

YU ISSN 0350-2457  
UDK 619 (05)

# VETERINARSKI GLASNIK

**naučni časopis  
scientific journal**

Veterinarski glasnik je časopis Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu  
*Veterinarski glasnik is published by Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade*

VET. GLASNIK Vol. 59 Br. Dodatak 1-2 str. 185 - 344 Beograd, 2005.



IZDAVAČ:  
FAKULTET VETERINARSKOG MEDICINARSTVA UNIVERZITETA U BEOGRADU  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF BELGRADE  
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЈ МЕДИЦИНИ УНИВЕРСИТЕТА В БЕЛГРАДЕ

SUIZDAVAČ: **Veterinarska komora Srbije**  
COPUBLISHER: **Veterinary Chamber of Serbia**

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK – EDITOR IN CHIEF: *Zlatan Sinovec*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD:  
*Mirjana Bojanić, Tatjana Božić, Vojin Ivetić, Vera Katić, Ranko Kljajić, Dejan Krnjić, Milenko Stevančević, Horea Šamanc, Radoljub Tadić, Dragiša Trajlović*

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Ljubinka Turubatović*

LEKTORI – LECTORS:  
*Ljubinka Turubatović, za srpski jezik / for Serbian language*  
*Danijela Gledić, za engleski jezik / for English language*  
*Boško Bošković, za ruski jezik / for Russian language*

GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

Godišnja pretplata: za pravna lica 3 000 dinara  
za individualne pretplatnike 1 000 dinara  
za inostranstvo 200 USD  
*(The annual subscription outside Serbia and Montenegro is 200 US \$)*

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:  
Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije  
Publication of this journal is financially supported by:  
*Ministry of Science and Environmental Protection of Republic Serbia*

Na osnovu mišljenja Ministarstva za nauku, tehnologije i razvoj Republike Srbije broj 413-00-663/2001-01 od 10. avgusta 2001. godine časopis je oslobođen poreza na promet.

Štampa – Printers: SZR „Simić Zuhra“, Beograd, Vitanovačka 15

Adresa časopisa:  
Veterinarska komora Srbije – Veterinarski glasnik, 11000 Beograd,  
Bulevar oslobođenja 18, tel/faks 011/2684-597, 687-475,  
e-mail: vetks@eunet.yu; [www.vetks.org.yu](http://www.vetks.org.yu)



VETERINARSKI GLASNIK

---

VOL. 59

---

BROJ Dodatak 1 - 2

---

STRANA 185 - 344

---

Beograd 2005.

---

DODATAK

**1-2**

# VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKЕ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 59 Br. Dodatak 1 - 2 str. 185 - 344 Beograd, 2005.

## SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

### PREGLEDNI RADOVI – REVIEW PAPERS – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Boboš S., Plavšić M.: Tehnologija držanja visoko-produktivnih krava kao preduslov za dobijanje zdravstveno bezbednog i kvalitetnog mleka  
Maintenance Technology for High-performance Dairy Cows as Precondition for Securing Safe and Quality Milk  
Технология содержания высоко продуктивных коров как предварительное условие для получения здравоохранительно безопасного и качественного молока . . . . . **189**
  
- Radojičić Biljana, Vojkovsk J.: Etiopatogeneza i dijagnostika oboljenja centralnog nervnog sistema preživara sa posebnim osvrtom na BSE  
Ethiopathogenesis and Diagnostic of Central Nervous Sistem Diseases in the Ruminants Especially with Approach of BSE  
Этиопатогенез и диагностика заболеваний центральной нервной системы жвачных с отдельным обзором на BSE . . . . . **201**
  
- Jeremić Svetlana, Ćirković M., Jakić-Dimić Dobrila, Radosavljević V.: Aktuelne virusne bolesti slatkovodnih riba  
Current Viral Diseases of Freshwater Fish  
Актуальные вирусные болезни пресноводных рыб . . . . . **211**

### ORIGINALNI NAUČNI RADOVI – ORIGINAL SCIENTIFIC PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ РАБОТЫ

- Đoković R., Šamanc H., Bošković-Bogosavljević Snežana, Radović Vera: Promene vrednosti karakterističnih biohemijskih parametara krvi kod krava obolelih od ketoze  
Changes of Characteristic Blood Parameters in Ketotic Cows  
Изменения стоимостей характеристических биохимических параметров крови у коров заболевших кетозом . . . . . **221**

<p>■ Tomović V., Petrović Ljiljana, Džinić Natalija, Manojlović Danica, Timanović S., Vidarić Dragica, Kurjakov Nada, Trišić-Ilić Svetlana: Kvalitet i učestalost pojavljivanja izmenjenog tehnološkog kvaliteta <i>M. semimembranosus</i> sa polutki svinja četvororasnih hibrida</p> <p>Quality and Incidence of Occurrence of Altered Technological Quality of <i>M. semimembranosus</i> in Carcass Sides of Four-breed Hybrid Pigs</p> <p>Качество и частота появления измененного технологического качества <i>M. semimembranosus</i> с половинок свиней четверопородных гибридов . . . . .</p>	<b>229</b>
<p>■ Košarčić Slavica, Stevanović Milena, Došen R., Kovačević Mira, Gagrčin M., Košarčić D., Stajić Ljiljana, Đisalov D.: Klasične i savremene metode u otkrivanju svinja osetljivih na stres</p> <p>Conventional and Modern Methods for Detecting Stress Sensitive Swine</p> <p>Классические и современные методы в открытии чувствительных свиней . . . . .</p>	<b>237</b>
<p>■ Borozan Sunčica, Gađanski-Omerović Gordana, Bojkovski J.: Interakcije između kadmijuma i cinka kod malih preživara</p> <p>Interaction Between Cadmium and Zinc in Small Ruminants</p> <p>Интеракции между кадмием и цинком у маленьких жвачных . . . . .</p>	<b>243</b>
<p>■ Stanačev Vidica, Božić A., Kovčin S., Milošević N., Perić Lidija: Efekat nivoa bakra i vrste ulja u hrani na sadržaj holesterola u mesu pilića</p> <p>Effect of Copper Level and Type of Oil in Feed on Cholesterol Content in Broiler Meat</p> <p>Эффект уровня меди и виды масла в корме на содержание холестерина в мясе цыплят . . . . .</p>	<b>251</b>
<p>■ Tibru I., Orlić D.: Analiza rizika i određivanje kontrolnih tačaka u inkubatorskoj stanici</p> <p>Risk Analysis and Determination of Control Points at Incubator Stations</p> <p>Анализ риска и определение контрольных точек в инкубаторной станции . . . . .</p>	<b>261</b>
<p>■ Sakač Marijana, Kormanjoš Š., Peričin Draginja, Filipović S., Ristić M.: Antioksidativni potencijal repinog rezanca i njegovo korišćenje u proizvodnji funkcionalne hrane</p> <p>Antioxidative Potential of Sugar Beet Pulp and its Usage in Functional Food Production</p> <p>Антиокислительный потенциал репиного отрезанного лимтика и его пользование в производстве функционального корма . . . . .</p>	<b>267</b>
<p>■ Dugalić-Vrndić Nada, Pešić-Mikulec Dragana, Baltić M.: Delovanje prirodne aktivnosti meda na neke vrste mikroorganizama</p> <p>Effect of Natural Activities of Honey on Some Forms of Microorganisms</p> <p>Действие натуральной активности меда на некоторые виды микроорганизмов . . . . .</p>	<b>275</b>
<p>■ Dugalić-Vrndić Nada, Pešić-Mikulec Dragana, Baltić M.: Bagremov med sa različitih lokaliteta i njegovo dejstvo na bakterije <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Listeria monocytogenes</i></p> <p>Acacia Honey from Different Localities and its Effect on <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Listeria monocytogenes</i></p> <p>Акационный мед с различных мест и его действие на <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Listeria monocytogenes</i> . . . . .</p>	<b>283</b>

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Stojanov I., Velhner Maja, Orlić D.: Uticaj izbora vrste uzorka na izolaciju *Salmonella* spp. iz materijala koji potiče od živine  
 Effect of Choice of Sample on Isolation of *Salmonella* spp. from Material Originating from Poultry  
 Влияние выбора вида образчика на изоляции *Salmonella* spp. из материала происхождением из домашних птиц . . . . . **289**
- Velhner Maja, Potkonjak Dubravka, Kapetanov M., Orlić D.: Bakteriološko ispitivanje pilića iz južno bačkog i sremskog okruga na prisustvo salmonela  
 Bacteriology Control on Chicken Farms in South Bačka and Srem Region Related to *Salmonella* spp.  
 Бактериологическое испытание цыплят из южно бачкого и сремского округа на присутствие сальмонелл . . . . . **297**
- Pešić-Mikulec Dragana, Dugalić-Vrndić Nada, Stojanović L.: Mikrobiološke metode ispitivanja *Salmonella* spp. u namirnicama u odnosu na evropsku zakonsku regulativu  
 Microbiology Methods of Analysis *Salmonella* spp. in Food According to Official European Methods  
 Микробиологические методы испытания *Salmonella* spp. в пищевых продуктах в отношении европейской законной регулятивы . . . . . **305**
- Miljković Biljana, Spalević Ljiljana, Pavlović I., Ilić Živka, Maslić-Strižak Danka, Ivetić V.: Zdravstveni problemi koji prate proizvodnju nojeva  
 Health Problems Present in Ostrich Production  
 Здоровоохранительная проблематика следящая производство страусов . . . . . **311**
- Orlić D., Kapetanov M., Velhner Maja, Potkonjak Dubravka: Influenca ptica  
 Avian influenza  
 Инфлюэнца птиц . . . . . **319**
- Filipović S., Sakač Marijana, Ristić M., Kormanjoš Š., Filipović Jelena, Zlatković Z.: Uticaj ekstrudiranja na kvalitet oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna  
 Influence of Extrusion on Quality of Enriched Corn Meal  
 Влияние экструдирования на качество облагодаренной кукурузной муки для скота . . . . . **329**
- Jakić-Dimić Dobrila, Jeremić Svetlana, Nešić Ksenija: Kvalitet ugljenohidratnih hraniva za ishranu šarana  
 Quality of Carbohydrate Feed for Carp Diet  
 Качество углеводных кормов для кормления сазанов . . . . . **335**

**TEHNOLOGIJA DRŽANJA VISOKO-PRODUKTIVNIH KRAVA  
KAO PREDUSLOV ZA DOBIJANJE ZDRAVSTVENO  
BEZBEDNOG I KVALITETNOG MLEKA\***  
*MAINTENANCE TECHNOLOGY FOR HIGH-PERFORMANCE DAIRY  
COWS AS PRECONDITION FOR SECURING SAFE AND QUALITY MILK*

S. Boboš, M. Plavšić\*\*

*Sistem držanja mlečnih krava treba da omogućiti, pored adekvatne mikroklimе i određenu udobnost grlima, pravilnu ishranu, negu i mužu krava, kao i što lakše manipulisanje grlima i stajnjakom. Iako po svim pravilima bolji, slobodan sistem držanja u našoj zemlji još uvek pokazuje nešto slabije rezultate, kada je reč o proizvodnji mleka, jer je, zbog zastarele mehanizacije i još uvek u velikom delu poslova zastupljene fizičke radne snage, veća mogućnost individualnog tretmana grla kod vezanog načina držanja.*

*Ako se konačno u posmatranje uključi i functio laesa, kao jedan od klasičnih simptoma upale, pregledi jasno ukazuju da akutni, klinički manifestovani mastitisi veoma često prelaze u supkliničke oblike, koji imaju kao posledicu trajno smanjenu mlečnost na zahvaćenim četvrtima. To odgovara opisanom supstitucijom mlečnog tkiva vezivnim tkivom posle akutnih mastitisa: postinflamatorna fibroza vimena. U oblasti sitnih intralobularnih mlekovoda, kao i cisterni podležu često fibroznim omotačima, koji u slučaju hroničnog galt-mastitisa „žutog mleka“ može da se javi čak i u obliku polipoznih izraslina u oblasti cisterne.*

*Ključne reči: goveda, smeštaj, proizvodnja mleka, mastitis*

#### **Uvod / Introduction**

Trenutno su u Srbiji i Crnoj Gori zastupljena dva sistema držanja mlečnih goveda. Vezani sistem se uglavnom koristi u starim ili renoviranim objek-

\* Rad primljen za štampu 17. 5. 2005. godine

\*\* Dr Stanko Boboš, redovni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad; dr Miroslav Plavšić, vanredni profesor, Departman za stočarstvo, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

tima za držanje krava, sa pretežno polustacionarnim sistemom muže. Pojedine farme ovog sistema su obavljale osavremenjavanje tehnološkog procesa, izgradnjom izmuzišta, pokušavajući da poboljšaju kvalitet mleka kraćim „mlečnim putem”, te da olakšaju rad mužačima. Slobodan sistem držanja mlečnih goveda smanjuje investicije ulaganja u opremu u objektu za krave muzare, ali zahteva veća ulaganja za izgradnju stacionarnog izmuzišta, i obezbeđuje veće površine po svakom grlu. U radu su prikazane razlike pomenuta dva sistema držanja mlečnih goveda, njihovo poređenje, kako sa biološkog tako i sa ekonomskog aspekta, sa ciljem da pomognu farmerima u što ekonomičnijoj proizvodnji kvalitetnog i zdravstveno bezbednog mleka.

### **Sistem držanja mlečnih krava / *Maintenance system for dairy cows***

U našem govedarstvu se primenjuju dva sistema držanja životinja. Vezani (nešto stariji) sistem, i slobodan, čija primena, iz dana u dan, ima sve više zagovornika. I jedan i drugi sistem treba da omoguće životinjama navedene uslove kao što su:

- odgovarajuća udobnost,
- povoljna mikroklima,
- kvalitetna i izbalansirana ishrana,
- pravilna muža,
- laka evakuacija stajnjaka,
- adekvatna manipulacija grlima.

Navedeni uslovi životinjama treba da omoguće: zaštitu od lošeg vremena, smanje povrede (klizav pod i loša ležišta), dovoljno prostora za ishranu i napajanje, predvide profitabilnost proizvodnje mleka i eventualno proširenje farme [2].

Pomenuti autori navode da ambijentalni uslovi treba da ispunjavaju određene zahteve kao što su: temperatura vazduha od 10 do 15°C, vlažnost vazduha od 50 do 78 posto, oko 0.5 m<sup>3</sup> vazduha/h/kg žive mase ili oko 90 kg vazduha/h za grlo telesne mase od 500 kg. U takvim uslovima mikroklike, životinje će biti sposobne da iskažu svoj genetski potencijal za proizvodnju mleka, da budu zdrave i da stvaraju higijenski ispravno i zdravstveno bezbedno mleko.

Osnovna vodilja pri izboru sistema držanja mlečnih goveda treba da bude visoka proizvodnja mleka sa mogućnošću što efikasnijeg iskorišćavanja mašina koje se koriste u stočarstvu radi uštede radne snage i olakšavanja teškog fizičkog rada.

Međutim, u novije vreme, postoje zagovaranja da je više isplativa nešto niža proizvodnja mleka uz povećanje produktivnog života krava muzara, jer se na taj način ostvaruje bolja reprodukcija u stadu, smanjuju troškovi lečenja, a sveukupna proizvodnja mleka postaje ekonomski isplativija [12]. Po navedenom holandskom časopisu, farmeri u Holandiji su od 1999. godine uspeli da produže

starost mlečnih grla sa pet godina i pet meseci na pet godina i osam meseci u 2003. godini. Zahvaljujući tome, prosečna životna proizvodnja mleka po kravi povećala se sa 23655 kg u 1999. godini na 27109 kg u 2003. Kako se dalje objašnjava, vek od pet godina i osam meseci ne predstavlja neku dugovečnost, ali se rezultati toga pravdaju činjenicom da se mnogo prvotelki isključuje iz upotrebe zbog niske mlečnosti, što znači da u proseku ima veći broj grla koja prelaze starost od pet godina i osam meseci.

Vezani i slobodan sistem držanja imaju svoje prednosti i nedostatke. Prednost vezanog sistema se ogleda u mogućnosti boljeg i lakšeg individualnog tretmana svakog grla ponaosob. To se, pre svega, odnosi na ishranu, otkrivanje estrusa i osemenjavanje, veterinarski tretman, šišanje i tako dalje. Nedostatak ovog sistema najčešće se javlja u vidu slabe plodnosti, češćem lečenju ekstremiteta (povreda papaka i sisa), što poskupljuje proizvodnju, slabijem mehanizovanju procesa muže i uklanjanja stajnjaka. Rad mužača u ovakvom sistemu držanja je znatno teži nego u izmuzištu, a takođe i ostali poslovi oko ishrane grla, remonta pojilica, jaslji, pregrada i tako dalje, zahtevaju dodatan napor radnika. Što se tiče kvaliteta mleka, vezani sistem najčešće daje lošije rezultate, pogotovo kada je reč o higijenskoj ispravnosti ove namirnice. Jedna od prednosti ovakvog sistema je njegova cena, koja je znatno niža u odnosu na slobodan sistem (uzima se u obzir kompletna tehnologija: smeštaj, ishrana, muža, radna snaga, i tako dalje).

Slobodan način držanja predstavlja jedan savremen i intenzivan vid proizvodnje mleka. Mnogobrojne su njegove prednosti u odnosu na vezani sistem. Nabrojaćemo samo neke: bolja reprodukcija i zdravlje krava, kraći „mlečni put” u izmuzištu, što doprinosi većoj higijenskoj ispravnosti mleka, visoka produktivnost rada usled mogućnosti veće mehanizovanosti procesa proizvodnje mleka (lakši rad u izmuzištu, mehanizovana manipulacija stajnjakom, korišćenje miks prikolica za kompletan obrok i drugo). Nedostaci ovoga sistema se ogledaju u grupnom tretmanu krava, većoj mogućnosti širenja zaraznih bolesti usled korišćenja zajedničkih hranilica i pojilica, češće su povrede usled klizavih podova itd. Pri slobodnom sistemu držanja uobičajeno je da se krave muzu u izmuzištu, što donekle poskupljuje izgradnju farme, ali izmuzište olakšava određene tretmane kao što su otkrivanje estrusa, osemenjavanje, razni veterinarski tretmani, kontrola kvaliteta mleka i eventualno pojavljivanje mastitisa, a rad mužača je daleko lakši u odnosu na konvencionalni sistem muže u staji. Pored toga, kapacitet pomuženih grla na čas je mnogo veći, nego pri muži u vezanom sistemu držanja, što posredno dovodi do kraćeg vremena sisne garniture na vimenu, a time i manjeg oštećenja samih sisa.

Uporedna istraživanja slobodnog i vezanog sistema držanja mlečnih krava ukazuju da se u našoj zemlji boljim pokazao vezani sistem, kada je reč o proizvodnji mleka, a slobodni sistem daje bolje rezultate kada su u pitanju parametri plodnosti, kao što su servis period i međutelidbeni razmak [7, 8, 9, 10]. Zbog čega je to tako? Jednostavno, način tehnološkog procesa kod nas u slobodnom



sistemu, ne može da obezbedi uslove i sve one prednosti koje ovaj sistem omogućuje. Kod vezanog sistema u našoj zemlji još uvek je individualni tretman po grlu lakši i zastupljeniji, a razlog tome je slaba ekonomska moć naših farmara da mehanizuju proces proizvodnje, što slobodan sistem zahteva, ako se želi da postigne veća produktivnost i ekonomičnost u proizvodnji mleka.

Što se tiče savremenijih tendencija u muži krava, sve više su zastupljeniji robot-muzači, čiji se osnovni vid eksploatacije (pored mnogobrojnih prednosti u odnosu na izmuzišta) ogleda u uštedi ljudskog rada i dobijanju veće količine mleka zbog višekratne muže.

U narednom prikazu navedeni su podaci o broju robot-muzača po državama u kojima su najviše zastupljeni.

Ukupan broj robot-muzača u 2003. godini (*Vepru magazine, Maj, 2004. Vol. 53*) /  
*Total number of robot milking machines in 2003 (Vepru magazine, May 2004, Vol. 53)*

Država / State	Broj robota / Number of robots
Holandija / The Netherlands	600
Francuska / France	320
Danska / Denmark	310
Nemačka / Germany	200
Japan / Japan	125
Kanada / Canada	77
SAD / USA	16
Ostale zemlje / Other countries	550
Ukupno / Total	2198

Robot-muzači trenutno predstavljaju deo farme za proizvodnju mleka, u kojoj se sakupljaju svi relevantni podaci u okviru tehnološkog procesa na osnovu kojih mogu da se donesu određene odluke koje su veoma bitne za kvalitetnu i ekonomičnu proizvodnju higijenski ispravnog i zdravstveno bezbednog mleka.

**Očuvanje zdravlja vimena kao preduslov za dobijanje higijenski ispravnog mleka / Preserving udder health as precondition for securing milk of hygiene safety**

*Princip etiološke klasifikacije mastitisa / Principle of etiological classification of mastitis*

Princip etiološke klasifikacije mastitisa je naročito funkcionalan sa aspekta bakteriološke dijagnostike. Za veterinaru – kliničaru ovaj princip etiološki orijentisanog opisa mastitisa ima dva nedostatka: prvo, ima znatno manje klinički razdvojenih oblika mastitisa, nego uzročnika. Drugo, bakteriološki nalaz dolazi znatno kasnije, nego klinička dijagnoza. Zato se dešava da bakteriološko ispitivanje uzoraka mleka, naročito kod supkliničkih mastitisa, ne daje uvek pozitivne

nalaze. Za terapiju i eradikaciju mastitisa je, takođe, veoma važno da se uzme u obzir etiologija, tj. mikrobiološki uzročnici bolesti.

Paralelno etiološkoj podeli, tj. bakteriološki orijentisanoj podeli mastitisa, mastitisi se dalje dele po karakterističnim *morfološkim nalazima*, pri čemu se javljaju dijagnoze kao kataralni, hemoragično-nekrotični i granulomatozni mastitis. Jedan deo ovih nalaza može da ustanovi i kliničar, neposredno na životinji. Etiološki i morfološki orijentisani nalazi se dopunjavaju i doprinose naučnoj osnovi dijagnoze mastitisa.

Radi karakterizacije zdravstvenog stanja vimena Međunarodno udruženje mlekara je tada predložilo shemu koja uzima u obzir sadržaj ćelija i nalaz patogenih mikroorganizama u uzorcima mleka.

Tabela 1. Tumačenje citološko-mikrobioloških nalaza u okviru dijagnostike mastitisa (IDF, 1967) /

Table 1. Interpretation of cytological-microbiological findings within diagnosis of mastitis (IDF, 1967)

Broj somatskih ćelija (SCC) SCC/l ml mleka / <i>Somatic Cell Count</i> SCC/1 ml milk	Patogeni za vime / <i>Udder pathogens</i>	
	neotkriveni / <i>undetected</i>	otkriveni / <i>detected</i>
<100 000	normalna sekrecija / <i>normal secretion</i>	prikrivena infekcija / <i>hidden infection</i>
>100 000	nespecifični mastitis / <i>non-specific mastitis</i>	mastitis / <i>mastitis</i>

Ova shema dopušta samo orijentisane iskaze. Ona ne uzima u obzir nesigurnost iskaza jednog mikrobiološkog ili citološkog pregleda mleka i relativnost utvrđivanja prisustva „patogenog mikroorganizma”. Takođe, nije definisan ni poremećaj sekrecije sa povećanjem ćelijskog sadržaja. Klinički simptomi mastitisa nisu uzeti u obzir u ovoj shemi. Između latentne infekcije parenhima i infekcije ili naseobine ograničene na sisni kanal, takođe, nisu uzete u obzir.

Druge klasifikacije su epizootičke orijentisane. Pri tome se radi većinom o zdravstvenim problemima vimena usled delovanja uzročnika mastitisa na nivou zapata. Na primer, zapati mogu da se smatraju „slobodnim”, tj. bez pojave *Streptococcus* (Sc.) *agalactiae* u vimenima; „nisko” ili „visoko” inficiranim (sa različitim procentom izolacije *Sc. agalactiae*); mogu da se nalaze (u pogledu određenog uzročnika) u stadijumu „akutnog porasta izloženosti” ili da budu „hronično zaraženi”. U zavisnosti od svrstavanja u jednu od ovih kategorija i na osnovu preovlađujućih uzročnika bolesti, moraju da se preduzimu specifične mere. Treba istaći da osnovu za sve podele uvek predstavljaju kliničke i bakteriološke dijagnoze svih krava u zahvaćenom zapatu. Od velikog značaja na nivou zapata, pored „žutog mleka” – čiji je uzročnik *Str. agalactiae* su i infekcije izazvane bakterijama *Staphylococcus*, *Actinomyces* (A.) *pyogenes*, *Mykoplasma*, *Prototheca*, a povremeno i drugim streptokokama.

Intenzivna fizičko-hemijska i citološka istraživanja mleka u okviru ispitivanja lekova i odbrambenih reakcija vimena ukazala su na to da se u vimenu mogu da jave stanja nadraženosti, odnosno aktivirane ćelijske reakcije i oslabljenog tkiva, koje nemaju izrazito zapaljenjski karakter. Isto tako, one mogu da predstavljaju i fazu koja prethodi zapaljenju vimena i često je veoma teško povući pravu granicu između njih. Dokaz njihove povezanosti sa određenim uzročnikom u većini slučajeva ne uspeva. Nadražajna stanja, kod kojih nema klinički manifestovanih promena na tkivu vimena ili u mleku, pored ostalog karakterišu:

- Porast broja ćelija;
- Smanjenje sadržaja laktoze;
- Povišena specifična električna provodljivost;
- Promene sastava proteina i elektrolita u mleku.

Od supkliničkih mastitisa sa sličnim promenama na mleku ovakva zapaljenjska stanja se razlikuju po slabijoj ispoljenosti same promene i njenom kratkom trajanju. Smanjena proizvodnja mleka (*functio laesa*) koja uvek prati supkliničke mastitise, ovde se ne javlja.

Uzroci za ovakva nadražajna stanja mogu da predstavljaju:

- Primena medikamenata na vime, na primer, oštećena mesta pod zaštitom antibiotika;
- Zaustavljanje mleka kratkotrajnim prekidom redovne muže, na primer, nedovoljno izmuzanje pojedinih četvrti (uglavnom tehnički uslovljeno);
- Prolazne mehanička opterećenja vimena, na primer, „slepa muža” ili zamena sisaljki.

Ova nadražajna stanja mogu da imaju inicijalnu ulogu u patogenezi mastitisa.

Takođe, veoma je važno da se razgraniče oboljenja vimena, naročito infekcije u užem smislu, od *naseljavanja sisnog kanala mikroorganizmima*, u kojima mogu da se nađu i mikroorganizmi patogeni za vime. Ovo naseljavanje koje je u uskoj vezi sa bakterijskom florom na koži vimena i sisa, važno je iz dva razloga. S jedne strane, ono deluje u smislu bakterijskog antagonizma, koji je sastavni deo odbrambenog mehanizma, kojim raspolaže vime protiv galaktogenih infekcija i koji je koncentrisan u vrhu sise. Eksperimentalno je dokazano da apatogena flora sisnog kanala inhibira rast niza mikroorganizama, naročito gram-pozitivnih, patogenih za vime. S druge strane, utvrđeno je da patogene stafilokoke i streptokoke nedeljama mogu da naseljavaju sisni kanal i da se tamo razmnožavaju (stvaranje kolonija), a da ne mora da nastane infekcija cisterne i parenhima vimena niti mastitis. Dok laktosebum inhibira rast nekih uzročnika mastitisa (gram-negativnih), druge (kao, na primer, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*, kao i streptokoke) imaju na svojoj površini komplekse masnih kiselina i proteina, koji predstavljaju medijatore adherencije sa sisnim kanalom.

### Značaj i učestalost zdravstvenih poremećaja vimena / *Significance and incidence of health disorders of the udder*

Prilikom procene značaja mastitisa treba poći od toga da su oni veoma česta pojava u zemljama sa razvijenom proizvodnjom mleka. To je jasno i na osnovu navedenih orijentacionih podataka iz međunarodne literature:

– Čak i u dobro organizovanim zaptima mlečnih krava skoro svaka druga krava u toku laktacije pokazuje klinički manifestovan mastitis; uglavnom indeks mastitisa iznosi 1-1,5 [6];

– Ukupan broj krava sa klinički obolelim vimenom konstantno iznosi 1-2 posto i u zaptima sa malim procentom zdravstvenih poremećaja vimena. Zapti sa povišenim stepenom ovih poremećaja i određenim procentom oboljenja >2 posto i preko toga dovode do poremećaja rentabilnosti proizvodnje i ekonomskih gubitaka;

– Čak i ako broj somatskih ćelija u ukupnom mleku ne prelazi 300 000/ml i kliničko zdravstveno stanje vimena je dobro, mora da se računa da 10 do 15 posto četvrti pokazuje znake supkliničkog mastitisa;

– Mastitisi su u svetu uzrok 20 do 30 posto preranih uginuća krava od ukupno obolelih krava u zaptima [4];

– Već kod gravidnih junica mogu da se jave infektivna oboljenja vimena (infekcije izazvane bakterijama *Actinomyces pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*) i druge smetnje koje predisponiraju mastitise. Ova pojava ponegde izaziva isključivanje i do 10 posto životinja iz uzgoja [1].

Tabela 2. Higijenski kvalitet mleka prema standardima zemalja članica IDF (1998) /  
*Table 2. Hygiene quality of milk according to standards of IDF member-countries (1998)*

Zemlja / Country	Bakteriološki kvalitet / <i>Bacteriological quality</i> Broj mikroorganizama / <i>Number of microorganisms</i>		Broj somatskih ćelija u 1 ml mleka / <i>Somatic cell count in 1 ml milk</i>	
	Klasa 1 / <i>Class I</i>	Mleko sa reakcijom / <i>Milk with reaction</i>	Klasa 1 / <i>Class I</i>	Mleko sa reakcijom / <i>Milk with reaction</i>
Austrija / <i>Austria</i>	>100 000	>600 000	<350 000	>750 000
Australija / <i>Australia</i>	<80 000	>1 000 000	<250 000	>800 000
Belgija / <i>Belgium</i>	<100 000	4 mo > 100 000	<400 000	4 mo > 400 000
Kanada / <i>Canada</i>	<100 000	>100 000	<500 000	>500 000
Danska / <i>Denmark</i>	<30 000	>100 000	<300 000	>400 000
Finska / <i>Finland</i>	<50 000	>100 000	<250 000	>700 000
Francuska / <i>France</i>	<50 000	>100 000	<200 000	>400 000
Nemačka / <i>Germany</i>	<100 000	>100 000	<400 000	>400 000

nastavak tabele 2.				
Grčka / <i>Greece</i>		> 100 000		> 400 000
Mađarska / <i>Hungary</i>	< 100 000	> 1 000 000	< 400 000	> 1 000 000
Irska / <i>Ireland</i>	< 50 000	> 500 000	< 250 000	> 400 000
Izrael / <i>Israel</i>	< 40 000		< 300 000	
Japan / <i>Japan</i>	< 300 000	> 1 000 000	< 300 000	> 1 000 000
Holandija / <i>The Netherlands</i>	< 100 000		< 400 000	
Norveška / <i>Norway</i>	< 20 000	> 100 000	< 200 000	> 400 000
Novi Zeland / <i>New Zealand</i>	< 500 000	> 500 000	< 400 000	> 400 000
Švedska / <i>Sweden</i>	< 100 000		< 400 000	
Južna Afrika / <i>South Africa</i>	< 50 000		< 250 000	
Velika Britanija / <i>Great Britain</i>	< 20 000		< 150 000	> 400 000
Zimbabve / <i>Zimbabwe</i>	< 50 000	> 500 000	< 300 000	
Srbija i Crna Gora / <i>Serbia and Montenegro</i>	< 100 000	> 100 000	< 400 000	> 400 000

Stafilokoke i streptokoke su čest nalaz kod mastičnog mleka. Iz drugih zemalja stižu i drugačiji nalazi, a osnovni navodi iz ovog istraživanja se uglavnom poklapaju.

#### Posledice mastitisa / *A Consequence of mastitis*

Gubitak mleka kod akutnih mastitisa, pri čemu mleko nije za promet sve do kliničkog ozdravljenja životinje i do završetka izlučivanja medikamenta. Takođe, ukupna produktivnost životinje sa akutnim mastitisom trpi značajne promene usled poremećaja kod uzimanja hrane, razmene materija i krvotoka. Ovi poremećaji se pojačavaju intenzitetom opštih poremećaja izazvanih mastitisom.

Uzrok smanjene proizvodnje je zamena tkiva koje proizvodi mleko vezivnim tkivom. Pošto je ovaj proces ireverzibilan i kako je kompenzacija drugim ili novonastalim delovima žlezde (ovo drugo samo kod veoma mladih krava) samo delimično moguća, ovaj oblik smanjene proizvodnje javlja se tokom celog perioda laktacije, često i doživotno. Kod visoko-mlečnih krava, koje dobijaju optimalnu ishranu, ovaj oblik smanjene proizvodnje ima mnogo veći značaj nego kod krava sa generalno lošijom proizvodnjom. Veliki broj autora [5, 11, 1] navodi podatke o dugotrajno redukovanoj proizvodnji mleka posle izlečenja kliničkih mastitisa, i za lečene četvrti oni iznose od 15 do 30 posto. Što se tiče ukupnog broja lečenih krava, mora da se uzme u obzir da zdrave četvrti delimično mogu da kompenzuju proizvodnju mleka.

Prevratio zalučenje junica i krava usled mastitisa značajno opterećuje reprodukciju zapata i sve ostale troškove. Oboljenja vimena u velikoj meri

su uzrok tome što „vremensko iskorišćenje” krava u Nemačkoj trenutno iznosi tri laktacije, a kod nas 3,2 [3], a povoljno je pet laktacija. Prevremeno zalučenje bikovskih majki vezano je sa gubitkom potencijalne genetske informacije, napredak kod uzgoja je usporen i prosečan životni vek krava u zapatu je smanjen. Zapaljenja vimena kao oboljenja koja izazivaju prevremeno izlučenje mlečnih krava su na jednom od tri prva mesta, pored poremećaja plodnosti i oboljenja papaka.

Za smanjeni kvalitet svežeg mleka izazvan mastitisom i proizvodne gubitke u mlečnoj industriji od ekonomskog značaja za farmera, pre svega, odgovorni su supklinički i hronični mastitis; postoji uska povezanost između promena mleka uslovljenih mastitisom i parametara za kvalitet svežeg mleka. Sledeći oblik smanjenja kvaliteta, koji pored gubitaka u proizvodnji predstavlja i opasnost za zdravlje ljudi, predstavlja kontaminacija svežeg mleka antibioticima. Pokušaj borbe protiv ove pojave je uvođenje karence za stavljanje mleka u promet posle tretmana antibioticima krava u laktaciji i testiranje inhibitora u mleku. Karencija, u zavisnosti od medikamenta i primenjene doze, iznosi od 3 do 12 dana (6-24 muže).

**Troškovi lečenja i saniranja.** Troškovi proizvodnje po jednom litru mleka u prvom redu uključuju troškove hrane i uvođenja životinja, kao i troškove tehničke opreme i zaradu zaposlenih. Pod troškovima veterinara, koji iznose ukupno jedan do pet posto proizvodnih troškova mleka, naročito oni koji se odnose na osiguravanje zdravlja vimena. Ukoliko su neophodna izlučenja inficiranih krava (ponekada celi zapati pod mastitisima izazvanim mikoplazmama, nokardijama i prototekama), ponovno uspostavljanje zapata „slobodnog” od određenog uzročnika mastitisa ili neki posebno intenzivni dijagnostički, terapijski, higijenski ili dezinfekcioni postupci, to sobom nosi značajna ekonomska opterećenja.

## Literatura / References

1. Boboš S., Ilić M., Vidić Branka, Božić M.: Primena određenih mera za suzbijanje stafilokoknih mastitisa na jednoj farmi krava u našim proizvodnim uslovima. Veterinarski glasnik 11-12, 803-807, 1991. - 2. Čobić T., Antov G.: Govedarstvo: proizvodnja mleka. Poljoprivredni fakultet, S print, Novi Sad, 1996. - 3. Fox L. K., McDonald J. S., Hancock D. D.: Effect of Segregation on prevention of intramammary infection by Coagulase positive Staphylococci. National Mastitis Council 93-100, Orlando, Florida, 1987. - 4. Hamann J.: Somatic cells: factors of influence and practical measure to keep a physiological level. IDF Mastitis Newsletter 144, 9-11, 1996. - 5. Ilić M., Olujić Miroslava, Al Anbari A., Cenić S., Jovanović Ž.: Raširenost infekcije vimena uzročnicima mastitisa krava na tri farme mlečnih krava: II jugoslovenski simpozijum o suzbijanju mastitisa krava radi povećanja proizvodnje i poboljšanja kvaliteta mleka, 1979. - 6. Katić Vera, Boboš S., Jurca J.: Veterinarski glasnik 3-4, 299-308, 1990. - 7. Milić M., Nenadović M., Plavšić M., Nemeš Ž., Satarić D.: Variranje mlečnih i reproduktivnih osobina krava u zavisnosti od sistema držanja. Savremena poljoprivreda 42, 3, 39-47. 1994. - 8. Milić M., Plavšić M., Nemeš Ž., Petrović V.: Reprodukcijske i osobine mlečnosti u II i III laktaciji u zavisnosti od sistema držanja. Savremena poljoprivreda 42, 119-127, 1994.a. - 9. Milić M., Plavšić M., Satarić D., Nemeš Ž.: Ispitivanje vari-

Vet. glasnik 59 (Dodatak 1 - 2) 189 - 199 (2005) S. Boboš i M. Plavšić: Tehnologija držanja visoko-produktivnih krava kao predušlov za dobijanje zdravstveno bezbednog ...

jabilnosti mlečnih i reproduktivnih osobina krava u četvrtoj i petoj laktaciji u različitim sisema držanja. Savremena poljoprivreda XLIII, 1-2, 21-28, 1995. - 10. Milić M., Plavšić M., Nemeš Ž., Petrović V.: Životna proizvodnost crno-belih holštajn-frizijskih krava u različitim sistemima držanja. Savremena poljoprivreda 44, 1-2, 117-121. 1996. - 11. Miljković Višeslava: Uticaj mastitisa na proizvodnju i kvalitet mleka. Praxis veterinaria, Supetar, 1988. - 12. Vee-promagazine: Vee-pro news, 11, 52. March, 2004.

