnoj odbrani crevne mukoze od invazije kokcijama imaju intraepitelni limfociti (IEL), čiji je izvestan broj kod pilića CD3 pozitivan i najranije se detektuju 6. dana posle izleganja. Intraepitelni limfociti (IEL) ptica su uglavnom T limfociti, od kojih većina na svojoj površini nosi receptore za CD8 antigen i s obzirom da su citotoksični limfociti, imaju značajnu ulogu u otpornosti na sekundarne infekcije [2].

Iako je dokazano da životinje inficirane *Eimeria* spp. proizvode parazit-specifična antitela u cirkulaciji i mukoznim sekretima, pokazalo se da antitela kao posrednici u imunom odgovoru, imaju manju ulogu u zaštiti od kokcijama [7].

Deo istraživanja obavljenih u našem radu, usmeren je na izučavanje ćelijskog imunskog odgovora u cekumima i Fabricijevoj burzi pilića, veštački inficiranih sa *E. tenella*. Istraživanje je bilo usmereno u ovom pravcu, s obzirom da su oblasti organizovanog limfatičnog tkiva u crevu ptica: Pajerove ploče (submukozni limfatični agregati), cecalne tonzile i bursa *Fabricii*. Rezultati do kojih smo došli tokom navedenih istraživanja, dobijeni su primenom odgovarajuće imunohistohemijske metode (DP- direktna peroksidaza). U okviru primenjene metode upotrebljen je komercijalni marker za humane T limfocite, s obzirom da humani antiserum prepoznaje filogenetski konzervisani deo CD3 - epsilon citoplazmatskog repa, detektujući T ćelije mnogih ptica i različitih sisarskih vrsta [3, 8].

CD3 kompleks stabilizuje antigenski receptor (čime se održava ispravna konformacija receptora) i dok antigenski receptor prepoznaje antigen CD3 obavlja transdukciju aktivacijskog signala kroz membranu u unutrašnjost ćelije, čime ostvaruje i veoma važnu ulogu u zaštiti od kokcijama [5].

Ustanovljeno je da postoji podudarnost u 40 posto (po nekim autorima i do 60 posto) amino-kiselinskih sekvenci transmembranskih i citoplazmatskih (intracelularnih) domena avijarnog i sisarskog CD3, što potvrđuju i naši imunohistohemijski nalazi. Upravo to ukazuje na visok stepen konzervacije ovih segmenata na T limfocitima živine, koji su u cekumima lokalizovani u najvećem broju intraepitelno, a u burzi su pretežno orijentisani intraepitelno i subepitelno (tj. neposredno uz retikulo-epitelni sloj ćelija).

Epitel koji oblaže mukozna tkiva ne predstavlja potpunu mehaničku prepreku za makromolekule i partikularne antigene. Oni mogu da prođu kroz specijalizovani limfoepitel koga čine M ćelije. Na taj način, povećava se mo-

gućnost interakcije antigena sa limfnim ćelijama koje su lokalizovane u mukozi [7].

Specijalizovani epitel selektivno propušta samo izvesne antigene, usled čega se prvobitni podsticaj za imunološke reakcije u mukozi najčešće javlja u MALT-u. Tokom patoloških procesa kod kokcidioza koji zahvataju epitelne površine, propustljivost može da se izmeni, što može da dovede do pojačane lokalne reaktivnosti na povećanu količinu antigena. Svojom sposobnošću da koncentriše antigen, MALT pojačava reakcije sa memorijom. Zato se parenteralnom imunizacijom jedinke retko postiže imunost mukoze, ako antigen ne dopre do nje (na primer u slučaju živih virusnih vakcina) ili ako mukoza nije bila prethodno izložena antigenu [1].

U crevima postoji razmena informacija, koja se ostvaruje migracijom efektorskih limfocita specifičnih za antigen, iz jednog regiona (Pajerovih ploča u crevu) u druge regione creva. Time može da se objasni zapažanje da imunizacija jednog dela mukoze creva, često dovodi do stvaranja antitela iste specifičnosti i u drugim područjima.

Iz ovoga može da se zaključi da će se ćelije aktivirane u predelu mukoze creva rasejavati po drugim mukoznim tkivima, gde će, ako naiđu na isti antigen, proliferisati i na taj način proširiti opštu zaštitu mukoze. Upravo zbog toga i zbog velike količine limfatičnog tkiva u crevima, najbolji način za postizanje sveobuhvatne imunosti mukoze bila bi oralna imunizacija.

Literatura / References

1. Daszak P.: Zoite migration during *Eimeria tenella* infection: parasite adaptation to host defences. *Parasitology Today*, 2, 67-72, 1999. - 2. Glick B.: A primer of selected avian immunological strategies. *International Poultry Symposium – Summit on Infectious Bursal Disease*, 3-4, 21-24, 1995. - 3. Ilić Tamara, Knežević, Milijana, Dimitrijević, Sanda, Nešić, V., Aleksić-Kovačević, Sanja: Istraživanje distribucije CD3-T limfocita u cekumima pilića eksperimentalno inficiranih sa *Eimeria tenella*. Prvi simpozijum poljoprivrede, veterinarstva i šumarstva „Strategija razvoja domaće proizvodnje”, Neum, 14 -17. maj, 2003. - 4. Lillehoj H. S., Trout J. M.: Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites. *Clin. Microbiol. Rev.*, 9, 349-360, 1996. - 5. Levkutova M., Revajova V.: The incubation period and reaction of one type of antibody to CD3 antigen in lymphocyte smears of different animals. *Acta Veterinaria*, 4, 203-206, 1997. - 6. Rothwell L., Gramzinski R. A., Rose M. E., Kaiser P.: Avian coccidiosis: changes in intestinal lymphocyte populations associated with the development of immunity to *Eimeria maxima*. *Parasite Immunology*, 17, 10, 525-533, 1995. - 7. Sharma M. J.: The structure and function of the avian immune system. *Proceedings of the XI-th International Congress of the World Veterinary Poultry Association*. Budapest, Hungary, 18-22, 229-230, 1997. - 8. Knežević Milijana, Aleksić-Kovačević Sanja, Božić Tatjana: Investigation of calves gut associated lymphoid tissue (GALT) using anti-human CD3 antibody. *Archive of Oncology*, 6 (Suppl.2), 45-46, 1998.

ENGLISH

IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF CHICKEN TO COCCIDIAL INFECTION

Tamara Ilić, Milijana Knežević, Sanja Aleksić-Kovačević, Sanda Dimitrijević

It is important to study the immunological response of chicken to infections caused by *Eimeria* spp. because control of this disease is a specific problem in conditions of intensive poultry production.

The details of the protective mechanisms which are activated in the course of a coccidial infection have still not been satisfactorily explained, but it is known that cell-mediated immunity plays a dominant role in defending the host from this agent.

Intra-epithelial lymphocytes (IEL) play a very important role in the local defense of intestinal mucosa from coccidial invasion. A certain number of IEL in chicken CD3 are positive and can be detected at the earliest on day 6 after hatching. Poultry IEL are mostly T-lymphocytes, most of which on their surface carry receptors for CD8 antigen, and since they are cytotoxic lymphocytes, they have an important role in resistance to secondary infection.

Key words: Chicken, *E. tenella*, CD3-T lymphocytes.

РУССКИЙ

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ЦЫПЛЯТ НА КОКЦИДИАЛЬНУЮ ИНФЕКЦИЮ

**Тамара Илич, Милияна Кнежевич, Саня Алексич-Ковачевич,
Санда Димитриевиц**

Изучение иммунологического ответа цыплят на инфекцию причинённую с *Eimeria* spp. значительно по причине, что подавление этого заболевания представляет собой специфическую проблему в условиях интенсивного птицеводческого производства.

Детали защитных механизмов, которые бывают активированы в течение кокцидиальной инфекции, всё ещё не вполне объяснены, но известно, что клеточный посредственный иммунитет играет доминирующую роль в защите хозяина от этого возбудителя.

Очень значительную роль в локальной защите кишечного микоза от инвазии кокцидиями имеют внутриэпителиальные лимфоциты (ВЭЛ), чьё известное число у цыплят ЦДЗ положительное и наиболее рано детектируются 6. дней после выведения. ВЭЛ птиц главным образом Т лимфоциты, из которых большинство на своей поверхности несёт рецепторы для ЦД8 антиген и принимая во внимание, что цитотоксически лимфоциты, имеют значительную роль в сопротивляемости на вторичные инфекции.

Ключевые слова: цыплята, *E. tenella*, ДЦЗ-Т лимфоциты

**NAJVAŽNIJI ASPEKTI IMUNOGENOSTI *EIMERIA* SPP.*
MOST IMPORTANT ASPECTS OF IMMUNOGENETY OF
EIMERIA SPP.**

Sanda Dimitrijević, Tamara Ilić**

Sve veći napredak u imunologiji i molekularnoj biologiji ukazuje na dve moguće varijante na kojima bi mogla da bude zasnovana profilaksa ovog oboljenja. Jedna je pronalaženje i primena efikasnije i pouzdane vakcine, a druga podrazumeva pasivnu imunizaciju putem maternalnih antitela. Mada je ona još uvek u domenu laboratorijskih istraživanja, pridaje joj se sve veći značaj.

Između pojedinih vrsta ejmerija kod ptica ne postoji unakrsni imunitet, zbog čega različite vrste ovog uzročnika kasnije mogu da dovedu do izbijanja bolesti, iako je prethodno stvoren imunitet na nekog drugog uzročnika iz roda Eimeria.

Jedina ozbiljna praktična alternativa primeni antikokcidijala u kontroli kokcidioze jeste imunoprofilaksa. Ovaj vid profilakse baziran je na primeni žive virulentne ili atenuirane vakcine, tako da vakcinisana jata daju 9,6 jaja više po jedinki, a mortalitet kod njih je smanjen u odnosu na jata koja su pod standardnim antikokcidijalnim programom.

Ključne reči: pilići, kokcidioza, vakcinacija

Uvod / Introduction

Primena standardnog antikokcidijalnog programa u profilaksi kokcidioze ograničena je iz nekoliko opravdanih razloga, među kojima su najvažniji: 1. mogućnost razvoja potpune ili parcijalne rezistencije na primenjene lekove, 2. potencijalni neželjeni efekti i 3. činjenica da neki antikokcidijali ostavljaju rezidue u živinskom mesu i jajima (što bitno umanjuje njihovu konzumnu vrednost).

* Rad primljen za štampu 25. 9. 2003. godine

** Dr Sanda Dimitrijević, vanredni profesor, mr Tamara Ilić, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Sve veći napredak u imunologiji i molekularnoj biologiji ukazuje na dve moguće varijante na kojima bi mogla da bude zasnovana profilaksa ovog oboljenja. Jedna je pronalaženje i primena efikasnije i pouzdane vakcine, a druga podrazumeva pasivnu imunizaciju putem maternalnih antitela. Mada je ona još uvek u domenu laboratorijskih istraživanja, pridaje joj se sve veći značaj.

Upravo zbog toga, jedina ozbiljna praktična alternativa primeni antikocidijala u kontroli kokcidioze jeste imunoprofilaksa. Ovaj vid profilakse bazira se na primeni žive virulentne ili atenuirane vakcine, tako da vakcinisana jata daju 9,6 jata više po jedinki, a mortalitet je kod njih smanjen u odnosu na jata koja su pod standardnim antikocidijalnim programom. Kao i kod svih drugih programa vakcinacije, i ovde je neophodno da se povede računa o potencijalnim činiocima koji mogu da utiču na neadekvatno stvaranje imuniteta.