## ENGLISH

### MAINTENANCE TECHNOLOGY FOR HIGH-PERFORMANCE DAIRY COWS AS PRECONDITION FOR SECURING SAFE AND QUALITY MILK

S. Boboš, M. Plavšić

The maintenance system for dairy cows should enable, in addition to an adequate microclimate and certain comfort for the cattle, also a regular diet, care and milking of the cows, as well as the easiest possible manipulation of the animals and the waste products, manure. Although it is considered better according to many parameters, the free-range system in our country still yields somewhat poorer results regarding milk production, because there is a better possibility for individual treatment of cattle in the contained maintenance model, due to outdated mechanization and the still substantially present need for physical labour in many parts of the process.

Once that *functio laesa* is included in observation as one of the conventional symptoms of inflammation, examinations clearly show that acute, clinically manifested mastitises very often turn into subclinical forms which have as a consequence the permanent reduction of milk production in the affected udder quarters. This corresponds to the described substitution of milk tissue with connective tissue following acute mastitises: postinflammatory fibrosis of the udder. In the area of the small intralobular milk ducts, as well as the cisterns, there are often fibrous envelopes, which in the case of chronic galmastitis, so-called yellow milk, can appear even as polypose growths in the region of the cistern.

Key words: Cattle, maintenance, milk production, mastitis

## РУССКИЙ

### ТЕХНОЛОГИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВЫСОКО ПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ КАК ПРЕДВОРИТЕЛЬНОЕ УСЛОВИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЗДРАВООХРАНИТЕЛЬНО БЕЗОПАСНОГО И КАЧЕСТВЕННОГО МОЛОКА

С. Бобош, М. Плавшич

Система содержания молочных коров нужна дать возможность, наряду с адекватным микроклиматом и определённое удобство головами, правильное кормление, уход и дойку коров, и что более лёгкую манипуляцию головами и навозом. Хотя по всем правилам более хорошая, свободная система и нашей стране всё ещё показывает немного более слабые результаты, когда дело идёт о производ-

стве молока, ибо, из-за устарелой механизации, и всё ещё в большей части дел представлены физические рабочие силы, большая возможность индивидуального лечения голов у привязного способа содержания.

Если окончательно в наблюдение включится и *functio laesa* как один из классических симптомов воспаления, осмотры ясно показывает, что острые, клинические манифестированные маститы очень часто переходят в подклинические формы, имеющие для следствия длительно уменьшенную молочность на охваченных четвертях. Это отвечает описанной заменой молочной ткани соединительной тканью после острых маститов: послеинфламаторный фиброз вымени. В области мелких внутривульварных протоков словно и цистерн подвергают часто фиброзным покровам, которые в случае хронического галт-мастита „жёлтого молока” может явиться даже и в форме полипозных наростов в области цистерны.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, размещение, производство молока, мастит



**ETIOPATOGENEZA I DIJAGNOSTIKA OBOLJENJA  
CENTRALNOG NERVNOG SISTEMA PREŽIVARA SA  
POSEBNIM OSVRTOM NA BSE\***  
*ETHIOPATHOGENESIS AND DIAGNOSTIC OF CENTRAL NERVOUS  
SYSTEM DISEASES IN THE RUMINANTS ESPECIALLY WITH  
APPROUCH OF BSE*

Biljana Radojičić, J. Bojkovski\*\*

*Poslednju deceniju dvadesetog veka i pored impresivnog svekolikog napretka i dostignuća, obeležila je i pojava jedne neurodegenerativne bolesti goveda, Bovine spongiform encephalopathy (BSE) poznate i kao bolest „ludih krava“, koju je Svetska zdravstvena organizacija (WHO) 1997. godine proglasila retkom, ali nažalost, fatalnom zoonozom. Nova varijanta Creutzfeldt-Jakobove bolesti (vCJD) je direktna paralela sa BSE.*

*Samu pojavu, a naročito širenje slučajeva BSE i u drugim zemljama Evropske unije (EU) osim Ujedinjenog kraljevstva (UK), prate nedovoljno jasni i kontradiktorni stavovi istraživača, naročito oko pitanja etiopatogeneze i mogućeg epidemiološkog rizika pojedinih tkiva koja potiču od preživara a koja bi mogla da ima značaj u transmisiji BSE kod ljudi.*

*Danas se za BSE može da kaže da je pod „aktivnim nadzorom“, odnosno pod kontrolom, što je posledica primene mnogih, strogih, propisanih mera legislative, posebno u zemljama EU.*

*Zemlje kao što je i naša, a koje nisu do sada ustanovile ni jedan klinički manifestan slučaj BSE, niti BSE dijagnostikovani u laboratoriji na uzorcima mozga životinja uzetih sa linije klanja grla starijih od 24 meseca, ili grla sa neurološkim sindromima, dužne su da se uključe u monitoring BSE i sačine „analizu rizika“, kako zbog mogućeg sagledavanja epizootiološko-epidemiološke situacije (pasivni nadzor), tako i zbog eventualnog uvoza i izvoza goveda i goveđeg mesa sa i na tržište EU.*

\* Rad primljen za štampu 5. 6. 2004. godine

\*\* Dr Biljana Radojičić, profesor, dr Jovan Bojkovski, docent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

*Po modelu prepoznavanja drugih sličnih oboljenja CNS, setom analiza (posmatranjem kliničke slike nekoliko dana, prepoznavanjem „kritičnog neurološkog znaka” određenim nalazima u krvi, serumu, likvoru i urinu), BSE je moguće isključiti ili proceniti njegovu prevalenciju.*

*Ostala oboljenja CNS kod goveda kao što su listerioza, hlami-diozna sporadična encefalopatija, besnilo, te sekundarne encefalopati-je kao što su nervna forma ketoze, hepatična encefalopatija, hipo-magnezijemija, trovanje olovom, trovanje tremorgenim toksinima tipa saponina i ergotamina, u određenom procentu nalazimo i u našim us-lovima držanja visoko-mlečnih krava.*

*Od oboljenja centralnog nervnog sistema ovaca najčešće se di-jagnostikuju listerioza, border bolest, urođena hipomijelinogeneza, luping-ill, graviditetna toksemija, neka određena trovanja, cenuroza i skrepi.*

*Metodama takozvane brze dijagnostike kao što je Western blot i/ili ELISA test, omogućen je „skrining” za rutinsku dijagnostiku, od-nosno, za aktivni nadzor BSE.*

*Iako u našoj zemlji još uvek nismo registrovali ni jedan slučaj BSE, ipak je potrebno što pre da se sačini procena analize rizika od BSE, koristeći priznati diferencijalno-dijagnostički pristup, u prepoznavanju prevalencije BSE „in vivo”, od drugih, sličnih neuroloških poremećaja i oboljenja CNS, posebno važnih kod visoko-mlečnih krava.*

*Ključne reči: etiopatogeneza, dijagnostika, oboljenja CNS, preživari, BSE*

## **Uvod / Introduction**

Spongiformna encefalopatija goveda, bovine spongiform encephalopathy (BSE) ili made cows disease je neurodegenerativno oboljenje, iz grupe transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE). BSE je prionske etiologije, prenosivo, progredijentno, duge inkubacije, najčešće prepoznatljive kliničke slike, delikatne dijagnostike „in vivo” i sa sigurnim smrtnim ishodom. Od prvog registrovanog slučaja u Vejbridžu 1986. godine do danas, BSE prati povremeno za-tišje, ali i alarmantna saopštenja istraživača kao što su bile „eksplozije” slučajeva 1992. i 1996. godine u UK i 2000. godina, u nekim zemljama EU kao što su, na primer, Nemačka i Švajcarska. Neke zemlje EU koje su imale uvoz goveda sa „os-trva” kao i pojavu „nativnih slučajeva BSE” na autohtonim grlima, prijavljivale su BSE Međunarodnoj organizaciji za zaštitu zdravlja životinja (OIE), sa različitim vre-menskim distancama. Od početnih nejasnoća i nedoumica pa do egzaktnih naučnoistraživačkih pomaka u pojašnjenju etiologije i patogenze, ipak je ostalo još mnogo otvorenih pitanja, naročito oko definisanja određenih osobina

uzročnika i procene epidemiološkog rizika određenih tkiva, u transmisiji BSE na ljude. Kao kuriozitet, ostaće zabeleženo da je European Food Safety Authority (EFSA) 2000-te godine u Briselu označio agens BSE, odnosno prion-protein (PrPsc) „biološkim hazardom”. Naime, za teoriju PrPsc u nastanku BSE nesumnjivo je dokazano da je srušio „barijeru vrste” i postao soj patogen za goveda, sa goveda na mačke i ljude, a kasnije je eksperimentalno prenet na više od 20 vrsta životinja. Američki biolog Stenly Prusiner dobio je 1997. godine Nobelovu nagradu za teoriju PrPsc u nastanku BSE, koja je od tada zvanična teorija, iako su i dalje evidentne mnoge kontraverze, zbog toga što su prethodno neki istraživači ignorisali takvu mogućnost. Takođe se sa razlogom smatra da postoji realna opasnost od povratka soja BSE na ovce i nastanka takozvane *Ovine spongiform encephalopathy* ili OSO/BSE/OSE [6, 7]. Iz grupe TSE, a nekako istovremeno sa povećanjem broja slučajeva BSE, posebno značajnim, smatra se pojavljivanje mačije ili *Feline spongiform encephalopathy (FSE)*, koja je nastala direktno od soja BSE (1992. godine) i vCJD, od koje je samo u UK od 1996. godine do danas obolelo i nažalost umrlo 150 ljudi, iz mlađe populacije.

#### **Etiopatogeneza oboljenja CNS preživara /** *Etiopathogenesis of CNS diseases in ruminants*

Oboljenja i poremećaji CNS u veterinarskoj medicini, a posebno kod vrste preživara, dobila su na aktuelnosti, naročito nakon eksplozije slučajeva BSE u UK, zemljama EU i nekim zemljama sveta koje su uvezile priplodna grla ili su BSE registrovale na autohtonim grlima, što je dodatno otežavalo uopštenu sliku o BSE, s obzirom da se do tada ignorisala vertikalna transmisija. Posebnu pažnju naučnoistraživačkih timova i mnogih projekata u svetu, dobili su oni istraživači koji su se zalagali da se u potpunosti razjasne poreklo, struktura i druge osobine zbog kojih se PrPsc smatrao nekonvencionalnim, isključivo neurofilnim agansom. Kako je PrPsc opstao u koštano-mesnom brašnu (KMB) koje potiče od ovaca koje su bolovale od skrepija, zato što je tako neobično otporan na mnoga do sada poznata sredstva dezinfekcije, UV zrake i radijaciju. Nakon dodele Nobelove nagrade američkom biologu Stenly Prusineru za teoriju PrPsc u nastanku BSE i drugih TSE, krenulo se u intenzivna istraživanja naročito oko definisanja njegove distribucije u drugim tkivima u presimptomatskoj fazi, odnosno u inkubaciji. Danas su još uvek ostala otvorena mnoga pitanja, iako je dokazano da se pored nervnog tkiva PrPsc može da nađe i u limforetikularnom tkivu, tankim crevima, urinu [10] i vezan za leukocite u krvi. Za BSE se i pored toga što se rizična tkiva otklanjaju pri klanju, ipak smatra da nema visokog rizika za zdravlje ljudi. Međutim, uočljiv je i stav nekih istraživača-skeptika, da mleko i meso i nisu baš tako sigurne namirnice (u mleku je dozvoljen određen broj leukocita a iz mesa ne mogu da se otklone sva nervna vlakna ili limfni sudovi), tako da BSE i nadalje ostaje enigma i izazov za istraživače [10].

Metode dijagnostikovanja na živim životinjama nažalost su još uvek u fazi razvoja, naročito one koje bi bile korisne u presimptomatskoj fazi bolesti kao što je na primer urinoanaliza. Međutim, ohrabruje saznanje da se dijagnostičke metode na uzorcima mozga sve brže razvijaju i sve više dobijaju na značaju takozvane brze metode podesne za skrining dijagnostike BSE [5, 1].

Danas može da se kaže da je BSE pod „aktivnim nadzorom” u mnogim zemljama EU, posebno u onim zemljama koje imaju status rizične i visoko rizične zemlje na BSE. Intenzivno se sprovode mere dijagnostike ili otkrivanja BSE na liniji klanja svih grla starijih od 30 meseci (u nekim zemljama grla starija od 24 meseca) i posebno onih životinja koje su ispoljile određene neurološke sindrome.

BSE posle ispoljavanja kliničke slike, naročito u samom početku od 2 do 7 dana može da liči na neku drugu bolest CNS, mada je za razvoj kliničke slike BSE potrebno nekoliko nedelja do šest meseci, odnosno do izrazitih promena na mozgu (lesion profile) i koincidiranja sa prvim kritičnim neurološkim znacima [3].

Osim encefalopatija (metaboličkog ili toksičnog porekla) BSE ima sličnosti u ispoljavanju kliničke slike i sa besnilom, listeriozom, hlamidiozom i streptokoknim meningoencefalitisom [3, 16]. Neka stanja kao akcidenti, tumori, edem mozga, takođe mogu da izazovu poremećaje CNS u vidu senzo-motornih ispada i nisu bez značaja u diferencijaciji i isključenju BSE. Kod malih preživara osim skrepija u diferencijaciji oboljenja CNS su: listerioza, border bolest, luping-ill, *maedi-visna*, encefalomijelitis-artritis i cenuroza .

#### **Klinička slika BSE / *Clinical picture of BSE***

Klinička slika BSE-a nije uvek od samog početka prepoznatljiva, ali onda kada postane prepoznatljiva ubrzo nastupi *egzitus letalis*. Klinička slika je mešavina simptoma poremećenog ponašanja, sensorijuma i kretanja [17]. Bolest uglavnom počinje blagim, ali upornim tremorom (fascikulacija mišića), koji se iz dana u dan po intenzitetu pojačava, kao i pojavljivanjem novih simptoma koji mogu da se svrstaju u tri grupe (simptomi hipersenzacije, hiperekscitacija i hiperkinezija). Posebno značajnim u kliničkoj slici smatra se pojačan odgovor na dodir, zvuk i svetlost, anksioznost, pojačano lizanje i izraženo uporno samolizanje nosnog ogledala (senzo-motorne smetnje), hiperkinezije u vidu nisko do visoko skakutajućeg hoda ili takozvani „petlov hod”, uparen hod, ataksije naročito zadnjih ekstremiteta, pareze i paralize [3, 11, 18]. Bolesna životinja (uglavnom starije mlečne krave) smanjuje mlečnost, ali je održava, progresivno mršavi, iako ima sačuvan apetit.

Neka druga oboljenja CNS iako počinju sličnim simptomima, ipak se razlikuju u razvoju kliničke slike, dužini trajanja određenih simptoma i samom toku bolesti. Kada dominiraju konvulzije, nistagmus i ortotonus, što je indikativno za meningoencefalitis, tremor i ortotonus kod hipomagnezijemije ili brz „pad sa nogu” sa opistotonusom kome su prethodile konvulzije kada je dijagnoza nervna forma ketoze [14].

### **Dijagnostika oboljenja CNS / *Diagnostics of CNS diseases***

Sistem organa koji je najdelikatniji za uspostavljanje pravovremene i tačne dijagnoze upravo je centralni nervni sistem. Razloga za to ima više. Široka lepeza uzroka i uzročnika, slična klinička slika, skupe i neprilagodljive dijagnostičke procedure u veterinarskoj praksi tipa: skener, ciljana tomografija, magnetna rezonanca, elektroencefalografija (EEG) ili su to invazivne metode, kao što je punkcija likvora cerebrospinalisa ili biopsija mozga, koje zahtevaju dalja laboratorijska ispitivanja.

Zbog toga se u dijagnostikovanju oboljenja CNS prevashodno koristi klinička slika, njen razvoj i tok, te određeni nalazi u krvi, serumu i urinu [7, 8, 15].

Na osnovu kliničke slike i dijagnostičkih proba (dodir rukom, olovkom, ili proba svetlom i zvukom) koje su prilično jednostavne za izvođenje, a mogu da ukažu na sumnju na BSE. Takođe, ustanovljene promene ponašanja, mogu da imaju značaja ne samo na farmama goveda, već i u klanicama, kada pozitivne navedene probe sa visokim procentom sigurnosti mogu da potvrde sumnju na BSE (na primer u klanicama u Švajcarskoj ovim probama se obavlja pregled svih grla starijih od 30 meseci) [4].

Posebno su značajni nalazi u krvi i serumu koji mogu da potvrde druge sekundarne reverzibilne encefalopatije, koje su najčešće metaboličkog i toksičnog porekla. Poznato je, na primer, da je koncentracija magnezijuma u serumu od 0,8 do 1,4 mmol/l i ako ispitivane dobijene vrednosti budu ispod fizioloških vrednosti, sa sigurnošću možemo da znamo, da je uzrok neurološkog sindroma hipomagnezijemija. Kod životinja sa poremećajima sensorijuma i kretanja potrebno je da se odredi koncentracija kalcijuma i oligoelementa bakra u krvnom serumu životinje.

Nervna forma ketoze decidno može da se potvrdi i određenim parametrima (povećana aktivnost AST, hiperbilirubinemija, hipoglikemija, nagomilavanje slobodnih masnih kiselina u krvi i povećanje acetonskih tela u krvi i urinu), dok se kod sumnje na trovanje olovom mora da sačini kompletan hemogram kada je nalaz: anemija, leukopenija i retki toksični neutrofilni [8, 17, 16].

### **Diferencijalna dijagnostika oboljenja CNS preživara / *Differential diagnostic of CNS diseases in ruminants***

Pošto BSE u razvoju kliničke slike ima sličnosti sa mnogim drugim oboljenjima centralnog nervnog sistema, naročito onim koja pri prvim znacima razvoja kliničke slike mogu da upute na BSE (tremor, češanje, pojačano samolizanje nosnog ogledala i anksioznost) sa oboljenjima čiji su uzročnici živi agensi, najvažnije je ipak da se obavi trijaža onih stanja koja imaju sličnosti sa encefalopatijama (metaboličkog ili toksičnog porekla). Ukoliko se na preduzetu određenu terapiju kod sekundarnih encefalopatija simptomi ublažavaju i organizam vraća u prvobitno stanje, odnosno onda kada se otkloni uzročnik, nastaje povoljna prog-

noza dok je u slučaju BSE-a iz dana u dan ispoljava se ireverzibilna progresija neuroloških simptoma. Najvažniji poremećaji i oboljenja CNS koja se diferencijalno-dijagnostički uzimaju u obzir, pri proceni prevalencije BSE su:

- hepatična encefalopatija,
- nervna forma ketoze,
- hipomagnezijemija,
- trovanje olovom,
- trovanje tremorgenim toksinima,
- neka zapaljenjska stanja (encefalitisi i/ili meningoencefalitisi).

Ukoliko su oboljenja infektivne prirode, onda je često prisutna povišena telesna temperatura, u krvi leukocitoza (bakterijska) ili leukopenija (virusna). U takvim slučajevima postoji mogućnost izolacije i determinacije uzročnika (na primer *Listeria monocitogenes*), što je vrlo značajno za postavljanje pravovremene i tačne dijagnoze.

#### Legislativa BSE / *Legislation on BSE*

Danas je jasno da je BSE u rizičnim zemljama EU merama aktivnog nadzora po kontrolom. Međutim, one zemlje koje nisu registrovale klinički manifestovan oblik BSE, niti koriste skrining dijagnostike, ipak treba da sprovedu **pasivni nadzor** (diferencijalno-dijagnostički pristup), pogotovu na grlima koja su uvezena iz rizičnih zemalja. Takođe, potrebno je da što pre budemo osposobljeni za laboratorijski skrining dijagnostike BSE. Više se ne prihvata postavka ili nagađanje da BSE-a ima ili nema u našim uslovima držanja visoko-mlečnih krava, već smo dužni da BSE potvrdimo ili isključimo, odnosno da uspostavimo **kontrolu upravljanja rizikom**, što nije samo uslov monitoringa BSE i analize rizika na BSE. Takav redosled poteza, našu delatnost bi doveo do sticanja poverenja kod potrošača goveđeg mesa, a sve radi zaštite zdravlja potrošača i pravovremenog ugrađivanja u aktuelne zahteve savremenog koncepta „Od njive-staje do trpeze”.

#### Literatura / *References*

1. Aleksić-Kovačević Sanja, Knežević Milijana, Jelisijević T., Jovanović M.: Metode dijagnostike transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE), Tehnologija mesa, 44, 3-4, 145-148, 2003. - 2. Blood D. C.: Pocket Companion to Veterinary Medicine. In: Chapter 22, Bailliere Tindall, 1994. - 3. Cockcroft P. D.: Pattern-matching models for the differential diagnosis of bovine spongiform encephalopathy, Veterinary Record, 144, 607-610, 1999. - 4. Doherr M. G., Heim D., Vandeveld R., Fatzer R.: Modelling the expected numbers of pre-clinical and clinical cases of bovine spongiform encephalopathy in Switzerland, Veterinary Record, 145, 155-160, 1999. - 5. Grassi J., Comoy E., Simon S., Creminon C., Frobert Y., Trapmann S., Schimmel H., Hawkins S. A. C., Moynagh J., Deslys J. P., Wells G. A. H.: Rapid test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue, Veterinary Record, 149, 577-582, 2001. - 6. Kimberlin R. H.: Transmissible spongiform

encephalopathy in animals and human: epidemiology, pathogenesis and research aspect, Genral Session of the International Committe and Conferances of the OIE, Regional Commission, Malta, september, 5, 1996. - 7. Radojičić Biljana, Đuričić Bosiljka, Marković S.: Advanced of Bovine Spongiform Encephalopathy in the clinical diagnostic, Zbornik radova 4. savetovanja veterinarar Republike Srpske, Teslić, Banja Vrućica, 10-14. juni, 143-147, 1997. - 8. Radojičić Biljana: Differential diagnostics of bovine encephalopathy, The 6 Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants, Postojna, Slovenija, Proceeding Programme and Book Abstracts, 10/2-0, 1998. - 9. Radojičić Biljana, Jonić B., Dobrić Đ.: Neki klinički aspekti dijagnostike encefalopatija goveda, Zbornik radova VII Kongres veterinarar Jugoslavije, oktobra, Beograd, 535-636, 1998. - 10. Radojičić Biljana, Đuričić Bosiljka: BSE – Nova sazajnja, Zbornik plenarnih referata i kratkih sadržaja koreferta, Simpozijum I epizootiološki dani, Žabljak, oktobra, 122, 1999. - 11. Radojičić Biljana, Bojkovski J.: Etiopatogeneza i dijagnostika nekih oboljenja CNS kod goveda, Zbornik radova i kratkih sadržaja 13. savetovanja veterinarar Srbije, Zlatibor, 11-14 septembar, 199-205, 2001. - 12. Radojičić Biljana: Epidemiološko-epizootiološki značaj nadzora nad BSE u svetu i kod nas, 10. jubilarani susreti nutricionista „Hrana bazirana na genetički modifikovanim organizmima (GMO), Beograd, 16. maja VMS, Cara Dušana, Zemun (predavanje po pozivu), 2001. - 13. Radojičić Biljana, Đuričić Bosiljka: Epidemiological importance of prion infections control, Veterinary Journal of Republic Serpska, 1. 1-2, 30-34, 2001. - 14. Radojičić Biljana, Maksimov V. G.: Savremene mogućnosti kliničke dijagnostike oboljenja centralnog nervnog sistema kod preživara, Zbornik radova Peto Savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja sa međunarodnim učešćem, Clinica veterinaria 2003, Budva 9-13 juni, 127-130, 2003. - 15. Radojičić Biljana, Đuričić Bosiljka: Differential diagnostics approaches of Bovine Spongiform Encephalopathy by clinical diagnosis, XI Congresso Internazionale della Mediterranea Sanita e Produzione Ruminanti, Olbia, Sassari, 22-25 maggio, Volume abstract, 15, 2003. - 16. Radojičić Biljana, Prašović S.: Differential-diagnostic approach to a clinical diagnostic of central nervous system disease of cows, II Simpozij poljoprivrede veterinarstva, šumarstva i biotehnologije, „Strategija razvoja domaće proizvodnje”, Bihać, BiH, 28-30 septembar, 55, 2004. - 17. Wilesmith J. W., Hoinville L. J, Ryan J. M. B., Sayers A. R.: Bovine spongiform encephalopathy aspects of clinical picture and analysis of possible changes 1986-1990, Veterinary Record, 144, 607-910, 1992.

## ENGLISH

### ETIOPATHOGENESIS AND DIAGNOSTICS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISEASES IN RUMINANTS WITH EMPHASIS ON BSE

**Biljana Radojičić, J. Bojkovski**

In spite of impressive general progress and achievements, the last decade of the twentieth century was marked by the appearance of a neurogenetative disease in cattle, bovine spongiform encephalopathy (BSE), known as the mad cow disease, which the World Health Organization (WHO), in 1997, proclaimed a rare but unfortunately fatal zoonosis. The new variant of the Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) is a direct parallel with BSE.

The mere incidence, and in particular, the spreading of BSE cases in other countries of the European Union (EU), in addition to the United Kingdom (UK), was followed by insufficiently clear and contradictory stands by researchers, especially regarding the issue of etiopathogenesis and the possible epidemiological risk of certain tissues origi-

nating from ruminants, and which could have significance in the transmission of BSE among humans.

Today, it could be said for BSE that it is under active monitoring, or control, which is a result of the implementation of many strict prescribed legislative measures, in particular in EU countries.

Countries such as ours - which have not registered a single clinically manifest case of BSE so far, and where no BSE was diagnosed in laboratories on brain samples of animals taken from the slaughter line of animals older than 24 months, or animals with neurological syndromes – are obliged to join the BSE monitoring and draw up a risk analysis, both because of the possible evaluation of the epizootiological-epidemiological situation (passive supervision), and because of possible imports and exports of cattle and beef from and to the EU market.

Using the model of recognizing other similar diseases of the CNS with a set of analyses (observing the clinical picture for several days, recognizing the so-called critical neurological sign, and certain findings in blood, serum, liquor, and urine), it is possible to rule out BSE and evaluate its prevalence.

Other CNS diseases in cattle, such as listeriosis, chlamydious sporadic encephalopathy, rabies, and secondary encephalopathies such as the nervous form of ketosis, hepatic encephalopathy, hypomagnesiemia, lead poisoning, poisoning with tremorgenic toxins such as saponin or ergotamine, can be found in a certain percentage in our conditions of maintenance of high-yield dairy cows as well.

Among CNS diseases diagnosed in sheep, the most frequently diagnosed are listeriosis, border disease, congenital hypomyelinogenesis, the louping ill infection, gravidity toxemia, some certain toxicoses, cenurosis, and scrapie.

Methods of so-called quick diagnostics, such as the Western Blot and/or ELISA test, enable screening for routine diagnostics and consequently active monitoring of BSE.

Even though we have not registered a single case of BSE in our country yet, it is still necessary as soon as possible to make an evaluation of the risk analysis of BSE, using the recognized differential-diagnostic approach, in recognizing the prevalence of BSE in vivo, as opposed to other similar neurological disorders and diseases of the CNS, which are especially important in high-yield dairy cows.

Key words: Etiopathogenesis, diagnostics, CNS diseases, ruminants, BSE

## РУССКИЙ

### ЭТИОПАТОГЕНЕЗ И ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ЖВАЧНЫХ С ОТДЕЛЬНЫМ ОБЗОРОМ НА BSE

Биляна Радоичич, Й. Бойковски

Последнее десятилетие двадцатого века и возле импрессивного впечатлительного всего прогресса и достижения, обозначило явление одной невро-дегенеративной болезни крупного рогатого скота, *Bovine spongiform encephalopathy (BSE)* знакомой и как болезнь „Сумасшедших коров”, которую Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) 1997 года прогласила редкой но к сожалению, фа-



тальным зоонозом. Новый вариант Creutzfeldt-Jakob-овой болезни (vCID) прямая параллель с *BSE*.

Самое явление а особенно расширение случаев *BSE* и в других странах Европейской Унии (ЕУ) кроме Объединённого Королевства (ОК), слеженоне достаточно ясными и контрадикторными позициями исследователей, особенно из-за вопроса этиопатогенеза и возможного эпидемиологического риска некоторых тканей и происхождению от жвачных а которая бы могла иметь значения в трансмиссии *BSE* у людей.

В настоящее время для *BSE* можно сказать, что „активным надзором” то есть под контролём, что последствие применения многих, строгих, предписанных мер акта, отдельно в странах ЕУ.

Страны как и наша, а которые не до сих пор записали ни один клинически манифестный случай *BSE* ни *BSE* диагносцирован в лаборатории на образчиках мозга животных взятых с линии уболя голов старше 24 месяца, или голов с неврологическими синдромами, должны включить в мониторинг *BSE* и составить „анализ риска”, как из-за возможного замечания эпизоотологическо-эпидемиологической ситуации (пассивный надзор), так и из-за эвентуального ввоза и вывоза крупного рогатого скота и говяжьего мяса с и на рынке ЕУ.

По модели узнавания других подобных заболеваний ЦНС, сетом анализов (наблюдением клинической картины несколько дней, узнаванием „критического неврологического знака” и определёнными результатами в крови, серуме, ликворе и мочеvine), *BSE* возможно исключить или оценить его превалентность.

Остальные заболевания ЦНС у крупного рогатого скота как листериоз, хламидиозная спорадическая энцефалопатия, бешенство, и вторичные энцефалопатии как нервная форма кетоза, гепатическая энцефалопатия, гипомагниемия, отравление свинцом, отравление треморгенными токсинами типа сапонинов и эрготаминов, в определённом проценте мы находим и в наших условиях содержания высоко дойных коров.

Из заболеваний ЦНС овец чаще всего диагносцируются листериоз, бордер болезнь, врождённый гипомиелиногенез, люпинг-ил, беременная токсемия, некоторые определённые отравления, ценуроз и скрейпи.

Методами так называемой быстрой диагностики, как Вестерн блот и/или *ELISA* тест, дан возможным „скрининг” для рутинной диагностики, то есть, для активного надзора *BSE*.

Хотя в нашей стране всё ещё не регистрировали ни один случай *BSE*, всё таки нужно чем раньше, составить оценку анализа риска от *BSE*, пользуя признанный дифференциально-диагностический доступ, в узнавании превалентности *BSE* „*in vivo*”, из других, подобных неврологических расстройств и заболеваний ЦНС, отдельно важных, у высоко дойных коров.

Ключевые слова: этиопатогенез, диагностика, заболевания ЦНС, жвачные, *BSE*

**AKTUELNE VIRUSNE BOLESTI SLATKOVODNIH RIBA\***  
*CURRENT VIRAL DISEASES OF FRESHWATER FISH*

Svetlana Jeremić, M. Ćirković, Dobrila Jakić-Dimić, V. Radosavljević\*\*

*Intenzivna proizvodnja riba, kao i drugih vrsta životinja pogoduje širenju virusnih bolesti, pa je zdravstvena zaštita jedan od osnovnih preduslova za rentabilnost proizvodnje.*

*Klinički su manifestne i eksplozivnog toka, tako da njihovo učešće u patologiji i ekonomičnosti proizvodnje riba ima izuzetan značaj.*

*U toku desetogodišnjeg ispitivanja kojima su obuhvaćeni različiti lokaliteti pastrmskih i šaranskih ribnjaka u R. Srbiji uspeli smo savremenim laboratorijskim metodama, od izolacije virusa preko sistema kulture ćelija, serum neutralizacije i ELISA imunoenzimskom metodom da utvrdimo virusne bolesti riba.*

*U radu su opisane najčešće i ujedno najaktuelnije virusne bolesti na području Srbije: prolećna viremija, zarazna nekroza gušterače pastrmki, virusna hemoragična septikemija i boginje šarana koje se nalaze na listi A i B Međunarodnog ureda za epizootije za akvatične životinje, a takođe i virusne bolesti koje su rasprostranjene u Evropi i od kojih pretila opasnost za naše ribnjačarstvo ukoliko bi se nekontrolisano uvozila živa riba.*

*Ključne reči: zarazna nekroza gušterače pastrmki, virusna hemoragična septikemija, prolećna viremija šarana, izolacija, virus, serum neutralizacije, ELISA test*

**Uvod / Introduction**

Intenzivna proizvodnja riba, kao i drugih vrsta životinja pogoduje širenju virusnih bolesti, pa je zdravstvena zaštita jedan od osnovnih preduslova za rentabilnost proizvodnje. Gubici izazvani bolestima mogu da budu enormni, što nameće da se uvedu mere stroge kontrole.

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Svetlana Jeremić, viši naučni saradnik, Nučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Miroslav Ćirković, red. profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad; dr Dobrila Jakić-Dimić, naučni saradnik, Vladimir Radosavljević, DVM, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

Za određeni broj zaraznih bolesti virusne, bakterijske, mikotične i parazitske etiologije doneti su zakonski propisi i pravilnici koji proizilaze i iz međunarodnih konvencija. Novim Saveznim zakonom o zdravstvenoj zaštiti životinja od zaraznih bolesti pobrojane su 54 bolesti koje ugrožavaju celu zemlju, od kojih su 7 (12,96%) zaraze riba [14]. U kodeksu Međunarodnog ureda za epizootije (OIE) navedene su 103 zarazne bolesti od kojih su 11 (10,69%) riblje [4]. Upoređivanje podataka u kojima su zarazne bolesti riba zastupljene u tim aktima ukazuje da je veterinarstvo u našoj zemlji počelo da posvećuje odgovarajuću pažnju zaraznim bolestima riba, ali ne dovoljnu. U tabeli 1 nabrojane su bolesti riba iz Kodeksa i našeg Saveznog zakona.

Ukupno šest bolesti iz Kodeksa nije navedeno u našem Zakonu koji je u popis uvrstio četiri bolesti izvan zakona Kodeksa. Ovo stanje dobro odražava naše specifične dosadašnje probleme.

Posebna pažnja treba da se posveti uvozu žive ribe i ikre. Nekoliko bolesti nabrojanih u Kodeksu za sada su za našu zemlju nove, nepoznate. To su zarazna hematopoetska nekroza, herpesviroza salmonida, herpesviroza kanalskog somića i edwardsielloza, bolesti koje se već nalaze u zemljama koje su u našem okruženju. Unošenje tih bolesti veoma mnogo može da ugrozi naše ribarstvo.

Tabela 1. Bolesti riba na listi B Međunarodnog ureda za epizootije (OIE) (2003) i u našem Saveznom zakonu /

Table 1. Fish diseases on OIE (2003) B list and in the national federal law

Bolesti / Diseases	OIE	SCG
Virusne / Viral		
Virusna hemoragična septikemija, VHS / <i>Viral haemorrhagic septicemia, VHS</i>	+	+
Zarazna nekroza gušterače, IPN / <i>Infective pancreatic necrosis, IPN</i>	+	+
Prolećna viremija šarana, PVŠ / <i>Spring viremia in carp, PVS</i>	+	+
Zarazna hematopoetska nekroza, ZHN / <i>Infective hematopoetic necrosis, IHN</i>	+	-
Herpesviroza salmonida / <i>Herpesvirosis salmonida</i>	+	-
Herpes viroza kanalskog somića / <i>Herpesvirosis of the channel catfish</i>	+	-
Epizootična hematopoetska nekroza / <i>Epizootic hematopoetic necrosis</i>	+	-
Virusna encefalopatija i retinopatija larvi i juvenilnih morskih riba / <i>Viral encephalopathy and retinopathy of larvae and juvenile sea fish</i>	+	-
Infektivna anemija salmonida / <i>Infective salmonid anemia</i>	+	-

U radu su opisane najčešće i ujedno najaktuelnije virusne bolesti na području Srbije: prolećna viremija šarana (*Viremia vernalis cyprini*), zarazna nekroza gušterače pastrmki (*Necrosis infectiosa pancreaticae salmonis*) i virusna hemoragična septikemija (*Septicemia haemorrhagica salmonis*) koje se nalaze na listi A i B Međunarodnog ureda za epizootije za akvatične životinje, a koje su dijagnostikovane u Odeljenju za patologiju riba Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije, Beograd, i virusne bolesti riba koje se nalaze u zemljama koje su u našem okruženju.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Da bismo utvrdili epizootiološko stanje na virusne bolesti riba u Republici Srbiji sprovedli smo sistematski pregled svih uzrasnih kategorija šaranskih i pastrmskih vrsta riba u periodu od 1993. do 2003. Svake godine u tom periodu pregledano je 8 pastrmskih i 18 šaranskih ribnjaka društvenog i privatnog sektora.

Za ispitivanje matičnog zapata uzeta je ovarijalna i seminalna tečnost prilikom mresta. Kod svih ostalih uzrasnih kategorija uzeti su unutrašnji organi. Virusološka ispitivanja uzoraka izveli smo po principima koje je postavio Wolf.

Za izolaciju virusa koristili smo RTG2, CHSE-214, EPC i FHM ćelijske linije. Pored izolacije virusa na ćelijskoj liniji, koristili smo za utvrđivanje virusnog antigena i ELISA imunoenzimsku metodu.

Identifikacije virusa uradili smo serum neutralizacionim testom sa hiperimunim serumima koje smo sami pripremili od referentnih sojeva virusa koje smo dobili iz referens laboratorija Danske, Engleske i Amerike.

#### **Rezultati i diskusija / *Results and discussion***

**Zarazna nekroza gušterače pastrmki / *Necrosis infectiosa pancreaticae salmonis*** je akutna kontagiozna virusna infekcija pastrmskih riba koja se klinički manifestuje kao akutna bolest mlađa, u prvih 20 nedelja posle početka ishrane. Uginuća od ZNG mogu da budu neznatna, ali i veća od 90 posto, što zavisi od soja virusa, starosti i osetljivosti soja pastrmki, uslova držanja i temperature. Najvažniji izvor zaraze su bolesne ribe i one koje ostaju doživotne kliconoše nakon što prebole infekciju. Kliconoše virus izlučuju fecesom i polnim produktima, a otkrivanje takvih nosilaca je važan podatak za kontrolu bolesti, jer se virus, pored horizontalnog, prenosi i vertikalnim putem [3, 5, 7, 8, 9, 12, 13].

Sistematskim virusološkim ispitivanjima matičnog zapata kalifornijske pastrmke (*Salmo gairdneri* R.) u toku višegodišnjeg ispitivanja na ribnjacima Republike Srbije iz polnih produkata izolovan je i identifikovan virus zarazne nekroze gušterače pastrmki iz dva pastrmska ribnjaka.

Ovogodišnja mlađ kalifornijske pastrmke ispitivana je sa osam ribnjaka u Republici Srbiji. Na pet pastrmskih ribnjaka riba je bila klinički zdrava, dok je na tri ribnjaka ustanovljen povećan mortalitet. Kliničkim i patološko-morfo-

loškim pregledima kod obolele ovogodišnje mlađi ustanovljeno je da je mlađ pokazivala znake poremećaja plivanja na karakterističan, grčevit, spiralan ili vrtložni način, praćen periodima u toku kojih je mirovala na dnu bazena, u stanju iscrpljenosti. Kod obolelih riba zapažena je tamna pigmentisanost tela, otečenost abdominalne regije i umeren egzoftalmus. U trbušnoj šupljini bilo je nešto crvene serozne tečnosti. Jetra i slezina su blede boje, a žučni mehur proširen. Želudac i creva su bez hrane ispunjeni nenormalnom količinom sluzavog sadržaja beličasto obojenog.

Na osnovu rezultata pregleda ovogodišnje mlađi sa osam pastrmskih ribnjaka iz Republike Srbije ustanovljeno je da su sa pet ribnjaka iz Republike Srbije bili negativni virusološki rezultati, a sa tri ribnjaka su dobijeni virusološki pozitivni rezultati. Virusološki pozitivan rezultat smo dobili iz uzoraka mlađi koji potiču sa ribnjaka na kojima je ustanovljen znatno veći mortalitet nego na ostalim ribnjacima. Rezultatom SNT je utvrđeno da je antiserum IPN virusa soja Sp kompletno neutralisao izolovani virus. Isti rezultat je dobijen neutralizacijom kontrolnog, referentnog soja virusa IPN.

**Virusna hemoragična septikemija pastrmki / *Viral haemorrhagic septicemia*** kontagiozno je oboljenje koje ima sezonski karakter [3, 8]. Obolevaju sve starosne kategorije, ali su najosetljiviji mladunci i mlađ kalifornijske pastrmke starije od godinu dana, dužine 15 cm. Epizootije najčešće izbijaju krajem zime i početkom proleća, a prestaju krajem proleća i početkom leta. Na pojavljivanje bolesti značajnu ulogu imaju predisponirajući činioci: niska temperatura vode od 7 do 9°C, nedostatak kiseonika, smanjen protok vode, gust nasad, loši higijenski uslovi i deficitarna ishrana [9, 13, 14].

Jednogodišnja mlađ kalifornijske pastrmke ispitana je sa šest pastrmskih ribnjaka na kojima je ustanovljen povećan mortalitet. Kliničkim i patološkomorfološkim pregledima obolele ribe zadržavale su se uz ivice bazena ili pri ispuštu, mirne i teško održavaju ravnotežu. Tamno su pigmentisane. Škrge su blede. Imaju ispupčene oči. Oko očiju i u njima, kao i na škrgrama, u ustima i na koži, vide se tačkasta krvarenja. Difuzna krvarenja su ustanovljena na svim organima, a naročito u ribljem mehur, mišićima i masnom tkivu oko unutrašnjih organa.

Od šest ispitanih pastrmskih ribnjaka, u kojima je u zimsko-prolećnom periodu utvrđen povećan mortalitet mlađi kalifornijske pastrmke, dva ribnjaka su imala virusološki pozitivne rezultate, odnosno zaražena su virusom hemoragične septikemije. Serum neutralizacionim testom utvrdili smo da se radi o egtved virusu.

**Prolećna viremija šarana / *Spring viraemia in carp*** je akutno kontagiozno virusno oboljenje izazvano virusom *Rhabdovirus carpio*. Šaran je najvažnija ugrožena vrsta u svim starosnim kategorijama, iako od ovog oboljenja obolevaju i druge ciprinidne vrste riba. Sezona i temperatura znatno utiču na interakciju virus-domaćin. Fiziološki status šarana posle prezimljavanja je odlučujući činilac pri „naletu” oboljenja u proleće, pri istim temperaturama kao što su one u jesen kada se teški gubici nikada ne javljaju. Smrtnost uslovljena prolećnom vire-

mijom javlja se od novembra do jula sa „vrhom” od apila do juna. „Naleti” oboljenja se retko javljaju pri temperaturama nižim od 10°C, a najčešće su pri temperaturi između 11 i 7°C.

Držanje riba u zimovnicima (velika gustina ribe bez hrane) tokom početnog porasta temperature u proleće i uz sve činioce koji provociraju stres, favorizuju bolest PVŠ-a i visok mortalitet [3, 6, 8, 10, 11].

Kliničkim i patološko-morfološkim pregledom na koži i škragama obolelih i moribundnih riba ustanovljena je povećana količina sluzi. Oči su im ispupčene, trbušna šupljina proširena, anus zacrvenjen i ispupčen. Škrge blede usled anemije. Na koži i škragama postoje tačkasta krvarenja. Sekcijom na unutrašnjim organima utvrđene su izrazite promene: peritonitis, tačkasta krvarenja i milijarne nekroze po jetri, krvarenja i nekroze po bubrezima, krvarenja u prednjem delu ribljeg mehura, slezina otečena i nejednake boje. Creva proširena i ispunjena sluzavim i gnojnim sadržajem. Virus je izolovan iz škrge i parenhimatoznih organa.

U toku višegodišnjeg ispitivanja, kojima je obuhvaćeno 28 ribnjaka u Republici Srbiji, uspeli smo da izolujemo i identifikujemo *Rhabdovirus carpio* sa 17 ribnjaka. Virusološki pozitivne epidemije PVŠ prvi put su se javile u proleće 1993. godine, kada je temperatura vode bila 13 i 15°C. „Ozbiljnost” oboljenja je varirala od bazena do bazena na istom ribnjaku, odnosno od ribnjaka do ribnjaka, a na pojedinim ribnjacima su bili virusološki pozitivni rezultati u dve uzastopne godine. Na rasprostranjenost i učestalost pojavljivanja ukazuju podaci dugogodišnjeg ispitivanja, prema kojima je virusološkim pregledima uzoraka šarana sa 28 ribnjaka u Srbiji, *Rabdovirus* utvrđen: u aprilu na devet ribnjaka, u maju na jedanaest ribnjaka, u junu na dva ribnjaka, u februaru i decembru na jednom ribnjaku.

**Boginje šarana / *Epithelioma papulosum cyprini*** je hronična zarazna bolest prouzrokovana virusom koji izaziva hiperplaziju epitela kože sa poremećajem metabolizma minerala u kasnijoj fazi. Na nastanak i tok bolesti utiču genetski faktori i okolina. Bolest je blagog toka i uginuća su retka, ali zbog slabijeg prirasta i nemogućnosti prodaje teže bolesnih šarana bolest nanosi znatne štete. Utvrđena je na četiri ribnjaka i to kod šarana koji su smešteni u zimovnicima.

Bolest se pretežno pojavljuje u ribnjacima. Najosetljiviji su dvogodišnji i trogodišnji šarani. Nastanku i nepovoljnom toku bolesti pogoduje velika količina organske materije u vodi, kiselja reakcija vode, te nedostatak kalcijuma i hipovitaminoze. Šaranska vaš, najverovatnije, učestvuje u prenošenju uzročnika.

Na pojedinim delovima kože tela i peraja pojavljuju se izrasline koje postepeno postaju sve deblje, veće i raširenije. Proliferacije epitela u početku su mlečno bele boje. Kasnije su deblje, bele i neravne. Istovremeno se sve više usporava rast, šarani mršave i dolazi do osteomalacije. Šarani postaju mlitavi i savitljivi.

Zbog ekonomskih šteta koje virusne bolesti izazivaju i nedovoljno kontrolisanog uvoza želja nam je bila da vas upoznamo sa osnovnim simptomima

i merama koje treba preduzeti za virusne bolesti koje nisu konstatovane u našoj zemlji, a nalaze se u zemljama koje su u našem okruženju.

**Zarazna hematopoetična nekroza (ZHN) / Infectious haematopoietic necrosis** je virusno oboljenje kalifornijske pastrmke i lososa, koje je rasprostranjeno u Severnoj Americi, Japanu i Evropi. Bolest nije ustanovljena kod nas. Virus pripada familiji *Rhabdovirusa*, oblika je taneta, veličine 70-95 x 160x170 nm [1]. Izvor zaraze su sekreti kliconoša i bolesnih riba tj. urin, feces i polni produkti u doba mresta, kao i leševi, te kontaminisan pribor i ljudi. Starost domaćina znatno utiče na ishod infekcije, što je riba mlađa to je osetljivija na virus.

Kod mlađi lososa uzrasta do dva meseca mortalitet na 10°C najčešće je veći od 90 posto. Mortalitet mlađi u uzrastu od 2 do 6 meseci iznosi oko 50 posto, a u godišnjaka samo oko 10 posto, dok dvogodišnja i starija riba ne oboleva. Kod kalifornijske pastrmke mortalitet je obično visok kod ribe telesne mase do 100 g, zatim postepeno opada. Obolele ribe su letargične, tamno pigmentisane i hiperaktivne. Pokreti su kod plivanja nagli, a ribe plivaju po strani i vrte se u krug. Hemoragični sindrom, opsežne nekroze hematopoetskog tkiva bubrega i enteritis su glavni simptomi bolesti. Borba sa ZHN zasniva se na sprečavanju unošenja virusa i iskorenjivanju zaraze kada se ona pojavi.

**Herpesvirusno oboljenje salmonida / Herpesvirosis** – Herpesvirusna infekcija salmonida (Tip 2) je kontagiozna bolest uglavnom mlađi koja ima onkogeni karakter kod salmonidnih riba. Virus pripada grupi herpesvirusa i poznat je kao tumorozni virus, okruglastog oblika, veličine 175 nm [3]. Primarni izvori zaraze su klinički inficirane ribe i asimptomatske kliconoše. Virus se izlučuje urinom, fecesom i polnim produktima. Klinički početak infekcije pojavljuje se kao sistem-ska i često letalna infekcija sa glavnim karakteristikama edema i hemoragija. Pored toga javljaju se tamno pigmentisanje kože, egzoftalmus, anemija, krvarenja po perajima i povećanje abdomena. Različiti broj preživelih riba dobija epiteliom koji se pojavljuje oko usta, iznad i ispod vilica i ređe na kaudalnom peraju i površini tela. Ove neoplazije perzistiraju od jedne godine od momenta infekcije. S obzirom da protiv herpesvirusne infekcije salmonida ne postoji efikasna medikamentozna terapija moguće je boriti se samo primenom opštih, sanitarno-profilaktičkih mera i obezbeđivanjem optimalnih uslova gajenja.

**Herpesviroza kanalskog soma Typ 1 / Channel catfish virus disease** – Akutno, veoma kontagiozno oboljenje kanalskog somića izazvano virusom *Herpesvirus ictaluri*. Haemoragični sindrom i edemi su glavni znaci bolesti. Bolest se javlja u letnjim mesecima kada se temperatura vode podigne od 25 do 30°C kod mlađi uzrasta od jedne nedelje do šest meseci.

Klinički znaci uključuju gubitak ravnoteže, spiralno plivanje i vertikalnu obešenost ribe. Koža im je tamno pigmentisana, a u osnovama peraja i abdomena nalaze se hemoragične zone, škrge su blede i hemoragične, oči ispupčene i abdomen proširen. Nalaze se krvarenja u muskulaturi jetri, bubrezima, slezini koja je često bledocrvena i uvećana. Oboljenje je učestalije i smrtnost znatno veća kod veće gustine nasada, lošijeg kvaliteta vode i niže koncentracije kiseonika.

**Epizootska hematopoetična nekroza / Epizootic haemotopoietic necrosis** je sistemska iridovirusna infekcija (ranavirus), grgeča, kalifornijske pastrmke, somova i američkog somića. Infekcija je letalna za grgeča, a znatno manje za kalifornijsku pastrmku. Kod soma i američkog somića izaziva visok morbiditet i mortalitet. Bolest karakterišu hemoragije edemima i nekrotične promene vaskularnog zida jetre slezine i hematopoetskog tkiva bubrega. Nekrotični nefritis je kontaminirani znak za ovo oboljenje. Oboljenje se klinički ispoljava kod pogoršanog kvaliteta vode. Oboleva mlađ grgeča u uzrastu od 35 do 45 dana, ali može da oboli i starija riba. Oboljenje se ne javlja na temperaturi nižoj od 12°C. Kod kalifornijske pastrmke infekcija se pojavljuje na temperaturi od 11 do 17°C. Prvi znaci koji se zapažaju je pojačan mortalitet, a ribe pokazuju znake poremećaja u plivanju, tamniju pigmentisanost, otečenost abdomena i prolabiran anus. Kod pastrmki se pojavljuju kožni ulceri veličine 3 do 8 mm, oštro ograničeni.

Potrebno je da se naglasi da ribe u prirodnim vodama predstavljaju izvor zaraze za ribe u ribnjacima. Bolest se na prirodne populacije prenosi poribljavanjem ribom iz zaraženih ribnjaka. Uzročnici u ribnjake dospevaju vodom, a naročito ribom koja prođe kroz ispuste. Pri pražnjenju ribnjaka uzročnici bolesti dospevaju vodom i ribom u otvorene vode i prenose se na ribu koja se u njima nalazi. U mnogim slučajevima stvara se krug koji održava stalno pojavljivanje bolesti u ribnjacima. Širenju bolesti je doprineo i nedovoljan zdravstveni nadzor nad ribom koja se prevozi u razne svrhe sa jednog ribnjaka na drugi.

Profilaksa virusnih oboljenja riba se zasniva na ihtiosanitarnim merama kojima treba da se spreči „ulazak” uzročnika u odgajivališta. Zabranom unošenja riba više godina za redom, kontrolisanim uzgojem i redovnim zdravstvenim nadzorom treba da se smanji broj obolelih riba i spreči pojavljivanje bolesti.

#### **Zaključak / Conclusion**

Virusne infekcije predstavljaju stalnu opasnost pri gajenju i proizvodnji riba.

Klinički su manifestne i eksplozivnog toka, tako da njihovo učešće u patologiji i ekonomičnosti proizvodnje riba ima izuzetan značaj. Njihovo štetno delovanje ispoljava se u povećanom mortalitetu i morbiditetu, slabljenju organizma riba i nedostatku nasadnog materijala.

– Na listi OIE nalazi se znatno veći broj virusnih bolesti, ali u našoj zemlji konstatovane su: zarazna nekroza gušterače pastrmki, virusna hemoragična septikemija i prolećna viremija šarana.

– Virusne bolesti riba ne mogu uspešno da se leče, pa se borba protiv tih zaraznih bolesti odvija sprečavanjem njihovog unošenja u nezaražene ribnjake ili iskorenjivanjem iz objekata u kojima su se pojavile.



– Unošenje novih virusnih bolesti u našu zemlju mora da se spreči strogom kontrolom uvoza žive ribe i ikre primenom veterinarsko-sanitarnih mera koje uključuju i dezinfekciju ikre i redovna laboratorijska ispitivanja.

– Od profilaktičkih mera treba da se sprovedu: dezinfekcija ikre preparatima joda, dezinfekcija svih bazena i opreme pre ubacivanja ribe i uklanjanje divlje ribe sa izvora.

Napomena: Ovo istraživanje je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj R. Srbije u okviru tehnološkog projekta ev.br. BTR 5.05.0541 B

### **Literatura / References**

1. Amend D. E.: Approved procedure for determining absence of infectious pancreatic necrosis (IPN) virus in certain fish products: Fish disease leaflet (FDL) 27. U.S. Dep. INT. Washington, 1970. - 2. Ćirković M., Ćirković Danica, Jovanović Branislava: Proizvodnja, patologija i terapija šaranskih vrsta riba. Zbornik radova X savetovanja veterinarara Srbije, Zlatibor, 281-292, 1997. - 3. Ćirković M., Jovanović Branislava, Jeremić Svetlana, Plavša Nada: Bolesti i gajenje riba. Zbornik radova VII kongresa veterinarara Jugoslavije, Beograd, 745-755, 1998. - 4. Diagnostic manual for aquatic animal diseases, Office international des epizootie (OIE), 1-207, 1995. - 5. Jeremić Svetlana: The first isolation of the infectious pancreatic necrosis virus in SR Srbija: Ichtyos m 7, 16-21, 1989. - 6. Jeremić Svetlana, Veljović Lj.: Prolećna viremija šarana u Republici Srbiji. Zbornik rezimeza, VII kongres mikrobiologa Jugoslavije, Herceg Novi, 1996. - 7. Jeremić Svetlana, Jovanović Branislava, Veljović Lj., Anđelić D.: Zaštita zdravlja riba u toku gajenja i proizvodnje: Monografija - Ribarstvo Jugoslavije, 29-37, 1997. - 8. Jeremić Svetlana, Jovanović Branislava, Veljović Lj., Anđelić D.: Aktuelne virusne bolesti riba u Jugoslaviji: Monografija - Ribarstvo Jugoslavije, 29-37, 1997. - 9. Jeremić Svetlana: Proizvodnja, patologija i terapija salmonidnih vrsta riba, Zbornik radova 10. savetovanja veterinarara Srbije sa međunarodnim učešćem, 293-302, 1997. - 10. Jeremić Svetlana, Anđelić D.: Prolećna viremija šarana u Srbiji u periodu od 1986. do 1997. Zbornik radova sa 10. savetovanja veterinarara Srbije, sa međunarodnim učešćem, 327-333, 1997. - 11. Jeremić Svetlana, Veljović Lj., Anđelić D.: Data on dissemination of spring Viremia of carp (SVC) in Serbia during the period from 1986 to 1995: Journal of scientific agricultural research, 58, 207, 3-4, 97-108, 1997. - 12. Jeremić Svetlana, Ivetić V., Anđelić D.: Comparative pathohistological and virusological study of infectious pancreatic necrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*): Ichthyologia, Vol. 30, 1, 1-8, 1998. - 13. Jovanović Branislava, Ćirković M., Jeremić Svetlana: Epizootiološka situacija na ribnjacima SR Srbije - Zbornik radova Međunarodnog simpozijuma „Ihtopatologija u akvakulturi”, Dubrovnik, 1996. - 14. Mojović-Magdić Jasmina, Jeremić Svetlana, Poleksić Vesna: Uticaj ekoloških činilaca sredine na zdravstveno stanje i kondiciju salmonida “Savremena poljoprivreda”, 48, 1-2, 243-247, Novi Sad, 1998. - 15. Zakon o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju celu zemlju („Sl. list SFRJ” br. 43/86, 53/91).

ENGLISH

**CURRENT VIRAL DISEASES OF FRESHWATER FISH**

**Svetlana Jeremić, M. Ćirković, Dobrila Jakić-Dimić, V. Radosavljević**

Viral infections present a permanent danger in the breeding and production of fish. They are clinically manifested and of an explosive course, so their participation in the pathology and feasibility of fish production is of extreme significance. Their negative effect is seen in increased mortality and morbidity, weakening of the fish organism, and pack of breeding material.

The most common, and therefore most topical viral diseases in the area of Serbia are described: spring viremia of carp, Infective pancreatic necrosis in trout, and viral haemorrhagic septicemia in trout.

In our studies, we used the usual virus examination methods (isolating the virus with cell lines, identifying the virus by the serum neutralizing test with anti SVC, anti IPN and anti VHS serum and ELISA test.

We have described viral diseases which have already been detected in neighbour-countries.

The appearance of these diseases could be very harmful for our fish-farming industry.

**Key words:** Infectious pancreatic necrosis in trout, viral haemorrhagic septicemia, spring viremia of carp, isolation, virus, serum neutralizing test, ELISA test

РУССКИЙ

**АКТУАЛЬНЫЕ ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ**

**Светлана Еремич, Добрила Якич-Димич, В. Радосавлевич, М. Чиркович**

Интенсивное производство рыб, словно и других видов животных благоприятствует расширению вирусных болезней, и здравоохранение один из основных предварительных условий для рентабельности производства.

Клинически манифестны и взрывного течения, так что их участие в патологии и экономичности производства рыб имеет исключительное значение.

В течение десятилетнего испытывания, которыми охвачены различные места форелевых и сазановых прудов в Р. Сербии мы успели современными лабораторными методами, от изоляции вирусов через систему культуры клеток, серум нейтрализации и *ELISA* иммуноэнзимным методом утвердить вирусные болезни рыб.

В работе описаны наиболее частые и вместе наиболее актуальные болезни на районе Сербии: весенняя виремия, заразный некроз поджелудочной железы форелей, вирусная геморрагическая септицемия и оспа сазана, находимые на списке А и Б Международного бюро для эпизоотии для акватичных животных, а также и вирусные болезни, расширенные в Европе и от которых грозит опасность для нашего рыбоводства поскольку бы совершился неконтролируемый ввоз живой рыбы.

**Ключевые слова:** вирусная геморрагическая септицемия, весенняя виремия, заразный некроз поджелудочной железы форелей, оспа сазана, изоляция, вирусов, серум нейтрализации, *ELISA*

PROMENE VREDNOSTI KARAKTERISTIČNIH  
BIOHEMIJSKIH PARAMETARA KRVI KOD KRAVA  
OBOLELIH OD KETOZE\*  
*CHANGES OF CHARACTERISTIC BLOOD PARAMETERS IN  
KETOTIC COWS*

R. Đoković, H. Šamanc, Snežana Bošković-Bogosavljević, Vera Radović\*\*

*Cilj ovoga rada je bio da se utvrdi povezanost između promena koncentracija slobodnih masnih kiselina, triglicerida, insulina i glikoze u krvi i pojavljivanje ketoze kod visoko-produktivnih mlečnih krava u postpartalnom periodu. Za ispitivanje su odabrane klinički zdrave krave (n=10) i krave koje su pokazivale kliničke znake ketoze (n=10) rase holštajn. Klinički obolelim kravama smatrali smo one životinje u čijoj mokraći su nađena ketonska tela, u koncentracijama višim od 17,20 mmol/l. Od svih ispitivanih krava uzimani su uzorci tkiva krvi punkcijom vene jugularis.*

*Koncentracija slobodnih masnih kiselina (SMK) u krvnom serumu određivana je kolorimetrijskom metodom po Ducombeu (1968). Koncentracija glikoze se određivala u svežoj krvi enzimskom metodom specifičnom za glikozu (Dextrostix trake) na „Eyeton” refraktometru. Koncentracija insulina u uzorcima krvnog seruma se određivala RIA-metodom, korišćenjem komercijalnih test paketa (INEP-Zemun). Koncentracija triglicerida u krvnom serumu određena je enzimskom metodom (bio Merieux Ref. 6.123.6).*

*Statistički značajne razlike srednjih vrednosti između grupa zdravih krava i ketoznih krava utvrđene su za koncentracije SMK (0,46:0,74 mmol/l  $p<0,01$ ), glikoze (2,71:1,80 mmol/l,  $p<0,01$ ), insulina (32,77:19,9 mIU/l,  $p<0,01$ ) i triglicerida (0,35:0,27 mmol/l,  $p<0,01$ ) u krvnom serumu, kao i značajna negativna korelacija ( $r=-0,50$ ) između koncentracije insulina i slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu kod ketoznih krava. Statistički značajno više koncentracije SMK u krvnom serumu kod krava obolelih od ketoze u puerperijumu,*

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

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

*ukazuju da je kod ovih životinja prisutna intenzivna i nekontrolisana lipomobilizacija i da je ona jedan od ključnih faktora u etiopatogenezi ketoze krava, a da statistički značajno niže koncentracije triglicerida u krvi ketoznih krava nedvosmisleno ukazuju da se trigliceridi zadržavaju u ćelijama jetre kod ketoznih krava.*

*Hipoglikemija i hipoinsulinemija je utvrđena kod ketoznih krava, kao i značajna negativna korelacija između koncentracije insulina i slobodnih masnih kiselina u krvi, što ukazuje da pri niskoj insulinemiji izostaje stimulatívni uticaj insulina na proces lipogeneze, pa se proporcionalno tome pojačava proces lipolize i ketogeneze.*

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

## **Uvod / Introduction**

Ketoza je složen poremećaj metabolizma ugljenih hidrata i masti kod mlečnih krava i odlikuje se povišenjem koncentracija ketonskih tela u krvi, mokraći i ostalim tkivima organizma, sa istovremenim promenama koncentracija pojedinih karakterističnih biohemijskih parametara krvi. U periodu rane laktacije metabolički procesi se inteziviraju kako bi se obezbedili neophodni prekursori za sintezu sastojaka mleka. Posledica takvog stanja je negativni energetska 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 najvažnijim predisponirajućim činiocem u etiologiji i patogenezi ketoze mlečnih krava [3, 7, 12, 16].

Lipomobilizacija iz telesnih depoa se ispoljava 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 [4, 11, 16].

Kod krava obolelih od ketoze utvrdene su značajno više koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi u odnosu na vrednosti kod zdravih krava u peripartalnom periodu [5, 6, 12]. U skladu sa tim Gaal [6] je utvrdio 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. Nasuprot koncentracijama slobodnih masnih kiselina u krvi koje se povećavaju, koncentracije triglicerida u krvi kod ketoznih krava se značajno snižavaju, pošto se u velikom stepenu nakupljaju u ćelijama jetre, što nije slučaj kod zdravih krava kod kojih su koncentracije triglicerida u krvi u fiziološkim granicama [2, 4, 6, 15].

U uslovima negativnog bilansa energije na početku laktacije kod krava koncentracije glikoze i insulina u krvi su niže u odnosu na vrednosti pre telje-

nja, što po nekim autorima omogućava mlečnoj žlezdi adekvatno snabdevanje hranljivim materijama [13]. 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 je utvrđena ketoza, jetra ima smanjenu sposobnost glukoneogeneze, ispražnjene su rezerve glikogena, što ima kao posledicu smanjenu sintezu glikoze u jetri i hipoglikemiju [16].

U krvnom serumu ketoznih krava na početku laktacije koncentracije insulina su značajno niže u odnosu na insulinemiju kod zdravih krava [5, 8, 13, 14]. 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, pošto 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 klinički zdrave krave (n=10) i krave sa kliničkim znacima ketoze (n=10) rase holštajn u periodu od 1. do 6. dana posle teljenja. Klinički obolelim kravama smatrali smo one životinje u čijoj su mokraći nađena ketonska tela, u koncentracijama višim od 17,20 mmol/l, a pri tom za ispitivanja se nisu uzimala u obzir grla kod kojih je ketonurija bila pratilac drugog osnovnog oboljenja (*retentio secundinarum*, mastitis i druga). 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 obavljeno je na sobnoj temperaturi i centrifugovanjem na 3000 obrtaja/min. Serum je čuvan na temperaturi od -18° C, do ispitivanja.

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 u uzorcima krvnog seruma je određivana RIA-metodom, korišćenjem komercijalnih test-paketa (INEP-Zemun). Koncentracija tiglicerida u krvnom serumu je određivana enzimskom metodom (bio *Merieux* Ref. 6.123.6). Na osnovu dobijenih rezultata izračunate su osnovne mere varijacije, a značajnost razlika između dobijenih srednjih vrednosti izračunata je pomoću Student-t-testa.

## Rezultati i diskusija / Results and discussion

Rezultati ispitivanja koncentracija ( $x \pm SD$ ) slobodnih masnih kiselina, triglicerida, glikoze i insulina u krvi kod zdravih i ketoznih krava prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Koncentracije slobodnih masnih kiselina krava (SMK) (mmol/l), triglicerida (mmol/l), glikoze (mmol/l) i insulina (mIU) u krvnom serumu zdravih i krava obolelih od ketoze  
Table 1. Concentrations of the free fatty acids (FFA)(mmol/l), triglycerides (mmol/l) glucose (mmol/l), and insulin (mIU) in blood serum of healthy and ketotic cows

Grupa / Group	n	SMK / FFA	Trigliceridi / Triglycerides	Glikoza / Glucose	Insulin / Insulin
Zdrave krave / Healthy cows	10	0,46 $\pm$ 0,10	0,35 $\pm$ 0,04	2,71 $\pm$ 0,35	32,77 $\pm$ 19,70
Ketozne krave / Ketotic cows	10	0,74 $\pm$ 0,12**	0,27 $\pm$ 0,03**	1,80 $\pm$ 0,43**	19,92 $\pm$ 9,07**

Legenda :\*\* p<0,01

Prema podacima mnogobrojnih autora, najbolji pokazatelj negativnog energetskog bilansa i stepena mobilizacije masti iz telesnih depoa kod krava u peripartalnom periodu povišene su koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi [9,10,12,15,16].

Iz prikazanih rezultata može da se vidi da je u krvnom serumu ketoznih krava utvrđena značajno viša koncentracija ( $p < 0,01$ ) slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu ( $x = 0,74 \pm 0,12$  mmol/l) u odnosu na vrednosti u krvi kod zdravih tek oteljenih krava ( $x = 0,46 \pm 0,10$  mmol/l  $p < 0,01$ ). Do sličnih rezultata došli su i drugi autori [2, 3, 14, 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 energije, što je slučaj na početku laktacije. Međutim, kod pojedinih životinja mobilisu se 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.

Iz prikazane tabele može da se uoči da je prosečna koncentracija triglicerida u krvi ketoznih krava iznosila  $x = 0,27 \pm 0,03$  mmol/l i bila je statistički značajno niža ( $p < 0,01$ ) u odnosu na koncentraciju kod zdravih krava ( $x = 0,35 \pm 0,04$  mmol/l). Ovaj nalaz je u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi istraživači koji nedvosmisleno ukazuju da se koncentracija triglicerida u krvi ketoznih krava snižava, a da se proporcionalno tome povećava njihova količina u

ćelijama jetre u kojima se nakupljaju, za razliku od zdravih krava kod kojih se trigliceridi ne odlažu u jetru već transportuju krvlju uz pomoć lipoproteina vrlo male gustine do tkiva koja ih koriste za svoje potrebe [1, 2, 4, 6, 15].

Iz prikazanih rezultata može da se vidi da je kod krava koje su obolele od ketoze utvrđena hipoglikemija ( $\bar{x} = 1,80 \pm 0,43$  mmol/l), a ove vrednosti su bile statistički značajno niže ( $p < 0,01$ ) u odnosu na vrednosti glikemije ( $\bar{x} = 2,71 \pm 0,35$  mmol/l) kod zdravih, tek oteljenih krava. Dobijeni rezultati su u skladu sa mnogobrojnim podacima iz literature koji ukazuju da ketozu obavezno prati hipoglikemično stanje [4, 13, 14]. 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 ( $r = -0,51$ ) između koncentracije slobodnih masnih kiselina i glikoze u krvnom serumu kod ketoznih krava [1]. U uslovima izraženog negativnog energetskog bilansa na početku laktacije je intenzivna mobilizacija masnih kiselina iz telesnih depoa i njihovo zadržavanje u ćelijama jetre, što redovno ima kao posledicu smanjivanje procesa glukoneogeneze u hepatocitima. Ukoliko intenzitet glukoneogeneze 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, 15, 16]. Postoje mišljenja da neadekvatna aktivnost (hipofunkcija) endokrinog pankreasa i smanjena koncentracija insulina u krvi u periodima izrazitog metaboličkog opterećenja (visok graviditet, početak laktacije) kod visoko-produktivnih mlečnih krava predstavlja jedan od značajnih predisponirajućih faktora u nastanku ketoze krava [13, 14]. 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 [8, 13, 14, 15], koji ukazuju da u uslovima snižene koncentracije insulina u krvi mlečnih krava skoro da prestaje anaboličko delovanje insulina na metabolizam masti u telesnim depoima, 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 povećanjem 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 mogu da imaju značajnu ulogu u etiopatogenezi ketoze mlečnih krava.

### Zaključak / Conclusion

1. Statistički značajno više koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvnom serumu ( $p < 0,01$ ) kod krava obolelih od ketoze u odnosu na vrednosti kod zdravih krava u puerperijumu, ukazuju da je kod ovih životinja prisutna intenzivna i nekontrolisana lipomobilizacija i da je ona jedan od ključnih faktora u etiopatogenezi ketoze krava, a da statistički značajno niže koncentracije triglicerida u krvi ketoznih krava ( $p < 0,01$ ) u odnosu na vrednosti kod zdravih krava nedvosmisleno ukazuju da se trigliceridi zadržavaju u ćelijama jetre kod krava obolelih od ketoze.

2. Hipoglikemija i hipoinsulinemija su utvrđene kod ketoznih krava, kao i značajna negativna korelacija ( $r = -0,50$ ) između koncentracije insulina i slobodnih masnih kiselina u krvi, što ukazuje da pri niskoj insulinemiji izostaje stimulativni uticaj insulina na proces lipogeneze, pa se proporcionalno tome pojačava proces lipolize i ketogeneze.

### 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 futterrntzug. 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 Manger., Staufienbiel R., Klukas H.: Untersuchung zur morphologie und funktion der lebel von hochleistungskuher 2, Wochen postpartun. Dtsch. Tierarzte. Wschr. 100, 168-208, 1993. - 8. 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. - 9. 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. - 10. Reid I. M., Rowlands G. J., Dew A. M., Collins R. A., Roberts C. J.: The relationship between postparturient fatty liver and blood composition in dairy cows. J. Agric. Sci., Cambridge 101, 473-480, 1983. - 11. Staufienbiel R., Meier R., Hachbart K. H., Staufienbiel Beate: Untersuchungen zum optimacem fettansaltz bei der Milchkuh. Mh. Vet. Med. 47, 125-136, 1992. - 12. Staufienbiel R., Staufienbiel Beate., Rossow, Weidemann F.: Energie-und fettstoff wechsel des Rindes. Vergleich der Aussage der Rucken fett dicke mit anderen Vuntersuchungszoben. Mh. Vet. Med. 48,167-174, 1993. - 13. Šamanc H., J. Anna Nikolić., 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. - 14. 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. - 15. 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. - 16. 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

### CHANGES OF CHARACTERISTIC PARAMETERS OF BLOOD IN KETOTIC COWS

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

The paper was aimed at establishing the interdependence between the concentrations of free fatty acids, triglyceride, glucose and insulin in the blood serum and the appearance of ketosis in the 10 ketotic cows and 10 healthy Holstein dairy cows in the post-partal period. 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  $-18^{\circ}\text{C}$  till testing. The concentration of free fatty acids in the blood serum was determined colorimetrically after Ducombe (1968), the concentration of triglycerides in the blood serum by the enzymatic method (bio Merieux Ref. 6.123.6), that of glucose in fresh blood by the enzymatic method specific to glucose (Dextrostix) 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).

A significantly higher concentration of free fatty acids ( $p < 0.01$ ) existed in the blood serum of ketotic cows compared to that in the healthy ones, denoting a presence of more intensive lipomobilization in ketotic cows, which may be one of the crucial mechanisms in the etiopathogenesis of ketosis. The concentration of triglycerides in the blood serum of ketotic cows was significantly lower ( $p < 0.01$ ) compared to that in the healthy ones, which means that triglycerides are accumulating in liver cells of ketotic cows.

Hypoinsulinemia and hypoglycemia were observed in ketotic cows as well as a negative correlation ( $r = -0,50$ ) between the concentrations of free fatty acids and the level of insulin in the blood serum, which may be one of the factors responsible for the lower lipogenesis, subsequently leading to increasing lipolysis and the ketogenesis process.

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

## РУССКИЙ

### ИЗМЕНЕНИЯ СТОИМОСТЕЙ ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКИХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРОВИ У КОРОВ ЗАБОЛЕВШИХ КЕТОЗОМ

**Р. Джокович, Х. Шаманц, Снежана Бошкович-Богосавлевич, Вера Радович**

Цель этой работы была утвердить связь между изменениями концентраций свободных жирных кислот, триглицеридов, инсулина и глюкозы в крови и явления кетоза у высоко-продуктивных дойных коров в послеродовом периоде. Для испытания отобраны клинически здоровые коровы ( $n=10$ ) и коровы, показавшие

клинические знаки кетоза (n=10) породы Холштайн. Клинически заболевшим коровам мы считали те животные в чьей моче найдены кетоновые тела, в концентрациях бóльших от 17,20 ммол/л. Из всех испытываемых коров браны образчики тканей крови пункцией вены югуларис.

Концентрация свободных жирных кислот (СЖК) в кровяном сыворотке определялась колориметрическим методом по Ducombe (1968). Концентрация глюкозы определялась в свежей крови энзимным методом специфическим для глюкозы (Dextrostix траке) на „Euetom” рефрактометре. Концентрация инсулина в образчиках кровяного сыворотка определялась РИА-методом, использованием коммерческих тест пакетов (ИНЕП-Земун). Концентрация триглицеридов в кровяном сыворотке определялась энзимным методом (bio Merieux Ref. 6123.6).

Статистически значительные различия средних стоимостей среди групп здоровых и кетозных коров утверждены для концентраций СЖК (0,46:0,74 ммол/л  $p<0,01$ ), глюкозы (2,71:1,80 ммол/л,  $p<0,01$ ) инсулина (32,77:19,9 мIU/л,  $p<0,01$ ), и триглицеридов (0,35:0,27 ммол/л,  $p<0,01$ ) в кровяном сыворотке, словно и значительная отрицательная корреляция ( $r=0,50$ ) между концентрацией инсулина и свободных жирных кислот в кровяном сыворотке у кетозных коров. Статистически значительно бóльшие концентрации СЖК в кровяном сыворотке у коров, заболевших кетозом в пуерперии, указывают, что у этих животных присутствующая интенсивная неконтролируемая липомобилизация и что она один из ключевых факторов в этиопатогенезе кетоза коров, а что статистически значительно меньшие концентрации триглицеридов в крови кетозных коров недвусмысленно указывают, что триглицериды задерживаются в клетках печени у кетозных коров.

Гипогликемия и гипоинсулинемия утверждена у кетозных коров, словно и значительная отрицательная корреляция между концентрацией инсулина и свободных жирных кислот в крови, что указывает, что при низкой инсулинемии отстает стимулирующее влияние инсулина на процесс липогенеза, да пропорционально тому усиливается процесс липолиза и катогенеза.

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

**KVALITET I UČESTALOST POJAVLJIVANJA IZMENJENOG  
TEHNOLOŠKOG KVALITETA *M. semimembranosus* SA  
POLUTKI SVINJA ČETVORORASNIH HIBRIDA\***  
*QUALITY AND INCIDENCE OF OCCURRENCE OF ALTERED  
TECHNOLOGICAL QUALITY OF *M. semimembranosus* IN CARCASS  
SIDES OF FOUR-BREED HYBRID PIGS*

V. Tomović, Ljiljana Petrović, Natalija Džinić, Danica Manojlović,  
S. Timanović, Dragica Vidarić, Nada Kurjakov, Svetlana Trišić-Ilić\*\*

U ovom radu obavljena su ispitivanja na 33 tovljenika četiri linije četvororasnih hibrida: (DxP)x(VJxŠL), (DxP)x(ŠLxVJ), (HxP)x(VJxŠL) i (HxP)x(ŠLxVJ). Ispitivanja su obuhvatila određivanje klaničnih svojstava, merenjem telesne mase i ocenom kvaliteta polutki, zatim određivanje tehnološkog kvaliteta *M. semimembranosus*, merenjem četiri najznačajnija parametra tehnološkog kvaliteta mesa:  $pH_i$ ,  $pH_k$ , sposobnosti vezivanja vode [SVV(%)] i boje (svetloća -  $L^*$ ), kao i izračunavanje učestalosti pojavljivanja normalnog i izmenjenog tehnološkog kvaliteta *M. semimembranosus*.