Vakcine predstavljaju mnogo perspektivniju varijantu i pogodne su za kontrolu kokcidioze iz još nekoliko razloga:

1. infekcija prouzrokovana ejmerijama indukuje zaštitni imuni odgovor, koji se razvija relativno brzo i veoma je jak kod pojedinih vrsta;
2. kokcidijalna infekcija je ograničena, domaćin-specifična, uz postojanje rezervoara infekcije;
3. antigena kompozicija *Eimeria* spp. je relativno stabilna i pokazuje razlike samo kod nekih vrsta.

Imunogenost *Eimeria* spp. / Immunogenity of *Eimeria* spp.

Između pojedinih vrsta ejmerija kod ptica ne postoji unakrsni imunitet, zbog čega različite vrste ovog uzročnika kasnije mogu da omogućе izbijanje bolesti, iako je prethodno stvoren imunitet na nekog drugog uzročnika iz roda *Eimeria*.

Dužina trajanja stečenog imuniteta varira. Uslovljena je brojem uzastopnih inficiranja. Posle jednokratnog inficiranja pilići su zaštićeni od pojavljivanja kliničkih simptoma 42 do 63 dana. Ako se trokratno inficiraju pilići su zaštićeni od uginuća do šest meseci posle infekcije [5].

Starost jedinki je važan činilac koji utiče na razvoj otpornosti prema infekciji prouzrokovanoj sa *E. tenella*. Mlađe jedinke su podložnije nastanku infekcije, zbog toga što starije jedinke poseduju imunitet koji se vrlo brzo razvija, posle izlaganja dejstvu uzročnika, čime se dobija i adekvatna zaštita protiv kasnijeg pojavljivanja bolesti. Istraživanjima se dokazalo da pilići postaju osetljivi na kokcidijalnu infekciju sa dve nedelje života, a najveći stepen osetljivosti pokazuju u uzrastu od četiri nedelje. Postepeno povećanje otpornosti, na delovanje uzročnika iz roda *Eimeria* započinje kod pilića posle uzrasta od tri meseca [6].

Jačina stvorenog imuniteta uslovljena je intenzitetom infekcije, odnosno brojem unetih infektivnih oocista ovog uzročnika. U slučaju eksperimentalne infekcije prouzrokovane sa *Eimeria tenella*, unošenje 50 infektivnih oocista

ovog uzročnika štitilo je 10 posto jedinki od reinfekcije. Infekcija sa 3000 infektivnih oocista *E. tenella*, mogla je da zaštiti 90 posto jedinki od reinfekcije [4].

U eksperimentalnim uslovima kod pilića može da se indukuje imunitet protiv svih šest vrsta kokcidija, uz uočavanje postojećih značajnih razlika. Klinički imunitet se postiže i jednim inokulumom oocista, sa bilo kojom od pomenutih vrsta. U slučaju najimunogenije vrste *E. maxima*, jedan inokulum manjeg broja oocista (50 do 100) dovoljan je za stvaranje zaštitnog imuniteta. Najmanje imunogene su *E. tenella* i *E. necatrix*, za koje je potrebno barem tri inokuluma većeg broja oocista (sa rastućim brojem) za sticanje kompletnog imuniteta. Ostale vrste se nalaze između ova dva ekstrema [1].

Brzina kojom se razvija imunitet varira u zavisnosti od stepena imuniteta. Kod *E. maxima* delimičan imunitet je uočljiv već trećeg dana posle aplikacije imunizujućeg inokuluma. Kod manje imunogenih vrsta, za ovu pojavu treba i do dve nedelje. Trajanje imuniteta bez reinfekcije teško se određuje, ali se zna da varira sa veličinom i brojem imunizujućih inokuluma i iščezava posle nekoliko meseci.

Na intenzitet i trajanje imuniteta veoma bitno utiče i način aplikacije imunizujućeg inokuluma. Inokulumi koji sadrže mali, ograničen broj oocista, a svakodnevno se unose, tzv. „trickle” tip aplikacije, daleko su efikasniji nego isti ukupan broj dat jednokratno [3].

Za pomenute *Eimeria* spp. karakterističan je indukovani imunitet specifičan za vrstu, pri čemu nije poznat razvojni stadijum životnog ciklusa koji indukuje imunitet. Za *E. tenella* i *E. necatrix* aktivni patogen je, najverovatnije, šizont druge generacije. To znači da imunizacija materijalom u kome je obavljena terminacija životnog ciklusa, pre nego što su nastale patogene forme (čak i kada bi to bilo moguće), kao što je to slučaj kod nekih helmintskih vakcina, ne bi dala rezultate. U slučaju *E. maxima*, šizont druge generacije sadrži važne imunogene i nije patogen kao kasniji razvojni stadijumi. Zbog toga bi imunizacija ovim šizontima obećavala kvalitetnu vakcinu, bar teorijski. Nevolja je u tome, što ne postoje pouzdane metode za efikasno selektivno izolovanje ovog razvojnog stadijuma [2].

Literatura / References

1. Dimitrijević Sanda: Kokcidioza živine i načini preveniranja. Živinarstvo, 4-5, 99-101, 1997. - 2. Dimitrijević Sanda, Savovski K., Dimitrijević B.: Genotoxicity of the anti-coccidial agent salinomycin. Acta Veterinaria, 48, 4, 245-254, 1998. - 3. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara: Kokcidioza živine. Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 2003. - 4. Glick B.: A primer of selected avian immunological strategies. International Poultry Symposium- Summit on Infectious Bursal Disease, 3-4, 21-24, 1995. - 5. Rothwell L., Gramzinski R. A., Rose M. E., Kaiser P.: Avian coccidiosis: changes in intestinal lymphocyte populations associated with the development of immunity to *Eimeria maxima*. Parasite Immunology, 17, 10, 525-533, 1995. - 6. Sharma M. J.: The structure and function of the avian immune system. Proceedings of the XI-th International Congress of the World Veterinary Poultry Association. Budapest, Hungary, 18-22, 229-230, 1997.

ENGLISH

MOST IMPORTANT ASPECTS OF IMMUNOGENITY OF *EIMERIA* SPP.

Sanda Dimitrijević, Tamara Ilić

The increasing progress in immunology and molecular biology indicates two possible alternatives on which the prophylaxis of this disease could be based. One is to find and apply a more efficient and reliable vaccine, and the other implies passive immunization through maternal antibodies. Although this second is still in the stage of laboratory investigations, it is given increasing importance.

There is no cross immunity between certain species of *Eimeria* spp. in birds, which is why certain species of this causal agent can later lead to an outbreak of the disease, even though immunity had earlier been established to some other causative agent of the genus *Eimeria*.

Immunoprophylaxis is the only serious practical alternative to the application of anticoccidia in controlling coccidiosis. This form of prophylaxis is based on the application of a live virulent or attenuated vaccine, so that vaccinated flock yield 9.6 eggs more per animal, and mortality among them is reduced in comparison to flocks which are subjected to standard anticoccidial programmes.

Key words: Chicken, coccidiosis, vaccination

РУССКИЙ

САМЫЕ ВАЖНЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОГЕННОСТИ *EIMERIA* SPP.

Санда Димитриевич, Тамара Илич

Всё бóльший прогресс в иммунологии и молекулярной биологии указывает на две возможные варианты на которые бы могла быть основана профилактика этого заболевания. Один изобретение и применение более эффективной и надёжной вакцины, а другой подразумевает пассивную иммунизацию путём материнских антител. Хотя он всё ещё в области деятельности лабораторных исследований, придаётся всё большее значение.

Среди некоторых видов эймерий у птиц не существует крестообразный иммунитет, из-за чего различные виды этого возбудителя позже могут привести до выбивания болезни, хотя предварительно создан иммунитет на некоторого другого возбудителя из рода *Eimeria*.

Единственная серьёзная практическая альтернатива применению антикокцидиала в контроле кокцидиоза иммунопрофилактика. Этот вид профилактики базируется на применении живой вирулентной или аттенуированной вакцины, так, что вакцинированные стаи дают 9,6 яиц больше по единичному животному, а смертность у них уменьшена в отношении стай, которые под стандартной антикокцидиальной программой.

Ключевые слова: цыплята, кокцидиоз, вакцинация

**HEMATOM UŠNE ŠKOLJKE PASA (*Haemathoma auricularis*)*
*AURICULAR HEMATOMA (Haemathoma auricularis) IN DOGS*****M. Hadži-Milić****

Hematom ušne školjke predstavlja najčešću traumu ušne školjke kod pasa, a može da se javi i kod mačaka, mada dosta ređe. Uglavnom se javlja na konkavnoj strani ušne školjke. Nastaje kao posledica povrede usled toga što životinja često i naglo okreće glavu, što se najčešće dešava zbog već prisutnog zapaljenja spoljašnjeg ušnog kanala ili ranije nastale traume ušne školjke.

Krv se iz mehanički oštećenih krvnih sudova akumulira između kože i hrskavice ušne školjke, formirajući novostvorenu šupljinu hematoma. U terapiji hematoma ušne školjke, primenom konzervativne terapije ne postižu se zadovoljavajući rezultati. Zbog toga je indikovana što ranija primena hirurške terapije.

Postoji veći broj priznatih metoda, ali kao najbolja se pokazala incizija sa prošivanjem. Mogu da se primene različiti oblici incizije. Prava incizija, paralelna sa uzdužnom osom ušne školjke koristi se veoma često, ali kao incizija sa najboljim rezultatima pokazala se ona u obliku latiničnog slova „S”, pogotovo u preveniranju postoperativnih deformiteta.

Inciziju treba uraditi što pre, ako je moguće odmah posle postavljanja dijagnoze hematoma ušne školjke. Incizija mora da bude toliko dugačka koliko i sam hematoma. Koaptacija se uspostavlja postavljanjem pojedinačnih povratnih šavova sa potpunim prolaskom kroz sve slojeve ušne školjke. Šavovi moraju da budu postavljeni paralelno u odnosu na veće krvne sudove, odnosno uzdužnu osu ušne školjke. Šavni materijali kojima su postignuti najbolji rezultati su: Nylon 3-0, Maxon 2-0 ili eventualno Dexon 3-0. Igle koje mogu da se preporučite su: atraumatska prava ili špatulasta prava igla. Previjanje treba obavljati svakog trećeg dana. Šavovi se skidaju od 7. do 20. dana, zavisno od procene operatera, i stanja same rane.

Ključne reči: hematoma, haematoma, ušna školjka, aural hematoma, pas, mačka, hirurgija, uvo

* Rad primljen za štampu 7. 7. 2003. godine

** M. Hadži-Milić, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Hematom ušne školjke predstavlja najčešću traumu ušne školjke i u najvećem broju slučajeva javlja se kod pasa sa visećim ušima (baset, jazavičar i krvoslednik), a povremeno i kod pasa sa uspravnim ušima, kao i kod mačaka. Najčešće nastaje povređivanjem ili samopovređivanjem pod uticajem bola ili svraba, koji obično najčešće kao posledica povrede ili zapaljenja.