Za prosečnu telesnu masu tovljenika pred klanje (105,5 kg) i prosečan kvalitet polutki (58,6%), svakako, može da se konstatuje da su relativno dobri. Međutim, relativno visoke vrednosti standardne devijacije ukazuju na veoma neujednačenu telesnu masu i prinos mesa u polutkama, što, svakako, ne odgovara trenutnim zahtevima domaće primarne proizvodnje i prerađivačke mesne industrija.

Prosečan tehnološki kvalitet ispitanih mišića SM, prema kriterijumima za  $pH_i$ ,  $pH_k$  i  $L^*$ , odgovara mesu N kvaliteta ( $pH_i=6,15$ ,  $pH_k=5,80$ ,  $L^*=49,13$ ), a prema kriterijumu za SVV, odgovara mesu BMV kvaliteta (SVV=43,83%). Međutim, na osnovu rezultata o učestalosti pojavljivanja mesa normalnog i izmenjenog tehnološkog kvaliteta može da se konstatuje da je, prema kriterijumima za  $pH_i$ ,  $pH_k$ , SVV i  $L^*$ , učes-

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Mr Vladimir Tomović, asistent pripravnik, dr Ljiljana Petrović, redovni profesor, dr Natalija Džinić, asistent, mr Danica Manojlović, istraživač saradnik, Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu; dr Svetozar Timanović, Dragica Vidarić, dipl. inž., Nada Kurjakov, dipl. inž., Svetlana Trišić-Ilić, dipl. vet., AD „Neoplanta”, IM Novi Sad

*talost pojavljivanja mesa N kvaliteta: 69,70%, 100%, 6,06% i 57,58%, respektivno.*

*Ključne reči: svinje, četvororasni hibridi, kvalitet mesa, učestalost pojavljivanja*

## **Uvod / Introduction**

U nastojanju da se istovremeno potenciraju željena proizvodna i uzgojna svojstva, kao i da se maksimalno iskoriste efekti heterozisa i komplementarnosti, u zemljama sa razvijenim svinjogojstvom, a sve više i kod nas, u komercijalnom tovu su prisutni tovljenici dobijeni višerasnim ukrštanjem specijalizovanih rasa svinja. Četvorostrukim ukrštanjem svinja dobijaju se tovljenici koji se, prvenstveno, odlikuju visokim prirastom i dobrim kvalitetom polutki [13]. I dok se za navedena svojstva u literaturi, sve češće, konstatuje da su po kvantitativnim vrednostima, gotovo, dostigla svoj maksimum [14], isto tako, mnogobrojni rezultati [7, 11], kao i naša prethodna ispitivanja [5, 12], ukazuju da se ovako proizvedeno meso odlikuje visokom učestalošću pojavljivanja mesa izmenjenog kvaliteta. Posebno je neprihvatljivo ekstremno izmenjeno blede, meko i vodnjikavo (BMV) meso.

Imajući u vidu ove činjenice cilj ovoga rada, prvenstveno je bio da se u našim proizvodnim uslovima utvrdi kako četvororasno ukrštanje utiče na konačan tehnološki kvalitet proizvedenog mesa, odnosno na učestalost pojavljivanja mesa izmenjenog kvaliteta.

## **Materijal i metode rada / Materials and methods**

Ogledom su bile obuhvaćene četiri linije četvororasnih hibrida, koje potiču od pet visoko-selekcioniranih rasa svinja: durok (D), pietren (P), hempšir (H), veliki jorkšir (VJ) i švedski landras (ŠL). Ukupno je ispitano 33 grla ( $n=15; 6; 5; 7$ ) navedenog rasnog sastava: [(DxP)x(VJxŠL), (DxP)x(ŠLxVJ), (HxP)x(VJxŠL), (HxP)x(ŠLxVJ)], pri čemu je prvonaznačeni roditelj otac.

Ispitana grla su nastala u dugogodišnjem programu selekcije i ukrštanja kojeg realizujemo na farmi svinja „Čenej”, koja posluje u sklopu IM „Neoplanta” iz Novog Sada. Tov grla obavljen je na potpuno istovetan način za sve tovljenike. Merenje telesne mase svih grla obavljeno je na farmi pre otpremanja grla u klanicu. Svinje su sa mesta uzgoja na klanje dopremane sredstvima drumskog saobraćaja nakon čega su, tokom noći, odmarane u depou klanice. Omamljivanje, iskrvarenje, obrada trupova i hlađenje obavljani su standardnim tehnološkim postupkom.

Kvalitet polutki, odnosno prinos mesa u polutkama, i klasa polutki (SEUROP) [2] utvrđeni su posle hlađenja, odnosno 24 časa *post mortem*, metodom parcijalne disekcije [3, 4, 15].

pH vrednost merena je 45 minuta ( $pH_i$ ) i 24 časa *post mortem* ( $pH_k$ ), dok su sposobnost vezivanja vode (SVV) i boja (svetloća -  $L^*$ ) određeni 24 časa *post mortem* na kaudo-medijalnom delu *M. semimembranosus* (SM), jednom od najreprezentativnijih mišića buta. SVV, izražena kao procenat vezane vode, određena je metodom po Grau i Hammu [8]. Svetloća ( $L^*$ ) određena je instrumentalno uređajem MOMCOLOR 100 i iskazana u CIEL\*a\*b\* sistemu [1].

Učestalost pojavljivanja mesa različitog tehnološkog kvaliteta utvrđena je na osnovu navedenih parametara i kriterijuma koje su definisali: Tomović [12], Honikel [10] i Džinić *et al.* [6], a koja su doradili autori ovoga rada: Bledo, meko, vodnjikavo (BMV) -  $pH_i < 5,8$ ,  $pH_k < 5,4$ ,  $SVV < 2\%$ ,  $L^* > 55$ ; Svetlo crvenoružičasto, meko, vodnjikavo (SCMV) -  $5,8 \leq pH_i < 6,0$ ,  $50\% \leq SVV < 60\%$ ,  $50 < L^* \leq 55$ ; Normalno (N) -  $pH_i > 6,0$ ,  $5,4 \leq pH_k \leq 5,85(6,2)$ ,  $60\% \leq SVV \leq 70\%$ ,  $45 \leq L^* \leq 50$ ; Tamno, čvrsto, suvo (TČS) -  $pH_k > 6,2$ ,  $SVV > 70\%$ ,  $L^* < 45$ .

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni tako što su izračunate: srednja vrednost ( $\bar{x}$ ) i standardna devijacija ( $\sigma$ ) [9] i to na ukupnom broju ispitanih tovljenika ( $n=33$ ).

## Rezultati i diskusija / Results and discussion

U tabeli 1. prikazani su rezultati merenja telesne mase i ocene kvaliteta polutki četvororasnih tovljenika sa kojih potiču ispitani mišići SM.

Iz prikazanih rezultata se vidi da su ispitani četvororasni hibridi imali relativno dobru prosečnu telesnu masu pred klanje od 105,5 kg, mada, ipak, nešto iznad optimalne. Naime, prema Vidoviću [14], u našim proizvodnim uslovima, najoptimalnije, odnosno ekonomski najisplativije, je da se svinje tove do oko 100 kg telesne mase. Prosečan prinos mesa u polutkama je, takođe, veoma dobar, blizu 60 posto, i iznosi 58,6 posto (klasa E), odnosno 22,95 kg po svakoj polutki. Međutim, iz pojedinačnih vrednosti, za telesnu masu i prinos mesa u polutkama, a koje se nalaze u intervalu od 93 kg do 114 kg i u intervalu od 17,72 kg do 27,24 kg, odnosno od 50,4 posto (klasa O) do 66,1 posto (klasa S), vidi se da grla imaju veoma neujednačenu telesnu masu i prinos mesa u polutkama, a što, svakako, ne odgovara zahtevima savremene industrije mesa.

Tabela 1. Prosečna telesna masa i kvalitet polutki svinja četvororasnih hibrida ( $n=33$ )  
Table 1. Average body mass and quality of carcass sides of four-breed hybrid pigs ( $n=33$ )

Telesna masa (kg) / Body mass (kg)			Prinos mesa u polutkama / Meat yield of pork carcass side						Klasa polutki / Class of pork carcass side		
			Kg			%					
Min	Max	$\bar{x} \pm \sigma$	Min	Max	$\bar{x} \pm \sigma$	Min	Max	$\bar{x} \pm \sigma$	Min	Max	$\bar{x}$
93	114	$105,5 \pm 4,94$	17,72	27,24	$22,95 \pm 2,17$	50,4	66,1	$58,6 \pm 4,94$	O	S	E

U tabelama 2 i 3 prikazani su rezultati ispitivanja tehnološkog kvaliteta SM, odnosno rezultati o učestalosti pojavljivanja mesa različitog tehnološkog kvaliteta i s obzirom da se radi o rezultatima koji su izvedeni iz istih pojedinačnih podataka biće analizirani na jednom mestu.

Tabela 2. Prosečan tehnološki kvalitet *M. semimembranosus* sa polutki svinja četvororasnih hibrida (n=33)

Table 2. Average technological quality of *M. semimembranosus* from carcass sides of four-breed hybrid pigs (n=33)

pH <sub>i</sub> x ± σ	pH <sub>k</sub> x ± σ	SVV (%) x ± σ	L* x ± σ
6,15 ± 0,32	5,80 ± 0,22	43,83 ± 10,52	49,13 ± 4,21

Tabela 3. Učestalost pojavljivanja *M. semimembranosus* normalnog i izmenjenog tehnološkog kvaliteta sa polutki svinja četvororasnih hibrida (n=33)

Table 3. Incidence of *M. semimembranosus* in normal and altered technological quality from carcass sides of four-breed hybrid pigs (n=33)

Parametar / Parameter	Kvalitet / Quality	Učestalost (%) / Incidence (%)
pH <sub>i</sub>	BMV	9,09
	SCMV	21,21
	N	69,70
pH <sub>k</sub>	N	100
SVV	BMV	69,70
	SCMV	24,24
	N	6,06
L*	BMV	6,06
	SCMV	30,30
	N	57,58
	TČS	6,06

Prosečan kvalitet mišića SM prema kriterijumu za pH<sub>i</sub> (tabela 2) odgovara mesu N kvaliteta (pH<sub>i</sub>=6,15). Međutim, samo 69,70 posto ispitanih mišića SM (tabela 3) je, potencijalno, N kvaliteta, dok je 21,21 posto SCMV, odnosno 9,09 posto BMV kvaliteta. Dakle, nije ispunjen zahtev da 80 posto svinja sa jedne farme treba da ima pH<sub>i</sub> iznad 6,0 [10]. I pored toga, što je 45 minuta *post mortem* kod 30,30 posto ispitanih mišića SM registrovan veoma ubrzan pad pH, prosečna (pH<sub>k</sub>=5,80) (tabela 2) i sve pojedinačne vrednosti za pH<sub>k</sub> (tabela 3) nalaze se u intervalu od 5,4 do 5,85 (6,2), što odgovara mesu N kvaliteta. Na osnovu ovih vrednosti za pH<sub>k</sub> može da se očekuje da proizvedeno meso ima dobru SVV

( $pH_k \geq 5,4$ ), ali i, u 33,33 posto slučajeva, nešto slabiju održivost ( $pH_k > 5,85$ ) [10]. Međutim, od potencijalno 69,70 posto, prema kriterijumu za  $pH_i$ , i 100 posto, prema kriterijumu za  $pH_k$ , mesa N kvaliteta, konačan kvalitet proizvedenog mesa, prema kriterijumima za SVV i boju (svetloću -  $L^*$ ), znatno je slabiji. Naime, prosečan kvalitet ispitanih mišića SM prema kriterijumu za SVV (tabela 2) odgovara mesu BMV kvaliteta (SVV=43,83%), odnosno samo 6.06 posto proizvedenog mesa je N kvaliteta (tabela 3), dok je 24,24 posto SCMV i čak 69,70 posto BMV kvaliteta. Iako, prema kriterijumu za svetloću boje -  $L^*$ , prosečan kvalitet mišića SM (tabela 2) odgovara mesu N kvaliteta ( $L^*=49,13$ ), samo 57,58% proizvedenog mesa (tabela 3) ima crvenoružičastu boju koja odgovara boji mesa N kvaliteta, 30,30 posto ima nešto svetliju crvenoružičastu boju (SCMV kvalitet), dok po 6,06 posto proizvedenog mesa ima izrazito svetliju (BMV kvalitet), odnosno tamniju (TČS kvalitet) boju, u odnosu na boju mesa N kvaliteta.

### Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata ispitivanja klaničnih svojstava, tehnološkog kvaliteta i učestalosti pojavljivanja normalnog i izmenjenog tehnološkog kvaliteta *M. semimembranosus* četiri linije četvororasnih hibrida svinja, može da se zaključiti:

1. Prosečna telesna masa (105,5 kg) i prosečan kvalitet polutki (58,6%) relativno su dobri, ali da je, s obzirom na trenutne zahteve domaće primarne proizvodnje i prerađivačke mesne industrije, neophodno daljim oplemenjivačkim radom i korekcijom postupka ishrane ujednačiti telesnu masu i prinos mesa u polutkama tovljenika.

2. Udeo grla sa  $pH_i > 6,0$  samo 69,70 posto, te da je daljim oplemenjivačkim radom iz priploda neophodno da se isključe grla osetljiva na stres, kako bi se dostigao traženi zahtev da najmanje 80 posto grla sa jedne farme ima  $pH_i > 6,0$ .

3. S obzirom na veliku učestalost proizvedenog mesa sa svetlijom bojom -  $L^*$  (36,36%) i, naročito, sa slabom SVV (93,94%), u odnosu na potencijalno očekivanu prema kriterijumu za  $pH_i$ , neophodno je da se obave i odgovarajuće korekcije operacija na liniji klanja i, pre svega, postupka hlađenja, u prvih nekoliko časova *post mortem*.

Napomena: Izvorni naučni rad, finansiran sredstvima MNTR RS, nastao kao rezultat rada na projektu BNT.5.2.1.7101.B - „Proizvodnja svinjske šunke u konzervi”.

### Literatura / References

1. Commission Internationale de l'Eclairage. Supplement No 2 to CIE Publication No 15 (E-1.3.1.) 1971/(TC-1-3), Paris, France, 1978. - 2. Council Regulation (EEC) No 3220/84: Official Journal of the European Communities No L 301, 1-3, 20/11/1984. - 3. Commission Regulation (EEC) No 2967/85: Official Journal of the European Communities No L 285, 39-40, 25/10/1985. - 4. Commission Regulation (EC) No 3127/94 of 20 December

1994 amending Regulation (EC) No 2967/85: Official Journal of the European Communities No L 330, 43-44, 21/12/1994. - 5. Džinić N., Petrović Lj., Manojlović D., Tomović V., Timanović S., Trišić-Ilić S., Kurjakov N.: Proc. 47<sup>th</sup> ICoMST ž'Future of Meatž', Krakow, Poland, Vol. I, 2-P19, 146-147, 2001. - 6. Džinić N., Petrović Lj., Tomović V., Manojlović D., Timanović S., Trišić-Ilić S., Kurjakov N.: Proc. 50<sup>th</sup> ICoMST, Helsinki, Finland, Vol. I, 146-149, 2004. - 7. Fisher P., Mellett F. D., Hoffman L. C.: Meat Science, 54, 97-105, 2000. - 8. Grau R., Hamm R.: Fleischwirtschaft, 4, 295-297, 1952. - 9. Hadživuković S.: Statistički metodi. Drugo prošireno izdanje, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1991. - 10. Honikel K. O.: Tehnologija mesa, 40, 3-5, 105-123, 1999. - 11. Rahelić S.: Kvalitet mesa plemenite svinje. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1987. - 12. Tomović V.: Uticaj selekcije i višerasnog ukrštanja svinja na kvalitet polutki i tehnološki, nutritivni i senzorni kvalitet mesa. Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2002. - 13. Vidović V., Teodorović M., Kovčin S., Vučković M., Gagrcin M.: Selekcija i ukrštanje svinja. APROSIM, Novi Sad, 1994. - 14. Vidović V.: Selekcija i namenski uzgoj svinja - Tehnologija proizvodnje i kvalitet konzervi od mesa u komadima. Monografija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 31- 65, 1999. - 15. Walstra P., Merkus G. S. M.: Procedure for assessment of the lean meat percentage as a consequence of the new EU reference dissection method in rig carcass classification. DLO - Research Institute for Animal Science and Health (ID - DLO), Research Branch, Zeist, The Netherlands, 1996.

## ENGLISH

### QUALITY AND INCIDENCE OF OCCURRENCE OF ALTERED TECHNOLOGICAL QUALITY OF *M. semimembranosus* IN CARCASS SIDES OF FOUR-BREED HYBRID PIGS

V. Tomović, Ljiljana Petrović, Natalija Džinić, Danica Manojlović, S. Timanović, Dragica Vidarić, Nada Kurjakov, Svetlana Trišić-Ilić

This paper presents investigations performed on 33 porkers of four lines of four-breed hybrids: (DxP)x(LYxSL), (DxP)x(SLxLY), (HxP)x(LYxSL), and (HxP)x(SLxLY). Examinations covered the determination of abattoir characteristics, measurements of body mass and evaluation of carcass side quality, then by determining the technological quality of *M. semimembranosus*, measurements of the four most important parameters of technological quality of meat: pH<sub>i</sub>, pH<sub>k</sub>, water-binding capacity (%) and colour (lightness - L\*), as well as the determination of the incidence of normal and altered technological quality of *M. semimembranosus*.

We can definitely conclude that the average body mass of porkers ahead of slaughter (105.5 kg) and the average quality of the carcass sides (58.6%) were relatively good. However, the relatively high values of standard deviation indicate very unequal body mass and meat yield in the carcass sides, which certainly does not correspond to the current requirements of the domestic primary production and the meat processing industry.

The average technological quality of the examined muscles SM, according to criteria for pH<sub>i</sub>, pH<sub>k</sub> and L\*, corresponds to meat of normal (N) quality (pH<sub>i</sub>=6.15, pH<sub>k</sub>=5.80, L\*=49.13), and, according to criteria for water-binding capacity, to meat of pale, soft, exudative/watery (PSE) quality (water-binding capacity=43.83%). However, on the grounds of results for the incidence of meat of normal or altered technological quality, it can



be concluded that, according to criteria for  $pH_i$ ,  $pH_k$ , water-binding capacity, and  $L^*$ , the incidence of N quality meat is: 69.70%, 100%, 6.06%, and 57.58%, respectively.

Key words: pigs, four-breed hybrids, meat quality, incidence

## РУССКИЙ

### КАЧЕСТВО И ЧАСТОТА ПОЯВЛЕНИЯ ИЗМЕНЕННОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА *M. semimembranosus* С ПОЛОВИНОК СВИНЕЙ ЧЕТВЕРОПОРОДНЫХ ГИБРИДОВ

**В. Томович, Лиляна Петрович, Наталия Джинич, Даница Манойлович,  
С. Тиманович, Драгица Видарич, Нада Куряков, Светлана Тришич-Илич**

В этой работе сделаны испытания на 33 откормленных свиней четыре линии четверопородных гибридов (DxP)x(VJxŠL), (DxP)x(ŠLxVJ), (HxP)x(VJxŠL) и (HxP)x(ŠLxVJ). Испытания охватили определение убойных свойств измерением массы тела и оценкой качества половинок затем определение технологического качества *M. semimembranosus*, измерением четыре наиболее значительных параметров технологического качества мяса:  $pH_i$ ,  $pH_k$ , способности связывания воды [CCB (%)] и цвета (светлость -  $L^*$ ), словно и высчитывание частоты появления нормального и изменённого технологического качества *M. semimembranosus*.

Для средней массы тела откормочных свиней до убоя (105,5 кг) и среднее качество половинок (58,6%), во всяком случае, мы можем констатировать, что релятивно хорошие. Между тем, релятивно высокие стоимости стандартной девиации указывают на очень неуровненную массу тела и вклад мяса в половинках, что, во всяком случае, не отвечает мгновенным требованиям домашнего первичного производства и обрабатывающей мясной промышленности.

Среднее технологическое качество, испытанных мышцей SM, согласно с критериями для  $pH_i$ ,  $pH_k$  и  $L$ , отвечает мясу N качества ( $pH_i=6,15$ ,  $pH_k=5,80$ ,  $L^*=49,13$ ), а согласно с критерием для CCB, отвечает мясу BMW качества (CCB=43,83%). Между тем, на основе результата о частоте появления мяса нормального и изменённого технологического качества можно констатировать, что согласно с критериями для  $pH_i$ ,  $pH_k$ , CCB и  $L^*$ , частота появления мяса N качества: 69,70%, 100%, 6,06% и 57,58%, респектабельно.

Ключевые слова: свиньи, четвероподобные гибриды, качество мяса, частота появления

**KLASIČNE I SAVREMENE METODE U OTKRIVANJU SVINJA  
OSETLJIVIH NA STRES\***

**CONVENTIONAL AND MODERN METHODS FOR DETECTING STRESS  
SENSITIVE SWINE**

**Slavica Košarčić, Milena Stevanović, R. Došen, Mira Kovačević,  
M. Gagrčin, D. Košarčić, Ljiljana Stajić, D. Đisalov\*\***

*Iznenadna uginuća svinja izazvana stresom, na farmama pričinjavaju velike gubitke i utiču na rentabilnost proizvodnje. Stoga smo sprovedli istraživanje ove pojave na tri farme. Prvi rezultati datiraju od uvođenja halotan-testa 1974. godine, do DNK- testa i sigurne potvrde da je stres-sindrom svinja nasledno oboljenje životinja koje na šestom hromozomu nose tačkastu mutaciju.*

*Navedene činjenice opredelile su cilj naših istraživanja da utvrdimo trenutno stanje tačkaste mutacije na našim farmama, kakav je stepen učestalosti pojavljivanja homozigota i heterozigota, provera halotan testa na molekularnom nivou i predlog programa selekcije za kontrolu osetljivosti na stres.*

*Testirani su hibridi iz uobičajenog programa ukrštanja na našim farmama i obuhvaćeno je 500 prasadi. Utvrdili smo da je učestalost homozigota oko 23 posto i da je zastupljenost različita od, 2 posto, 9 posto do 12 posto. Halotan pozitivne jedinice testirali smo PCR-RFLP metodom molekularne genetike i potvrdili bolesne genotipove T/T. Odbranim životinjama je urađen DNK-test i utvrdili smo 31 posto heterozigota. Učestalost pojavljivanja po farmama je 6 posto, 11 posto i 14 posto.*

*Prema dobijenim rezultatima neophodna je kontrola svih životinja koje se uvode u reproduktivnu eksploataciju, eradikacija homozigota u testu i dozirana pravilna hibridizacija heterozigota, radi kontrolisanja i upravljanja poznatim genima.*

*Ključne reči: svinja, halotan test, DNK-test, stres, selekcija*

\* Rad primljen 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Slavica Košarčić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad; dr Milena Stevanović, red. prof., IMGGI, Beograd; dr Radosav Došen, istraživač saradnik, dr Mira Kovačević, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad; dr Dušan Košarčić, viši naučni saradnik, privatna veterinarska ambulanta „Košarčić”, Futog; dr Mladen Gagrčin, van. profesor, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; Ljiljana Stajić dipl. ing, Dane Đisalov, dipl. vet., PIK Bečež, Bečež

## **Uvod / Introduction**

Ekonomska opravdanost proizvodnje u uzgoju svinja i zahtev za dobijanje zdravstveno bezbednog proizvoda motivisali su predstavnike struke i nauke da istražuju činioce koji mogu da utiču na kvalitet namirnica životinjskog porekla.

Istraživački tim u ovom radu imao je za cilj da utvrdi kritičnu tačku u lancu proizvodnje na farmama svinja koja se manifestovala iznenadnim uginućem životinja i pojavom bledog, mekog i vodnjikavog mesa (PSE).

Istraživanja, saopštenja i objavljeni rezultati datiraju od prvih otkrića životinja osjetljivih na stres, halotan testom kao klasičnom metodom, koja nije otkrivala direktne uzroke maligne hipertermije i uginuća, do najsavremenijih metoda molekularne biologije i lociranja problema na nivo molekularne genetike [1, 2, 3]. Halotan test predstavlja početke traganja za uzrocima učestalih pojavljivanja iznenadnog uginuća svinja i dugo se koristi na farmama, jer omogućuje ranu trijažu i isključenje homozigota. U intenzivnoj proizvodnji svinja aparat za halotan test nalazi se u samom pogonu, jer su njegove prednosti: brzo otkrivanje, relativno jednostavno rukovanje, nizak mortalitet, kratka obuka, ušteda u samom odabiranju životinja za reprodukciju. Zbog nemogućnosti da otkrije heterozigote za potpuno kontrolisanje osjetljivosti na stres uvedena je metoda molekularne biologije DNK-test. Ovim testom moguća je genotipizacija na nivou baznih parova u molekulu DNK i mogu da se identifikuju genotipovi: C/C, T/T i C/T. Životinje C/C genotipa su zdrave, dok je genotip osjetljivih na stres T/T, sa tačkastom mutacijom, jer je u genu za rianodin receptor na poziciji 1843 zamenjen citozin timinom, što se odražava na zamenu amino-kiselina, jer se cistein nalazi umesto arginina. Ove zamene utiču na regulisanje nivoa kalcijuma u mišićnim ćelijama, što uzrokuje nekontrolisanu kontrakciju skeletne muskulature, malignu hipertermiju i uginuća. Životinje genotipa C/T su nosioci mutacije i važno je da se zna u zapatima njihova učestalost pojavljivanja tokom sprovođenja programa ukrštanja po liniji muških jedinki.

Ova naučna saznanja potvrđuju da je stres-sindrom svinja nasledno, autozomalno recesivno oboljenje. Javlja se kod pojedinih selekcionisanih rasa svinja, koje na šestom hromozomu, na kome se nalazi gen odgovoran za regulisanje kalcijuma u mišićima ćelija, nose tačkastu mutaciju [3, 4, 5].

Konačan cilj naših istraživanja je da utvrdimo trenutno postojanje tačkaste mutacije na našim farmama, kakva je učestalost pojavljivanja homozigota i heterozigota, provera halotan testa na molekularnom nivou i kontrola osjetljivosti na stres kroz predlog programa selekcije.

## **Materijal i metode rada / Materials and methods**

Na tri farme svinja odabrano je 500 prasadi telesne težine od 25 do 30 kilograma. Urađen je halotan test prema metodama koje su razvili Christian u Am-

erici, Eikeleboom i Minkema u Holandiji (1974), [3]. Koristili smo aparat za anestezijsku marke Dräger i gasni anestetik halotan (2-brom-2-hlor-1,1,1-trifluoroacetan).

Primerici halotan pozitivnih životinja testirani su DNK - testom. Ovaj test analizira mutirani deo u lancu DNK na mestu (C-T1843) RYR1 [7, 9].

DNK-test je urađen metodom Ož Brien *et al.* [4], korišćena je citratna krv uzeta uz mere bezbednosti da ne bi nastala genomna infekcija. Deproteinizacija je urađena digestijom protinazom K. Upotrebom PCR - tehnologije umnožena je mutirana sekvenca do potrebne količine (više od milion kopija). Umnoženi fragmenti su tretirani restrikcionim enzimom koji specifično seče DNK na mestu mutacije i na kontrolnom mestu. Dobijeni iseći se razdvajaju elektroforezom na agarozu gelu, boje fluoroscentnim markerom, detektuju UV svetlošću i fotografiju.

### Rezultati i diskusija / Results and discussion

Na odabranim farmama halotan testom su obuhvaćena prasad različitih rasa i pola. S obzirom da se ovom metodom otkrivaju halotan pozitivne životinje, koje su homozigoti za tačkastu mutaciju, utvrdili smo da je zastupljenost životinja osetljivih na stres 23 posto i da je različit stepen pojavljivanja od 2 posto, 9 posto i 12 posto osetljivih na stres na tri različite farme. Na ovom malom uzorku otkrivamo visoku zastupljenost homozigota za tačkastu mutaciju u odnosu na najnovija istraživanja u Kanadi u kojoj je procenat homozigotnih svinja za PSS mutaciju bio 1 posto i 2 posto u SAD-u i Engleskoj [6]. Sedamdesetih godina prošloga veka o rasprostranjenosti pojavljive PSS-mesa i svinja pozitivnih na halotan govorilo se u epidemijским razmerama. Sagledani su činiooci koji su uticali na brzo širenje ove pojave. Primenom pravilne selekcije i kontrolom zastupljenosti homozigota u hibridizovanim rasama svinja ova mutacija se smanjivala iz godine u godinu. U našoj zemlji, s obzirom na poznato stanje u stočarskoj proizvodnji objavljeni su podaci halotan testa koji su različiti na kontrolisanim farmama, ali je prosečna zastupljenost tih godina bila 31 posto [1]. Broj otkrivenih životinja pozitivnih na halotan u ovom radu je 23 posto u odnosu na prethodne podatke i ranija istraživanja je manji, ali to nije rezultat pravilne selekcije i eradikacionog programa na stres, već ukupno smanjene proizvodnje i iz ekonomskih razloga mali broj obuhvaćenih farmi i ispitivanih životinja. Neophodno je da se ova klasična metoda, koja je ekonomski prihvatljiva, uvede kao redovna kontrola pre nego što se uvedu jedinke u reprodukciju i otkriveni homozigoti isključe.

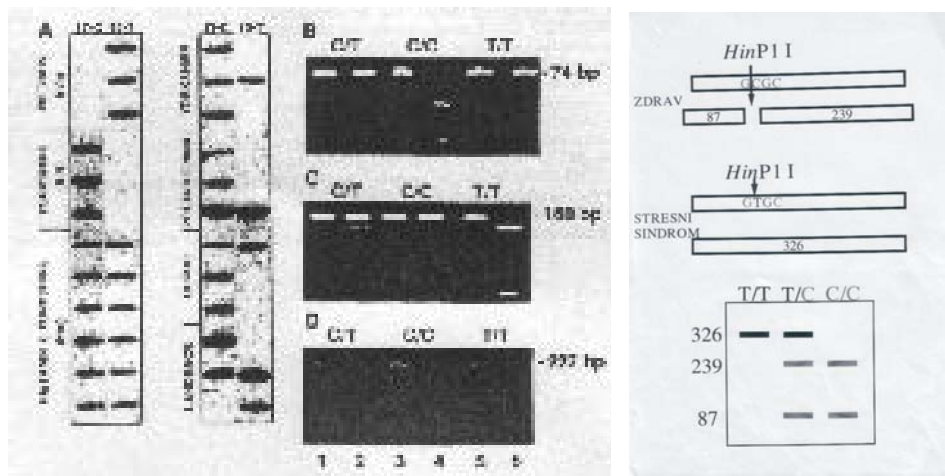
Rezultati DNK testa životinja pozitivnih na halotan potvrđuju homozigote genotipa T/T.

Metodom molekularne genetike PCR - RFLP na odabranom uzorku utvrdili smo da je zastupljenost heterozigota prenosilaca osetljivih na stres 31 posto i da su na farmama zastupljeni sa 6 posto, 11 posto i 14 posto.

Ovo su prvi zvanični rezultati DNK-testa urađenog u našoj zemlji na našim hibridizovanim rasama svinja [8]. Na elektroforetogramu i shemi prikazani su genotipovi zdravih C/C, heterozigotnih C/T i homozigotnih za stres T/T (bole-snih) svinja (slika 1).

Pristup rešavanju problema pojave PSS mesa zahteva primenu određene strategije u selekciji koja podrazumeva ograničeno korišćenje gena [8].

Istraživanja upućuju na mogućnost manipulacije ovim genom u službi ekonomski opravdane proizvodnje, jer isključivanjem mutacije u majčinskim linijama i doziranim uvođenjem i praćenjem gena preko linija nerastova stavljamo stres-sindrom pod kontrolu i poboljšavamo proizvodne performanse.



Slika 1. Elektroforetogram i shema genotipova C/C, heterozigotnih C/T i homozigotnih za stres T/T (bolesnih) svinja /

Figure 1. Electrophoretogram and scheme of genotypes C/C, heterozygote C/T and homozygote for stress T/T of (diseased) swine

### Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata primene klasične i savremene metode u otkrivanju svinja osetljivih na stres mogu da se izvedu zaključci:

1. Na farmama svinja u našoj zemlji u visokom procentu su zastupljene hemozigotne (23%) i heterozigotne životinje (31%).

2. U velikim aglomeracijama svinja halotan-test treba da se uvede kao redovan postupak pre uvođenja životinja u reprodukciju, jer je jednostavniji i ne iziskuje značajna materijalna ulaganja.

3. U redovnim postupku treba da se koristi halotan-test, dok heterozigoti treba da se kontrolišu DNK-testom.

Tokom hibridizacije pretiti gen.

Napomena: Ova istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije, u okviru nacionalnog projekta ev. br. BTR 4334 B.

## Literatura / References

1. Gagrčin M., Jovanović S., Sarač M., Košarčić Slavica: Naučni skup, javna prezentacija rezultata istraživanja u okviru projekta P - 1277 NIV - NS Novi Sad 1995. godine, Zbornik radova, 33 - 36, 1995. - 2. Fujii J., Otsu K., Zonzato F., De Leon S., Khanna V. K., Weiles J. E., Ož Brien P. J., MacLennan D. H.,: Science 253, 448-451, 1991. - 3. Eikelenboon G., Minkena D., Neth J.: Vet Sci. 99, 421-526. 1974 - 4. Ož Brien P. J., Hua Schen, Cory R. C., Xia Zhang: Journal of the American Vet. Medical Association 203, 6, 842-851, 1993. - 5. Vogeli P., Bolt R., Fries R., Stranzinpes G.: Animal Genetics 25, 1, 59-66, 1994. - 6. Schmolzl S., Mol. Biolo (Life Sci. Adv.) 12, 1-11, 1993. - 7. Fujii J., Otsu K.: Science 253, 5018; Pro Quest Agriculture Journals 1991. - 8. Momin G.; Animal Science 77, 2, 408 - 15, 1999. - 9. Milena Stevanović, Tamara Rajić, Jelena Đurović, Milka Sokolović, Mašić Z., Slavica Košarčić, Došen R., Mira Kovačević, Ivana Rajačić: Zbornik radova i kratkih sadržaja 12. savetovanja veterinara Srbije, Vrnjačka Banja, 2000.

## ENGLISH

### CONVENTIONAL AND MODERN METHODS FOR DETECTING STRESS SENSITIVE SWINE

**Slavica Košarčić, Milena Stevanović, R. Došen, Mira Kovačević, M. Gagrčin, D. Košarčić, Ljiljana Stajić, D. Đisalov**

Sudden stress-induced deaths of swine on farms cause severe losses and affect feasibility of production. That is why we conducted investigations of this occurrence on three farms. The first results were from the time of the introduction of the halothane test in 1974, to the DNA test, and the definite confirmation that the stress syndrome of pigs is an inherited disease of animals that have a point mutation on the 6<sup>th</sup> chromosome.

The listed facts set the objective of our investigations – to determine the current state of the point mutation in our farms, to determine the rate of incidence of homozygotes and heterozygotes, to verify the halothane test at molecular level, and to make a draft program for selection in controlling stress sensitivity.

The testing covered hybrids from the usual cross-breeding program in our farms and it was performed on 500 piglets. We established that the incidence of homozygotes was about 23%, and that their representation differed, being 2%, 9%, up to 12%. We tested halothane-positive animals using the PCR-RFLP molecular genetics method and confirmed altered genotypes T/T. The DNA test was performed on selected animals and we established 31% heterozygotes. The incidence in farms was 6%, 11% and 14%.

The obtained results indicate that it is necessary to control all animals that are being introduced into the reproduction process, to eradicate the homozygote in the test and to secure dose-regulated hybridization of heterozygotes, with the objective to secure control and management of known genes.

Key words: Swine, halothane test, DNA test, stress, selection

**КЛАССИЧЕСКИЕ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В ОТКРЫТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СВИНЕЙ**

**Славица Кошарчич, Милена Стеванович, Р. Дошен, Мира Ковачевич,  
М. Гагрчин, Д. Кошарчич, Лиляна Стаич, Д. Джисалов**

Внезапные околения свиней, вызванные стрессом, на фермах причиняют большие убытки и влияют на рентабельность производства. Оттого мы провели исследование этого явления на 3 фермы. Первые результаты датируют от введения Халотан теста 1974 года, до ДНК-теста и надёжного подтверждения, что стресс синдром свиней наследственное заболевание животных, которое на шестой хромосоме несут точную мутацию.

Приведённые факты определили цель наших исследований утвердить мгновенное состояние точечной мутации на наших фермах, какая степень частоты гомозигот и гетерозигот, проверка Халотан теста на молекулярном уровне и предложение программы селекции для контроля стресс чувствительности.

Тестированы гибриды из привычной программы скрещивания на наших фермах и охвачено 500 поросят. Мы утвердили, что частота гомозигот около 23%, и что представительство различное от 2%, 9% до 12%. Халотан положительные единичные животные мы тестировали *PCR-RFLP* методом молекулярной генетики и мы подтвердили большие генотипы Т/Т. Отобранным животным сделан ДНК-тест и мы утвердили 31% гетерозигот. Частота по фермам 6%, 11% и 14%.

Согласно с полученными результатами необходим контроль всех животных, вводимые в репродуктивную эксплуатацию, искоренение гомозигот в тесте и дозирования правильная гибридизация гетерозигот, с целью контролирования и управления знакомыми генами.