Razumevanje anatomskih struktura ušne školjke, kao i samog procesa stvaranja i razvoja hematoma ušne školjke uz sve njegove specifičnosti ima izuzetan značaj za pravovremenu primenu adekvatnih terapijskih postupaka, kako konzervativnih, tako i specifično hirurških, odnosno postavljanje odgovarajuće incizije radi sanacije patološkog procesa.

Anatomski uvod / Anatomic Introduction

Anatomski i funkcionalno, uvo može da se podeli u četiri dela – celine:

- ušna školjka (*auricula* lat., *pina* eng.),
- spoljašnji ušni kanal,
- srednje uvo i
- unutrašnje uvo.

Spoljašnjiji i najviše eksponirani deo uva je ušna školjka koja je kod pasa uspravna ili visi, a kod mačaka je kratka i uspravna. Sastavljena je uglavnom od hrskavičavog vezivnog tkiva koji joj daje oblik i čvrstinu, formirajući spoljašnji ušni kanal, kao i od slabo izraženog supkutisa i kutisa.

Aurikula ili ušna školjka poseduje rostralateralnu konkavnu površinu na kojoj nema dlaka ili ih ima u manjem broju i kaudomedijalnu konveksnu površinu obraslu dlakama. Aurikularna i skutiformna hrskavica formiraju spoljašnji ušni kanal i ušnu školjku.

Hirurški značajne strukture aurikularne hrskavice su: *helix*, *antihelix*, *tragus*, *antitragus*, *scapha* i *cavum conchae*. Za problematiku hematoma ušne školjke su posebno značajni *helix*, koji predstavlja rub ili ivicu ušne školjke i *scapha*, njen centralni deo.

Aurikularna hrskavica (*scapha*) poseduje veći broj otvora kroz koje prolaze krvni sudovi, prvenstveno grane velike aurikularne arterije i vene.

Velike aurikularne arterije predstavljaju grane spoljašnje karotidne arterije (a. *carotis externa*), a velike aurikularne vene predstavljaju grane unutrašnje maksilarne vene (v. *maxilaris interna*). Lateralne, intermedijalne i medijalne vaskularne grane (*ramus*-i) prolaze duž konveksne površine, prelaze preko ivice heliksa i direktno penetriraju skaflu da bi omogućili ishranu konkavnog epitela.

Drugi cervikalni nerv čini osnovu senzitivne inervacije konveksne površine, dok aurikotemporalne grane trigeminalnog nerva čine osnovu senzitivne inervacije konkavne površine aurikule. Spoljašnji ušni mišići su inervisani aurikularnom granom facijalnog nerva (aurikopalpebralno stablo).

Aurikularne i anularne hrskavice spoljašnjeg ušnog kanala formiraju hrskavičavu tubu koja je obložena pločasto slojevitim epitelom i slojem bogatim sebaceoznim (ceruminoznim) žlezdama (*gll. sebaceae*). Kanal se završava medijalno kod bubne opne (*membrana tympanica*). Medijalno od bubne opne nalazi se šupljina srednjeg uva u kojoj se nalaze slušne koščice povezane sa koštanim pužem koji je sa unutrašnje strane obložen trepljastim epitelom. Sa druge strane šupljine srednjeg uva nalazi se aparat za ravnotežu, kroz koji prolaze, kostnim tkivom obloženi nervi horde timpanike (nn. *Chordae tympanicae*).

Hematom ušne školjke (*Haemathoma auriculae*) predstavlja najčešću fizičku povredu ušne školjke. U većini slučajeva javlja se na konkavnoj strani ušne školjke. Grane velike aurikularne arterije koje prolaze kroz hrskavicu izvor su krvarenja.

Hematom ušne školjke nastaje kao povreda kada pas često tresse ili vrti glavu, češe se šapama, ili se češe o neki predmet, što je posledica već prisutnog zapaljenja spoljašnjeg ušnog kanala (*otitis externa*) različite etiologije, a ređe usled povrede, udarca, ugriza, vatrenog oružija, blast povrede ili pada. Od ostalih uzroka mogu još da se navedu i paraziti, alergije, tumori i proliferacije spoljašnjeg ušnog kanala, kao i strana tela. Stvarni uzrok iritacije ponekad nije moguće da se ustanovi.

Hematom nastaje kada nastane povreda, odnosno kada pod uticajem sila koje uzrokuju povrede ušne školjke nastaje ruptura ili prekid krvnih sudova koji prolaze preko ili i kroz hrskavicu ušne školjke, a uzrok je često i prelom ili rascep hrskavice.

Kada nastane krvarenje, ono se nastavlja sve dok se ne izjednači unutrašnji pritisak (pritisak unutar hematoma) i pritisak u krvnim sudovima koje ishranjuju uvo, odnosno datu regiju.

Krv se akumulira između kože i slojeva hrskavice ušne školjke, formirajući šupljinu hematoma.

Usled toga dolazi do odvajanja kože od hrskavice i to češće sa unutrašnje (konkavne), nego sa spoljašnje (konveksne) strane ušne školjke, što je navedeno u ranijem tekstu, a ne retko i obostrano, sa konkavne i konveksne strane ušne školjke, odnosno sa unutrašnje i spoljašnje strane aurikularne hrskavice.

Ako nastane dodatni pritisak na hematom, nastaće dalje raslojavanje tkiva, a time i mogućnost povrede drugih krvnih sudova, što posledično uzrokuje povećanje hematoma.

Na taj način obično dolazi do teških deformacija ušne školjke, koje ne retko ostaju trajne. Zato je u ovom slučaju indikovana što brža primena hirurške terapije, pošto konzervativna gotovo da ne daje nikakve rezultate.

Konzervativna terapija hematoma ušne školjke / *Conservative Therapy of Auricular Haemathoma*

Osnovna svrha primene konzervativne terapije je da se prevenira dalje povređivanje, što se postiže vezivanjem (fiksiranjem – previjanjem) uva preko glave, kao i pronaleženje i tretiranje uzroka, najčešće je to *otitis externa*.

Postoji veći broj priznatih metoda, ali ćemo na ovom mestu da navedemo samo one koje se najčešće koriste i sa kojima su postignuti najbolji rezultati, a to su:

– Aspiracija i drenaža /

Primena aspiracije i drenaže je u funkciji ubrzanja rezolucije, odnosno resorpcije hematoma. Aspiracija se obavlja sterilnom iglom, kojom može da se evakuiše hematom i obavi apozicija (priljublivanje) tkiva, ali samo ako se uradi neposredno posle nastanka hematoma. Sadržaj hematoma mora da se evakuiše isključivo uz primenu principa asepse i antiseptike. Ako se ponovo formira hematom, daljom primenom ove metode ne postižu se zadovoljavajući rezultati. Primena kompresionih zavoja je neophodna ako se želi uspešnost ove metode. Bez njih, mogućnost ponovnog formiranja hematoma je velika.

– Insercija „Penrose” drena /

Ova metoda se obavlja postavljanjem drena kroz incizije na suprotnim krajevima (donjem i gornjem) hematoma, sa obaveznom fiksiranjem uva. Drenažni sistem se ostavlja na mestu aplikacije najmanje dve nedelje. Može da se ostavi i duže kod pasa koji poseduju široku, dugačku i tanku ušnu školjku. U tom slučaju postoji verovatnoća da će se hematom resorbovati bez dalje hirurške intervencije.

Incizija u terapiji hematoma ušne školjke / *Incision in Therapy of Auricular haemathoma*

Incizije koje se najčešće koriste u sanaciji hematoma ušne školjke su:

– incizija bez prošivanja, sa fiksiranjem ili primenom kompresionog zavoja pri previjanju ušne školjke,

– incizija sa prošivanjem, korišćenjem šavova koji prolaze kroz sve slojeve ušne školjke i koji su paralelni sa rezom.

Pravi i potpuno opravdani razlog za hirurški pristup u rešavanju ovog problema je prevencija stvaranja ožiljnog tkiva različitog obima (*cicatrissatio*) koji najčešće dovodi do nepovratnih deformiteta ušne školjke, odnosno nepravilnog oblika i položaja uva (lomljenje i gužvanje uva). Ova komplikacija se javlja prvenstveno kod pasa sa uspravnim ušnim školjkama.

Postoje razne varijacije tehnike „incizije sa prošivanjem” koje se koriste za uspostavljanje apozicije dve strane hematoma, odnosno njihovo priljublivanje. To su tehnika „kroz” i „kroz sa potpunim prolaskom” (prošivanjem), i modi-

fikacije sa vezivanjem plastičnih cevčica šavovima koncima ili postavljanjem i prošivanjem rendgenskog filma sa obe strane uva. Ova poslednja tehnika može kompromituje drenažu hematoma, a time i normalno zarastanje rane, pa se ređe koristi.

Incizija sa prošivanjem svih slojeva (*Incision with stitching trough all layers*) uva po mišljenju većine stranih autora, kao i samog autora ovog teksta, predstavlja trenutno najcelishodniju metodu u rešavanju problema hematoma ušne školjke.

Incizijom se tretira hematom da bi se odstranio fibrin, i šivenjem spojilo razdvojeno tkivo. Ova metoda može da se koristi kod teških, velikih – mesnatih ušiju, kao i kod hroničnih hematoma. Mogu da se primene različiti oblici incizije. Često se koristi prava incizija, ali kao najuspešnija pokazala se ona u obliku latiničnog slova „S”, pogotovo u preveniranju postoperativnih deformiteta ušne školjke.

Najnoviji pristup hematomu ušne školjke je taj da incizija treba da se uradi što pre, bukvalno odmah posle postavljanja dijagnoze, a to prvenstveno zbog toga da ne bi došlo do daljeg uvećanja hematoma, a time i posledično većeg deformiteta ušne školjke, kao komplikacije. Incizija se postavlja korišćenjem skalpela. Ne preporučuje se elektroskalpel. U poslednje vreme dosta se koristi laser, mada ga većina autora ne preporučuje zbog ne baš uvek zadovoljavajućih rezultata.

Incizija mora da bude toliko velika (dugačka) koliko i sam hematom, od jednog, najvišeg, do drugog najnižeg kraja. Posle otvaranja hematoma, trebalo bi da se obavi kiretaža. Autor preporučuje gazu fiksiranu instrumentom, najčešće hvatalicom po Peanu, umesto kirete, odnosno oštre kašike. Posle završene kiretaže obavlja se ispiranje fiziološkim rastvorom.

Apozicija se uspostavlja postavljanjem pojedinačnih šavova sa potpunim prolaskom kroz sve slojeve ušne školjke, a paralelno sa većim krvnim sudovima, odnosno sa uzdužnom osom ušne školjke. Ovi šavovi predstavljaju jednu od varijanti madracašava. Šavovi se zatežu samo toliko koliko je neohodno da se tkivo spoji unutar hematoma, odnosno da nestanu prazni prostori (džepovi, šupljine). Sama rana nastala postavljanjem „S” reza ostaje nezašivena, prvenstveno radi bolje drenaže. Od šavnog materijala koji može da se preporučuje su: Nylon 3-0, Maxon 2-0, ili eventualno Dexon 3-0, a od igala atraumatska prava ili špatulasta prava.

Posle završetka intervencije je neophodno da se previje uvo i položi na dorzum glave ili vrat. Previjanje treba obavljati svakog trećeg dana. Šavovi se skidaju od 7 do 20. dana, zavisno od procene operatera, i stanja rane.

Literatura / References

1. Bojrab M.: Current Techniques in Small Animal Surgery. 3rd. ed. Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A., 1990. - 2. Harari J.: Small Animal Surgery. 193-196, Williams & Wilkins, Media, U.S.A., 1996. - 3. Harvey C.: Small Animal Surgery. Lippincott Co. Philadelphia, U.S.A., 1990. - 4. Schebitz H.: Operationen an Hund und Katze. 77-81, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, Germany, 1985. - 5. Slatter D.: Textbook of Small Animal Surgery. 1545-1547, 2nd. ed. W.B. Saunders, Philadelphia, U.S.A, 1993.

ENGLISH

AURICULAR HAEMATHOMA (*HAEMATHOMA AURICULARIS*) IN DOGS

M. Hadži Milić

Auricular hematoma presents the most frequent trauma of the auricula in dogs, and it can also occur in cats, although much less frequently. It mostly occurs on the concave side of the auricula. It appears as trauma when the animal turns its head often and suddenly, usually as a consequence of an already present inflammation of the outer ear canal or an already present trauma.

Blood is accumulated between the skin and cartilage layers of the auricula, forming a newly-formed hematoma cavity. The implementation of conventional therapy in the treatment of auricular hematoma does not yield satisfactory results. That is why it is advised to apply surgical therapy as soon as possible.

There is a large number of recognized methods, but incision with stitching has been proven to be the best one. Different forms of incisions can be applied, a straight incision is often used, but the one proven to be the most successful is the one shaped like the letter „S”, especially in preventing post-operative deformities. The incision should be done as soon as possible, literally immediately upon making the diagnosis. The incision must be as long as the hematoma itself. Aposition is established by placing individual stitches with penetration through all the layers of the auricula. The stitches must be made parallel to the bigger blood vessels, or the longitudinal axis of the auricula. The stitching materials that yielded the best results are: Nylon 3-0, Maxon 2-0, or possibly Dexon 3-0. The recommended needles are: atraumatic straight or spatular straight needle. Dressings should be changed every third day. Stitches are removed 7-20 days following surgery, as estimated by the veterinary surgeon, or depending on the condition of the wound itself.

Key words: dog, ear, auricula, haemathoma

ГЕМАТОМА УШНОЙ РАКОВИНЫ СОБАК (*Haemathoma auricularis*)

М. Хаджимилич

Гематома ушной раковины представляет собой наиболее частую травму ушной раковины у собак, может явиться и у кошек, хотя достаточно реже. В основном является на вогнутой стороне ушной равины. Возникает как повреждение, когда животное часто и стремительно поворачивает голову, что обычно случается как последствие уже присутствующего воспаления внешнего ушного канала или раньше возникшей травмы ушной раковины.

Кровь аккумулируется среди кожи слоёв хряща ушной раковины, формируя недавно созданную полость гематомы. В терапии гематомы ушной раковины применение консервативной терапии не даёт удовлетворяющие результаты. Вследствие этого индцировано чем раннее применение хирургической терапии.

Существует более большое число признанных методов, но как самый хороший показался инцизия с прошиванием. Могут примениться различные формы инцизии, часто посьзается прямая инцизия, но как самая успешная показала та в виде латиничной буквы „S”, тем более в превенировании послеоперативных деформитетов. Инцизию надо сделать чем раньше, буквально немедланно по поставлению диагноза ушной раковины. Инцизия должна быть столько длинная сколько и сама гематома. Приложение установливается поставлением отдельных швов с полным прохождением через все слои ушной раковины. Швы должныбыть поставленны параллельно в отношении бóльших кровяных сосудов, точнее продольную ось ушной раковины. Шовные материалы, которыми достигнуты самые хорошие результаты: Nylon 3-0, Maxon 2-0, или эвентуально Dexon 3-0. Иглы, которые могут рекомендоваться: атравматическая прямая, или шпательная прямая игла. Перевязывание надо сделать каждого третьего дня. Швы снимаются от 7 до 20-ого дня, зависимо от оценки оператора, и состояния самой раны.

Ключевые слова: гематома, ушная раковина, собака, кошка, хирургия, ухо

PRILOG FORENZIČKOJ PROCENI DERMANISOZE
(*Dermanyssosis*)^{*}
CONTRIBUTION TO FORENSIC EVALUATION OF DERMANYSSOSIS

A. Pavličević, S. Petričević, I. Pavlović, N. Stajković, A. Pižurica^{**}

Crvene kokošije grinje (Dermanyssus gallinae) uzročnik su dermanisoze, značajnog zdravstvenog i ekonomskog problema živine, mane koja može da bude skrivena. Kokošije grinje su problem i ambijenta i jata. Način unošenja bolesti u jato može da bude pojedinačan ili višestruk. Rad sugeriše pristup problemu, dajući neophodne instrukcije kako bi se bolest otkrivala na vreme, kada je moguće da se uspostave uzročno-posledične veze. Metoda za rano otkrivanje crvenih kokošijih grinja skraćuje period apsolutne skrivenosti bolesti u naseljenim živinarnicama i, sa ostalim savetovanim merama, pomaže da se otkriju grinje u transportima kokošaka. Ispravan pristup lekara veterinarske medicine i proizvođača prema dermanisozi (Dermanyssosis) preduslov su ispravnoj forenzičkoj proceni. U suprotnom, omogućava se dalje širenje kokošijih grinja u jatima i između jata, nastanak i dalje povećavanje šteta.

Ključne reči: Dermanyssus gallinae, dermanisoza, forenzička procena

Uvod / Introduction

Živinarstvo, kao najintenzivniju granu stočarske proizvodnje u našoj zemlji, karakterišu česti kupoprodajni odnosi. Ovi odnosi često nameću i probleme, a neki od njih se ne primete odmah [12, 31].

* Rad primljen za štampu 7. 7. 2003. godine

** Aleksandar Pavličević, DVM, AVES DOO, Palić; mr sci. Saša Petričević, samostalni stručni saradnik, Galenika AD, Beograd; dr sci. Ivan Pavlović, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sci. Novica Stajković, profesor, Vojnomedicinska akademija, Beograd; Aleksandar Pižurica, DVM, Veterinarski zavod Subotica, Subotica

Poslednjih nekoliko godina živinarstvo Srbije i Crne Gore suočilo se sa naglim širenjem ektoparazita živine *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), kod nas poznatog pod nazivom tekut ili crvena kokošija grinja [22, 25, 27, 28]. Posledično, stvorene su velike materijalne štete, prvenstveno u intenzivnim sistemima kod nosilja jaja za konzum. Zbog značaja ove široko rasprostranjene parazitoze, našli smo da je korisno da skrenemo pažnju na važna pitanja koja nameće forenzička procena dermanisoze.

Kupovinom mladog jata nosilja, kupoprodajni odnosi se često regulišu ugovorom. Ugovor je izvor obligacionih odnosa, a delo je stranaka koje ga stvaraju saglasnošću svojih volja. Svako činjenično stanje, obaveze za naknadu mora da sadrži: štetnu činjenicu, nedopuštenu štetu, uzročnu vezu između štetnog događaja i štete, i odgovornost [11, 12]. Štete se sastoje iz 1. materijalne štete: obične štete i izmakle koristi, i 2. nematerijalne štete.

Veštačenje se izvodi radi utvrđivanja ili razjašnjenja nekih činjenica. Veterinar je, zbog prirode svog posla, često angažovan na poslovima veštačenja, odnosno forenzičkoj proceni pojedinih bolesti i mana životinja. Cilj veštačenja je da pomogne oko utvrđivanja pozitivne činjenice ili materijalne istine, pri tome se služi metodama: 1. kliničkim pregledom, 2. obdukcijom leša, 3. laboratorijskom analizom, 4. hemijsko-toksikološkim ispitivanjem, 5. zoohigijenskim ispitivanjem, 6. veštačenjem na osnovu sudskih spisa i 7. specijalnim metodama veštačenja [11, 12, 31].

Klinički pregled može da bude opšti i specijalni. Prilikom sporova najvažnije je da se utvrdi: 1. dijagnoza, 2. skrivenost, 3. procena trajanja i 4. znatnost bolesti.

Dijagnoza / *Diagnosis*

Da bi se ovo parazitsko oboljenje dijagnostikovalo neophodno je da se utvrdi prisustvo grinja, a zatim obavi njihova identifikacija. Radi utvrđivanja prisustva kokošijih grinja u jatu potrebno je da se prikupe anamnestički podaci, primeni metoda za rano otkrivanje crvenih kokošijih grinja, obavi klinički pregled jata, patomorfološki pregled, pregled kaveza i opreme, kao i pregled transportnih kaveza [9, 19, 20, 21, 30].

Anamnestički podaci su veoma bitni za postavljanje sumnje na kokošije grinje. Osim prikupljanja relevantnih podataka od značaja za problem, važno je da se upute radnici da prilikom manipulisanja sa živinom obavezno prijavljuju „milenje”, odnosno kretanje parazita po rukama. Pre nego što se pojavi klinički manifestna dermanisoza, kokošije grinje u jatu mogu da se ustanove metodom za rano otkrivanje kokošijih grinja [28, 30]. Metodom za rano otkrivanje skraćuje se period apsolutne skrivenosti dermanisoze. Kliničkim pregledom živine, prvenstveno noću i uz svetlost lampe, traži se prisustvo crvenih kokošijih grinja. Kokoške se pregledaju razgrtanjem perja, kada se traže adulti tekuti [1, 4, 22].

Danju se zapažaju posledice infestacije: anemičnost, uznemirenost živine, prisustvo crvenih mrlja i kokošijih grinja na jajima. Patomorfološkim pregledom uginulih kokošaka sumnjivih na dermanisozu, pažnja se usredsređuje na pregled kože (razgrtanjem perja), anemičnost živine, kao i na opšti izgled uginule kokoške. Osim masovne pojave grinja ispod perja „svežih leševa”, kokošije grinje mogu da se nađu u ustima, ždreću, jednjaku, voljci, grkljanu, nosnom otvoru i ušnom kanalu [14, 22, 33, 34].

Kavezi i oprema se pregledaju sistematski, sa posebnom pažnjom na skrovića mesta, kako bi se zapazile nakupine kokošijih grinja koje se po izgledu često poredе kao „biber i so”. Skrovića mesta se pretražuju nožem, na čijem se vrhu pozitivan nalaz ispoljava krvavim tragom. Mnogo je efektnije da se i kavezi pregledaju noću. Zamke od valovitog kartona su efikasno i pogodno sredstvo za dokazivanje prisustva kokošijih grinja i praćenje trenda populacije dermanisozu u živinarstvu. Neki autori, radi otkrivanja grinja, savetuju da se postavljaju bele platnene krpe na kavezima [19, 20].

Velike populacije kokošijih grinja lako su uočljive u obliku velikih nakupina na kavezima, opremi, uginuloj živini, jajima i podlošćima. Pregledom jata nalazi se izražena prethodno opisana klinička slika. Kokošije grinje u takvim slučajevima intenzivno smetaju i ljudima – radnicima. Neki put se jasno oseti i njihov tipičan miris. Ovo je slika klinički manifestne dermanisoze [13, 26].