Ключевые слова: свинья, халотан тест, ДНК-тест, стресс, селекция

**INTERAKCIJE IZMEĐU KADMIJUMA I CINKA KOD MALIH  
PREŽIVARA\******INTERACTION BETWEEN CADMIUM AND ZINC IN SMALL  
RUMINANTS***

Sunčica Borozan, Gordana Gađanski-Omerović, J. Bojkovski\*\*

*Interakcije između teških metala i biogenih metala su kompleksne i od suštinskog značaja za toksične efekte u organizmu. Najčešće interakcije kadmijuma nastaju između cinka, bakra, gvožđa i kalcijuma. Kadmijum se smatra jednom od najtoksičnijih supstancija iz okoline i ubraja u prvu grupu karcinogena. Osnova toksičnosti ovog metala je dejstvo na enzimski sistem u ćeliji, na metaloenzime iz kojih istiskuje značajne biogene metalne jone kao što su  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Ca^{2+}$ . Pored toga ima visok afinitet prema slobodnim -SH grupama u biomolekulima. Ove interakcije se odvijaju kako u procesima apsorpcije, tako i pri distribuciji i ekskreciji kadmijuma i biogenih elemenata. Nakon apsorpcije kadmijum se albuminom transportuje do svih organa i ekskretuje urinom preko bubrega ispoljavajući svoje nefrotoksično dejstvo.*

*Ključne reči: kadmijum, cink, bakar, interakcije, albumin, kreatinin*

Skraćenice: Cd – kadmijum; Zn – cink; Cu – bakar; Fe – gvožđe;  
Mt – metalotionein; reaktivne kiseonične vrste – ROS;  
bakar, cink-zavisna superoksidna dizmutaza – Cu, Zn-SOD. /

*Abbreviations: Cd – cadmium, Zn – zinc, Cu – copper, Fe – iron,  
Mt – metallothionein, ROS – reactive oxygen species,  
Cu,Zn-SOD – copper, zinc-dependent superoxide dismutase*

**Uvod / Introduction**

Toksičnost teških metala *in vivo* nije samo posledica njihovog prisustva, već potiče i od interakcija sa drugim elementima i biomakromolekulima. Poslednjih godina od posebnog značaja su istraživanja interakcija teških metala i biogenih metala koje su osnova njihove toksičnosti. Kadmijum (Cd) je jedna od najtoksičnijih supstancija iz okoline i predstavlja veliku opasnost za žive sisteme.

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Sunčica Borozan, docent, dr Gordana Gađanski-Omerović, red. profesor, dr Jovan Bojkovski, docent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd



Apsorpcija i akumulacija Cd u tkivima zavisi od ishrane, vitaminskog statusa, uzrota i pola [8], nedostatka gvožđa (Fe) [15], ali i od interakcija između kadmijuma i cinka u kojima favorizuju iste bioligande ili su antagonističke prirode. Posebno je značajno da se Cd i Zn kod sisara identično metabolišu stimulišući sintezu niskomolekulskog proteina metalotioneina (Mt). Sa Zn postoji kompeticija za isti protein u cirkulaciji vezujući se za eritrocite i albumin, a u tkivima za Mt. Intracelularni protein, Mt, niske molekulske mase (do 6-7 000 Da), sadrži oko 30 posto amino-kiselina sa sumporom, nalazi se u jetri, bubrezima, crevima i pankreasu. Regulator je metabolizma bakra (Cu) i Zn i učestvuje u detoksikaciji pri izloženosti Cd vezujući 7 atoma Zn ili Cd, a 12 atoma Cu. Sposobnost vezivanja teških metala ispoljava se preko dva domena, - i -domen, tako što -domen vezuje ukupno četiri atoma, a -domen tri atoma Zn ili Cd [1]. Metalotionein istovremeno može da gradi komplekse i sa Cd i Zn u molarnom odnosu 5:2, i takav kompleks povećava toksičnost kadmijuma indukujući oštećenje DNA *in vitro* [17].

Cink je esencijalni element neophodan za metabolizam proteina i održavanje integriteta membrana. On ima antioksidantnu ulogu u zaštiti sulfhidrilnih grupa od oksidacije i učestvuje u reakcijama sprečavanja stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS-a) izazvanim prelaznim metalima. U farmakološkim dozama ima zaštitno dejstvo od različitih hepatotoksičnih agenasa, menja biohemijske puteve kao što je metabolizam nekih metala i fosfolipida [19].

Kadmijum zamenjuje Fe i Cu u različitim proteinima kao što su transferin, feritin i ceruloplazmin povećavajući jonsku koncentraciju ovih elemenata što uzrokuje oksidativni stres preko Fentonove reakcije [11], oštećujući DNA, izazivajući kancer i apoptozu [23, 25]. Genotoksičnost Cd nije direktna, ali preko ROS-a, kao drugi glasnik učestvuje u kaskadnim reakcijama aktivacije enzima metilovanja citozina u molekulu DNA izaziva promene u genskoj ekspresiji [21]. Kadmijum istiskuje bakar iz bakra, cink-zavisne superoksidne dizmutaze (Cu, Zn-SOD) i zauzima 45 posto aktivnog centra ovog enzima. Ova reakcija menja strukturu disulfidnih mostova i konformaciju nativnog enzima smanjujući njegovu katalitičku efikasnost [12]. Narušena homeostaza bakra i prekidi homeostatskih mehanizama uzrokuje genetske i progresivne neurološke bolesti [16].

Bez obzira na put apsorpcije Cd se iz krvi brzo eliminiše i koncentruje u nekoliko organa, kod ljudi to su testisi [26], a kod životinja jetra i bubrezi [5]. U ovim organima se nalazi uglavnom ukupan telesni Cd. Ova akumulacija je posledica sposobnosti ovih tkiva da sintetišu velike količine Mt, čije prisustvo evidentno smanjuje toksičnost Cd [24]. Cd utiče i na homeostazu intracelularnog  $Ca^{2+}$  [9, 18, 2]. Pokazano je da kompleks Mt-Cd indukuje kalcijumuriju. Pored toga, Cd izaziva poremećaj u mineralizaciji tj. u formiranju koštanog mineralnog matriksa inhibirajući aktivnost alkalne fosfataze usled interakcije sa Zn, što povećava rizik od fraktura u kasnijim godinama [10]. Ovi poremećaji su dokazani kod dugotrajnog izlaganja niskim koncentracijama ili akutnom dozom Cd.

Nakon apsorpcije kadmijum se albuminom transpotuje do svih organa i ekskretuje urinom preko bubrega, ispoljavajući svoje nefrotoksično dej-

stvo. Ovaj transport uključuje i ulaz Cd u hepatocite i renalne ćelije istim mehanizmom transporta za biogene metale (Cu, Zn i Ca). Ulazak ovih metala u ćelije odvija se preko specifičnih proteina, čija genska deficitarnost uzrokuje određene bolesti. Akutna izloženost Cd izaziva karakteristična oštećenja proksimalnih renalnih tubula. A hepatotoksičnost pored akumulacije Cd deluje na sintezu albumina i druge proteine krvne plazme [20].

Cilj ovoga rada je bio da se ispituju interakcije kadmijuma i metala cinka i bakra, njihov uticaj na sintezu albumina i nefrotoksično dejstvo ovih metala, ispitivanjem nivoa albumina i kreatinina u krvnom serumu malih preživara.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

Ispitivanja su izvedena na ovcama rase „Ile de France” (n=20), koje su jele hranu koja je sadržavala 20 g/kg suve supstancije Cd u toku tri meseca. Kontrolnu grupu sačinjavale su životinje koje su jele hranu bez prisustva teških metala (n=10). Serum ispitivanih životinja je zamrznut na temperaturi od -20°C i čuvan do analize. Analiza teških metala i metala u serumu ispitivanih životinja, kao i u uzorcima hrane obavljena je atomskom apsorpcionom spektrometrijom (Perkin Elmer Corp., USA) posle mineralizacije sa azotnom kiselinom uz dodatak vodonik-peroksida na TEKATOR DIGESTOR-u 100A. Koncentracija kreatinina određena je modifikovanom Jaffe metodom, a koncentracija albumina bromkrezol zelenim [3] spektrofotometrijski korišćenjem spektrofotometra CECIL CE 2021.

#### **Rezultati i diskusija / Results and discussion**

Rezultati analize koncentracije Cd, Zn i Cu u serumu životinja koje su jele hranu (ogledna grupa) u toku tri meseca sa niskim sadržajem ovog elementa prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj kadmijuma, cinka i bakra u serumu ispitivanih životinja kontrolne i ogledne grupe /

*Table 1. Cadmium, zinc and copper content in serum of control and exposed animal groups*

Ispitivani element / <i>Investigated element</i>	Kontrolna grupa <sup>1</sup> / <i>Control group</i> x ± sd	Ogledna grupa <sup>2</sup> / <i>Exposed group</i> x ± sd	Značajnost razlike <sup>1,2</sup> / <i>Significance</i>
Kadmijum / <i>Cadmium</i> ( g/L)	2.03 ± 0.35	6.33 ± 0.25	p<0.001
Zink / <i>Zinc</i> ( g/L)	810 ± 115	1500 ± 150	p<0.001
Bakar / <i>Copper</i> ( g/L)	1100 ± 300	843 ± 215	p<0.01

Prikazani rezultati ukazuju na statistički značajno povećanu koncentraciju Cd u krvnom serumu životinja ogledne grupe ( $6.33 \pm 0.25$  g/L) u poređenju sa kontrolnom grupom ( $2.03 \pm 0.35$  g/L,  $p < 0,001$ ). Pored toga dokazan je i sadržaj Cd u kontrolnoj grupi životinja što može da bude posledica prethodne kontaminacije ovim teškim metalom, s obzirom na njegov period eliminacije koji iznosi od 10 do 30 godina [13].

Da bismo utvrdili da li nastaje interakcija između Cd i biogenih metala analiziran je sadržaj Zn i Cu u krvnom serumu ovih životinja. Rezultati analize prikazani su u tabeli 1.

Dejstvom Cd dokazan je signifikantan porast Zn ( $p < 0,001$ ) kod ogledne grupe životinja koji je bio  $1500 \pm 150$  g/L u odnosu na kontrolnu grupu,  $810 \pm 115$  g/L. Ovi rezultati ukazuju da je nastala interakcija ova dva metalna jona, pri čemu Cd zamenjuje Zn u metaloenzimima kao što su karboanhidraza, alkalna fosfataza i Cu,Zn-SOD [22]. S obzirom da cink ima antioksidantnu ulogu ovo povećanje sprečava stvaranje ROS-a izazvanim prelaznim metalima [19]. Naša ispitivanja su pokazala signifikantan porast Zn u serumu životinja ogledne grupe, što je verovatno posledica vezivanja Cd za SH-grupe u proteinima koji su bitni za transportovanje Zn i Cu u hepatične i renalne ćelije. Utvrđeno je da se Cd najviše akumulira u bubrežima, a manje u jetri kao Mt-Cd kompleks, pri čemu je zamenjen Zn u ovom kompleksu [1]. Ove interakcije su značajne za metabolizam cinka koji se odvija ne samo u bubrežima i jetri, već i u cirkulaciji tokom transportovanja [24]. Neki autori su uočili da izlaganje Cd izaziva akumulaciju Zn u hepatocitima i bubrežima, tako da je sadržaj Zn u hepatocitima izrazito veći u životinja tretiranih ovim metalom. Povećana koncentracija Zn ima višestruko zaštitno dejstvo zaustavljajući čak i proliferaciju testikularnih lezija [14].

Kod životinja ogledne grupe uočava se pad sadržaja Cu ( $843 \pm 215$  g/L), u odnosu na životinje kontrolne grupe ( $1100 \pm 300$  g/L,  $p < 0,01$ ). Homeostaza bakra je neznatno narušena rezultujući deponovanje bakra u ekstrahepatičnim tkivima [4, 16].

Da bi se utvrdilo da li Cd deluje na sintezu albumina u našim ispitivanjima odredili smo koncentraciju i albumina u serumu ispitivanih životinja. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Sadržaj albumina i kreatinina u serumu ispitivanih životinja kontrolne i ogledne grupe

Table 2. Albumin and creatinine content in serum of control and exposed animal groups

Ispitivani parametar <i>Investigated parameter</i>	Kontrolna grupa <sup>1</sup> <i>Control group</i> x ± sd	Ogledna grupa <sup>2</sup> <i>Exposed group</i> x ± sd	Značajnost razlike <sup>1,2</sup> <i>Significance</i>
Albumin / <i>Albumin</i> (g/L)	26,70 ± 2,70	17,98 ± 2,15	p < 0,001
Kreatinin / <i>Creatinine</i> ( mol/L)	140 ± 35	230 ± 40	p < 0,001

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivana koncentracija Cd ukazuje na hepatotoksičnost i ogleda se u smanjenoj sintezi albumina  $17,98 \pm 2,15$  g/L, u odnosu na kontrolnu grupu ispitivanih životinja,  $26,70 \pm 2,70$  g/L; ( $p < 0,001$ ). Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim prethodnim ispitivanjima proteinskih adukata u krvnom serumu, dejstvom kadmijuma i olova [6, 7, 20]. Dokazan je i uticaj Cd na koncentraciju  $\alpha_2$  i  $\alpha_1$  serum-globulina [1].

Bubrezi su mesto delovanja Cd i istovremeno i ciljani organ Cd toksičnosti [5] kao i glavno mesto ispoljavanja antagonističkog dejstva Cd i Zn ukazuju rezultati analize sadržaja kreatinina prikazanih u tabeli 2.

Rezultati analize ukazuju na porast koncentracije kreatinina u serumu izloženih životinja ( $230 \pm 40$  mol/L) u odnosu na sadržaj kreatinina u serumu kontrolne grupe životinja ( $140 \pm 35$  mol/L). Povišeni sadržaj kreatinina ukazuje na smanjenu funkciju bubrega, što potvrđuje da su bubrezi ciljani organi za  $Cd^{2+}$  jone [5], vezujući se za Mt ili istiskujući Zn iz Zn-Mt kompleksa. Višak slobodnog jonskog Cd vezuje se za citosolske proteine i izlučuje se urinom delujući nefrotoksično. Jonski Cd indukuje povišenje kreatinina u serumu a Mt-Cd kompleks kalcijumuriju i pojavu proteinurije [1, 6].

#### **Zaključak / Conclusion**

Kadmijum je jedan od najtoksičnijih agenasa iz okoline i predstavlja veliku opasnost za žive sisteme. Apsorpcija i akumulacija Cd u tkivima zavisi od adekvatne ishrane i količine unetog cinka, ali i od interakcija između Cd i Zn u kojima se favorizuju isti bioligandi. Dokazana povećana koncentracija Zn u serumu ogleđnih životinja ( $p < 0,001$ ), ukazuje da je došlo do interakcije ova dva metalna jona, pri čemu je Cd istisnuo Zn u metaloenzimima. Povišena koncentracija Zn udruženo deluje sa Cd izazivajući disfunkciju bubrega, na šta ukazuju i rezultati analize sadržaja kreatinina ( $p < 0,001$ ), poremećaj u funkciji jetre, koja se ogleda u smanjenoj sintezi albumina ( $p < 0,001$ ), lezije, teške dijareje i povećana smrtnost ispitivanih jedinki.

Homeostaza bakra je neznatno narušena rezultujući deponovanje bakra u ekstrahepatičnim tkivima i njegovo smanjenje u serumu.

Napomena: Ova istraživanja je finansiralo Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije, u okviru projekta 1518 i 1740.

#### **Literatura / References**

1. Baldwin D. R., Marshall W. J.: Heavy metal poisoning and its laboratory investigation Ann Clin Biochem. 36, 267-300, 1999. - 2. Benders Jelko, Flo Ulrich, Thorsten Gelá, Scha Fer, Dieter Leibfritzá, Stefan Hechtenberg, Detmar Beyersmann: Study of the interactions of cadmium and zinc ions with cellular calcium homeostasis using  $^{19}F$ -NMR

spectroscopy Biochem. J. 322, 793-799, 1997. -3. Bishop L. M., Duben-Fon Laufen J.: Clinical Chemistry. Lippincott, Philadelphia, US, 1985. - 4. Blazka M. K., Shaikh Z. A.: Cadmium and mercury accumulation in rat hepatocytes interaction with other metal ions. Toxicol Appl Pharmacol 113, 118-125, 1992. - 5. Borozan Sunčica., Bojkovski J, Matić Valerija: Influence of heavy metals on health status weaned piglets 5<sup>th</sup> International Symposium of Metal Elements in Environment, Medicine and Biology, Timisoara, Romania, 7, 2002. - 6. Borozan Sunčica., Matić V., Bojkovski J., Vujanac I.: Heavy metals nephrotoxicity, Proceedings The 5 Middle-European Buiatrics Congress. XV. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Jun, 2-5 Hajduszoboszlo, Hungary. 551-555, 2004. -7. Borozan Sunčica, Gađanski-Omerović Gordana, Bojkovski J, Stajković S.: Clinical aspects of the effects of ROS-caused impairments of hepatocytes, Proceedings The 5 Middle-European Buiatrics Congress. XV. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Jun, 2-5 Hajduszoboszlo, Hungary, 556-561, 2004. - 8. Bremner I.: The toxicity of cadmium, zinc and molybdenum and their effects on copper metabolism. Proc Nutr Soc., 38, 235-242, 1979. - 9. Brzóska M. M., Moniuszko-Jakoniuk J.: The influence of calcium content in diet on cumulation and toxicity of cadmium in the organism. Archives of Toxicology 72, 63-73, 1998. - 10. Brzóska M. M., Moniuszko-Jakoniuk J., Jurczuk M., Galazyn-Sidorczuk M., Rogalska J.: Effect of short-term ethanol administration on cadmium retention and bioelement metabolism in rats continuously exposed to cadmium. Alcohol. Alcohol. 35, 5, 439-445, 2000. - 11. Casalino E., Calzaretti G. Sblano., Landriscina C.: Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. Toxicology 179, 37-50, 2002. - 12. Frraroni M., Rypniewski W., Wilson K. S., Viezzoli M. S., Banci L., Bertini I., Mangani S.: The crystal structure of the monomeric human SOD mutant F50E/G51E/E133Q at atomic resolution. The enzyme mechanism revisited. J Mol Biol. 288, 3, 413-26, 1999. - 13. Jarup L., Berglund M., Elinder C. G., *et al.*: Health effects of cadmium exposure – a review of the literature and a risk estimate. Scand J Work Environ Health 24, 1-51, 1998. - 14. Krasowska A., Wlostowski T., Bonda E.: Zinc protection from fluoride-induced testicular injury in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). Toxicol Lett. 147, 229-35, 2004. - 15. Leazer T. M., Liu Y., Klaassen C. D.: Cadmium absorption and its relationship to divalent metal transporter-1 in the pregnant rat Toxicol Appl Pharmacol. 185, 18-24, 2002. - 16. Mercer J. F. B.: The molecular basis of copper-transport Trends Molecul Med 7, 64-69, 2001. - 17. Müller T., Schuckelt R., Jaenicke L.: Cadmium/zinc-metallothionein induces DNA strand breaks in vitro. Arch. Toxicol. 65, 20-26, 1991. - 18. Ohta H., Ichikawa M., Seki Y.: Effects of cadmium intake on bone metabolism of mothers during pregnancy and lactation J. Exp. Med, 196, 33-42, 2002. -19. Speich M., Pineau A., Ballereau F.: Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. Clin Chim Acta. 12, 1-11, 2001. - 20. Stajković Silvana, Borozan Sunčica, Gađanski-Omerović Gordana: Protein adduct and heavy metals, ICOSECS 4, Serbia and Montenegro, Book Abstract, I, 226, 2004. - 21. Tao L., Siming Yang., Mi Xie., Paula M. Kramer., Michael A.: Pereira Hypomethylation and overexpression of *c-jun* and *c-myc* protooncogenes and increased DNA methyltransferase activity in dichloroacetic and trichloroacetic acid-promoted mouse liver tumors. Cancer Letters 185-193, 2000. - 22. Uchida M., Teranishi H., Aoshima K., Katoh T., Kasuya M., Inadera H.: Reduction of erythrocyte catalase and superoxide dismutase activities in male inhabitants of a cadmium-polluted area in Jinzu river basin, Japan Toxicol Lett. 151, 3, 451-457, 2004. -23. Valverde M. T., Rojas E.: Is the capacity of lead acetate and cadmium chloride to induce genotoxic damage due to direct DNA-metal interactions. Mutagenesis 16, 265-270, 2001. - 24. Waalkes M. P.: Cadmium carcinogenesis Mutat Res. 533, 107-20, 2003. - 25. Wätjen W., Beyersmann D.: Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress. Biometals 17, 65-78, 2004. - 26. World Health Organization (WHO): Environmental Health Criteria 134 Cadmium. WHO, Geneva, 131-196, 1992.

ENGLISH

**INTERACTION BETWEEN CADMIUM AND ZINC IN SMALL RUMINANTS**

**Sunčica Borozan, Gordana Gađanski-Omerović, J. Bojkovski**

Interactions between heavy metals and biogenic metals are complex and of crucial importance for toxic effects in the organism. The most frequent interactions with cadmium take place between zinc, copper, iron, and calcium. Cadmium is considered one of the most toxic substances in the environment, and it belongs to the first group of carcinogens. The basic toxicity of this metal is in its effect on the enzyme system in the cell, on metalloenzymes from which it eliminates significant biogenic metal ions, such as  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Ca^{2+}$ . Moreover, cadmium has a high affinity for free –SH groups in biomolecules. These interactions take place both in the absorption processes, and in the distribution and excretion of cadmium and biogenic elements. Following its absorption, cadmium is transported by albumin to all organs and excreted through the kidneys in urine, this exhibiting its nephrotoxic effects.

Key words: Cadmium, zinc, copper, interactions, albumin, creatinine.

РУССКИЙ

**ИНТЕРАКЦИИ МЕЖДУ КАДМИЕМ И ЦИНКОМ У МАЛЕНЬКИХ ЖВАЧНЫХ**

**Сунчица Борозан, Гордана Гађански-Омерович, Й. Бойковски**

Интеракции между тяжёлыми металлами и биометаллами комплексные и существенного значения для токсических эффектов в организме. Наиболее частые интеракции кадмия наступают между цинком, медью, железом и кальцием. Кадмий считается одним из наиболее токсических веществ из окрестности и относится к первой группе карциногенов. Основа токсичности этого металла действие на ферментную систему в клетке, на металлоферменты из которых вытесняет значительные биометаллические ионы как  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . При этом имеет высокий аффинитет к свободным –SH группам и биомолекулам. Эти интеракции развиваются как в процессах абсорбции, так и при дистрибуции и экскреции кадмия и биоэлементов. После абсорбции кадмий альбумином транспортируется до всех органов и экскретируется мочей через почки, проявляя своё нефротоксическое действие.

Ключевые слова: кадмий, цинк, медь, интракции, альбумин, креатинин

**EFEKAT NIVOA BAKRA I VRSTE ULJA U HRANI NA  
SADRŽAJ HOLESTEROLA U MESU PILIĆA \***  
*EFFECT OF COPPER LEVEL AND TYPE OF OIL IN FEED ON  
CHOLESTEROL CONTENT IN BROILER MEAT*

Vidica Stanačev, A. Božić, S. Kovčín, N. Milošević, Lidija Perić\*\*

*Visoka koncentracija bakra u hrani (200 ppm) ispoljava stimulativan efekat na proizvodnju pilića, a istovremeno snižava nivo holesterola u mesu. U belom mesu sniženje je iznosilo 12,47 posto izraženo u nativnom proizvodu, a u crvenom 24,9% u odnosu na kontrolnu grupu. Najviši nivo holesterola je imala kontrolna grupa, 86,2 mg/100 g, pošto su pilići iste grupe hranjeni smešom bez dodatka ulja.*

*Sadržaj holesterola može da se reguliše i upotrebom ulja bogatih polinezasićenim masnim kiselinama, linolnom i linolenskom. Efekat izvora ulja u ovom eksperimentu (suncokretovo, sojino i laneno) gotovo je bio zanemarljiv kod belog mesa, pošto su vrednosti holesterola vrlo ujednačene. U crvenom mesu razlike su izraženije, ali nisu statistički značajne.*

*Ključne reči: bakar, holesterol, pilići*

**Uvod / Introduction**

Poslednjih godina čovečanstvo se suočava sa problemom nedostatka hrane, a naročito proteina, otuda se javlja potreba za intenziviranjem stočarske proizvodnje i upotrebom aditiva koji bi povećali iskoristivost hranljivih materija. Međutim, povećanu proizvodnju ne prati uvek i poboljšanje kvaliteta stočarskih proizvoda, što ima kao posledicu pojavljivanje različitih oboljenja, pa i kardiovaskularnih. Jedan od razloga za nastanak ovih oboljenja je hrana bogata holesterolom koja uzrokuje stvaranje naslaga na unutrašnjim zidovima krvnih sudova, smanjuje njihovu elastičnost i otežava protok krvi.

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Vidica Stanačev, vanr. profesor, dr Aleksandar Božić, vanr. profesor, dr Stanimir Kovčín, red. profesor, dr Niko Milošević, red. profesor, dr Lidija Perić, docent, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Pokušaji da se kod ljudi smanji nivo holesterola u plazmi putem smanjenja količine holesterola u hrani pokazali su se uspešnim. Od faktora koji snižavaju krvni holesterol najčešće se proučavala zamena nekih zasićenih masnih kiselina iz hrane, polinezasićenim masnim kiselinama. Ulje kukuruza, suncokreta, soje i lana snižava nivo holesterola u plazmi, jer sadrži visok nivo linolne kiseline, a ulje lana i linolenske, za razliku od mlečne masti i kokosovog ulja koje je deficitarno u ovim kiselinama i podiže njegov nivo. Dodavanjem ribljeg ulja u hranu tov- nih pilića [5] utvrđeno je da belo meso ima manju količinu lipida i triglicerida, a viši sadržaj holesterola i fosfolipida nego crveno meso, kao i povećan sadržaj poli- nezasićenih masnih kiselina (PNMK). Životinje hranjene uz dodatak goveđeg loja imale su zamašćen trup i viši nivo serum holesterola. Poznato je da zasićene masne kiseline (ZMK) povišavaju koncentraciju holesterola u krvi i da takav učinak imaju laurinska, miristinska i palmitinska kiselina, dok ostale nemaju. Stearinska čak snižava nivo ukupnog i LDL (lipoprotein male gustine), a povišava koncen- traciju protektivnog HDL (lipoprotein velike gustine) holesterola. Razlog ovome je njena brza promena u organizmu u oleinsku kiselinu, procesom dehidrogeniza- cije, koja snižava nivo holesterola u plazmi, ali je učinak slabiji od polinezasićenih masnih kiselina. Povećano unošenje oleinske kiseline povišava koncentraciju HDL holesterola, dok ga PNMK snižavaju, što nepovoljno utiče na koronarnu bolest i aterosklerozu uopšte. Linolna kiselina snižava holesterol u krvi, a linolenska pored snižavanja ukupnog i LDL holesterola značajno snižava nivo triglicerida (TG) i sintezu VLDL (lipoprotein veoma male gustine) čestica u jetri [3, 6, 8].

Povišen nivo holesterola u krvi otvara niz pitanja vezanih za ateroskle- rozu, a najvažnije pitanje je kako lečiti nastalo stanje. Najracionalnija je preventiva dijetetskim merama. Kako je pileće meso najzastupljeniji dijetetski proizvod u ishrani kada je hiperholesterolemija u pitanju, poželjno je dodatno redukovati uk- upni holesterol u mišićnom tkivu ukoliko je to moguće. Ispitivanja su pokazala da visoke doze bakra u hrani pilića ispoljavaju stimulativan efekat [4, 10], ali i snižavaju holesterol u plazmi za 11,8 posto, a u belom mesu za 20,4 posto [2, 7].

Hiperholesterolemija može da bude izazvana deficitom bakra kod ži- votinja [8], budući da bakar u jetri reguliše biosintezu holesterola, snižavajući kon- centraciju glutationa u jetri. Koje su to količine preko kojih bakar može da utiče ili reguliše sintezu holesterola za sada nisu poznate, s obzirom da su ovce obolele od trovanja bakrom imale smanjen sadržaj glutationa u krvi u odnosu na životinje sa normalnim nivoom bakra u obroku [11].

Na osnovu navedenog cilj rada je bio da se ispita uticaj visokog nivoa bakra i vrste ulja u hrani, na sadržaj holesterola u mesu pilića.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Biološka ispitivanja su izvedena u proizvodnim uslovima na farmi „Pustara” u Temerinu, a hemijska ispitivanja u laboratoriji Poljoprivrednog fakul- teta u Novom Sadu.



U eksperimentu su korišćeni jednodnevni pilići tovnog hibrida *Arbor Acres*. U toku eksperimentalnog perioda koji je trajao 42 dana pilići su hranjeni i napajani po volji, a mikroklimatski uslovi su redovno kontrolisani. Na početku tova useljeno je po 150 pilića u šest eksperimentalnih grupa i jednoj kontrolnoj. Pilići kontrolne grupe su hranjeni smešom bez dodatka bakra i bez masti. Tri grupe su dobijale hranu sa istim visokim nivoom bakra (200 ppm) i različitim vrstama ulja (suncokretovo, sojino i laneno) u količini 6 posto, dok su tri grupe bile hranjene istim izvorima ulja, ali bez dodatka bakra. Na kraju eksperimenta, žrtvovano je po deset pilića iz svake grupe i analiziran hemijski sastav i količina holesterola u belom i crvenom mesu bez kože.

Hemijski sastav mesa je određen standardnim metodama [1], a ukupan holesterol spektrofotometrijskom metodom uz upotrebu o-phtalaldehida [9].

### **Rezultati i diskusija / Results and discussion**

Na osnovu dobijenih rezultata može da se konstatuje da dodatak stimulativnih doza bakra u hrani, generalno snižava nivo holesterola u mesu pilića. U belom mesu ono iznosi 12,47 posto (tabela 2), a u crvenom 18,90 posto (tabela 3) u odnosu na kontrolnu grupu. Najviši nivo holesterola je bio u kontrolnoj grupi (86,2 mg/100g), što je logično, budući da su pilići ove grupe bili hranjeni smešom bez dodatka ulja, koja prema nekim istraživanjima stimuliše sintezu holesterola u organizmu. U belom mesu koncentracije holesterola su dosta ujednačene u grupama sa bakrom i uljem i kretale su se od 75,25 mg/100g na tretmanu lana i bakra, do 79,3 mg/100g u grupi sa sojom i bakrom (tabela 1). Za razliku od njih, u crvenom mesu najveću vrednost holesterola je imala grupa na tretmanu soje i bakra, a najmanju grupa sa suncokretom i bakrom (62,85 mg/100 g (tabela 3).

Kada se posmatra sadržaj sirove masti, zapaža se znatno viši nivo u crvenom mesu (do 10,22%) u odnosu na belo meso (do 1,28%), što je u suprotnoj korelaciji sa holesterolom i saglasno istraživanjima drugih autora [5].

Efekat izvora ulja je gotovo zanemarljiv kod belog mesa, pošto su vrednosti holesterola vrlo ujednačene. U crvenom mesu razlike su izraženije, ali nisu statistički značajne. Najniža vrednost istog je na tretmanu suncokreta, potom sledi lan, a najviša vrednost je u grupi sa sojinim uljem.

Tabela 1. Hemijski sastav belog mesa pilića i nivo holesterola /  
Table 1. Chemical composition of white chicken meat and cholesterol level

Grupa / Group	I	II	III	IV	V	VI	VII
Nivo Cu / Cu level, ppm	Kontrola / Control	200	200	200	0	0	0
Izvori ulja / Oil source	-	Suncokret / Sunflower	Soja / Soybean	Lan / Linseed	Suncokret / Sunflower	Soja / Soybean	Lan / Linseed
Suva materija / Dry matter, %	26.664	26.73	27.26	26.486	26.946	26.825	26.982
Vlaga / Moisture, %	73.336	73.27	72.733	73.498	73.064	73.175	73.018
Sirovi proteini / Crude proteins, %	23.844	22.89	23.613	23.759	23.824	23.565	23.34
Sirova mast / Crude fat, %	0.814	1.28	1.034	1.043	0.762	1.083	1.428
Pepeo / Ash, %	1.165	1.16	1.167	1.196	1.206	1.162	1.18
Fosfor / Phosphorus, %	0.387	0.21	0.209	0.214	0.215	0.206	0.208
Gvožđe / Iron, ppm	19.863	19.94	21.601	20.363	19.981	19.933	21.251
Cink / Zinc, ppm	6.201	7.55	5.237	5.694	7.12	6.065	6.078
Bakar / Copper, ppm	1.188	1.49	1.282	1.253	1.326	1.371	2.071
Holesterol / Cholesterol, mg/100 g	86.204	76.37	79.298	75.25	79.998	80.734	83.494
Indeks / Index, %	100	88.59	91.99	87.29	92.80	93.65	96.86
Indeks / Index	-	95.46	98.22	90.13	100	100	100

Tabela 2. Srednja vrednost i varijabilnost sadržaja holesterola u belom mesu /  
Table 2. Mean value and variability of cholesterol content in white meat

Grupa / Group	n	$\bar{X}$	$\delta \bar{X}$	$\delta$	V%	Min	Max
1	10	86.204	5.930417	18.75362	21.75494	59.22	108.33
2	9	76.36667	4.114954	12.34486	16.16525	63.09	100.43
3	10	79.298	4.605099	14.5626	18.3644	61.71	103.78
4	10	75.25	7.610513	24.06655	31.98213	45.31	119.66
5	10	79.998	5.77974	18.27714	22.847	46.66	114.15
6	10	80.134	5.545585	17.53668	21.88419	58.76	109.49
7	10	83.494	7.455612	23.57671	28.23761	55.09	123.8
Sve grupe / All groups	70	80.16058	2.220653	18.44613	23.01147	45.31	123.8

$\bar{X}$  – srednja vrednost / mean value

$\delta \bar{X}$  – standardna greška srednje vrednosti / standard error of mean value

$\delta$  – standardna devijacija / standard deviation

V% – koeficijent varijacije / variation coefficient

Min, Max – Minimalne i maksimalne vrednosti / minimal and maximal values

Tabela 3. Hemijski sastav crvenog mesa pilića (batak i karabatak) i nivo holesterola /  
Table 3. Chemical composition of red chicken meat (leg and thigh) and cholesterol level

Grupa / Group	I	II	III	IV	V	VI	VII
Nivo Cu / Cu level, ppm	Kontrola / Control	200	200	200	0	0	0
Izvori ulja / Oil source	-	Suncokret / Sunflower	Soja / Soybean	Lan / Linseed	Suncokret / Sunflower	Soja / Soybean	Lan / Linseed
Suva materija / Dry matter, %	26,79	29,05	27,45	27,89	28,43	26,90	27,52
Vlaga / Moisture, %	73,21	70,95	72,55	72,11	71,57	73,10	72,48
Sirovi proteini / Crude proteins, %	18,48	18,05	18,48	18,58	19,25	18,49	18,53
Sirova mast / Crude fat, %	7,55	10,22	8,20	8,08	7,55	7,32	7,96
Pepeo / Ash, %	1,01	1,02	1,00	0,98	1,04	1,04	0,99
Fosfor / Phosphorus, %	0,15	0,15	0,16	0,16	0,15	0,15	0,17
Gvožđe / Iron, ppm	12,04	12,50	11,86	14,16	12,26	12,78	12,96
Cink / Zinc, ppm	12,36	13,15	12,38	13,55	13,26	12,99	12,71
Bakar / Copper, ppm	1,30	1,30	1,15	1,30	0,88	0,99	1,35
Holesterol / Cholesterol, mg/100 g	77,50	62,85	66,36	69,44	70,36	73,99	71,38
Indeks / Index, %	100,00	81,10	85,62	89,61	90,79	95,47	92,11
Indeks / Index	-	89,33	89,68	97,29	100	100	100

Tabela 4. Srednja vrednost i varijabilnost sadržaja holesterola u crvenom mesu  
Table 4. Mean value and variability of cholesterol content in red meat

Grupa / Group	n	$\bar{X}$	$\delta \bar{X}$	$\delta$	V%	Min	Max
1	10	77.49800	4.951264	15.65727	20.20345	60.60000	112.1100
2	10	62.85200	3.115999	9.85365	15.67755	50.65000	80.4100
3	10	66.35500	9.074166	24.69503	43.24472	49.14000	123.7000
4	10	69.44300	6.012527	19.01328	27.37969	44.37000	105.9600
5	10	70.36000	6.090334	19.25993	27.37255	50.50000	119.2500
6	10	73.98600	8.267522	26.14420	35.33669	50.03000	131.6500
7	10	71.41400	3.496818	11.05791	15.48423	55.82000	91.2200
Sve grupe / All groups	70	70.27257	2.307559	19.30643	27.47363	49.14000	131.6500

$\bar{X}$  – srednja vrednost / mean value

$\delta \bar{X}$  – standardna greška srednje vrednosti / standard error of mean value

$\delta$  – standardna devijacija / standard deviation

V% – koeficijent varijacije / variation coefficient

Min, Max – minimalne i maksimalne vrednosti / minimal and maximal values

Tabela 5. Uticaj različitih hraniva na sadržaj holesterola u mesu (ANOVA)  
Table 5. Effect of different feeds on cholesterol content in meat (ANOVA)

Meso / Meat	SS	DF	MS	F	P
Crveno meso / Red meat	1384.1	6	230.7	0.5972	0.731425 <sup>NZ</sup>
Belo meso / White meat	854.7	6	142.5	0.396	0.878617 <sup>NZ</sup>

SS – suma kvadrata / *sum of squares*

DF – stepeni slobode / *degrees of freedom*

MS – sredina kvadrata / *mean square*

Analizom varijanse i t-testom je ustanovljeno da uticaj tretmana nije statistički značajan.

#### Zaključak / *Conclusion*

Na osnovu ovako izvedenih istraživanja može da se zaključi da upotreba visoke koncentracije bakra u ishrani pilića značajno snižava nivo holesterola u njihovom mišićnom tkivu, kao i da je efekat znatno izraženiji u crvenom mesu, ali razlike nisu statistički značajne.

Napomena: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije, u okviru tehnološkog projekta ev.br.BTR. 5.05.0428.B

#### Literatura / *References*

1. AOAC: Official methods of analysis of the Association of official agricultural chemists. 13th edition (Horwitz, W., ed.), published by AOAC, Washington, 1980. - 2. Bakalli R. I., Pesti G. M., Ragland W. L., Konjufca V.: Poultry Sci. 74, 2, 360-365, 1995. - 3. Božić A.: Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1997. - 4. Georgievski, V. I., Annenkov, B. N., Samokhin, V. I.: Mineral nutrition of animals. Butterworths; London, Boston, Sydney, Durban, Wellington, Toronto, 1982. - 5. Hulan H. W., Ackman R. G., Ratnayake W. M., Proudfoot F. G.: Canadian J. of Anim. Sci. 68, 2, 533-547, 1988. - 6. Lepšanović L.J.: Bilten 3 Jugoslovenskog odbora za lipide, 15-17, 1990. - 7. Konjufca V. H., Pesti G. M., Bakalli R. I.: Poultry Science 76, 1264-1271, 1997. - 8. Lei K. Y.: Annu. Rev. Nutr. 11, 265-283, 1991. - 9. Rudel L. I., Morris M. D.: 14, 364-366, 1973. - 10. Stanačev Vidica, Kovčičin S., Perić Lidija: Savremena poljoprivreda 47, 5-6, 127-132, Novi Sad, 1998. - 11. Todd J. R., Thompson R. H.: Br. Vet. J. 119, 161-173, 1963.

**ENGLISH**

**EFFECT OF COPPER LEVEL AND TYPE OF OIL IN FEED ON CHOLESTEROL CONTENT IN BROILER MEAT**

**Vidica Stanaćev, A. Božić, S. Kovčin, N. Milošević, Lidija Perić**

The high concentration of copper in feed (200 ppm) exhibits a stimulative effect on broiler production, while at the same time lowering the level of cholesterol in meat. The reduction in white meat was 12.71% in the native product, and in red meat 18.90% in comparison with the control group. The control group had the highest level of cholesterol, 86.2 mg/100 g, since broilers of the same group were fed a mix without added oil.

Cholesterol content can be regulated also using oils rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA), linoleic and linolenic acids. The effect of the oil source in this experiment (sunflower, soybean, linseed) was almost negligible in white meat, since the cholesterol values were quite balanced. The differences were more expressed in red meat, but they were not statistically significant.

Key words: Copper, cholesterol, broilers

**РУССКИЙ**

**ЭФФЕКТ УРОВНЯ МЕДИ И ВИДЫ МАСЛА В КОРМЕ НА СОДЕРЖАНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА В МЯСЕ ЦЫПЛЯТ**

**Видица Станачев, А. Божич, С. Ковчин, Н. Милошевич, Лидия Перич**

Высокая концентрация меди в корме (200 ppm) проявляет стимулирующий эффект на производство цыплят, а одновременно снижает уровень холестерина в мясе. В белом мясе снижение составляло 12,71% в нативном продукте, а в красном 18,80% в отношении контрольной группы. Наивысший уровень холестерина имела контрольная группа 86,2 мг/100 г, так как цыплята такой же группы кормлены смесью без добавки масла.

Содержание холестерина можно регулировать и употреблением масел богатых полиненасыщенными жирными кислотами, линолевой и линоленовой. Эффект источника масла в этом эксперименте (подсолнечное соевое, льняное) был почти оставлен без внимания у белого мяса, так как стоимости холестерина очень приравнены. В красном мясе различия более выразительные, но не статистически значительные.

Ключевые слова: медь, холестерин, цыплята

**ANALIZA RIZIKA I ODREĐIVANJE KONTROLNIH TAČAKA  
U INKUBATORSKOJ STANICI\******RISK ANALYSIS AND DETERMINATION OF CONTROL POINTS AT  
INCUBATOR STATIONS*****I. Tibru, D. Orlić\*\***

*Upotreba HACCP-a je veoma korisna, jer je to proces pomoću kojeg se sistematično može da prepozna, oceni i kontroliše slučajnost incidencije bakterijskih kontaminacija i infekcija. Međutim, upotreba principa HACCP-a u farmama je još uvek u početnoj fazi, a postojeći programi kontrole teže da budu zasnovani na GGP-u (dobra proizvodna praksa), bez kontrole kritičnih tačaka (CCP-a).*

*Inkubatori su bili dezinfikovani proizvodom Hexidin 3%, po 200 ml/m<sup>2</sup>, a dezinfekcija jaja je urađena proizvodom Germostop L, u koncentraciji od 0,16%. Efikasnost dezinfekcije je proverena pomoću NTGMA, po klasičnoj metodi, a koliformne bakterije pomoću TMT-a. Step en čistoće i efekat dezinfekcije se određivao pomoću ATP-a, opremom Hy Lite. Imajući u vidu rezultate dobijene posle kontrole efikasnosti dezinfekcije može da se zaključi da su jaja potopljena u soluciji Germostop L imala manji broj bakterija za 200 puta, što može da se pripíše antimikrobnom učinku primenjenog dezinficijensa.*

*Ključne reči: HACCP, GGP, dezinfekcija, inkubator*

**Uvod / Introduction**

Na farmi kokošaka nosilja za reprodukciju, veoma važan uslov je osiguravanje tehnološkog procesa koji mora da bude u čvrstoj vezi sa zdravstveno-veterinarskim merama. Nakon osiguranja optimalnih uslova: smeštaja, ishrane i adaptacije u srazmeru sa hibridom, potrebno je da bude veoma dobro primenjen način sakupljanja, dezinfekcije i čuvanja jaja do inkubacije [1, 4]. Većina

\* Rad primljen za štampu 10. 5. 2005. godine

\*\* Dr Ioan Tibru, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Temišvar, Rumunija; dr Dušan Orlić, van. prof., Departman veterinarske medicine, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad i viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad



jata odgajenih u razvijenim zemljama gaje se u intenzivnom sistemu, koji obuhvata: umnožavanje, inkubaciju, gajenje i klanje. Ovaj tehnološki proces može da se lako „zarazi” patogenim agensima, hranom, vodom i živinarnikom. Tehnološki proces može da se kontroliše ako se obrati pažnja na sve moguće tačke u koje patogeni agensi mogu da prodru i da se umnožavaju.

Zahvaljujući neophodnosti postojanja programa koji je u potpunosti integrisan tokom celog reproduktivnog procesa, upotreba HACCP-a je veoma korisna, jer je to proces pomoću kojeg se sistematično može da prepozna, oceni i kontroliše slučajnost incidencije bakterijskih kontaminacija i infekcija. Međutim, upotreba principa HACCP-a u farmama još je uvek u početnoj fazi, a postojeći programi kontrole teže da budu zasnovani na GGP-u (dobra proizvodna praksa), bez CCP-a (kontrole kritičnih tačaka). Iako je GGP glavni deo programa HACCP-a, specifične CCP mogu da se prepoznaju. Na primer: kada je pile izvađeno iz inkubatora ono je izloženo riziku da bude u kontaktu sa patogenima iz sredine (*E. coli*, *Salmonella*), koji mogu da ga inficiraju i tako može da dođe do širenja velikog broja patogena u sredini, što bi kasnije moglo da zarazi i ostale piliće [4]. Koja će strategija intervencije da se koristi u nekom stadijumu kontrole zavisi od standarda na kojem se želi biološka bezbednost. Takođe, rizik zaraze biće smanjen drastičnom kontrolom higijene u pripremi, sakupljanju, čuvanju i transportovanju jaja. Mere bezbednosti u farmama efikasnije su samo ako su dobijeni pilići bez patogenih bakterija.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

U inkubacijsku stanicu ulagana su jaja roditeljskih parova hibrida ISA Brown, pri čemu se pratio broj izleženih pilića i broj preživelih pilića, posle dezinfekcije jaja i inkubatora dezinficijensom koji u svom sastavu sadrži hlorheksidin.

Jaja su dezinfikovana proizvodom Germostop L, u koncentraciji od 0,16% na temperaturi od 45°C, u vremenskom intervalu od 30 sekundi u jednom bazenu od inoksa koji je specijalno izrađen za ovu namenu.

Jaja su sakupljana svaka dva časa, nakon toga je rađena trijaža, razdvajanjem prljavih i puknutih jaja od dobrih jaja koja su slagana u plastične podloške i sa njima umočena u rastvor Germostopa L. Odmah posle toga prebačena su u skladište.

U skladištu jaja su čuvana šest dana na temperaturi od 12°C i vlažnosti od 60 posto. Pre unošenja u inkubator, jaja su zagrejana na temperaturi od 22°C, posle toga su dezinfikovana formaldehidskim gasom.

Inkubator je dezinfikovano proizvodom Hexidin 3%, po 200 ml/m<sup>2</sup>, a provera efikasnosti dezinfekcije obavljena je pomoću NTGMA, po klasičnoj metodi, a koliformne bakterije pomoću TMT-a. Stepenu čistoće i efekat dezinfekcije su određivani pomoću ATP-a, opremom *Hy Lite*.

## Rezultati i diskusija / Results and discussion

Analizom inkubisanih jaja može da se primeti da jaja koja su bila dezinfikovana Germostopom L pokazuju procenat oplodjenosti veći od 95 posto, dok je kod onih nedezinfikovanih jaja procenat oscilirao između 88,5 i 90 posto. Ista proporcija se primećuje kod izležanih živih pilića, odnosno iz dezinfikovanih jaja izleglo se između 63 i 79 posto živih pilića (tabela 1)

Analizom stanja kada se pojavljuje razlika između serija, konstatovano je da prilikom prve ovoskopije nastane prva razlika između serija, to jest kod dekontaminisanih jaja procenat odbačenih jaja obuhvata između 3,93 i 4,13 posto u odnosu prema 8 posto kod nedezinfikovanih jaja.

Tabela 1. Rezultati poslednje dekontaminacije jaja Germostopom L  
Table 1. Results of final decontamination of eggs using Germostop L.

Specifikacija / Specification	Seriya 1 / Series 1	Seriya 2* / Series 2	Seriya 3 / Series 3	Seriya 4* / Series 4	Seriya 5* / Series 5	Seriya 6 / Series 6
Unešena jaja / Introduced eggs	2660	5878	8662	9784	10527	9893
1	223	231	774	403	435	876
	8,75 %	3,93 %	8,9 %	4,12 %	4,13 %	8,85 %
2	66	50	77	10	15	24
	2,7 %	0,85 %	0,96 %	0,11 %	0,15 %	0,27 %
Jaja / Eggs	2361	5597	7811	9371	10077	8993
	88,7 %	95,2 %	90,2 %	95,76 %	95,75 %	90,90 %
Živi pilići / Live chickens	1676	4871	6914	8321	8847	7832
	63 %	82,87 %	79,82 %	85,05 %	84,04 %	79,17 %
Mrtvi pilići / Dead chickens	685	726	897	1050	1230	1161
	25,7 %	12,35 %	10,36 %	10,73 %	11,66 %	11,74 %

\*Jaja koja su bila dekontaminirana sa Germostop L. /  
Eggs decontaminated with Germostop L.

Analiziranje vrednosti prve provere jaja ukazuje da je posle druge provere jaja broj odbačenih jaja relativno mali i ima konstantne vrednosti, bez obzira na koji način su jaja bila tretirana, a procenat zamrlih pilića uglavnom je konstantan, izuzev kod prve serije.

Imajući u vidu rezultate dobijene posle kontrole efikasnosti dezinfekcije može da se zaključi da su jaja potopljena u soluciju Germostop L imala manji broj bakterija za 200 puta u odnosu na nepregledana jaja, što može da se pripiše antimikrobnom učinku primenjenog dezinficijensa [1, 2, 3].

### **Zaključak / Conclusion**

Posle dezinfekcije Germostopom L, porastao je procenat izleženih pilića, a smanjio broj eliminisanih jaja posle prve provere lampiranjem. Posle kontrole efikasnosti dezinfekcije može da se zaključi da su jaja potopljena u soluciju Germostop L imala manji broj bakterija za 200 puta, što može da se pripíše antimikrobnom učinku primenjenog dezinficijensa koji zadovoljava zahteve dobre prakse.

### **Literatura / References**

1. Cătană N., Herman V., Tibru I., Pascu C.: Lucr. st. med. vet. vol. XXXV, Timisoara, 279-282, 2003. - 2. Tibru I.: Lucr. st. med. vet. vol. XXXV, Timisoara, 556-559, 2003. - 3. Tibru I.: Buletinul Universității de Științe agricole și medicină veterinară Cluj-Napoca, 165-169, 2003. - 4. Velhner Maja, Plavša Nada, Rackov O., Orlić D.: Zbornik kratkih sadržaja, VI epizootiološki dani, Vlasinsko jezero, 163, 2004.

## **ENGLISH**

### **RISK ANALYSIS AND DETERMINATION OF CONTROL POINTS AT INCUBATOR STATIONS**

**I. Tibru, D. Orlic**

The application of HACCP is very useful because it is a process which enables the systematic recognition, evaluation and control of accidental incidence of bacterial contamination and infections. However, the use of the HACCP principle in farms is still in the initial stage, and existing control programs tend to be based on GGP (Guidelines for Good Practice), without CCP (Critical Control Points).

Incubators were disinfected using the product Hexidine 3%, 200 ml/m<sup>2</sup>, and eggs were disinfected using the product Germostop L, in concentrations of 0.16%. Disinfection was verified using NTGMA according to the conventional method, and coliform bacteria were checked using TMT. The degree of purity and the effect of disinfection were determined with ATP, using Hy Lite equipment. Having in mind the results obtained following the control of the efficiency of disinfection, it can be concluded that eggs emersed in a solution of Germostop L had a 200 times smaller number of bacteria, which could be attributed to the antimicrobial effect of the applied disinfectant.

Key words: HACCP, GGP, disinfection, incubator

## АНАЛИЗ РИСКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК В ИНКУБАТОРНОЙ СТАНЦИИ

I. Tibru, Д. Орлич

Употребление *HACCP*-а очень полезное, ибо это процесс с помощью которого систематически можно узнать, оценить и контролировать случайность инциденты бактериальных контаминаций и инфекций. Между тем употребление принципа *HACCP*-а на фермах всё ещё в начальной фазе, а сущие программы контроля стремят быть основаны на ХПП-е (хорошая производственная практика) без контроля критических точек (ККТ-и).

Дезинфекция инкубатора была совершена с продуктом *Hexidin 3%*, по 200 мл/м, а дезинфекция яиц сделана с подуктом: *Germostop L*, в концентрации от 0,16%. Проверка эффективности дезинфекции совершилась с помощью *NTGMA* по классическому методу, а колиформные бактерии с помощью *TMT*-а. Степень чистоты и эффект дезинфекции определывна с помощью *АТР*-а, с оборудованием *Hu Lite*. Имея в виду результаты, полученных после контроля эффективности дезинфекции можно сделать вывод, что яйца потоплена в солюции *Germostop L* имели меньшее число бактерий за 200 раз, что можно приписать антимиикробном действии применённых дезинфектантов.

Ключевые слова: *HACCP*, ХПП, дезинфекция, инкубатор

## ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL REPINOŠ REZANCA I NJEGOVO KORIŠĆENJE U PROIZVODNJI FUNKCIONALNE HRANE\*

### *ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF SUGAR BEET PULP AND ITS USAGE IN FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION*

Marijana Sakač, Š. Kormanjoš, Draginja Peričin, S. Filipović, M. Ristić\*\*

*U tehnološkom postupku prerade šećerne repe nastaje ekstrahovani rezanac šećerne repe kao sporedni proizvod. Repin rezanac se koristi prvenstveno kao hranivo u proizvodnji hrane za životinje. Pogodan je i za proizvodnju aditiva koji u prehrambene proizvode unose dijetalna vlakna. Prisustvo polifenola, fenolnih kiselina i ferulne kiseline u repinom rezancu upućuje na njegov antioksidativni potencijal, koji bi mogao da bude značajan u proizvodnji funkcionalne hrane.*

*U radu je prikazana procena antioksidativne potentnosti serije različitih koncentracija etanolnog ekstrakta repinog rezanca, koja je vršena ispitivanjem antioksidativne aktivnosti i skevindžer efekta na DPPH radikale.*

*Ključne reči: repin rezanac, antioksidativni potencijal, funkcionalna hrana*

#### **Uvod / Introduction**

Ekstrahovani rezanac šećerne repe je sporedni proizvod koji se dobija u tehnološkom postupku prerade šećerne repe u proizvodnji šećera. Repin rezanac se primarno koristi kao hranivo u kompozicijama gotove hrane za životinje, ali se zbog njegovog sadržaja dijetalnih vlakana svrstava i u skupinu sirovina za proizvodnju funkcionalne hrane, odnosno specifičnih aditiva visoke sposobnosti hidratacije [1], kao i sirovina za proizvodnju dijetalnih vlakana, pektina, vanilina i drugih proizvoda [2, 3].

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Marijana Sakač, naučni saradnik, mr Šandor Kormanjoš, istraživač-saradnik, dr Draginja Peričin, redovni profesor, dr Slavko Filipović, naučni savetnik, dr Milutin Ristić, naučni savetnik, Tehnološki fakultet, Novi Sad

Iako svrstavanje repinog rezanca u skupinu sirovina za proizvodnju funkcionalne hrane primarno proističe iz njegovog sadržaja dijetalnih vlakana, podaci o sadržaju ferulne kiseline u repinom rezancu ( $\approx 8$  mg/g) [4], kao i o njenoj antioksidativnoj delotvornosti [5, 6, 7, 8] i antifungalnoj prirodi [9] ukazuju na mogućnost višestrukog delovanja repinih rezanaca ili proizvoda dobijenih iz repinih rezanaca u funkcionalnoj hrani. Navodi o antioksidativnoj prirodi pojedinih komponenti repinog rezanca su posebno značajni ukoliko se ima u vidu da kiseonikovi slobodni radikali, nastali kako u biosistemima, tako i u hrani, reaguju širokim spektrom biomolekula (lipidi, proteini i DNK), izazivajući na njima promene, odnosno oštećenja [10, 11].

Navedeni podaci opredelili su da cilj ovoga rada bude ispitivanje antioksidativne delotvornosti etanolnog ekstrakta repinog rezanca, kao sirovine koja može da doprinese u supresiranju oksidacije lipida funkcionalne hrane, odnosno povećanju njene održivosti.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

##### *Izluženi repin rezanac / Spent sugar beet pulp*

Komercijalno dostupan ekstrahovani rezanac šećerne repe samleven je na mlinu čekićaru Condux-Werk tip LS10K, te prosejan na uređaju za prosejavanje (RO-TAP, W.S. Tyler Company, USA) korišćenjem sita kvadratnih otvora 200  $\mu$ m i 400  $\mu$ m, pri čemu su dobijene tri frakcije – frakcija čestica prečnika manjih od 200  $\mu$ m, frakcija čestica prečnika 200 do 400  $\mu$ m i frakcija čestica prečnika većih od 400  $\mu$ m. Za ispitivanje antioksidativne delotvornosti repinog rezanca korišćena je frakcija čestica prečnika manjih od 200  $\mu$ m.

##### *Hemijske metode za ispitivanje / Chemical investigation methods*

Hemijsko-nutritivni profil frakcije čestica prečnika manjih od 200  $\mu$ m (vlaga, sirovi proteini, sirova celuloza, sirova mast, mineralne materije, kalcijum, fosfor, gvožđe, bakar, hemiceluloza, lignin, ukupni šećeri, redukujući šećeri i polifenoli) određen je po metodama A.O.A.C. [12].

##### *Ekstrakcija / Extraction*

U 4 g repinog rezanca (200  $\mu$ ) dodato je 40 mL 80% etanola. Ekstrakcija je obavljena uz intenzivno mešanje na sobnoj temperaturi tokom pet časova. Ekstrakt je odvojen filtrovanjem kroz kvalitativni filter-papir (Whatman No 41), a postupak je nakon toga ponavljan još dva puta sa po 40 mL 80% etanola. Sjedinjenih etanolni ekstrakti (3x40 mL) upareni su na rotacionom vakuum uparivaču (40 °C) do zapremine od 25 mL. Ovako dobijen ekstrakt repinog rezanca korišćen je za dalja ispitivanja antioksidativne delotvornosti.

#### *Antioksidativna aktivnost / Antioxidative activities*

Posle razblaživanja etanolnog ekstrakta repinog rezanca (100%) destilovanom vodom, rastvori različitih koncentracija ekstrakta repinog rezanca (100, 75, 50, 25, 12,5 i 6,25%) mešani su sa emulzijom linolne kiseline i pufera (2 mL, 10 mM, pH 6,5) u epruvetama, koje su potom smeštene u termostat na temperaturu od 37°C, bez prisustva svetlosti, kako bi se ubrzala oksidacija. Posle inkubacije tokom 15 časova u smešu je dodat metanol u dejonizovanoj vodi (6 mL, 60%) i merena je apsorbancija smeše na 234 nm. Antioksidativna aktivnost (AOA) je izračunata po metodi Lingnerta i saradnika [13].

$$AOA = (\Delta A_{234} \text{ slepe probe} - \Delta A_{234} \text{ uzorka}) / \Delta A_{234} \text{ slepe probe}$$

Vrednost AOA = 1 podrazumeva najjaču antioksidativnu aktivnost.

Emulzija linolne kiseline priprema se rastvaranjem 0,2804 g linolne kiseline i 0,2804 g Tween 20 u 0,2 M natrijumfosfatnom puferu (50 mL, pH 6,5) i njenim homogenizovanjem.

#### *„Skevindžer“-efekat na DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikale / Scavenger effect on DPPH radicals*

Rastvori različitih koncentracija ekstrakta repinog rezanca (100, 75, 50, 25, 12,5 i 6,25%) (4 mL) mešani su sa metanolnim rastvorom DPPH-radikala (1 mL), čija je finalna koncentracija iznosila 0,2 mM. Smeša je intenzivno mešana i ostavljena da stoji 30 minuta, a potom je merena apsorbancija na 517 nm [14].

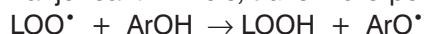
#### **Rezultati i diskusija / Results and discussion**

S obzirom da na kvalitet samlevenog ekstrahovanog rezanca šećerne repe utiče tehnološka priprema, rezanac je podvrgnut prosejavanju na uređaju za prosejavanje korišćenjem sita kvadratnih otvora od 200 μm i 400 μm, što je rezultiralo dobijanjem frakcije čestica prečnika manjih od 200 μm, čiji je hemijsko-nutritivni profil prikazan u tabeli 1.

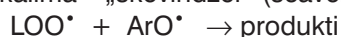
Procena antioksidativne delotvornosti frakcije repinog rezanca čestica prečnika manjih od 200 μm obavljena je ispitivanjem ostvarene antioksidativne aktivnosti i „skevindžer“-efekta na DPPH radikale korišćenjem etanolnog ekstrakta ispitivane frakcije.

Etanolni ekstrakt repinog rezanca (100%) ispoljava dobru antioksidativnu aktivnost, mada nešto nižu od one koju ostvaruju 20 mM α-tokoferil acetat i 20 mM BHT, dok se antioksidativne aktivnosti serije rastvora različitih koncentracija ekstrakta repinog rezanca (75-6,25%) snižavaju u funkciji koncentracije (tabela 2). Antioksidativna aktivnost ispitivane serije ekstrakata, s obzirom na relativno visok sadržaj ukupnih polifenola u korišćenoj frakciji repinog rezanca (0,53% izraženo kao galna kiselina – tabela 1), odnosno ekstraktu repinog rezanca (100%) (0,16 mg/mL izraženo kao galna kiselina), mogla bi da se pripíše njihovom delovanju na:

– snižavanje koncentracije peroksi-radikala predavanjem H-atoma, uz nastajanje manje reaktivnih *cis*, *trans*-hidro-peroksida:



– snižavanje koncentracije peroksi-radikala interakcijom sa nastalim aroksi-radikalima – „skevindžer” (scavenger) efekat.



– inhibiranje stvaranja peroksi-radikala mehanizmom kompleksiranja metalnih jona.

Tabela 1. Hemijsko-nutritivni sastav frakcije repinog rezanca čestica prečnika manjih od 200  $\mu\text{m}$  /

Table 1. Chemical-nutritive composition of sugar beet pulp particles of less than 200  $\mu\text{m}$  in diameter

Pokazatelj kvaliteta / <i>Quality indicator</i>	Prosejani repin rezanac ( $\varnothing$ manje od 200 $\mu\text{m}$ ) / <i>Sifted sugar beet pulp</i> ( $\varnothing$ under 200 $\mu\text{m}$ )
Vlaga (%) / <i>Humidity (%)</i>	6,98
Sirovi proteini (% u SM) / <i>Crude proteins (%DM)</i>	10,27
Sirova mast (% u SM) / <i>Crude fat (%DM)</i>	0,61
Sirova celuloza (% u SM) / <i>Crude cellulose (%DM)</i>	19,98
Mineralne materije (% u SM) / <i>Mineral matter (%DM)</i>	4,79
Kalcijum (% u SM) / <i>Calcium (%DM)</i>	0,82
Fosfor (% u SM) / <i>Phosphorus (%DM)</i>	0,09
Gvožđe (mg/kg u SM) / <i>Iron (mg/kg in DM)</i>	708,38
Bakar (mg/kg u SM) / <i>Copper (mg/kg in DM)</i>	20,93
Hemiceluloza (% u SM) / <i>Hemicellulose (%DM)</i>	19,78
Lignin (% u SM) / <i>Lignine (%DM)</i>	16,90
Ukupni šećeri (% u SM) / <i>Total sugars (%DM)</i>	7,34
Redukujući šećeri (% u SM) / <i>Reducing sugars (%DM)</i>	1,33
Polifenoli (% u SM kao galna kis.) / <i>Polyphenols (%DM as gallic acid)</i>	0,53

Ustanovljena antioksidativna delotvornost ekstrakta repinog rezanca, najverovatnije, prouzrokovana je prisustvom, odnosno delotvornošću fenolnih kiselina iz repinog rezanca (ferulna, gentistična, kafena, hlorogenska, cinamična i druge kiseline) za koje je od ranije poznato da pripadaju skupu dokazanih antioksidativnih materija [15, 16]. Mnoge od njih, poput hlorogenske, kafene i ferulne kiseline, deluju kao DPPH-radikal „skevindžer” i inhibitori stvaranja konjugovanih diena [17, 18].



Tabela 2. Antioksidativna aktivnost (AOA) i „skevindžer” efekat na 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikale serije različitih koncentracija ekstrakta repinog rezanca /  
Table 2. Antioxidative activity (AOA) and scavenger effect on DPPH radicals from a series of different concentrations of sugar beet pulp extract

Uzorak / Sample	Koncentracija / Concentration	Antioksidativna aktivnost (AOA) / Antioxidative activity (AOA)	„Skevindžer” efekat / Scavenger effect (%)
$\alpha$ -tokoferil acetat / $\alpha$ -tocopheryl acetate	20 mM	0,89	83,01
BHT / BHT	20 mM	0,95	93,50
Etanolni ekstrakt repinog rezanca / Ethanol extract of sugar beet pulp	100%	0,86	84,94
	75%	0,81	81,05
	50%	0,78	75,92
	25%	0,51	48,27
	12,5%	0,40	28,83
	6,25%	0,16	12,11

Serija rastvora različitih koncentracija ekstrakta repinog rezanca vrlo izraženo ispoljava „skevindžer” efekat na DPPH-radikale u rasponu koncentracija od 50 do 100 posto (tabela 2), što je najverovatnije uslovljeno doniranjem H-atoma sa raspoloživih OH-grupa fenolnih kiselina prisutnih u ekstraktu [14]. Ispitivani rastvori (100 i 75%) ostvaruju identičnu antiradikalnu aktivnost poput 20 mM  $\alpha$ -tokoferil acetata, dok je BHT (20 mM) nešto potentniji „skevindžer” DPPH-radikala.

Nivoi „skevindžer” efekta na DPPH-radikale postignuti aplikovanjem serije rastvora različitih koncentracija etanolnog ekstrakta repinog rezanca na sistem za praćenje antiradikalne aktivnosti u saglasnosti su sa onima postignutim na sistemu za praćenje AOA, što ukazuje da je antioksidativna aktivnost ovog ekstrakta u najvećoj meri rezultat doniranja H-atoma od fenolnih kiselina prisutnih u ekstraktu peroksi-radikalima, favorizovanog mogućnošću stabilizacije nastalih fenoksi-radikala rezonancijom.

### Zaključak / Conclusion

Na osnovu sprovedenih ispitivanja može da se zaključi da repin rezanac, pored ranije poznatih načina primene, može da se koristi i kao sirovina bogata supstancijama izrazite antioksidativne delotvornosti, što ga svrstava u red komponenti poželjnih za očuvanje kvaliteta funkcionalne hrane.

Napomena: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologije i razvoj Republike Srbije, u okviru nacionalnog projekta ev. br. BTN.7.2.2.0443.B.

## Literatura / References

1. Israelsson B., Jarnblad G., Persson K.: *Scand. J. Nutr.*, 37, 4, 146-149, 1993.
2. Siebel W.: *Getreide Mehl und Brot*, 52, 3, 185-187, 1999.
3. Bonnin E., Grangé H., Lesage-Meessen L., Asther M., Thibault J.-F.: *Carbohydr. Polym.*, 41, 143-151, 2000.
4. Micard V., Renard C. M. G. C., Thibault J. F.: *Enzyme Microb. Technol.*, 19, 162-170, 1996.
5. Cuvelier M. E., Richard H., Berset C.: *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 56, 2, 324-325, 1992.
6. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.: *Food Sci. Technol-Lebensm. Wiss.*, 28, 25-30, 1995.
7. Bryngelsson S., Dimberg L.H., Kamel-Eldin A.: *J. Agr. Food Chem.*, 50, 1890-1896, 2000.
8. Kikuzaki H., Hisamoto M., Hirose K., Akiyama K., Taniguchi H.: *J. Agr. Food Chem.*, 50, 2161-2168, 2002.
9. Baranowski J. D., Davidson P. M., Nagel C. W., Brannen R. L.: *J. Food Sci.*, 45, 592-594, 1980.
10. Ames B. N.: *Free Radical Res. Commun.*, 7, 121-128, 1989.
11. Halliwell B., Chirico S.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, 57, 715S-725S, 1993.
12. AOAC: *Official Methods of Analysis*, 14<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1984.
13. Lingnert H., Vallentin K., Eriksson C. E.: *J. Food Process. Preserv.*, 3, 87-103, 1979.
14. Shimada K., Fujikawa K., Yahura K., Nakamura T.: *J. Agr. Food Chem.*, 40, 945-948, 1992.
15. Marinova E.M., Yanishlieva N.V.: *JAOCs*, 71, 427-434, 1994.
16. Chen J. H., Ho C.-T.: *J. Agr. Food Chem.*, 45, 2374-2378, 1997.
17. Ohnishi M., Morishita H., Iwahashi H., Toda S., Shirataki Y., Kimura M., Kido R.: *Phytochemistry*, 36, 3, 579-583, 1994.
18. Son S., Lewis B. A.: *J. Agr. Food Chem.*, 50, 468-472, 2002.

## ENGLISH

### ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF SUGAR BEET PULP AND ITS USAGE IN FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION

Marijana Sakač, Š. Kormanjoš, Draginja Peričin, S. Filipović, M. Ristić

During the technological procedure of sugar beet processing a significant amount of spent sugar beet pulp is obtained as a byproduct which is used primarily as a feed component in livestock feed production. Sugar beet pulp is also suitable for the production of additives which contribute to the higher level of dietary fibers in food products. The presence of polyphenols, phenolic acids and ferulic acid indicates its antioxidative characteristics which could be important for functional food processing.

The estimation of the antioxidant nature of a series of different concentrations of ethanolic extract of sugar beet pulp, investigated by monitoring their antioxidant activity and scavenging activity on DPPH radicals, has been presented in this paper.

Key words: sugar beet pulp, ethanolic extract, antioxidant activity, DPPH scavenging effect

**АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РЕПИНОГО ОТРЕЗАННОГО ЛИМТИКА И ЕГО ПОЛЬЗОВАНИЕ В ПРОИЗВОДСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО КОРМА**

**Мариана Сакач, Ш. Корманёш, Драгиня Перичин, С. Филипович, М. Ристич**

В технологическом поступке переработки сахарной свёклы проце-  
лощённый репии отрезанный ломтик как побочный продукт. Репин отрезанный лом-  
тик пользуется в первую очередь в качестве корма в производстве корма для  
животных. Пригодный и для производства аддитивов, которые в пищевые продукты  
вносят диетические волокна. Присутствие полифенола, фенольных кислот и  
ферульной кислоты в репином отрезанном ломтике направляет на его антиокис-  
лительный потенциал, который бы мог быть важен в производстве функцион-  
ального корма.

В работе показана оценка антиокислительной потентности серии раз-  
личных концентраций этанольного экстракта репиного отрезанного ломтика, со-  
вершенная испытанием антиокислительной активности и скевинджер эффекта на  
*DPPH* радикалы.

Ключевые слова: репин отрезанны антиокислительный потенциал, этанольный  
экстракт, *DPPH*, скевинджер эффект

**DELOVANJE PRIRODNE AKTIVNOSTI MEDA NA NEKE  
VRSTE MIKROORGANIZAMA \***  
*EFFECT OF NATURAL ACTIVITIES OF HONEY ON SOME FORMS OF  
MICROORGANISMS*

Nada Dugalić-Vrndić, Dragana Pešić-Mikulec, M. Baltić\*\*

*Za ispitivanje prirodne aktivnosti meda, radi pronalaženja nove i lakše metode, rađeno je sa neutralnim antibiogram tabletama (proizvodnje Torlak u eksperimentalne svrhe), pomoću diskova od filter papira i mikrobiološkom metodom difuzije u agaru pomoću rupa – bazenčića u podlozi. Za istraživanja korišćene su tri vrste meda po slobodnom izboru (bagremov, livadski i medljikin-šumski) koji su prethodno ispitani i dali negativan rezultat na prisustvo rezidua antibiotika i sulfonamida. Prirodna aktivnost ovoga meda testirana je na kulturama: Staphylococcus albus, Corynebacterium renalle i Candida albicans. Ispitivani med pokazao je aktivnost u vidu zone inhibicije različitog intenziteta ili rezistencije na kulture bakterija Staphylococcus albus i Corynebacterium renallea, na kulturu Candida albicans ispitivani medovi nisu pokazali aktivnost koja je vidljiva (zona inhibicije). Mikrobiološka metoda difuzije u hranljivom agaru pomoću rupa – bazenčića daje najbolje rezultate u ispitivanju prirodne aktivnosti meda na mikroorganizme.*

*Ključne reči: med, prirodna aktivnost, mikroorganizmi*

**Uvod / Introduction**

Med je veoma korisna namirnica zbog svoje hranljive vrednosti, prijatnog ukusa i lekovitih svojstava koja su medu pripisivana još iz davnina. Koristili su ga u lekovite svrhe stari Sumeri, Hipokrat pre nove ere u 19. veku, van Ketel je med koristio za lečenje infekcija očiju, rana, digestivnih tegoba i drugog [1, 6]. Danas postoje mnogobrojni naučni dokazi o lekovitosti meda, gde se med upotrebljava kao terapija u slučajevima kada je postojala rezistencija na upotrebljene antibiotike [1, 3, 7].

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr sc. Nada Dugalić-Vrndić, naučni saradnik, dr sc. Dragana Pešić-Mikulec, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sc. Milan Baltić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Cilj našega rada bio je da se pronađu nove, lakše i sigurnije metode za ispitivanje prirodne aktivnosti meda na neke vrste mikroorganizama i time da doprinos naučnim tvrdnjama o lekovitosti meda sa područja Srbije.

#### **Materijal i metode rada / *Materials and methods***

Za istraživanja su odabrane tri vrste meda: livadski (30 uzoraka), ba-gremov (30 uzoraka) i šumski (10 uzoraka). Med je uzorkovan u sterilne plastične teglice u količini od 100 g. Ispitivanja su obavljena samo sa koncentrovanim me-dom, bez razblaženja. Svi uzorci meda su prethodno ispitani na prisustvo rezidua antibiotika i sulfonamida modifikovanom metodom E2a (FOUR PLATE) [4]. Za is-pitivanja korišćen je samo med koji je dao negativan rezultat na prisustvo rezidua. Kulture mikroorganizama odabrane su metodom slučajnog izbora iz kolekcije sojeva laboratorije: *Corynebacterium renale*, *Staphylococcus albus* i *Candida al-bicans*. Za ispitivanje prirodne aktivnosti meda upotrebene su neutralne tablete (antibiogram) proizvodnje „Torlak” u eksperimentalne svrhe, diskovi od filter pa-pira i mikrobiološka metoda difuzije pomoću „rupa-bazenčića” u podlozi.

**Priprema tableta i diskova za rad / *Preparation of tablets and discs for work:*** neutralne tablete i diskovi od filter papira potapani su u med koji se ispitivao u vremenu od 10 minuta, posle izvlačenja iz meda sa tablete i diskova uz asepi-tičke uslove odstranjivan je višak meda i obavljeno sušenje u eksikatoru na T° od 37° u termostatu u toku 24 časa. Druga grupa diskova i tableta nije podvrgavana sušenju, već je upotrebljena za rad odmah nakon odstranjivanja viška meda [5].

**Priprema podloga sa kulturama za rad / *Preparation of bases with cul-tures for work:*** 1 ml šesnaestčasovne bujonske kulture (Mac Farland 3) testiranih mikroorganizama inokulisana je u 100 ml, hranljivog agara, koji je razliven u petrijeve ploče.

Posle hlađenja zasejane podloge, pincetom (u smeru kretanja kazalj-ke na satu) ređani su jedan za drugim disk zatim tableta iz istog uzorka meda radi upoređivanja delovanja. Na jednoj petrijevoj ploči ispitivano je po četiri uzorka meda. Isti uzorak meda rađen je i metodom difuzije u agaru, tako što su izbušene rupe pomoću šablona, prečnika od 5 mm. Na jednoj ploči istovremeno je ispiti-vano po osam uzoraka meda. Sterilnom pasterovom pipetom uzet je med u ko-ličini da se ispuni rupa – bazenčić u podlozi, pri čemu je sve po propisu obeleženo [1, 2, 3, 5, 6].

Sve ploče su inkubisane u termostatu na temperaturi od 37° i 30° (*Candida albicans*) 24 časa, posle tog vremena pristupalo se čitanju rezultata i merenju zone inhibicije.

#### **Rezultati rada i diskusija / *Results and discussion***

Eksperimentalne tablete koje su korišćene za ispitivanje prirodne ak-tivnosti meda nisu dale vidljive rezultate kod svih ispitanih uzoraka meda i više se neće koristiti u daljim istraživanjima.

Diskovi od filter papira pokazivali su malu zonu inhibicije kod testiranja meda na bakterije, ali je zapaženo dejstvo meda na kulture istih koje se ispoljilo u vidu svetlijih i tamnijih koncentričnih krugova oko diska različitog promera.

Mišljenja autora je da su prisutni krugovi rezultat delovanja meda koji nije mogao da bude ispoljen zonom inhibicije zbog male količine meda koje je disk od filter papira mogao da sadrži ili zbog slabijeg dejstva meda.

Određivanje prirodne aktivnosti meda pomoću diskova od filter papira može da posluži samo orijentaciono [5].

Najbolji rezultati dobijeni su kod primene agar difuzione metode pomoću rupa-bazenčića, gde su pojedini uzorci meda ispoljili svoju aktivnost u vidu zone inhibicije ili rezistencije na testirane mikroorganizme. Sličnu metodu za ispitivanje prirodne aktivnosti meda koristili su Collins i sar., Molan i sar., Nada Dugalić Vrndić i sar [1, 2, 5]. Razlika je bila u promeru šablona, i veličini petrijevih ploča samim tim i u broju uzoraka koji su ispitivani istovremeno, kao i izbor medova.