Transportni kavezi za kokoške treba da se pregledaju pri svakoj njihovoj upotrebi, kako za naseljavanje, tako i za iseljenje živine. U oba slučaju kokošije grinje mogu da se unesu na farmu. Transportni kavezi pregledaju se otresanjem na papir, za šta je najprikladniji rasparan papirni (natron) džak u koji se pakuje hrana za živinu. Materijal iz transportnih kaveza se koristi u metodi za rano utvrđivanje prisustva crvenih kokošijih grinja, koja se za slučaj transporta radi na licu mesta i očitava na očigled dobavljača. Radnicima se daju instrukcije kako bi vlasnika upoznali sa svojim zapažanjima prilikom manipulisanja sa kokoškama i transportnim kavezima. Bez obavljenih instrukcija kod naseljavanja jata, proizvođač se posle useljenja kokošaka suočava sa periodom apsolutne skrivenosti bolesti. Relativna skrivenost traje više vremena, najčešće tri meseca ili duže [6, 14, 30].

Crvene kokošije grinje *D. gallinae*, hematofagne su artropode. Telo grinja, idiostoma, nesegmentisana je, kruškolikog do jajastog oblika, sa jednim dorzalnim i dva ventralna štita. Preostali deo idiostome prekriva mekana i tanka kutikula. Imaju četiri para ekstremiteta. Dimenzije mužjaka su oko 0,6 mm, ženke od 0,7 do 0,75 mm gladnih, a i do 2 mm posle sisanja krvi. I boja kokošijih grinja uslovljena je periodom gladovanja i u rasponu je od crvene i crne kod nahranjenih, do bele i sive boje kod gladnih [2, 3, 4, 15, 18, 35].

Ipak, naročito kod sporadičnog nalaza sumnjivih grinja, zbog mogućeg prisustva saprofitskih grinja najsigurnije je da se dijagnoza postavi slanjem sumnjivog uzorka u ovlašćene institucije, kako bi se dobilo mišljenje parazitologa.

Za tu priliku sumnjive grinje se stave u 76% alkohol ili 10% formalin. Pojedinačni nalaz može jednostavno, laganim dodiranjem da se zalepi na selotejp traku [21, 22].

I pored svih savetovanih postupaka nije moguće uvek da se otkriju crvene kokošije grinje u jatu. To je vreme skrivenosti bolesti.

Skrivenost / *Unrecognizable*

Dužina prepatentnog perioda istovremeno je period skrivenosti bolesti. Navike da su aktivne noću, a da se tokom dana skrivaju u pukotinama i skrovnim mestima, njihove male dimenzije i mali broj tek unete populacije kokošijih grinja u jato, odnosno živinarnik, uzrokuje period skrivenosti. Period skrivenosti dermanisoze u prisustvu živine je od jednog do tri meseca. U praznom objektu, kavezima i opremi traje duže, dok god se ne naseli živina i ne prođe navedeni period. O periodu skrivenosti crvenih kokošijih grinja može da se govori samo kod malih populacija grinja.

Postoji mogućnost da se kokošije grinje već nalaze u živinarniku. Mere čišćenja, pranja i dezinfekcije desetkuju populaciju grinja, ali ih ne uništavaju. U praznom živinarniku kokošije grinje mogu dugo da prežive. U literaturi se opisuju različiti podaci, ali po iskustvima u našoj praksi mogu da prežive i do godinu i po dana. Naučno je dokazano da odrasle jedinke (adulti) podnose period gladovanja koji traje 9 meseci, a razvojni oblik protonimfe najmanje pet meseci [15, 18, 20, 21]. I savesnim detaljnim pregledom kaveza paraziti ne mogu uvek da se pronađu. Naročito je problem manji broj kokošijih grinja u velikim živinarnicima posle dužeg perioda „odmora” objekta. To je period skrivenosti.

Kokošije grinje mogu da se unesu kupovinom zaraženog jata, korišćenjem zaraženih transportnih kaveza, posle naseljavanja upotrebom polovne ambalaže, kupovinom zaraženih polovnih kaveza za eksploataciju nosilja, mogu da ih unesu osoblje, divlje ptice i glodari [29, 30].

Momenat naseljavanja mladog jata najrizičniji je za pojavljivanje bolesti. Grinje su često skrivene u odgoju, gde najčešće nisu klinički manifestni problem, ali su izvor bolesti za kasniji period eksploatacije.

Kokošije grinje se često nalaze na transportnim kavezima. Ako su masovno infestirani, prilikom manipulacije radnici osećaju kretanje – miljenje kokošijih grinja po rukama. Manji broj kokošijih grinja može da ostane neotkriven [28, 29, 30].

Polovna ambalaža jedan je od najznačajnijih činilaca u širenju kokošijih grinja. Ambalaža kao podloga odgovara kokošijim grinjama, pri tome često su zaklonjene i prispelim nečistoćama, upalim perjem, a rado se uvlače i u razlupana jaja. Zbog adaptacionih mehanizama, izgledne grinje su bele ili sive boje, manjih dimenzija – teško su uočljive za laike, dok god se masovno ne pojave. Tada izazivaju miljenje po rukama radnika.

Procena trajanja / *Estimated duration*

Vreme trajanja bolesti obuhvata što preciznije određivanje kao što su: 1. dužina trajanja inkubacije, odnosno prepatentnog perioda, 2. vreme razvoja patoloških procesa i stanja i 3. dužina kliničkog toka bolesti.

Rast populacija crvenih kokošijih grinja je brz. To je najviše posledica kratkog razvojnog ciklusa koji, u optimalnim uslovima, može da traje samo 7 dana [15, 18, 34, 35]. Dakako, rast populacije uslovljen je sezonskom dinamikom, ambijentalnim okolnostima: temperatura, vlažnost, izvor hrane, mere kontrole i uslovi držanja. Za procenu trajanja koriste se anamnestički podaci, procena ekstenziteteta, intenziteteta i rasprostranjenosti populacije crvenih kokošijih grinja. Procena trajanja dermanisoze često je komplikovana.

Znatnost / *Abundance*

Mana je znatna u svim slučajevima kada je izgubljena ili smanjena upotrebna vrednost živine. Dermanisoza je znatna mana. Crvene kokošije grinje kod živine izazivaju:

1. stres, izazvan neposredno iritacijom, kretanjem grinja po koži i bodenjem, a posredno prenošenjem infekta i tretmanima kokošijih grinja,
2. smanjenu otpornost koja je posledica stresa i anemije,
3. hroničnu posthemoragijsku anemiju, kokošije grinje sisanjem krvi živine uzrokuju smanjenje broja eritrocita, sa fizioloških 3,1 miliona njihov broj može da se spusti na 1,2 miliona,
4. potencijalni su vektori bakterijskih i virusnih agenasa: *Salmonella* spp., kolere, borelioze, virusa boginja živine, virusa encefalomijelitisa konja, a veruje se i *Erysipelothrix rhusiopathiae*,
5. *Otitis externa*, koji gotovo uvek prati jake infestacije,
6. pad nosivosti do 12 posto. Treba imati u vidu da se mali pad nosivosti kao, na primer, jedno jaje po kokoški, ne primeti, ali imajući u vidu i naš izveštaj od 2001. godine da je 80 posto jata infestirano oko pet miliona nosilja u Jugoslaviji i tako minimalizovane štete su velike, pad nosivosti zavisi od brojnosti populacije grinja, kao i od potencijala samog jata,
7. povećana uginuća,
8. povećane troškove proizvodnje, koji su uvećani cenom tretmana kontrole kokošijih grinja, potpunom terapijom, otežanim plasmanom jaja zbog nalaza na jajima krvavih mrlja i grinja, što izaziva odbojnost kupaca.

Mlade ptice teže podnose infestaciju od starijih. Štete u jatu uveliko zavise od ekstenziteteta i intenziteteta populacije kokošijih grinja. Zbog velike brzine rasta populacije unete kokošije grinje za nekoliko meseci postaju višestruko štetne. Osim što štete samom jatu, kokošije grinje otežavaju radne uslove zaposlenog osoblja na farmi, a neki put ubadaju i radnike. Retko, kod ljudi mogu da izazovu i alergijsku reakciju, tešku iritaciju i dermatitis. Dokazan je *otitis externa*,

profesionalno oboljenje uzgajivača zbog infestacije *D. gallinae* [26, 27, 33, 34]. Često, dermanisoza se komplikuje sa drugim nutritivnim i zdravstvenim problemima, što još više uvećava ekonomske gubitke i znatnost ove bolesti.

Literatura / References

1. Abasa R. O.: J. Econ. Entomol. 62, 1075-1076, 1969. - 2. Ables J. R., Shepard M.: Can. Entomol. 108, 841-844; 1976. - 3. Ables J. R., Shepard M., Holman J. R.: Environ. Entomol. 5, 329-332; 1976. - 4. Axtell R. C.: Arthropod pest of poultry, Ch. 16, 269-295, U: R.E. Williams, R.D. Hall, A.B. Bruce and P.J. Scholl: Livestock Entomology, Willey and sons ed. New York; 1985. - 5. Axtel R. C., Ardu J. J.: Ann.Rev.Entomol. 35, 101-126, 1990. - 6. Chauve C.: Vet.Parasitol. 79, 239-245, 1998. - 7. De Vaney J.: Poultry sci. 57, 1217-1220, 1978. - 8. De Vaney J.: Poultry Sci. 65, 649-653, 1986. - 9. Durden L. A., Linthicum K. J., Turell M. J.: J Med Entomol. 29, 1, 118-121, 1992. - 10. Durden L. A., Turell M. J.: J Med Entomol 30, 3, 639-41, 1993. - 11. Đukić Branislava: Sudska veterinarska medicina, 1991. - 12. Đukić Branislava, Vicković D.: Sudska veterinarska medicina, DGP Budućnost, Zrenjanin, 2001. - 13. Hoglund J., Nordenfors H., Uggl A.: Poultry Sci. 74, 1793-1798, 1995. - 14. Hofstad M. S.: Disease of Poultry, Iowa State University Press, 1979. - 15. Kettle D. S. (editor): Acari – Prostigmata and Gamasida In: Medical and Veterinary Entomology, CAB International, Wellingford, UK, 1993. - 16. Kirkwood A. C.: Vet. Rec. 80, 514-516, 1968. - 17. Kirkwood A. C.: Exp. Appl. Entomol. 11, 315-320, 1968. - 18. Little V. A.: General and applied entomology, Academic Press, New York-Evanston-San Francisco-London, 1972. - 19. Nordenfors H., Hoglund J., Uggl A.: J. Med. Entomol. 36, 68-72, 1999. - 20. Nordenfors H.: Epidemiology and Control of poultry red mite *Dermanyssus gallinae*, PgD thesis, Swedish University of Agricultural Science, Upsala, 2000. - 21. Pavlović I., Hudina V., Blažin Vesna, Ilić Živka, Miljković Biljana: Vet. glasnik 42, 9, 581-564, 1988. - 22. Pavlović I., Hudina V., Blažin Vesna, Ilić Živka, Miljković Biljana: Vet.glasnik 42. 10, 643-648, 1988. - 23. Pavlović I., Nešić Dragica: Vet.glasnik 45, 3-4, 245-247, 1991. - 24. Pavlović I., Vojinović Dragica, Kulišić Z.: Acta Vet. 45, 1, 49-52, 1995. - 25. Pavlović I., Milutinović Marija, Kulišić Z.: Zbornik rezimea XII skupa entomologa Jugoslavije, Subotica-Palić, 45., 1995. - 26. Pavlović I., Pavličević A.: Zbornik radova stručnog skupa konla štetnih organizama u urbanoj sredini, Beograd, 123-126.2002. - 27. Pavličević A., Pavlović I., Pižurica A., Joksimović Svetlana: Zbornik radova IV jugoslovenskih epizootioloških dana sa međunarodnim učešćem, Mataruška Banja, 249-250, 2002. - 28. Pavličević A., Pavlović I., Stajković N., Pižurica A.: Zbornik radova savetovanja V epizootiološki dani, sa međunarodnim učešćem, Subotica, 304-305, 2003. - 29. Pavličević A., Pavlović I., Stajković N., Pižurica A.: Zbornik radova XIV savetovanja DDD u zaštiti životne sredine sa međunarodnim učešćem, Subotica, 2003. - 30. Pavličević A., Pavlović I., Stajković N., Pižurica A.: Programska kontrola crvene kokošije grinje (*Dermanyssus gallinae*) – uputstvo proizvođačima, Živinarstvo XXXVIII, 3-4, 39-41, 2003. - 31. Petrićević S., Đukić Branislava: Forenzička procena bolesti i mana živine, Kruševac, 2002. - 32. Prins M., Go I. H., van Dooren-Greebe R. J.: Ned Tijdschr Geneesk 140, 51, 2550-2552, 1986. - 33. Rossiter A.: J Laryngol Otol. 111, 4, 366-367, 1997. - 34. Simić Č., Živković Vera: Artropodi, paraziti čoveka i domaćih životinja, Naučna knjiga, Beograd-Zagreb, 1958. - 35. Soulsby E. J. L.: Heminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animal, Baillier, Tindall and Cassell ed. London. 1977.