Livadski, bagremov i šumski med delovali su antibakterijski u određenom procentu na bakterije *Staphylococcus albus* i *Corynebacterium renalle*, a nisu delovali na *Candida albicans* [5].

Na tabelama može da se vidi koliko je izražena prirodna aktivnost testiranog meda.

Tabela 1. Delovanje bagremovog meda na mikroorganizme (30 uzoraka meda) /  
Table 1. Activity of acacia honey on microorganisms (30 honey samples)

Zone inhibicije u mm / Zones of inhibition in mm	<i>Staphylococcus albus</i>		<i>Corynebacterium renalle</i>		<i>Candida albicans</i>	
0,5	1uz.	3.3%	5 uz.	16.7%	0 uz.	0
1	3	10.0%	2	6.7%	0	0
1,5	1	3.3%	0	0.0%	0	0
2	2	6.7%	1	3.3%	0	0
3	1	3.3%	0	0.0%	0	0
4	4	13.3%	1	3.3%	0	0
5	1	3.3%	0	0.0%	0	0
6	0	0.0%	0	0.0%	0	0
7	0	0.0%	0	0.0%	0	0
sa zonom / with zone	13	43.3%	9	30.0%	0	0
bez zone / without zone	17	56.7%	21	70.0%	6	0

Bagremov med je u najvećem procentu delovao na *Staphylococcus albus* u 43,3 posto ispitivanih uzoraka meda sa zonom inhibicije od 0,5 do 5 mm,

na *Corynebacterium renalle* u 30 posto ispitivanih uzoraka meda, ali zone inhibicije nisu velike i iznosile su od 0,5 do 4 mm, sa najvećim brojem uzoraka meda koji su delovali sa zonom inhibicije od 0,5 mm. Bagremov med nije delovao na *Candida albicans*. Prema Molanu i sar. [1] med koji su oni ispitivali delovao je na *Candida albicans*, ali nije bio bagremov i poticao je sa Novog Zelanda.

Tabela 2. Delovanje livadskog meda na mikroorganizme (30 uzoraka meda) /  
Table 2. Activity of meadow honey on microorganisms (30 honey samples)

Zone inhibicije u mm / Zones of inhibition in mm	<i>Staphylococcus albus</i>		<i>Corynebacterium renalle</i>		<i>Candida albicans</i>	
	uz.	%	uz.	%	uz.	%
0,5	1	3.3%	7	23.3%	0	0
1	2	6.7%	4	13.3%	0	0
1,5	0	0.0%	6	20.0%	0	0
2	3	10.0%	3	10.0%	0	0
3	5	16.7%	0	0.0%	0	0
4	6	20.0%	0	0.0%	0	0
5	5	16.7%	0	0.0%	0	0
6	3	10.0%	0	0.0%	0	0
7	0	0.0%	0	0.0%	0	0
sa zonom / with zone	25	83.3%	20	66.7%	0	0
bez zone / without zone	5	16.7%	10	33.3%	6	0

Livadski med je delovao antibakterijski na *Staphylococcus albus* u 83,3 posto uzoraka sa zonom inhibicije od 0,5 do 6 mm. Na *Corynebacterium renalle* delovao je u 33,3 posto uzoraka sa zonom inhibicije promera od 0,5 do 2 mm, nije delovao na *Candida albicans*. Dobijeni rezultati su slični sa rezultatima autora, Mollan i sar., Allen i sar. i Dustman JH., osim kod *Candida albicans* [1, 3, 8].

Šumski med je ispoljio veliku prirodnu aktivnost na bakterije *Staphylococcus albus* sa zonom inhibicije od 3 do 7 mm i *Corynebacterium renalle* sa zonom inhibicije od 0,5 do 3 mm, na *Candida albicans* nije delovao. Citirani autori koji su ispitivali prirodnu aktivnost meda na bakterije nisu koristili sorte medove, već prirodni med, kada su upotrebljavali više vrsta meda za jedan uzorak u ispitivanju [1]. U radu je korišćen samo koncentrovan med, a u podacima iz literature postoje različita mišljenja o rastvorenom medu u vodi ili nekoj drugoj tečnosti, neki smatraju da med gubi antibakterijsku aktivnost kada je rastvoren [8].

Tabela 3. Delovanje šumskog meda na mikroorganizme (10 uzoraka meda) /  
Table 3. Activity of woodland honey on microorganisms (30 honey samples)

Zone inhibicije u mm / Zones of inhibition in mm	<i>Staphylococcus albus</i>		<i>Corynebacterium renalle</i>		<i>Candida albicans</i>	
0,5	0 uz.	0.0%	4 uz.	40%	0 uz.	0
1	0	0.0%	2	20%	0	0
1,5	0	0.0%	1	10%	0	0
2	0	0.0%	1	10%	0	0
3	2	20%	1	10%	0	0
4	1	10%	0	0.0%	0	0
5	2	20%	0	0.0%	0	0
6	3	30%	0	0.0%	0	0
7	2	20%	0	0.0%	0	0
sa zonom / with zone	10	100%	9	90.0%	0	0
bez zone / without zone	0	0.0%	1	10%	6	0

### Zaključak / Conclusion

Neutralne tablete nisu dale vidljiv rezultat i pomoću njih nije moguće obaviti ispitivanje prirodne aktivnosti meda. Pomoću diskova od filter papira prirodna aktivnost može da se orijentaciono odredi (uska zona inhibicije rasta bakterija, kod snažnog delovanja meda i zona delovanja u vidu koncentričnih svetlijih i tamnijih krugova oko diska kod slabijeg delovanja meda). Koncentrovan med daje jasne rezultate u vidu zone inhibicije ili rezistencije pri korišćenju mikrobiološke metode difuzije u agaru sa rupama-bazenčićima.

Mikrobiološka metoda difuzije u agaru pomoću rupa-bazenčića predstavlja dobru metodu za ispitivanje prirodne aktivnosti meda.

Najaču prirodnu aktivnost na *Staphylococcus albus* ispoljio je šumski med, 100 posto, zatim livadski, 83,3 posto i bagremov, 45,3 posto uzoraka meda.

Na *Corynebacterium renalle* prirodnu aktivnost u najvećem broju uzoraka pokazao je šumski med u 90 posto, livadski u 66,7posto i bagremov u 30 posto.

Testirani med nije ispoljio prirodnu aktivnost na *Candida albicans*. Livadski i šumski med deluju antibakterijski na *Staphylococcus albus* i *Corynebacterium renalle* u velikom procentu ispitanih uzoraka.

Napomena: Istraživanje je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije u okviru projekta br. 0541



## Literatura / References

1. Petar C. Molan: The antibacterial activiti of hony, Bee World, 73, 1, 5-28, 1992. - 2. Collins C. H., Lyne P. M., Grange J. M.: Collins and Lynes Microbiological Metods 7 th edition Butterworth /Heinemann, Oxford 493, 1995. - 3. Allen K. L., Molan P. C., Reid G. M.: A survey of the anttibacterial activity of some New Zealand honeys Journal of Pharmacy and Pharmacology, 43, 12, 817-822, 1991. - 4. Dugalić-Vrndić Nada, Vuković Svetlana, Baltić M.: Ispitivanje pčelinjeg meda na prisustvo rezidua antibiotika i sulfonamida, 15. savetovanje veterinara Srbije. Zbornik radova i kratkih sadržaja, 246, 2003. - 5. Dugalić-Vrndić Nada, Pešić-Mikulec Dragana, Baltić M.: Delovanje prirodne aktivnosti meda na neke vrste mikroorganizama. Simpozijum veterinarstva i stočarstva u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane sa međunarodnim učesćem, Herceg Novi 21-25 juni, Zbornik kratkih sadržaja, 90, 2004. - 6. Aristotel (350BC) Volumen IV, Historia animalium. IN Smith, J.A; Ross, WD, University; Oxford, UK (translated by Thompson, DAW 1910). - 7. Cooper R. A., Molan P. C., Harding K. G.: Antibacterial activity of against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. JR Soc Med, 92, 6, 283-285, 1999. - 8. Dustman J. H.: Antibacterial effect of hony Apiacta, 14, 1, 7-11, 1979.

## ENGLISH

### EFFECT OF NATURAL ACTIVITIES OF HONEY ON SOME FORMS OF MICROORGANISMS

Nada Dugalić-Vrndić, Dragana Pešić-Mikulec, M. Baltić

In order to find a new and easier method for examining the natural activities of honey, we worked with neutral antibiogram tablets (produced by Torlak for experimental purposes), using discs of filter paper and the microbiological method of diffusion in agar using bases with small pools. Three types of honey chosen at random (acacia, meadow and woodland honey), honey examined beforehand and proven negative for the presence of antibiotic and sulphonamide residue, were used for the investigations.

The natural activity of this honey was tested on the cultures: *Staphylococcus ambus*, *Corynebacterium renale* and *Candida albicans*. The examined honey showed activities in the form of a zone of inhibition of different intensity or resistance to the cultures of bacteria *Staphylococcus albus* and *Corynebacterium renallea*, the examined honey did not show any visible activity (inhibition zone) to the culture *Candidae albicans*. The examined honey showed activity in the form of a zone of inhibition of different intensity or resistance to bacteria culture of *Staphylococcus albus* and *Corynebacterium renallea*, the examined honey did not show activities that were visible (zone of inhibition) to the culture *Candidae albicans*. The microbiological method of diffusion in nutritive agar using pools yields the best results in examinations of the natural activity of honey on microorganisms.

Key words: Honey, natural activity, microorganisms

**ДЕЙСТВИЕ НАТУРАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕДА НА НЕКОТОРЫЕ ВИДЫ  
МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Нада Дугалич-Врндич, Драгана Пешич-Микулец, М. Балтич**

Для испытания натуральной активности мёда ради изобретения нового и более лёгкого метода, нами разработано с нейтральными антибиотикограмма-таблетками (производства Торлак в экспериментальные цели), с помощью дисков из фильтр бумаги и микробиологическим методом диффузии в агаре с помощью дыр-бассейников в среде. Для исследования использованы три вида мёда по свободному выбору (акационный, луговой и ржавин-лесной), которые предварительно испытаны и дали отрицательный результат на присутствие остатков антибиотиков и сульфониламидов. Натуральная активность этого мёда тестирована на культурах: *Staphylococcus albus*, *Corynebacterium renalle* и *Candida albicans*. Испытанный мёд показал активность в виде зоны ингибиции различного интенсивитета или резистенции на культуры бактерий, *Staphylococcus albus* и *Corynebacterim renallea*, на культуру *Canidida albicans*, испытываемые мёды не показали активность, которая видима (зона ингибиции). Микробиологический метод диффузии в питательном агаре с помощью дыр-бассейников даёт наилучшие результаты в испытании натуральной активности мёда на микроорганизмы.

Ключевые слова: мёд, натуральная активность, микроорганизмы

**BAGREMOV MED SA RAZLIČITIH LOKALITETA I NJEGOVO  
DEJSTVO NA BAKTERIJE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* I  
*LISTERIA MONOCYTOGENES*\***

***ACACIA HONEY FROM DIFFERENT LOCALITIES AND ITS EFFECT  
ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND LISTERIA MONOCYTOGENES***

**Nada Dugalić-Vrndić, Dragana Pešić-Mikulec, M. Baltić\*\***

*Bagremov med sa lokaliteta Rume delovao je antibakterijski na Staphylococcus aureus i Listeria monocytogenes. Delovanje bagremovog meda na bakterije bilo je u vidu zone inhibicije različitog prečnika i broja uzoraka meda zavisno od vrste upotrebijene podloge. Bagremov med je delovao na obe vrste bakterija u većem broju uzoraka na hranljivom agaru, a u manjem broju uzoraka na Mueller Hintonu. Na osnovu dobijenih rezultata hranljivi agar je osetljivija podloga od Mueller Hintona za ispitivanje prirodne aktivnosti bagremovog meda na bakterije.*

*Ključne reči: bagremov med, prirodna aktivnost, bakterije*

**Uvod / Introduction**

Bagremov med je veoma tražena namirnica kod potrošača, zbog svog ukusa, mirisa, specifične svetle boje i njegove osobine da sporo kristališe, kao i zbog svoje lekovitosti [1, 3, 5, 6, 8, 9]. On se pored livadskog meda ubraja u najčešće korišćene medove na našem području.

Cilj rada je bio da se ispita da li bagremov med sa naših lokaliteta ima lekovita svojstva, odnosno prirodnu antibakterijsku aktivnost. Zbog česte upotrebe bagremovog meda kod nas, odlučeno je da se on testira na dve vrste patogenih bakterija (*Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*) koje mogu da se nađu, pored ostalog, i u namirnicama životinjskog porekla.

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr sc. Nada Dugalić-Vrndić, naučni saradnik, dr sc. Dragana Pešić-Mikulec, naučni saradnik. Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr sc. Milan Baltić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

### Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Za ispitivanje se koristilo 30 uzoraka bagremovog meda u koncentrovanom stanju, sa različitih lokaliteta (Jakovo, Kupinovo, Ruma, Lazarevac, Obrenovac i Beograd sa okolinom) i laboratorijske kulture bakterija: *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*. Prirodna aktivnost bagremovog meda testirana je pomoću mikrobiološke metode difuzije na podlozi Muller Hinton agar i na hranljivom agaru pomoću rupa u podlozi, promera 5 mm [1, 2, 5]. Svi uzorci meda su prethodno ispitani na prisustvo rezidua antibiotika i sulfonamida [4].

### Rezultati rada i diskusija / *Results and discussion*

Bagremov med je ispoljio prirodnu aktivnost na patogene bakterije *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes* u određenom broju uzoraka u vidu zone inhibicije rasta bakterija na obe upotrebene podloge.

Tabela 1. Prirodna aktivnost bagremovog meda na bakterije *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes* /  
Table 1. Natural effect of acacia honey on bacteria

Zona inhibicije u mm / <i>Zone of inhibition in mm</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>	
	MH	HA	MH	HA
0,5	3	6	3	4
1	–	1	–	1
1,5	–	–	–	1
2	1	3	–	1
3	1	2	–	–
sa zonom / <i>with zone</i>	5	12	3	7
bez zone / <i>without zone</i>	25	18	27	23
Ukupno / <i>Total</i>	30	30	30	30

Legenda: MH – Mueller Hinton agar, HA – Hranljivi agar /  
Legend: MH – Mueller-Hinton agar, HA – nutritive agar

Bagremov med je ispoljio prirodnu aktivnost na patogenu bakteriju *Staphylococcus aureus* u vidu zone inhibicije rasta bakterija od 0,5 do 3 mm (poluprečnik zone) u određenom broju uzoraka zavisno od vrste upotrebene podloge za ispitivanje.

Na podlozi Mueller Hinton reagovalo je samo pet uzoraka meda, a na podlozi hranljivi agar reagovalo je 12 uzoraka meda.

Ostali uzorci meda nisu pokazali vidljivu reakciju. Mollan i sar. imaju rezultate sa koncentrovanim medom koji deluje na *Staphylococcus aureus*, ali nije definisan kao sortni med, već prirodni med.

Kod patogene bakterije *Listeria monocytogenes*, bagremov med je ispoljio prirodnu aktivnost u veličini zone inhibicije od 0,5 do 2 mm (poluprečnik zone) broj uzoraka meda, koji je delovao na bakteriju, zavisio je od upotrebene podloge.



Slika 1. *Listeria monocytogenes* na hranljivom agaru sa ispoljenim zonama inhibicije različitog intenziteta usled delovanja bagremovog meda /  
Figure 1. *Listeria monocytogenes* on nutritive agar with shown zones of inhibition of different intensity due to effect of acacia honey

Veći broj uzoraka meda delovao je na podlozi hranljivi agar (6 uzoraka), a manji broj uzoraka delovao je na podlozi Mueller Hinton (4 uzorka).

U literaturi se pominju obe podloge koje su se koristile u ispitivanju antibakterijske sposobnosti meda, ali nisu obavljena upoređivanja.

Mollan i sar. [1] sva ispitivanja prirodne aktivnosti meda radili su na hranljivom agaru, a Collins i sar. na Mueller Hintonu.

Na osnovu dobijenih rezultata hranljivi agar predstavlja osetljiviju podlogu za ispitivanje prirodne aktivnosti meda.

Bagremov med nema snažno antibakterijsko dejstvo ako se uporedi sa drugim vrstama meda.

Kod autora Molana i sar [1], Allena i sar [3], Nade Dugalić-Vrndić i sar [4] i Dustmana J. H. [9] govori se o prirodnom medu ili određenim vrstama meda koje su vezane za lokalitete autora (manuka med, lotosov med, šumski med i druge vrste meda, koji imaju snažno dejstvo na bakterije), ali bagremovog meda nema u dostupnim podacima u literaturi, osim u podacima samih autora [5].

Veći broj uzoraka bagremovog meda delovao je antibakterijski na bakteriju *Staphylococcus aureus*, a manji broj uzoraka na *Listeria monocytogenes*. Zona inhibicije rasta bakterija bila je više ispoljena kod bakterije *Staphylococ-*

*cus aureus*, a manje kod *Listeriae monocytogenes*. Znači, bagremov med ima snažnije dejstvo na bakteriju *Staphylococcus aureus*, a manje snažno na *Listeria monocytogenes*.

Bagremov med sa područja Rume u određenom broju uzoraka ispoljio je prirodnu antibakterijsku sposobnost različitog intenziteta za razliku od ostalih medova, sa drugih ispitivanih područja koji nisu pokazali tu sposobnost.

### **Zaključak / Conclusion**

Bagremov med poseduje antibakterijsko svojstvo u određenom broju uzoraka na bakterije *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*. Veći broj uzoraka bagremovog meda deluje na bakteriju *Staphylococcus aureus*, a manji broj uzoraka na *Listeria monocytogenes*. Dejstvo se ispoljava u vidu zone inhibicije rasta bakterija gde deluje bagremov med.

Hranljivi agar je osetljivija podloga za ispitivanje prirodne antibakterijske aktivnosti bagremovog meda u odnosu na podlogu Mueller Hinton koja je manje osetljiva.

Ispitivani med sa teritorije Rume pokazao je veću prirodnu aktivnost od ostalih uzoraka meda sa teritorije Kupinova, Lazarevca, Obrenovca i okoline Beograda.

Bagremov med u odnosu na druge vrste meda ima manje antibakterijsko dejstvo na ispitivane bakterije. Treba ispitati određene hemijske parametre u medu od kojih, pored ostalih, zavisi prirodna aktivnost meda i da se na osnovu njih dođe do zaključka, koji je med sa većom prirodnom aktivnošću i da li zona inhibicije zavisi od tih parametara (kiselost, šećeri, ph, hidrogen peroksida, osmotski efekat i drugih).

Napomena: Istraživanje je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije u okviru projekta br. 0541

### **Literatura / References**

1. Molan C. P.: The antibacterial activity of honey, *Bee World*, 73, 1, 5-28, 1992.
2. Collins C. H., Lyne P. M., Grange J. M.: Collins and Lynes Microbiological Methods 7 th edition Butterworth/Heinemann, Oxford 493, 1995.
3. Allen K. L., Molan P. C. Reid G. M.: A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43, 12, 817-822, 1991.
4. Dugalić-Vrندیć Nada, Vuković Svetlana, Baltić M.: Ispitivanje pčelinjeg meda na prisustvo rezidua antibiotika i sulfonamida, 15. savetovanje veterinarar Srbije. Zbornik radova i kratkih sadržaja, 246, 2003.
5. Dugalić-Vrندیć Nada, Pešić-Mikulec Dragana, Baltić M.: Delovanje prirodne aktivnosti meda na neke vrste mikroorganizama. Simpozijum veterinarstva i stočarstva u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane sa međunarodnim učesćem, Herceg Novi 21-25 juni, Zbornik kratkih sadržaja, 90, 2004.
6. Dugalić-Vrندیć Nada, Pešić-Mikulec Dragana, Baltić M.: Bagremov

med sa različitih lokaliteta i njegovo dejstvo na *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes* Simpozijum veterinara i stočarstva u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane sa međunarodnim učesćem, Herceg Novi 21-25 juni, Zbornik kratkih sadržaja, 76, 2004. - 7. Aristotel (350BC) Volumen IV, Historia animalium. IN Smith J. A; Ross, W. D., University; Oxford, UK (translated by Thompson, DAW 1910). - 8. Cooper R. A., Molan P. C., Harding K. G.: Antibacterial activity of against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. JR Soc Med, 92, 6, 283-285, 1999. - 9. Dustman J. H.: Antibacterial effect of honey Apiacta, 14, 1, 7-11, 1979.

## ENGLISH

### ACACIA HONEY FROM DIFFERENT LOCALITIES AND ITS EFFECT ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Nada Dugalić-Vrndić, Dragana Pešić-Mikulec, M. Baltić

Acacia honey from the locality of Ruma had an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. The effect of acacia honey on bacteria was in the form of a zone of inhibition of different intensity and in a different number of honey samples, depending on the type of base used. Acacia honey had an effect on both species of bacteria in a larger number of samples on nutritive agar, and in a smaller number of samples on a Mueller-Hinton base. On the grounds of these results, nutritive agar is a more sensitive base than the Mueller-Hinton for examining the natural sensitivity of acacia honey to bacteria.

Key words: Acacia honey, natural activity, bacteria

## РУССКИЙ

### АКАЦИОННЫЙ МЁД С РАЗЛИЧНЫХ МЕСТ И ЕГО ДЕЙСТВИЕ НА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Нада Дугалич-Врндич, Драгана Пешич-Микулец, М. Балтич

Акационный мёд с мест Румы действовал антибактериально на *Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*. Действие акационного мёда на бактерии было в виде зоны ингибиции различной интенсивности и числа образчиков мёда зависимо от вида употреблённой среды. Акационный мёд действовал на оба вида бактерий в бóльшем числе образчиков на Питательном агаре, а в меньшем числе образчиков на Мюллер Хинтоне. На основе полученных результатов Питательный агар чувствительная среда от Мюллер Хинтона для испытания натуральной чувствительности мёда на бактерии.

Ключевые слова: акационный мёд, натуральная активность, бакетрии

**UTICAJ IZBORA VRSTE UZORKA NA IZOLACIJU  
SALMONELLA spp. IZ MATERIJALA KOJI POTIČE OD  
ŽIVINE\***  
*EFFECT OF CHOICE OF SAMPLE ON ISOLATION OF SALMONELLA  
spp. FROM MATERIAL ORIGINATING FROM POULTRY*

I. Stojanov, Maja Velhner, D. Orlić\*\*

Bakterije iz roda salmonela predstavljaju mikroorganizme koji su široko rasprostranjeni u prirodi. Nalaz salmonela u živinskim materijalima je značajan zbog zdravstvenih problema i ekomske štete koju salmoneloza nanosi živinarskoj proizvodnji, ali i kao izazivač zoonoza. Kontrolisanje kruženja i suzbijanje salmonele u živinarskoj proizvodnji od primarnog je značaja i susreće se sa većim brojem problema vezanih za njihovo praćenje. Predmet našeg rada se ograničio na jedan od mogućih problema. U našem radu bakteriološki smo ispitivali različite vrste materijala na prisustvo salmonela. Cilj nam je da utvrdimo koja je vrsta uzorka najoptimalnija za dobijanje pouzdanog rezultata kada se žele da ispituju materijali koji potiču od živine na prisustvo salmonela. Kao materijal koristili smo različite uzorke prispele u našu laboratoriju. Ukupno je obrađeno 1618 materijala: jetre, creva, žumančane kese, brisevi objekata, kloakalni brisevi, prostirka, feces, jajni folikul, jaja i ugušci. Korišćene su metode koje su prilagođene potrebama za izolaciju i determinaciju salmonela. Podloge za obogaćenje, selektivno diferencijalne podloge, određivanje biohemijskih karakteristika izolata i aglutinacija odgovarajućim serumima. Dobijeni rezultati ukazuju da je sa postojećom metodologijom najoptimalniji uzorak za izolaciju salmonela iz materijala koji potiču od živine ispitivanje kombinacije jetre i creva na prisustvo Salmonella. spp.

*Ključne reči: Salmonella, uzorak, materijal od živine*

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Mr Igor Stojanov, istraživač saradnik, dr Maja Velhner, viši naučni saradnik, dr Dušan Orlić, vanredni profesor, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad



## Uvod / Introduction

Prisustvo salmonela u materijalima koji potiču od živine predstavlja zdravstveni problem koji zajednički moraju da rešavaju, sa jedne strane, veterinari specijalizovani za živinarsku proizvodnju, ali isto tako i epizootiolozi i epidemiolozi. Zajednički nadzor nad prisustvom i kretanjem salmonela veoma je važan, jer mada salmonela ne dovodi do većeg mortaliteta i morbiditeta [1] u neposrednoj živinarskoj proizvodnji, praćenje ovog mikroorganizma koje obavljaju veterinari kliničari je važno zato što se ono naslanja na rad epizootiologa i epidemiologa, čiji je prevashodni zadatak da smanje ugroženost ljudi od salmonela. Nalaz ovih bakterija u materijalima koji potiču od živine predstavlja, potencijalno, veliki problem vezan za širenje salmonele kako među samom živinom, tako i sa živine i proizvoda od živine na ljude [2]. U neprekidnom praćenju salmonela u materijalima koji potiču od živine veliku odgovornost imaju laboratorije čiji je zadatak da kvalitetno obrade prispele materijale, ali isto tako i svi oni koji uzorkuju materijale (kliničari-epizotolozi, inspekcija, vlasnici), jer od kvaliteta materijala u velikoj meri zavisi kakav će biti rezultat laboratorijskog ispitivanja. Laboratorijsko ispitivanje ide u dva nivoa. Prvi se odnosi na analize koje se oslanjaju na materijale koji potiču od živine koji se uzimaju pre klanja, kada je neophodno da se ima negativan rezultat na prisustvo salmonele [3], a drugi se odnosi na materijale koji su vezani za laboratorije koje ispituju higijensku ispravnost namernica životinjskog porekla među kojima se nalaze meso i proizvodi od živine [4].

Uzorkovanje materijala zahteva izuzetnu odgovornost, jer vrsta uzorka i vreme dostavljanja u laboratoriju direktno može da utiče na kvalitet rezultata, a indirektno na sagledavanje i praćenje prisustva salmonela kod živine.

Naš rad se ograničio na materijale koji potiču od živine, a koji se uzimaju pre klanja. Predmet našeg rada je praćenje različitih materijala prispelih na analizu sa zahtevom da se ispita na prisustvo salmonele i analiziranje dobijenih rezultata. Cilj nam je da utvrdimo da li postoji korelacija između dobijenih rezultata i vrste obrađenog materijala, što bi moglo da da odgovor koji je materijal pogodniji za vrednovanje dobijenog rezultata.

## Materijal i metode rada / Materials and methods

U toku rada ispitan je veći broj različitih vrsta uzoraka materijala koji potiču od živine. Ukupno je obrađeno 1618 materijala svrstanih u 792 uzorka. Njih su činili jetre, creva, žumančane kese, brisevi objekata, prostirka, jajni folikul, feces, jaja, ugušci i kloakalni brisevi. Značajan broj uzoraka predstavljao je, zapravo, kombinaciju različitih materijala i to najčešće: jetre + žumančana kesa + creva (263 uzorka), jetra + žumančana kesa (28 uzoraka) i jetra + creva (197 uzoraka). Primljeni materijali su obrađeni neophodnom metodologijom za izolaciju salmonela. Koristili smo selenit bujon sa cistinom za selektivno obogaćenje

primljenih uzoraka iz kojih smo nakon inkubacije od 24 časa na temperaturi od 37°C zasejavali selektivno diferencijane podloge SS (salmonela-šigela), McConkey i brilijant zeleni agar [5, 6]. Suspektne kolonije smo presejavali na kliglere (TSI) nakon čega su, posle inkubacije od 24 časa na temperturi od 37°C, kligleri koji su imali specifičan izgled crvene boje na kosini epruvete sa crnim ili crno-žutim donjim delom epruvete i kolonijom koja je davala crno prebojavanje po tragu povlačenja eze, ispitivali daljnim postupkom. Takvi izolati su ispitivani poli serumom brzom aglutinacijom na predmetnom staklu. Izolate koji su reagovali sa poli serumom davajući fine, beličaste, pahuljaste aglutinine ispitivali smo biohemijskim nizom. Krajnju identifikaciju sojeva koji su po biohemijskom nizu odgovarali salmonela vrstama potvrdili smo grupnim i faznim serumima [5, 7].

### Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

U toku rada obradili smo ukupno 792 uzorka koje je predstavljalo 1618 živinskih materijala koji su pristigli u našu laboratoriju u toku 6 meseci. Sve pozitivne izolate izuzev dva predstavljala je *Salmonella enterica serotip S. enteritidis* (S.E.), dok su dva izolata bila serotip *S.typhimurium*. U tabeli 1 mogu da se vide podaci o vrstama uzoraka koji su obrađeni, podaci o ukupnom broju obrađenih materijala i broj pozitivnih nalaza na salmonele.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja različitih vrsta uzoraka na prisustvo *Salmonella* spp. / *Table 1. Results of investigations of different types of samples for the presence of Salmonella spp.*

	Vrsta materijala / <i>Type of material</i>	Broj obrađenih materijala / <i>Number of processed samples</i>	Broj materijala pozitivan na salmonele / <i>Number of</i> <i>samples positive for salmonella</i> (%)
1.	Jetra / <i>Liver</i>	541	81 (14,97)
2.	Creva / <i>Intestines</i>	460	72 (15,65)
3.	Žumančana kesa / <i>Yolk sac</i>	288	52 (18,05)
4.	Bris objekta / <i>Swabs of object</i>	117	1 (0,85)
5.	Kloakni bris / <i>Cloacal swabs</i>	43	2 (4,65)
6.	Prostirka / <i>Mat</i>	64	6 (9,38)
7.	Feces / <i>Faeces</i>	58	1 (1,72)
8.	Jajni folikul / <i>Egg follicle</i>	15	2 (13,33)
9.	Jaja / <i>Eggs</i>	19	1 (5,26)
10.	Ugušci / <i>Non-hatched eggs</i>	13	2 (15,38)
	Ukupno / <i>Total</i>	1618	220 (13,59)

U tabeli 1 može da se vidi da su tokom rada, kao materijale koji su predstavljali donete uzorke, najviše obrađeni: jetre, creva i žumančane kese koji

su predstavljali 79,66 posto ukupno obrađenih materijala. Prema podacima iz literature može da se vidi da prisutvo salmonela u različitim parenhimatoznim organima i crevima može da ukaže na različite ishode infekcije, kao i posledice koje mogu da nastanu iz njih i da vreme infekcije ima važnu ulogu u spomenutim ishodima infekcije [8, 9, 10].

Izolacija salmonela iz visceralnih organa koka nosilja, izuzimajući creva, može da znači da se radi o invazivnim sojevima [8] ali takav zaključak ne može da se donese kada su u pitanju novoizleženi pilići, jer nalaz salmonela u jetri ili slezini kod njih ne znači automatski da se radi o invazivnom soju. Naši nalazi salmonela u jetri ukazuju da se možda radi o invazivnim sojevima u ispitanim materijalima. U saopštenim radovima može da se vidi da izolacija iz većeg broja unutrašnjih organa [11] ukazuje na visoku invazivnost SE i da takav soj može da naseli jajnik i jajovod i da [13] nalaz SE u jajima nosilja koje su inficirane ovim mikroorganizmom zavisi od mogućnosti širenja salmonela po organima visceralne duplje.

Ispitivanja koja su obavljena ukazuju da posle [8] oralne infekcije i naseljavanja creva salmonela u kratkom periodu bila izlučivana jajima, kao i da se salmonela može da nađe u jajima a da nije prisutno izlučivanje fecesom. U postavljenom eksperimentu [11] u kome je trebalo da se ispita koje je vreme izlučivanja salmonela utvrđeno je da se posle pet nedelja od infekcije oralnim putem *Salmonella enteritidis* može da izoluje u 58 posto u crevima, sa oko 50 posto u parenhimatoznim organima i oko 20 posto u jajovodu, a da je posle 22 nedelje izolacija salmonele bila moguća samo u pojedinim slučajevima. Zanimljivo je da SE može više od pet meseci da perzistira u inficiranoj jedinki, ali da će leženje jaja koja sadrže veliki broj SE da traje oko dve nedelje, a da nakon 21 dana od infekcije u jajima više neće da se nađu SE [11].

Isto tako, postoje slučajevi kada su salmonele izolovane iz raznih delova reproduktivnog trakta a nisu izolovane iz creva [8], kao što su u pojedinim slučajevima salmonele izolovane i iz reproduktivnog trakta potpuno zdravih koka nosilja.

Ono što je svakako interesantno su podaci [12] da nosilje koje imaju SE nose jaja koja sadrže ovu bakteriju i da takva jaja nakon ulaganja u inkubatore predstavljaju mesta sa kojih se salmonela može da prenese i na neinficirana jaja uložena u inkubator (do 44 posto neinficiranih jaja može da se kontaminira), a objašnjenje leži u uslovima koji vladaju u inkubatoru (strujanje vazduha i vlaga).

Danas se radi na procenjivanju infektivnosti SE. Utvrđivanje mogućnosti kolonizacije *Salmonellae enteritidis* u crevima i širenja na unutrašnje organe [13] značajno je zato što ova karakteristika može da utiče i na ishod infekcije ljudi ovim mikroorganizmima. Jedan od načina procene je fagotipizacija, jer je utvrđeno da fagotip 4 SE pokazuje veliki stepen morbiditeta i mortaliteta kod pilića u uzrastu od 5 dana.

U tabeli 2 se nalaze podaci o tri grupe uzoraka koji su najčešće stizali na analizu u našu laboratoriju. Može da se vidi da su ove grupe uzoraka sačinja-

vali kombinovani materijali jetre, žumančanih kesa i creva, a da je sastav uzorka zavisio, pre svega, od starosnih kategorija živine.

Tabela 2. Rezultati ispitivanja broja određenih grupa uzoraka na prisustvo *Salmonella* spp.  
Table 2. Results of examinations of certain groups of samples for presence of *Salmonella* spp.

Broj uzoraka / <i>Number of samples</i>	Broj uzoraka pozitivan na salmonele / <i>Number of samples positive for salmonella</i>	Broj obrađenih materijala / <i>Number of processed pieces of material</i>	Broj uzoraka pozitivan na salmonele po materijalima / <i>Number of samples positive for salmonella per material (%)</i>
Grupa materijala / <i>Group of materials</i> I			
Jetra, žum. kesa, creva / <i>Liver, yolk sac, intestines</i> 263	46 (17,49%)	Jetra / <i>Liver</i> 263	Jetra / <i>Liver</i> 25 (9,50)
		Žum. kesa / <i>Yolk sac</i> 263	Žum. kesa / <i>Yolk sac</i> 20 (7,60)
		Creva / <i>Intestines</i> 263	Creva / <i>Intestines</i> 26 (9,89)
Grupa materijala / <i>Group of materials</i> II			
Jetra, žum. kesa / <i>Liver, yolk sac</i> 28	3 (10,71%)	Jetra / <i>Liver</i> 28	Jetra / <i>Liver</i> 2 (7,14)
		Žum. kesa / <i>Yolk sac</i> 28	Žum. kesa / <i>Yolk sac</i> 2 (7,14)
Grupa materijala / <i>Group of materials</i> III			
Jetra, creva / <i>Liver, intestines</i> 197	22 (11,17%)	Jetra / <i>Liver</i> 197	Jetra / <i>Liver</i> 13 (6,60)
		Creva / <i>Intestines</i> 197	Creva / <i>Intestines</i> 8 (4,06)

Tri grupe uzoraka koji mogu da se vide u tabeli 2 su uzorci koji se sastoje od dva, odnosno tri različita materijala i oni su reprezentativni u odnosu na proizvodnu ili starosnu kategoriju živine.

Prema podacima koji mogu da se vide u tabeli 2 grupe I i II imaju veći broj pozitivnih materijala na salmonele u odnosu na broj uzoraka. Objašnjenje ove činjenice je u tome što je u pojedinim uzorcima salmonela izolovana iz više nego jednog materijala. Međutim, ono što je važno da se spomene je značaj većeg broja različitih materijala u uzorku, koji doprinose većoj sigurnosti kontrole, koja ne bi trebala da bude sama sebi svrha, odnosno kontrola radi kontrole, već iskreni

napor zarad valjanije kontrole jata. Dobijeni podaci ukazuju na neophodnost većeg broja različitih materijala ako se želi da se ima zdravstveno ispravna hrana. U tabeli 2 može da se primeti, kada je reč o pojedinim grupama uzoraka, da bi one zasigurno dale manje pouzdane rezultate u slučaju manjeg broja različitih materijala koji predstavljaju te uzorke. Svakako, s obzirom na podatke iz literature [8, 11] bilo bi dobro da se postojećoj strukturi materijala dodaju i drugi (slezina, srce) čime bi se povećali sigurnost i značaj kontrole.

### **Zaključak / Conclusion**

Nesumljivo je da kontrolisanje materijala koji potiču od živine na prisustvo salmonela u fazi proizvodnje i pred klanje, ima veliki značaj sa stanovišta dobijanja zdravstveno ispravnih sirovina za namirnice životinjskog porekla, čime se obezbeđuje zdrava hrana za ljudsku upotrebu.

Sagledavanjem strukture uzorka u odnosu na materijale koji se donose može da se uoči da je veći broj različitih materijala poželjniji, zato što se obezbeđuje veći postotak izolacije salmonela čime se sama svrha kontrole stavlja u prvi plan i čime se indirektno može da utiče da kontrola ne bude samo još jedan od troškova u proizvodnji.

Nalaz salmonela u pojedinim parenhimatoznim organima, crevima i u reproduktivnom traktu u zavisnosti od proizvodne kategorije i starosnog doba mogu da ukažu na činjenicu da se radi o invazivnim sojevima.

Anliziranje podataka o vrsti materijala koji je obrađen i starosnoj kategoriji životinja može da se sagleda kakve su posledice prisustva salmonele za ljude, jer očigledno je da nalazom ovih mikroorganizama i iskustvom i podacima koje imamo možemo da predvidimo dalje puteve kretanja salmonele i mesta na kojima će se svrsishodno delovati kako bi se obezbedilo dobijanje zdravstveno ispravne hrane životinjskog porekla.