ENGLISH

CONTRIBUTION TO FORENSIC EVALUATION OF DERMANYSSOSIS

A. Pavličević, S. Petričević, I. Pavlović, N. Stajković, A. Pižurica

Red chicken mites (*Dermanyssus gallinae*) are the cause of dermanyssosis, a major health and economic problem in poultry that is not necessarily evident. Chicken mites are a problem of both the environment and the flock. The manner in which the disease infiltrates a flock can be individual or multiple. The paper suggests an approach to this problem, giving the necessary instructions to detect the disease on time, when it is still possible to establish the cause-and-effect links. The method for the early detection of red chicken mites shortens the period when the disease is absolutely unrecognizable in the flock, and, in addition to other recommended measures, helps detect mites in chicken transports. A correct approach by doctors of veterinary medicine and manufacturers toward dermanyssosis is a precondition for its correct forensic evaluation. Unless this is done, chicken mites will continue to spread within a flock and among flocks, to occur and result in ever greater damages.

Key words: *Dermanyssus gallinae*, dermanyssosis, forensic evaluation

РУССКИЙ

ПРИЛОЖЕНИЕ СУДЕБНОЙ ОЦЕНКЕ ДЕРМАНИСОЗА (*Dermanyssosis*)

А. Павличевич, С. Петричевич, И. Павлович, Н. Стайкович, А. Пижурца

Кишечные куриные моли (*Dermanyssus gallinae*) возбудитель дерманисоза, значительной и экономической проблемы сельскохозяйственных птиц, порока, который может быть скрытый. Куриные моли проблема и окружения и стада. Способ внесения болезни в стадо может быть отдельный или многосложный. Работа внушает подход проблеме, дая необходимые инструкции как бы болезнь открылась вовремя, когда возможно установить причинно-следственные связи. Метод для раннего открытия кишечных молей сокращает период абсолютной скрытости болезни в населённых птичниках и, с остальными совещательными мероприятиями, открытию молей в транспортах кур. Исправный подход врачей ветеринарной медицины и производителей к дерманисозу (*Dermanyssosis*) предварительное условие исправной судебной оценке. В противном, да даётся возможность далее расширение куриных молей в стадах и среди стад, возникновение словно и далее увеличение ущербов.

Ключевые слова: *Dermanyssus gallinae*, дерманисоз, судебная оценка

Prof. dr Drago Šabec:

**BARVANI ATLAS BOLEZNIH PRAŠIČEV /
A COLOR ATLAS OF SWINE DISEASES**

Izdavač: Littera picta d.o.o., Ljubljana, 2002. godine

Dobro stručno informisanje predstavlja preduslov u prepoznavanju, preventivi i suzbijanju mnogih bolesti. Iz tih razloga se, pored udžbenika, monografskih i drugih naučno-stručnih izdanja kao neophodne literature, javljaju atlasi, u kojima se prikazuju bolesti pojedinih vrsta životinja ili etiološka slika uzročnika oboljenja. Oni kao vizuelno pomoćno nastavno sredstvo predstavljaju značajnu dopunu za studije bolesti. Veterinarska medicina, za razliku od humane medicine, stalno je deficitarna u ovoj oblasti, pogotovo u našoj zemlji (ako se izuzme Atlas patomorfoloških promena bolesti svinja i Atlas bolesti živine, V. Ivetića i sar).

Tokom 2002. godine oblast biologije obogaćena je jednim ovakvim delom. U izdanju **Littera picta d.o.o.** iz Ljubljane izašao je **BARVANI ATLAS BOLEZNIH PRAŠIČEV / A COLOR ATLAS OF SWINE DISEASES** autora **dr Draga Šabeca**, profesora na Katedri za bolesti svinja Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Ljubljani.

Atlas je osmišljen da predstavlja svojevrsan priručnik kliničke i morfološke dijagnostike bolesti svinja. Atlas ima 20 poglavlja: visokokontagiozne febrilne virusne bolesti, kontagiozne polisistemske bolesti; kožne bolesti; povrede papaka, kože i potkožja, bolesti centralnog nervnog sistema; bolesti digestivnog trakta; lezije i distopije digestivnih organa; bolesti urogenitalnog trakta; bolesti vimena; slaba konformacija nogu; gnojne infekcije lokomotornog sistema; prelomi kostiju; degenerativne osteoartrofije; nutritivne bolesti; trovanja; genetska oboljenja i nasledne razvojne abnormalnosti; nenormalna ponašanja; raznovrstna infektivna i parazitska oboljenja i raznovrsne bolesti nastale usled nepoznate etiologije. Za razliku od drugih sličnih izdanja, posebnu vrednost ove knjige predstavljaju poglavlja koja prikazuju sistemska oboljenja svinja nastala usled genetskih oboljenja i naslednih razvojnih abnormalnosti, slabog kondicionog stanja ili pri lošem držanju životinja, što omogućava njihovo lakše dijagnostičko praćenje.

Atlas sadrži ukupno 522 kolor fotografije koje je uradio sam autor i više autora iz Slovenije i drugih zemalja, uključujući naše stručnjake iz ove oblasti (A. Lončarević, V. Ivetić, I. Pavlović i drugi) koji su citirani na početku Atlasa. U Atlasu su, pored slika obolelih životinja i makropatoloških nalaza, prezentovane i histopatološke fotografije i slike pojedinih uzročnika oboljenja. Fotografije prati dobro usklađen tekst, koji na jasan i stručan način opisuje prikazana patološka stanja i kliničku sliku oboljenja.

Gledano u celini, navedeni **BARVANI ATLAS BOLEZNIH PRAŠIČEV/ A COLOR ATLAS OF SWINE DISEASES** je delo koje ravnopravno može da se poredi sa dosada objavljenim publikacijama ove vrste u svetu. Atlas je objavljen u dvojezičnom izdanju – slovenačkom i engleskom, što mu omogućava primenu izvan slovenačkog govornog područja. Zahvaljujući tome, predstavlja delo koje može da se preporuči svim stručnjacima iz oblasti higijene – kako veterinarima u praksi ili inspekciji, tako i studentima veterine i odgajivačima svinja.

**Dr Ivan Pavlović, viši naučni saradnik
Naučni institut za veterinarstvo Srbije**

M. R. Predojević
„OSEMENJAVANJE GOVEDA”,
Beograd 2002.

Iz štampe je izašla knjiga „OSEMENJAVANJE GOVEDA” autora dr Mirka Predojevića, profesora Temišvarskog univerziteta, Rumunija. Knjiga je pisana na srpskom jeziku, u obimu 180 strana, bogato ilustrovana (slika 32; tabela 16). Tekst donosi obilje potrebnog znanja – činjenica, dosadašnja stečena korisna iskustva iz same prakse osemenjavanja goveda. Inače, knjiga je korisna čitaocu zato što osemenjavanje može bolje da se nauči, odnosno da se uspješnije primenjuje u praksi. Tekst knjige sadrži potrebne činjenice – znanje iz oblasti: reproduktivne anatomije, fiziologije, endokrinologije, krioprezervacije semena, kao i njihovog spermatoškog kvaliteta. Podeljena je u tri poglavlja:

Opšti deo

- anatomija reproduktivnog sistema (bika) krave,
- reproduktivna fiziologija i endokrinologija,
- neuro-endokrina regulacija gonada bika / krave,
- jajnici – *folikulogeneza* (ženska jajna ćelija – *ovum*),
- polni ciklus,
- semenici – *spermatogeneza* (muške polne ćelije – *spermatozoa*),
- krioprezervacija semena (zamrzavanje),
- doze semena, spermatoški i sanitarni kvalitet.

Specijalan deo

- otkrivanje polnoga žara – estrusa,
- praktično osemenjavanje – tehnika *lege artis*,
- postupak sa dozom semena na terenu, *lege artis*,
- činioci koji utiču na uspeh osemenjavanja,
- plodnost krava od osemenjavanja,
- fertilizacija *in vitro*,
- evidencija rezultata osemenjavanja,
- osvrt na probleme osemenjavanja.

Poseban deo

- rase goveda u programu osemenjavanja kod nas.

U knjizi se, takođe, govori o sinhronizaciji polnog žara krava, čime je osemenjavanje postala opšteprihvaćena biotehnoškka metoda. Knjiga je namenjena kako veterinarima-praktičarima, tako i studentima osnovnih i/ili poslediplomskih studija veterinarske medicine. Inače, recenzenti su cenjeni i priznati

stručnjaci iz oblasti reprodukcije goveda. S obzirom da je jedan od recenzenata iz strane zemlje; knjiga ima reputaciju međunarodne recenzije. Verujem da je ova knjiga bila potrebna i onima koji se bave ovim korisnim i unosnim poslom, ovo, tim pre, jer donosi veći broj najnovijih činjenica iz oblasti veterinarske nauke, te iz prakse same inseminacije. Otuda knjiga predstavlja praktično, nepromovisan udžbenik za osemenjavanje goveda.

Prof. dr Tihomir Petrukić

Prof. dr BRANISLAVA ĐUKIĆ

(1926 – 2003)

Nedavno je preminula dr Branislava Đukić, redovni profesor Fakulteta veterinarske medicine i redovni član Akademije veterinarske medicine u Beogradu. Pripadala je prvoj posleratnoj generaciji studenata veterine. Bila je odličan



student, predsednik narodne studentske omladine – NSO i udarnik na omladinskim radnim akcijama Brčko-Banovići i Šamac-Sarajevo. Univerzitetsku karijeru započela je kao asistent na Katedri Patologija domaćih životinja a završila u zvanju redovnog profesora za nastavni predmet Sudska veterinarska medicina. Bila je veoma obrazovana, društveno vrlo aktivna na Fakultetu i beogradskom Univerzitetu, odličan pedagog i poznat naučni radnik u zemlji i inostranstvu. Birana je za dekana i tako postala prvi dekan žena na Veterinarskom fakultetu i kasnije član Akademije veterinarske medicine. Objavila je preko 200 naučnih i stručnih radova iz oblasti patologije životinja i sudske veterinarske medicine u domaćim i stranim časopisima. Aktivni je učesnik brojnih veterinarskih kongresa i savetovanja u zemlji i inostranstvu. Autor je poznatih udžbenika za redovne i postdiplomske studije: Sudska veterinarska medicina, Zakonska regulativa o zaštiti zdravlja životinja, Veterinarska etika i Veterinarski kodeks. Veterinarska etika je prvi udžbenik te vrste u nas gde je promovisan odnos čoveka prema životinjama (etiologija), međusobni odnos veterinara i posebno odnos prema društvu u celini, što je naročito naglašeno u Kodeksu.

Kao profesor, dekan i akademik afirmisala je i uzdigla ugled Veterinarskog fakulteta, veterinarske nauke i veterinarske struke u celini. Mnogo je doprinela razvoju stočarstva i lovstva važnim granama privrede naše zemlje. Njen opus je obeležio eru savremene veterinarske medicine i dao dalje smernice razvoja veterinarske nauke i prakse. Svojim znanjem i zalaganjem zadužila je mnoge generacije veterinara, Veterinarski fakultet i Univerzitet u Beogradu, Srpsko veterinarsko društvo, veterinarske institute i zavode, službu Veterinarske inspekcije i Akademiju veterinarske medicine.

**Dr Vasilije Mljković, prof.
Veterinarskog fakulteta u penziji**

KALENDAR PLANIRANIH NAUČNIH I STRUČNIH SKUPOVA
U ZEMLJI ZA 2004. GODINU

- 12-13.februar Beograd
25. seminar za inovacije znanja veterinara
Informacije: prof. dr Velibor Stojić, Katedra za fiziologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 2684 351 ili 36 15 436 lok. 224.
12. februar Beograd
Predavanje u organizaciji SMASAP-a „Polineuropatije”
(predavač prof. dr Peter Šrenk, Republika Češka)
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
27. februar Beograd
Inovacije znanja iz oblasti DDDD (stanje zaraznih bolesti i zoonoza u SCG; rezistencija mikroorganizama na dezicijense; prezentacije proizvođača DDDD sredstava)
Informacije: prof. dr Brana Radenković, Zoohigijena, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/684 173 ili 36 15 436 lok. 225.
27. mart Beograd
Okrugli sto SMASAP-a
„Tonzilitis u kliničkoj patologiji pasa – savremeni pristup”
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
31. mart - 2. april Vlasinsko jezero
6. epizootiološki dani
Informacije: prof.dr Bosiljka Đuričić, Katedra za zarazne bolesti , Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 685 080 ili 36 15 436 lok.. 352, e-mail: bosa@beotel.yu
- 19 - 21. april Iriški Venac
5. simpozijum „Uzgoj i zaštita zdravlja svinja”
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
24. april Beograd
„Kazusi” – prikazi slučajeva iz prakse u organizaciji SMASAP-a (mogućnost svih učesnika da prikažu neki interesantan slučaj iz vlastite prakse).
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
24. april SVETSKI DAN VETERINARA
Informacije: World Veterinary Association, website: www.worldvet.org/Press Release
28. maj Beograd
Oftalmologija
Edukativni kurs SMASAP-a i WSAVA-e (predavač prof. dr Peter Bedford, V. Britanija)
Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
- 15 - 23. maj Novi Sad
71. međunarodni poljoprivredni sajam
Informacije: Novosadski sajam, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 2, tel. 021/125-155
- 25 - 26. maj Novi Sad
Međunarodni simpozijum o infekciji goveda izazvanoj herpesvirusom-1 (IBR/ IPV)
Informacije: Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Rumenački put 20, Novi Sad, tel./fax. 021/477 6000; e-mail: vera@niv.ns.ac.yu; ili Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619,687 475, e-mail: vetks@eunet.yu

27 - 29. maj	Beograd Simpozijum veterinarara patologa Istočne Evrope (u organizaciji fondacije „Charles Louis Davis, DVM Fundation”) Informacije: prof. dr Sanja Aleksić-Kovačević, predsednik Organizacionog odbora, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 685 710 ili 36 15 436 lok. 321
poslednja nedelja maja	Tara 15. savetovanje „DDDD u zaštiti životne sredine” Informacije: prof. dr Brana Radenković, Zoo higijena, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 2684 173 ili 36 15 436 lok. 225
2 - 5. jun	Teslić – Republika Srpska 10. savetovanje veterinarara Republike Srpske Informacije: Društvo veterinarara Republike Srpske, Banja Luka, Knjaza Miloša 21, tel. 051/313 164, 313 067, faks 348 283
14 - 18. jun	Budva 6. savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica veterinaria 2004” Informacije: prof. dr Dragiša Trailović, Katedra za dijagnostiku, patologiju i terapiju oboljenja domaćih životinja, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/36 11 810, e-mail: trailo@net.yu
treća nedelja juna	Kragujevac Škola ultrazvuka Edukacioni centar ultrazvuka u medicini i veterini (pet dana) Informacije: prof. dr Vojislav Pavlović, Katedra za porodiljstvo, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/2684 184 ili 3615 436, lok. 252
septembar	Zlatibor 16. savetovanje veterinarara Srbije Informacije: Srpsko veterinarsko društvo, prof.dr Bosiljka Đuričić, Katedra za zarazne bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/ 685 080 ili 36 15 436 lok. 352, e-mail: bosa@beotel.yu
četvrta nedelja septembra	13. savetovanje živinara Jugoslavije Informacije: Časopis „Živinarstvo”, Bulevar JNA 18, 11000 Beograd, tel. 011/657 953, faks 644 841
25. septembar	Beograd Edukacija SMASAP-a po izabranoj temi Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
oktobar	53. savetovanje industrije mesa Informacije: Institut za tehnologiju mesa, 11000 Beograd, Kačanskog 13, tel. 011/2650 655, faks 651 825, e-mail: meatinst@beotel.yu
30. oktobra	Beograd „Kazusi” – prikazi slučajeva iz prakse u organizaciji SMASAP-a (mogućnost svih učesnika da prikažu neki interesantan slučaj iz vlastite prakse). Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619,687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
5 - 6. novembar	Beograd Godišnje Savetovanje veterinarara male prakse - SMASAP-a Informacije: Veterinarska komora Srbije, 11129 Beograd, Bulevar JNA 18, tel/faks 011/ 2684 597, 685 619, 687 475, e-mail: vetks@eunet.yu
20. novembra	Beograd 3. savetovanje o biologiji i zdravstvenoj zaštiti pčela Informacije: prof. dr Zoran Stanimirović, Katedra za biologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar JNA 18, tel. 011/685 080 ili 3615 436 lok. 300

**FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE
U BEOGRADU 2003. GODINE**

Ralević S. Ratko

Rođen 29. 9. 1976. u Beranima.
Diplomirao 26. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Berane
Donje luge bb.

Krstić D. Nenad

Rođen 9. 12. 1976. u Bijeljini.
Diplomirao 26. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Bijeljina
Kosovska 12.

Martać M. Bojan

Rođen 9. 4. 1971. u Raškoj.
Diplomirao 26. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Sombor
Majora Tepića 11.

Dragosavac D. Dejan

Rođen 20. 1. 1977. u Vukovaru.
Diplomirao 26. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Pančevo
Stevana Šupljikca 157/3.

Bodnar T. Marko

Rođen 2. 8. 1974. u Pančevu.
Diplomirao 25. 3. 2003. godine
Stalno mesto boravka Pančevo
Savska 14/29.

Arsenin J. Siniša

Rođen 30. 9. 1978. u Novom Sadu.
Diplomirao 27. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Sad
Save Šumanovića 1/61.

Burić B. Sanja

Rođena 10. 1. 1972. u Peći.
Diplomirala 27. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Vojvode Stepe 120/151.

Đafić I. Katarina

Rođena 5. 1. 1978. u Beogradu.
Diplomirala 25. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Omladinskih bigrada 45b/42.

Kuzmanović P. Tamara

Rođena 4. 12. 1978. u Beogradu.
Diplomirala 25. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Križanićeva 38.

Simov I. Dejan

Rođen 13. 1. 1977. u Beogradu.
Diplomirao 28. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Batajnica
Braće Savić 9.

Vlajkov Č. Boža

Rođen 15. 7. 1972. u Zrenjaninu.
Diplomirao 28. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Đorđa Stratimirovića 17.

Merla Lj. Dragana

Rođena 16. 12. 1977. u Zemunu.
Diplomirala 27. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Blagoja Parovića 19/1.

Milošević B. Miloš

Rođen 28. 9. 1976. u Kruševcu.
Diplomirao 25. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kruševac
29. novembra 5.

Marinković B. Maja

Rođena 17. 8. 1976. u Beogradu.
Diplomirala 25. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Vojvode Stepe 293/10.

Bunardžić Lj. Aleksandar

Rođen 17. 5. 1976. u Jagodini.
Diplomirao 14. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Svilajnac
Dragoša Ilića 43.

Barać J. Ana

Rođena 21. 2. 1975. u Nišu.
Diplomirala 18. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Niš
Topličina 6/15.

Milojević T. Bojan

Rođen 18. 6. 1974. u Aleksincu.
Diplomirao 22. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kraljevo
I Jovačka 8.

Stanimirović S. Ivan

Rođen 19. 2. 1973. u Grdelici.
Diplomirao 22. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Velika
Grabovnica, Spase Lazarevića 14.

Filipović Z. Dalibor

Rođen 24. 12. 1975. u Loznici.
Diplomirao 23. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Loznica
Kneza Miloša 20.

Živanović M. Ivica

Rođen 20. 3. 1969. godine u Šapcu.
Diplomirao 23. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Šabac
Janka Veselinovića 75.

Vučićević S. Marijana

Rođena 10. 2. 1972. u Čačku.
Diplomirala 18. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Nehruova 194/2.

Milijašević P. Milan

Rođen 20. 3. 1976. u Zemunu.
Diplomirao 21. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Gandijeva 46.

Vujić M. Snežana

Rođena 4. 9. 1977. u Arandelovcu.
Diplomirala 24. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Lipovac
Topola

Grubić M. Saša

Rođen 5. 1. 1976. u Sisku.
Diplomirao 23. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Serdar Janka Vukotića 4/9.

Đokić S. Vladimir

Rođen 6. 6. 1962. u Aleksincu.
Diplomirao 22. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Indija
Omladinska 43.

Nikolić V. Jelena

Rođena 24. 1. 1975. u Beogradu.
Diplomirala 24. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zemun
Božidara Adžije 35.

Đorđević J. Igor

Rođen 17. 8. 1976. u Jagodini.
Diplomirao 18. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Jagodina
Mitra Radanovića 24/6

Kapidžić M. Marija

Rođena 9. 8. 1976. u Beogradu.
Diplomirala 22. 4. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zemun
Strma 1a.

Makivić M. Gordana

Rođena 14. 4. 1966. u Bihaću.
Diplomirala 19. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Dvor
5. kolovoza 1995.

Krstić M. Ivan

Rođen 6. 11. 1973. u Beogradu.
Diplomirao 27. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Ohridska 2a

Pavlović D. Zoran

Rođen 1. 12. 1971. u Pirotu.
Diplomirao 29. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Pirot
Knjaza Miloša 6

Babić M. Radovan

Rođen 29. 1. 1978. u Beogradu.
Diplomirao 28. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kozarska
Dubica, Demirovac, Ivica bb.

Arsenović S. Nenad

Rođen 16. 7. 1976. u Šapcu.
Diplomirao 27. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Šabac
Milana Belovukovića 3.

Ćilerdžić N. Milica

rođena 11. 5. 1976. u Beogradu.
Diplomirala 30. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Lješka 44.

Pajović Lj. Vladimir

Rođen 8. 12. 1974. u Kraljevu.
Diplomirao 30. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kraljevo
Karađorđeva 18/5.

Stojković G. Vesna

Rođena 9. 9. 1974. u Čačku.
Diplomirala 28. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Čačak
Dr Mišovića 59.

Cvijović S. Jelena

Rođena 20. 2. 1975. u Drežniku.
Diplomirala 30. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Drežnik,
Užice.

Kojičić D. Jasmina

Rođena 8. 9. 1975. u Šapcu.
Diplomirala 30. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Šabac
Miodraga Simića 30.

Andrić P. Miloš

Rođen 30. 1. 1972. u Kraljevu.
Diplomirao 27. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kraljevo
B. Radičevića 1

Velebit M. Branko

Rođen 19. 8. 1979. u Zagrebu.
Diplomirao 28. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Ub
Rajka Mihailovića 42.

Ušević A. Igor

Rođen 9. 5. 1976. u Prizrenu.
Diplomirao 24. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Aranđelovac
Ohridska 10.

Andrić S. Dragutin

Rođen 18. 3. 1972. u Čačku.
Diplomirao 30. 5. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Bulevar AVNOJ-a 26.

Bosančić J. Dejan

Rođen 25. 10. 1977. u Beogradu.
Diplomirao 24. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Palmira Toljatija 16.

Žikić P. Srđan

Rođen 9. 9. 1974. u Zaječaru.
Diplomirao 24. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zaječar
Narodne Republike 12.

Šuluburić V. Adam

Rođen 21. 3. 1974. u Čačku.
Diplomirao 23. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zablače,
Vapa

Bojović M. Sonja

Rođena 6. 1. 1976. u Nišu.
Diplomirala 25. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Niš
Blagoja Parovića 8.

Ranđelović Z. Jelena

Rođena 7. 3. 1979. u Osijeku.
Diplomirala 25. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Marka Čelebonovića 23/1.

Vrućinić M. Igor

Rođen 3. 1. 1977. u Prijedoru.
Diplomirao 26. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Banja Luka
Njegoševa

Srejić B. Damjan

Rođen 6. 4. 1976. u Kragujevcu.
Diplomirao 25. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kragujevac
Braće Petković 1/56.

Jovanović S. Sanja

Rođena 27. 8. 1976. u Beogradu.
Diplomirala 26. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zemun
Milice Šuvaković 14/23.

Pušara R. Dragan

Rođen 24. 12. 1973. u Zagrebu.
Diplomirao 23. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Ljermontova 20

Stamenković J. Vojislav

Rođen 29. 5. 1976. u Beogradu.
Diplomirao 26. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Indire Gandi 9.

ZA SLEDEĆI BROJ

Stalno mesto boravka Beograd
Anastasa Jovanovića 3/31.

Brankov M. Ivan

Rođen 26. 11. 1973. u Vršcu.
Diplomirao 26. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Dušana Vlajića 22/7.

Milosavljević D. Dejan

Rođen 25. 12. 1975. u Beogradu.
Diplomirao 9. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Otona Župančića 28/40.

Aleksić D. Ana

Rođena 15. 5. 1974. u Čačku.
Diplomirala 24. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Čačak
7. jula 4/14.

Jovanović T. Serafim

Rođen 12. 5. 1975. u Skoplju.
Diplomirao 10. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Bulevar Arsenija Černojevića 51/29.

Gavrilović D. Pavle

Rođen 11. 10. 1976. u Pančevu.
Diplomirao 9. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Pančevo
Kikindska 15.

Stanić G. Nikolina

Rođena 18. 12. 1977. u Metkoviću.
Diplomirala 23. 8. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Belegiš
Pere Radinovića bb.

Srbljanović M. Neda

Rođena 1. 1. 1977. u Pljevljima.
Diplomirala 27. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zemun
Vladimira Gordana 43.

Radlović N. Vladimir

Rođen 8. 7. 1976. u Beogradu.
Diplomirao 8. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kikinda
Svetozara Miletića 88.

Vukosavljević Ž. Bojan

Rođen 3. 5. 1974. u Subotici.
Diplomirao 10. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Subotica.

Vidaković P. Nataša

Rođena 24. 6. 1967. u Zagrebu.
Diplomirala 25. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Braće Srnić 53/5.

Marković M. Jasmina

Rođena 5. 9. 1972. u Šapcu.
Diplomirala 10. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Šabac
Bore Tirić 89.

Aranitović B. Petar

Rođen 14. 7. 1970. u Somboru.
Diplomirao 11. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Sombor
JNA D3 I/7.

Radosavljević R. Ksenija

Rođena 22. 8. 1977. u Užicu.
Diplomirala 24. 6. 2003. godine.

Stanković S. Lidija

Rođena 21. 7. 1970. u Nišu.

Diplomirala 11. 7. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Niš
Berbatovačka 12a.

Ivanović R. Marina

Rođena 11. 1. 1979. u Požarevcu.
Diplomirala 27. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Kumane
Topolovnik

Tošić R. Dragan

Rođen 24. 7. 1976. u Sarajevu.
Diplomirao 22. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Sretna Mladenovića - Mike 4.

Milošević I. Želimir

Rođen 4. 5. 1971. u Banja Luci
Diplomirao 23. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Banja Luka
Carice Milice 52.

Blagojević M. Miloš

Rođen 17. 5. 1978. u Beogradu.
Diplomirao 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Zemun
Dragana Rakića 7.

Arsenović S. Dragan

Rođen 31. 1. 1972. u Sl. Brodu
Diplomirao 25. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Brđarica
Draginje.

Petrović M. Živojin

Rođen 17. 1. 1972. u Loznici.
Diplomirao 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Loznica
Dositeja Obradovića 40.

Pavković M. Boža

Rođen 19. 10. 1977. u Zemunu.

Diplomirao 23. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Dobavnovci
Sremska 20.

Predojević M. Gordana

Rođena 11. 11. 1977. u Beogradu.
Diplomirala 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka St. Banovci
Sremska 1.

Vlajković A. Marijan

Rođen 18. 6. 1973. u Ban. Karlovcu.
Diplomirao 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Banatski
Karlovac, Slobodana Penezića 9.

Markuš M. Mirko

Rođen 15. 8. 1978. u Zagrebu.
Diplomirao 25. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bulevar Arsenija Čarnojevića 46.

Cvejić S. Dejan

Rođen 31. 5. 1979. u Puli.
Diplomirao 23. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Beograd
Uralska 36.

Šćekić R. Vladimir

Rođen 12. 8. 1976. u Užicu.
diplomirao 23. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Požega
Heroja Bondžulića 31/51.

Ševo M. Dragana

Rođena 6. 9. 1977. u N. Beogradu
Diplomirala 25. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Bulevar Arsenija Čarnojevića 130/6.

Putnik M. Slobodan

Rođen 15. 8. 1977. u Beogradu.

Diplomirao 27. 3. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Obrenovac
Marka Miranovića 19b.

Stalno mesto boravka Sremska
Mitrovica, Đure Jakšića 52.

Milovanović M. Goran

Rođen 30. 11. 1961. u Leskovcu.
Diplomirao 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Bojnik
Trg Slobode 13.

Đmura M. Goran

Rođen 13. 4. 1977. u Bijeljini.
Diplomirao 25. 6. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Bijeljina.
Stefana Dečanskog 239.

Rankov M. Radivoj

Rođen 17. 12. 1968. u Srem. Mitrovici.
Diplomirao 25. 9. 2003. godine.

Marjanović M. Radoslav

Rođen 3. 4. 1974. u Novom Sadu.
Diplomirao 28. 10. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Bačka Palanka
Đorđa Zučića 6.

Diplomirao 27. 10. 2003. godine.
Stalno mesto boravka Prigrevica
Nine Marakovića 33.

Milić S. Siniša

Rođen 4. 9. 1977. u Sisku.

ZA BROJ 1-2

Golić M. Bojan

Rođen 27. 11. 1977. u Gradiški.
Diplomirao 29. 10. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Mijatović T. Vladimir

Rođen 14. 4. 1976. u Šapcu.
Diplomirao 28. 10. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Antić B. Dragan

Rođen 2. 8. 1977. u Surdulici.
Diplomirao 29. 10. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Ćeček D. Siniša

Rođen 10. 11. 1977. u Čačku.
Diplomirao 24. 9. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Stošić R. Oliver

Rođen 17. 9. 1976. u Trgovištu.
Diplomirao 24. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Šarac M. Novak

Rođen 14. 12. 1977. u Somboru.
Diplomirao 24. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Ružić D. Lidija

Rođena 2. 10. 1965. u Varavarinu.
Diplomirala 26. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Stojčić M. Dušan

Rođen 3. 9. 1978. u Gradiškoj.
Diplomirao 25. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Stošić S. Ljiljana

Rođena 13. 6. 1973. u Vranju.
Diplomirala 27. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Bosanac L. Dejan

Rođen 23. 2. 1978. u Virovitici.
Diplomirao 25. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Stojković M. Tatjana

Rođena 4. 4. 1975. u Beogradu.

Diplomirala 27. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Živković Ž. Dragan

Rođen 25. 3. 1976. u Kruševcu.
Diplomirao 25. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Pokorić B. Igor

Rođen 8. 7. 1977. u Subotici.
Diplomirao 25. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Surla D. Tamara

Rođen 27. 11. 1975. u Bihaću.
Diplomirala 27. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Bečkej L. Žolt

Rođen 14. 1. 1979. u B. Topoli.
Diplomirao 10. 12. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Rajković D. Branislav

Rođen 6. 7. 1972. u Beogradu.
Diplomirao 27. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Marković Ž. Marija

Rođena 25. 11. 1980. u Beogradu.
Diplomirala 26. 11. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Kukolj M. Vladimir

Rođen 31. 1. 1980. u Gradašcu.
Diplomirao 23. 12. 2003. godine.
Stalno mesto boravka

Petrović K. Jovan

Rođen 20. 3. 1977. u Beogradu.

Diplomirao 28. 11. 2003. godine.

Stalno mesto boravka

Lazić M. Dušan

Rođen 30. 11. 1964. u Deronjama.

Diplomirao 22. 12. 2003. godine.

Stalno mesto boravka

Adrić N. Bojan

Rođen 25. 5. 1978. u Podgorici.

Diplomirao 29. 12. 2003. godine.

Stalno mesto boravka