### **Literatura / References**

1. Orlić D., Ilić Ž., Rašić Z.: Zbornik radova i kratkih sadržaja, 15. savetovanje veterinara Srbije, 3-12, 2003. - 2. Orlić D., Vidić B., Suvajdžić L., Stojanov I.: Zbornik rezimea, 1. međunarodni simpozijum „Hrana u 21.veku”, 254, 2001. - 3. Službeni list SFRJ, 6, 1988.: Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjavanje salmoneloze pernate živine (čl. 1 – 9), 1988. - 4. Službeni list SRJ, 26, 1993., Pravilnik o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu čl.5, stav 2, 1993. - 5. Quinn J. P., Carter E. M., Markey B., Carter R. G.: *Clinical Veterinary Microbiology*; 1998. - 6. Rufus K. Guthrie: *SALMONELLA*, CRC Press, Boca Raton Florida, USA, 1992. - 7. Mrđen M., Gagić M., Jatić-Stojić M., Vulić I., Orlić D., Babić M.: 7-9, 85, 1992. - 8. Berchieri Jr. A., Wigley P., Page K., Murphy C.K., Barrow P. A.: *Avian Pathology*, 30, 297-310, 2001. - 9. Mrđen M., Stojanov I., Orlić D., Kapetanov M.: Zbornik za prirodne nauke Matice srpske, 61-66, 1997. - 10. Aiello Susan, Editor; *The Merck veterinary manual*, Eight Edition, 1998. - 11. Gast K. R., Beard W. C.: *Avian Diseases*, 34, 991-993, 1990. - 12. Cason A. J., Cox A. N., Bailey S. J.: *Avian Diseases*, 38, 583-588, 1994. - 13. Gast K. R., Benson T. S.: *Avian Diseases*, 40, 853-857, 1996.

ENGLISH

**EFFECT OF CHOICE OF SAMPLE ON ISOLATION OF *SALMONELLA* spp. FROM MATERIAL ORIGINATING FROM POULTRY**

**I. Stojanov, Maja Velhner, D. Orlić**

Bacteria of the genus *Salmonella* present microorganisms that are widely spread in nature. The findings of salmonella in poultry material is significant because of health problems and the economic damages incurred to poultry production, but also as a zoonosis which endangers human health. The control of the circulation and the curbing of salmonella in poultry production is of primary importance and numerous problems are encountered in connection with its monitoring. Our work focused on one of the possible problems. We performed bacteriological examinations of different types of material for the presence of salmonella. The objective was to establish which type of sample is the most optimal for obtaining a good result for investigations of material originating from poultry production for the presence of salmonella. The different samples that arrived in our laboratory were used as material. We processed a total of 1618 pieces of material: livers, intestines, yolk sacs, swab samples of objects, cloacal swabs, mats, faeces, egg follicles, eggs, and non-hatched eggs. We used methods that were adapted to the requirements for isolation and determination of salmonella. Bases for enrichment, selective differential bases, determination of biochemical characteristics of isolates and agglutination with corresponding sera were used. The obtained results indicate that, using the existing methodology, the most optimal sample for the isolation of salmonella from material originating from poultry production is the combination of liver and intestines for the presence of *Salmonella* spp.

Key words: salmonella, sample, poultry material.

РУССКИЙ

**ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА ВИДА ОБРАЗЧИКА НА ИЗОЛЯЦИЮ *SALMONELLA* spp. ИЗ МАТЕРИАЛА ПРОИСХОЖДЕНИЕМ ИЗ ДОМАШНИХ ПТИЦ**

**И. Стоянов, Мая Велхнер, Д. Орлич**

Бактерии из рода сальмонелл представляют собой микроорганизмов, которые широко распространены в природе. Результаты сальмонелл в материалах домашней птицы значительные из-за здравоохранительных проблем и экономического ущерба, наносящую птицеводческому производству, но и как зооноза ибо угрожает здоровье людей. Контролирование кружения и подавление сальмонелл в птицеводческом производстве первично важно и встречается с большим числом проблем, связанных для их слежку. Предмет нашей работы ограничился на одну из возможных проблем. В нашей работе бактериологически мы испытывали различные виды материала на присутствие сальмонелл. Цель нам утвердить, который вид образчика наиболее оптимальный для получения надёжного результата, когда желаются испытать материалы происхождением из домашней птицы на присутствие сальмонелл. В качестве материала мы пользовали различные образчики приспешие в нашу лабораторию. Совокупно обработано 1618 материалов в имен-

но: печени кишок, желтковыe мешочки, мазки объектов, клоахальныe мазки, подстилку, помёт, яйцеводный фолликул, яйца и зобы. Пользованы методы, приспособленные нуждам для изоляции и определения сальмонелл. Среды для обогащения, селективно дифференциальные среды, определение биохимических характеристик изолята и агглютинация соответствующим серумам. Полученные результаты указывают, что сущей методологией наиболее оптимальный образец для изоляции сальмонелл из материала происхождения из домашней птицы испытание комбинации печени и кишок на присутствие *Salmonella* spp.

Ключевые слова: Сальмонелла, образец, материал из домашней птицы

**BAKTERIOLOŠKO ISPITIVANJE PILIĆA IZ JUŽNO BAČKOG  
I SREMSKOG OKRUGA NA PRISUSTVO SALMONELA\***  
*BACTERIOLOGY CONTROL ON CHICKEN FARMS IN SOUTH BAČKA  
AND SREM REGION RELATED TO SALMONELLA spp.*

Maja Velhner, Dubravka Potkonjak, M. Kapetanov, D. Orlić\*\*

*Analizirali smo rezultate laboratorije za kliničku bakteriologiju dobijene tokom 2003. godine sa aspekta dokazivanja salmonele iz materijala dostavljenih sa farmi živine. Ustanovljeno je da je salmonela izolovana u 14.1 posto slučajeva iz materijala uzetih od pilića uginulih pri transportovanju i u 9.5 posto slučajeva od uginulih pilića u uzrastu od jednog do tri dana. Papiri iz transportnih kutija (pelene) dostavljeni su na analizu 27 puta, a pozitivan nalaz na salmonelu je ustanovljen u 14.7 posto uzoraka. Kada smo pojedinačno analizirali farme ustanovili smo da je salmonela pratila proizvodnju na velikom broju lokaliteta, ali nismo mogli da ustanovimo odakle je potekla infekcija pilića. Sa farmi najčešće su kontrolisana jednodnevna uginuća tako da je iz ovog uzorka najčešće dobijen pozitivan nalaz. Pozitivan nalaz na salmonelu u prvim danima života pilića trebao bi da uputi na verovatnoću nastanka vertikalne infekcije preko roditeljskih jata. No, ovo ne može definitivno da se tvrdi zato što se pilići mogu da inficiraju i u inkubatoru ili prilikom transportovanja u vozilu za prevoz pilića.*

*Pored kontrole na salmonele koje nalažu važeći zakonski propisi a koje se odnose na transportna vozila, farme i inkubatore posle leženja, treba da se uvede serološka kontrola roditeljskih jata i pilića u odgoju radi sticanja tačnijeg uvida o prisustvu i nivou infekcije izazvane ovim uzročnicima. Ovo bi mogao da bude preduslov za preveniranje diseminacije salmonela u proizvodnji.*

*Ključne reči: pilići, bakteriološko ispitivanje, Salmonella spp.*

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Maja Velhner, viši naučni saradnik, dr Dubravka Potkonjak, dr Miloš Kapetanov, naučni saradnik, dr Dušan Orlić, vanredni profesor, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad



## Uvod / Introduction

Savremeno industrijsko živinarstvo je suočeno sa sve većim zahtevima koji se odnose na proizvodnju zdravstveno bezbedne hrane. Ovo se naročito odnosi na salmonele s obzirom da su poslednjih godina jaja, živinsko meso i njihovi proizvodi označeni kao glavni uzrok trovanja ljudi salmonelama [1, 5]. U više od 2000 serotipova salmonela najučestaliji uzročnik infekcije pilića je *Salmonella enteritidis* (SE) koja predstavlja značajan problem u živinarskoj proizvodnji počev od osamdesetih godina [4]. Salmonele retko prouzrokuju oboljenje pilića, ali su zato vrlo invazivne i uporno mogu da se održavaju u jatima u dužem vremenskom periodu posle primarne infekcije. Poznato je da infekcija mladih pilića uzrokovana sa SE prouzrokuje njeno prolongirano izlučivanje u jatu i to sve do polne zrelosti pa i kasnije u toku proizvodnje [Gast i Holt, 1998]. Naši naponi za proizvodnjom zdravstveno bezbedne hrane zasnivaju se na blagovremenom dijagnostikovanju ovih uzročnika i intervenciji u slučaju pozitivnog nalaza, koja se sprovodi primenom adekvatne terapije. Poslednjih godina sve više se primenjuje i preventivni tretman pilića probioticima ili se obavlja vakcinacija. Međutim, preventiva bakterijskih infekcija u industrijskom živinarstvu ima smisla samo ukoliko su preduzete i druge mere koje imaju za cilj da se smanji nivo infekcije na farmama. Druge mere su one koje će osigurati zdravstveno ispravnu i bezbednu hranu za životinje, borbu protiv glodara i pravilno kretanje ljudi i vozila na farmama.

## Materijal i metode rada / Materials and methods

Na kraju kalendarske 2003. godine analizirali smo podatke o broju i mestu izolovanja salmonela u Južno Bačkom i Sremskom okrugu. Cilj je bio da se obavi analiza u pogledu infekcije izazvane salmonelama na framama koje su locirane u regionu koji je pod nadležnošću Naučnog instituta za veterinarstvo „Novi Sad” kao i da se daju predlozi za poboljšanje zdravstvene kontrole jata.

## Rezultati i diskusija / Results and discussion

Analiza rezultata bakterioloških ispitivanja iz laboratorije za kliničku bakteriologiju i sa odeljenja za zdravstvenu zaštitu živine ukazala je da je najčešće dostavljan uzorak na patološku i bakteriološku analizu poticao iz transportnih uginuća i uginuća u prva tri dana života pilića. *Salmonella enteritidis* je izolovana u 14,1 posto slučajeva iz transportnih uginuća i u 9,5 posto slučajeva kada su dostavljeni uzorci uginulih pilića u prva tri dana života. Pelene (iz kutija za transportovanje pilića) su dostavljene u Institut 27 puta i salmonela je izolovana u 14,7 posto uzoraka. Ugušci koji su ujedno i indikator kontaminacije salmonelama u inkubatorima dostavljeni su 18 puta i u 5,5 posto slučajeva dobijen je pozitivni

bakteriološki nalaz. Na brisevima iz inkubatora i iz priplodnih jaja salmonele nisu izolovane.

Brisevi u inkubatorima se uzorkuju posle obavljenog čišćenja, pranja i dezinfekcije i trebalo bi da ukažu na to da li je sanitacija inkubatora izvedena korektno. Međutim, nalaz salmonele na papirima iz transportnih kutija (pelena), kao i kod pilića posle transportovanja ili pilića u prva tri dana života govori o mogućoj vertikalnoj infekciji izazvanoj salmonelama i ukazuje na mogućnost da su inkubatori bili kontaminirani mnogo češće nego što se to moglo zaključiti na osnovu bakteriološke analize pilića koji se nisu izlegli (ugušaka), (tabela 1). Cox i sar [2, 3] predlažu da se iz inkubatora dostavljaju ljuške jaja i paperje na bakteriološku analizu i da je to najbolji indikator stepena kontaminacije salmonelama. Ovo je veoma važno zbog toga što inkubatori mogu da budu izvor salmonela, posebno ukoliko mašine nisu propisno oprane i dezinfikovane između ulaganja pilića. Osim toga i transportna vozila mogu da budu kontaminisana salmonelama iz istih razloga, pa ukoliko nema podataka o obavljenoj dezinfekciji vozila i inkubatora nije uvek lako tačno da se utvrdi izvor infekcije.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja *Salmonella* iz dostavljenih uzoraka na početku proizvodnje  
Table 1. *Salmonella* monitoring in samples taken at the beginning of production

Vrsta uzorka / Sample	Broj ispitanih / Number of samples	Negativno / Negative	Pozitivno / Positive	% Pozitivnih / % of positive
Transportna uginuća / Chicks that died during transport	108	89	19	14.1
Uginuća u prva tri dana / Chicks that died during first three days	94	78	9	9.5
Ugušci / Non-hatched eggs	18	17	1	5.5
Pelene / Paper pads	27	23	4	14.7
Bris iz inkubatora / Swabs from hatchery	13	13	0	0
Priplodna jaja / Breeding eggs	16	16	0	0

Naša iskustva ukazuju [6] da serološka ispitivanja mogu da budu od velike koristi za procenu vremena i mesta nastanka infekcije uzrokovane salmonelama. Na primer, pozitivan serološki nalaz kod jednodnevnih pilića ukazuje na infekciju roditeljskih jata ukoliko jato nije vakcinisano (kod nas se vakcinacija sprovodi na još uvek malom broju farmi), što dozvoljava ovakav način interpretacije seroloških rezultata. Zato još uvek na mnogim farmama serološki monitoring može da pokaže da li je došlo do infekcije ovim bakterijama i u kom obimu. Kada smo bakteriološkim kontrolama u proizvodnju uveli i serološke analize na SE dobili

smo zanimljivije rezultate. Prilikom kontrole tri odabrana jata kokoši nosilja u produkciji ustanovljeno je da je pozitivan bakteriološki nalaz iz jednog jata pratio veoma slab serološki odgovor (20% pozitivnih nalaz), dok su dva jata u kojima nije bakteriološki dokazana salmonela bila visoko pozitivna (45 i 50% sa visokim titrovima na SE), Velhner i sar [6]. Iako serološka kontrola u jatima konzumnih nosilja u produkciji nije metoda izbora za kontrolu infekcija prouzrokovanih salmonelama (uzročnik se sporo širi u populaciji i potreban je veliki broj uzoraka krvi za objektivnu procenu statusa jata), u navedenom slučaju serološka kontrola je ipak dala precizniju sliku o nivou infekcije uzrokovane salmonelama u vreme ispitivanja (uzrast jata je bio oko 73 nedelje i 54 nedelje starosti). Naime, zato što se salmonelle mogu da izoluju kao slučajan nalaz, barem kada je u pitanju kavezni način držanja živine (koke nosilje u produkciji) može da se stekne pogrešna slika o stanju u jatu. Zato smatramo da serološki monitoring treba da zauzme svoje mesto u redovnim kontrolama na salmonelle i u našoj zemlji.

Analiza pojedinačnih rezultata sa farmi (koje su označene abecednim redom) ukazano je su da nisu sve farme jednako učestalo donosile materijal na patološku i bakteriološku analizu. One farme koje su češće donosile materijal na analizu imale su više pozitivnih nalaza. Na tri farme (oznake B, E i I) nisu izolovane salmonelle. Na sedam farmi su iz pilića kod transportnih uginuća, iz pilića uginulih u prva tri dana života ili iz jetri uzorkovanih iz leševa izolovane salmonelle (tabela 2). Ovi rezultati ukazuju da je salmonela prisutna u jatima pilića u Južno Bačkom i Sremskom okrugu, ali se teško mogu da izvedu zaključci odakle je potekla infekcija. Transportna uginuća i uginuća jednodnevnih pilića bila su najčešće pozitivna, što znači da su farme u velikom broju slučajeva započele proizvodnju sa salmonelom i morale su da primene terapiju i nastave sa bakteriološkim kontrolama pa su samim tim bile izložene većim troškovima. Iako su kontrole pilića u prva tri dana života obavezne prema našem Pravilniku za suzbijanje i iskorenjivanje salmoneloze pernate živine, one se ne sprovode u odgovarajućem broju. Samim tim izostaje objektivna procena o stvarnoj kontaminaciji naših farmi što je razlog više za uvođenje obavezne serološke kontrole.

Za što korektnije utvrđivanje vremena i mesta nastajanja infekcije uzrokovane salmonelama predlažemo da se broj i vrsta ispitivanja na ove bakterije dodatno obogati sledećim uzorcima.

- U roditeljskim jatima obavezno sprovoditi redovan serološki monitoring, bakteriološki pregled kloakalnih briseva, prostirke/navlaka za čizme i slame iz gnezda.
- Bakteriološki pregled ljuske jaja i paperja iz inkubatora posle leženja kako bi se utvrdili kriterijumi dezinfekcije i čišćenja inkubatora za naredna ulaganja.
- Kontrolu pilića posle leženja treba nastaviti iz dostavljenih papira iz kutija za transportovanje pilića (pelena), pilića uginulih tokom transportovanja i jednodnevnih uginuća.

Tabela 2. Broj dostavljenih uzoraka na salmonele i procenat pozitivnih nalaza na farmama koje su najučestalije obavljale bakteriološke kontrole /  
 Table 2. Number of provided samples for *Salmonella* isolation and percentage of positive farms that performed bacteriology testing most frequently

Oznaka farme / Farm mark	Broj dostavljenih uzoraka / Number of samples	Broj pozitivnih nalaza / Number of positive samples	Vrsta uzorka / Type of sample	% Pozitivnih / Percent of positive samples
A	5	1	Leševi pilića / <i>Chicken carcass</i>	20
B	4	0		0
C	7	1	Ugušci / <i>Non hatched eggs</i>	14.2
D	36	8	Transportna uginuća / <i>Chicks that died during transport</i>	22.2
E	10	0		0
F	42	2 2	Jednodnevna uginuća / <i>Chicks that died at day old</i> Leševi pilića / <i>Chicken carcass</i>	9.5
G	4	1	Leševi pilića / <i>Chicken carcass</i>	25
H	19	1 1	Jednodnevna uginuća / <i>Chicks that died during transport</i> Leševi pilića / <i>Chicken carcass</i>	10.5
I	5	0		0
J	7	1 1	Jednodnevna uginuća / <i>Chicks that died at day one</i> Leševi pilića / <i>Chicken carcass</i>	28.5

Iz rezultata prikazanih u tabeli 2 vidi se da se na nekim farmama broj redovnih kontrola na salmonele mora da poveća. Treba da se ima u vidu da je problem infekcije uzrokovan salmonelama vrlo kompleksan i da ne može da se reši na jednostavan način nego isključivo delovanjem na svim nivoima proizvodnje. Imajući u vidu činjenicu da su salmonele najopasnije za male piliće prvi naši naponi treba da budu usmereni na roditeljska jata i inkubatore, a kako bi se obezbedio od salmonele slobodan početak proizvodnje. To podrazumeva brigu oko načina ishrane (peletirana/brašnasta) hrana, eliminisanje glodara, korektnu upotrebu prilaznih puteva, čišćenje, pranje i dezinfekciju prostorija na farmama i što bezbednije transportovanje pilića i jata do klanice, odnosno prodajnih punktova.

## Literatura / References

1. Antunes Patricia, Reu Cristuna, Sousa Carlos Joao, Peixe Luisa, Pestana Nazare: Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. International journal of food microbiology 82, 97-103, 2003. - 2. Cox N. A., Bailey J. S., Mauldin J. M., Blankenship C. L.: Research note: Presence and impact of salmonella contamination in commercial broiler hatcheries. Poultry Science 69, 1606-1609, 1990. - 3. Cox N. A., Bailey J. S., Mauldin J. M., Blankenship C. L., Wilson L. J.: Research note: Extent of salmonellae contamination in breeder hatcheries. Poultry Science 70, 416-418, 1991. - 4. Hafez M. Hafez: Salmonella infections in poultry: diagnosis and control. Peridicum Biologorum, 103, 2, 103-113, 2001. - 5. Rabsch W., Tschape H., Baumler A.: Non-thyphoidal salmonellosis: emerging problems. Microbes and infection 3, 237-247, 2001. - 6. Velhner Maja, Orlić D., Potkonjak Dubravka, Kapetanov M., Lazić S.: Utvrđivanje titra specifičnih antitela na Salmonella enteritidis ELISA tehnikom u nekoliko odabranih jata kokoši nosilja, Veterinarski glasnik 58, 305-400, 3-4, 2004.

## ENGLISH

### BACTERIOLOGY CONTROL ON CHICKEN FARMS IN SOUTH BAČKA AND SREM REGION RELATED TO SALMONELLA spp.

Maja Velhner, Dubravka Potkonjak, M. Kapetanov, D. Orlić

Although we rarely have a chance to diagnose clinical symptoms of salmonellosis on poultry farms in South Bačka and Srem, infection caused by this bacteria is highly significant from the aspect of safe food production. We therefore carry out bacteriology controls, which are, according to our legislative regulations, obligatory. Also according to personal experience adequate prophylaxis and therapy are applied. We have analyzed results, provided from the laboratory for clinical bacteriology during the year 2003, concerning salmonella detection from samples delivered from farms and hatcheries. Salmonella was isolated in 14.1% cases from chickens that died during transport and in 9.5% cases from chickens that died within the first 72 hours. Paper pads were delivered for bacteriology on 27 occasions and 14.7% were Salmonella positive. When farms were analyzed individually it was estimated that salmonella was present in quite a few locations, but we could not establish the source of infection. The most frequent samples for salmonella isolation were one-day-old chickens and chickens from the transport vehicle. Therefore, salmonella was most often found at that time point. A Salmonella-positive result in the first few days upon a chicken's arrival on a farm could be attributed to vertical transmission but also due to contamination in hatchery cabinets or in a transport vehicle.

Besides salmonella control measures prescribed by our regulations related to transport vehicles, farms and hatcheries, we recommend serology testing of parent flocks and layer hens in order to better estimate the presence and level of infection. This could be a prerequisite to try to prevent dissemination of salmonella in production.

Key words: chicken, bacteriology control, *Salmonella* spp.

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИСПЫТАНИЕ ЦЫПЛЯТ ИЗ ЮЖНО БАЧКОГО И СРЕМСКОГО ОКРУГА НА ПРИСУТСТВИЕ САЛЬМОНЕЛЛ

Мая Велхнер, Дубравка Потконяк, М. Капетанов, Д. Орлич

Хотя редко мы имеем обстоятельство диагностировать клинический сальмонеллёз домашних птиц этими возбудителями придаётся большое значение в аспекте производства здравоохранительно безопасной пищи. Наше обязательство согласно этому проводить бактериологические контроли, которые согласно закону обязательные а и согласно собственному выбору да и своевременно мы применяем профилактику и терапию. Мы анализировали результаты лаборатории для клинической бактериологии, полученные в течение 2003 года в аспекте доказывания сальмонеллы из материалов доставленных с ферм домашних птиц. Нами установлено, что сальмонелла изолирована у 14,1 % случаев из материалов, взятых из цыплят околелых в транспорте и в 9,5 % случаев из околелых цыплят от 1 до 3 дня старости. Бумаги из транспортных коробок (пелены) доставлены на анализ 27 раз а положительные результаты на сальмонеллу установлены в 14,7 % образчиков. Когда мы анализировали фермы поодиночке мы установили, что сальмонелла следила производство на не маленьком числе мест но мы не могли установить откуда проистекла инфекция цыплят. С ферм наиболее часто контролированы однодневные окolenия так что из этого образчика наиболее часто получены положительные результаты. Положительные результаты на сальмонеллу в первых днях жизни цыплят нуждалось бы направить на вероятность возникновения вертикальной инфекции через родительских стай. Но это нельзя децидно твердить потому что цыплята могли инфицироваться и в инкубаторе или при транспорте в транспортном средстве для перевоза цыплят.

Наряду с контролём на сальмонеллы, налагающие действительные законные порядки а относимые на транспортные средства, фермы и инкубаторы после высиживания, надо ввести серологический контроль родительских стай и цыплят в выращивани с целью приобретения более точного осмотра о присутствии и уровне инфекции этими возбудителями. Это бы могло быть предварительное условие для превенции диссеминации сальмонелл в производстве.

Ключевые слова: цыплят, бактериологическое испытание, *Salmonella* spp.

**MIKROBIOLOŠKE METODE ISPITIVANJA *Salmonella* spp. U  
NAMIRNICAMA U ODNOSU NA EVROPSKU ZAKONSKU  
REGULATIVU\***

***MICROBIOLOGY METHODS OF ANALYSIS Salmonella spp. IN FOOD  
ACCORDING TO OFFICIAL EUROPIAN METHODS***

**Dragana Pešić-Mikulec, Nada Dugalić-Vrndić, L. Stojanović\*\***

*U zakonskoj regulativi, kao i u bakteriološkim praktičnim priručnicima zapadnoevropskih zemalja došlo je do određenih promena u mikrobiološkom ispitivanju Salmonella spp u namirnicama. Ove promene se najpre odnose na predlaganje novih selektivnih podloga , promena postupka inkubiranja i postupanja sa pojedinim namirnicama kod izolovanja i identifikacije Salmonella spp.*

*U ovm radu prikazujemo postupke izolovanja i identifikacije Salmonella vrsta prema novim metodama i novim selektivnim podlogama koje se primenjuju u Evropi, a sa kojima će se prilagoditi i naša zakonska regulativa.*

*Ključne reči: namirnice, Salmonella spp, mikrobiološke metode, evropska zakonska regulativa*

**Uvod / Introduction**

Salmonele su kratki štapići, pokretni, ne stvaraju spore i kapsule. Boje se po Gramu negativno. Rastu aerobno i fakultativno anaerobno. Optimalni pH je 7,2. Bujon zamućuju i stvaraju talog prašnjavog izgleda. Na temperaturi od 60°C uništavaju se posle zagrevanja od 20 minuta. Optimalna aktivnost vode za rast je od 0,95 do 0,97, optimalna koncentracija soli od 0 do 8%, a optimalna temperatura za rast od 35° do 37°C. Nitriti u niskim koncentracijama inhibiraju njihov rast [2, 6, 4]. Temperaturni raspon opstanka *Salmonella* je od 5 do 47°C. Katalaza su pozitivne, pokretne bakterije, simons citrat pozitivne, KCN negativne, lizin dekarboksilaza pozitivne [1, 3, 8]. Na čvrstoj podlozi stvaraju glatke, sjajne kolonije, boja (zavisi od podloge) može da bude sivkasta, homogene strukture i u većini

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Dragana Pešić-Mikulec, naučni saradnik; dr Nada Dugalić-Vrndić, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd; dr Lazar Stojanović, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd







inkubiraju se 24 do 48 časova, pri temperaturi od 37°C, a zatim se očitavaju rezultati [7, 8, 9], kao što je to prikazano u tabeli 1.

Tabela 1. *Biohemijske reakcije Salmonella na nekim diferencijalnim podlogama /*  
*Table 1. Biochemical reactions of Salmonella on certain differential bases*

Rod / <i>Genus</i>	Ureja / <i>Urea</i>	KNC	Indol
<i>Salmonella</i>	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	+	+

Promene u metodologiji izolovanja i identifikacije *Salmonella* vrsta odnose se na nekoliko promena i to prvo na sve veću upotrebu Rappaport-Vasilidis RV podloge za izolovanje *Salmonella* spp. Tetratonat bujon se preporučuje (TT) kao druga selektivna podloga (bujon za obogaćenje). Na kraju se predlažu tri selektivne podloge: Bizmut sulfidni agar, hekon enterik i ksiloza lizin dezoksiholat agar i tri relativno nove agar podloge EF-18, ksiloza lizin Tergitol 4 i Rambach agar.

U našim eksperimentima smo radili zasejavanje određenog broja uzoraka na podlogama, SS agaru, Wilson Blair agaru, Rappaport-vasilidis agaru i hekon enterik agar. Rezultate smo prikazali u tabeli 2.

Tabela 2. *Uporedno ispitivanje uzoraka jaja na četiri različite selektivne podloge /*  
*Table 2. Comparative investigations of egg samples on four different selective bases*

Vrsta uzoraka / <i>Type of sample</i>	Broj uzoraka / <i>Number of samples</i>	Broj pozitivnih uzoraka / <i>Number of positive samples</i>	Selektivne podloge / <i>Selective base</i>
Proizvodi od mesa / <i>Meat products</i>	86	-	SS agar
Jaja / <i>Eggs</i>	387	8	Wilson Blair agar
Jaja u prahu / <i>Powdered eggs</i>	75	-	Rappaport vasilidis agar
Ostalo / <i>Other</i>	124	4	Hekon enterik agar

Na svim podlogama na kojima su zasejavani uzorci koje smo ispitivali podjednako dobro su mogle da se zapaze kolonije sumnjive na *Salmonella* spp koje smo kasnije u daljim testovima identifikacije i dokazali kao pozitivni nalaz.

#### **Zaključak / Conclusion**

Na osnovu iznetih parametara može da se zaključi da savremene mikrobiološke metode ispitivanja *Salmonella* vrsta u namirnicama treba prilagoditi evropskim zakonskim propisima kako bi se uklopili u svetsku trgovinu namirnicama

uvoz, izvoz hrane i u već prihvaćene standarde i procedure izolovanja i identifikacije *Salmonella* vrstama u namirnicama prethodno proverenim na velikom broju uzoraka i modifikovanih savremenijim i jednostavnijim selektivnim podlogama.

#### Literatura / References

1. Ajduković Gordana, Jovanović Larisa, Pešić-Mikulec Dragana: Zbornik radova konkurentnost srpskih proizvođača hrane. 110-120, 2003. - 2. AOAC International: Official Methods of Analysis 17th ed., Methods 967.25-967.28, 978.24, 989.12, 991.13, 994.04 and 995.20. AOAC International Gaithersburg, MD, 2000. - 3. Ewing W. H.: Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier, New York, 1986. - 4. Federal Register: 36, 93, 8815 (secs d, e, and f), 1971. - 5. Dugalić Nada, Marković B., Jevtić S., Krstić Vera: Neke od savremenih metoda u identifikaciji mikroorganizama. Veterinarski glasnik 36, 12, 989-1068, 1982. - 6. Dugalić-Vrndić Nada, Marković B.: Mogućnost preživljavanje salmonela na različitim temperaturama u različitim sredinama. Veterinarski glasnik, 43, 775-778, 1989. - 7. Federal Register: 37(191):20556 (sec. 173.388a), 1972. - 8. June G. A., Sherrod P. S., Hammack T. S., Amaguana R. M., Andrews W. H.: Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rapaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella from raw flesh and other highly contaminated foods: Precollaborative study. J. AOAC Int. 78:375-380, 1995. - 9. Hammack T. S., Amaguana R. M. June G. A., Sherrod P. S., Andrews W. H.: Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella from foods with a low microbial load. J. Food Prot. 62:16-21, 1999. - 10. June G. A., Sherrod P. S., Hammack T. S., Amaguana R. M., Andrews W. H.: Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella from raw flesh highly contaminated foods, and poultry feed: Collaborative Study. J. AOAC Int. 79:1307-1323, 1996. - 11. Hammack T. S., Amaguana R. M., Andrews W. H.: Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella from foods with a low microbial load: Collaborative study. J. AOAC Int. (in press), 2000. - 12. Pešić-Mikulec Dragana, Jovanović Larisa: Principi HACCP koncepta u proizvodnji hrane. Ecologica, 10, 39-40, 23-28, 2003. - 13. Ranisavljević M., Marković B., Popović P., Dugalić Nada, Nešić Dragica: Prisustvo E.coli serotipova u mlevenom mesu i nekim prerađevinama mlevenog mesa Veterinarski glasnik, 39, 4-5, 507-514, 1985. - 14. Sherrod P. S., Amaguana R. M., Andrews W. H., June G. A., Hammack T. S.: Relative effectiveness of selective plating agars for the recovery of Salmonella species from selected high-moisture foods. J. AOAC Int. 78:696-690, 1995.

ENGLISH

**MICROBIOLOGICAL METHODS OF ANALYSIS OF *Salmonella spp.* IN FOOD  
ACCORDING TO OFFICIAL EUROPEAN METHODS**

**Dragana Pešić-Mikulec, Nada Dugalić-Vrndić, L. Stojanović**

Certain changes have been made in legal regulations and in bacteriological handbooks in Western European countries regarding microbiological examinations of *Salmonella spp.* in food. These changes primarily pertain to the proposing of new selective bases, changes in the incubation procedure, and in the handling of certain food in the processes of isolating and identifying *Salmonella spp.*

In this paper, we intend to demonstrate procedures for the isolation and identification of *Salmonella spp.* according to new methods and using new selective bases that are applied in Europe, and with which our legal regulations will also be coordinated.

Key words: food, *Salmonella spp.* microbiological method, official European methods

РУССКИЙ

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ *Salmonella spp.* В ПИЩЕВЫХ  
ПРОДУКТАХ В ОТНОШЕНИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЗАКОННОЙ РЕГУЛЯТИВЫ**

**Драгана Пешич-Микелец, Нада Дугалич-Врндич, Л. Стоянович**

В законной регулятиве словно и в бактериологических практических справочниках западно европейских стран пришло до определённых изменений в микробиологическом испытании *Salmonella spp.* в пищевых продуктах. Эти изменения прежде всего относятся на предложение новых селективных сред, изменение поступка инкубирования и поступания с некоторыми пищевыми продуктами у изолирования и идентификации *Salmonella spp.*

В этой работе мы покажем поступки изолирования и идентификации *Salmonella* видов согласно с новыми методами и новыми селективными средами, применяемые в Европе и некоторыми приспособлят и наши Законные регулятивы.

Ключевые слова: пищевы продукты, *Salmonella spp.*, микробиологические методы, европейской законной регулятивы

**ZDRAVSTVENA PROBLEMI KOJI PRATE PROIZVODNJU  
NOJEVA\*****HEALTH PROBLEMS PRESENT IN OSTRICH PRODUCTION**

**Biljana Miljković, Ljiljana Spalević, I. Pavlović, Živka Ilić,  
Danka Maslić-Strižak, V. Ivetić\*\***

*Za sada se, po podacima iz literature, specifične infekcije ili kontagiozna oboljenja nojeva odnose samo na parazitske infekcije. Međutim, s obzirom da postoji potencijalna opasnost od prenošenja agensa iz svoje okoline, preko glodara, ptica ili čoveka posebna pažnja se poklanja proučavanju i praćenju svih ostalih bolesti ovih ptica.*

*Potencijalni uzročnici bolesti kod nojeva koji su prijavljeni, a koji prelaze na ljude su: Njukasl bolest, influenza, kongo-krimska hemoragična groznica, tuberkuloza, salmoneloza i kampilobakterioza. Velika je opreznost usledila nakon prijavljenog sumnjivog slučaja pojave spongiozne encefalopatije kod noja u Zoološkom vrtu u Nemačkoj.*

*Za uzročnikom „slabe vitalnosti nojevskih pilića” se traga, a tamo gde se to oboljenje pojavi nojevi se više ne gaje. Megabakterija je novi nepoznati uzročnik oboljenja žlezdanog i mišićnog želuca koji je otkriven kod ovih najvećih ptica.*

*Rad ima za cilj da upozna veterinare i veterinarske inspektore o veterinarsko-medicinskoj i tehnološkoj problematici farmskog uzgoja nojeva na osnovu sopstvenog iskustva autora, kroz upoznavanje sa radom stručnjaka u toj oblasti, kao i saznanja iz literature.*

*Na poslednjem Kongresu održanom u Beču formirana je Ratite grupa 13, pri Svetskom naučnom udruženju živinara, čije će prvi skup biti u Madridu 2005. godine. Intenzivna proizvodnja koju prate tehnološki, zdravstveni i ostali problemi ne može da se razvija u Evropi bez pomoći istraživačkih timova.*

*Ključne reči: noj, bolesti farmskog uzgoja, saznanja*

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Mr sc Biljana Miljković vet. spec. istraživač saradnik, DVM Ljiljana Spalević, saradnik, dr sc Ivan Pavlović, viši naučni saradnik, DVM Živka Ilić vet. spec, saradnik, dr sc Danka Maslić-Strižak, saradnik, dr sc Vojin Ivetić, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

### Uvod / Introduction

U periodu 19 do 20 veka pojavila se farmska proizvodnja nojeva u SAD, Evropi, Severnoj Africi, Južnoj Americi i Australiji. Kod nas je bilo pokušaja uzgoja nojeva na Visu u 19. veku (M. Šimpraga, Eleonora Peter, 2002. godina). Evropa devedesetih godina intenzivno uvozi nojeve iz Izraela i Južne Afrike i započinje sopstveni farmski uzgoj.

Kod nas je broj uzgajivača nojeva počeo da se povećava uvozom nojeva iz Mađarske, a kasnije iz Italije, Izraela, Belgije, Francuske, Španije i Hrvatske. Novi farmeri locirani su predominantno u Vojvodini.

U odgoju je prisutna vrsta domaći noj: ***Struthio camelus australis***, najrasprostranjeniji hibrid koji je nastao u Južnoafričkoj Republici radi proizvodnje perja i kože.

Novi vid proizvodnje traži i nova saznanja o tehnologiji farmskog uzgoja, zdravstvenoj i tehnološkoj problematici, načinu klanja, korišćenja mesa, prerade mesa, korišćenje kože i perja. U domenu veterinarske službe i veterinarske inspekcije postoji potreba da se dođe do saznanja o patologiji farmskog uzgoja nojeva kroz stečeno iskustvo, komunikacijom sa stručnjacima iz te oblasti i korišćenjem dostupne literature.

Tokom dvogodišnjeg rada imali smo prilike da dospemo do nekih saznanja o uzročnicima nekih bolesti nojeva u karantinu a kasnije i tokom farmskog uzgoja.

### Materijal i metode rada / Materials and methods

Uzorke za ispitivanje u Institut je dostavilo više vlasnika, odgajivača manjeg broja nojeva.

Tokom izučavanja zdravstvenih problema farmski gajenih nojeva obavljeni su pregledi:

*Patološko-morfološka ispitivanje* 30 nojevskih pilića odgojnog uzrasta od tri do pet meseci, unutrašnji organi (srce, krv iz srca, jetra, slezina, želudac i creva) od 12 uginulih nojeva različite starosti u rasponu od 12 do 26 meseci. *Mikrobiološko ispitivanje* unutrašnjih organa posle obavljenog obdukcionog pregleda pilića, pojedinačnih organa, pet uzoraka brisa kloake, 20 uzoraka fecesa, 5 uzoraka brisa iz oka i grla. Ovaj materijal je postavljen na uobičajene bakteriološke i mikološke podloge radi ispitivanja prisustva bakterija i gljivica. *Parazitološka ispitivanja* uzoraka creva na prisustvo adulta i jaja parazita uobičajenom tehnikom, kao i uzorci ektoparazita sa perja. Determinacija je obavljena morfološkom metodom. *Serološko ispitivanje* 10 uzoraka krvi testom inhibicije hemaglutinacije sa La Sota virusnim antigenom i kokošijim eritrocitima na prisustvo antitela za Njukasl bolest i testom brze serumske aglutinacije sa antigenima za *My. gallisepticum*, *My. synoviae*, *Salmonella gallinarum-pulorum* antitela, kao i na

antitela za infektivni bronhitis imunoenzimskim testom na IDEXX pločama. *Virusološko ispitivanje* na kokošije embrione devet dana stare inokulisanog obrađenog uzorka mozga nojevskog pileta starog šest meseci. Tokom dve pasaže u trajanju inkubacije od 96 časova vađena je alantoisna tečnost za postupak aglutinacije sa kokošijim eritrocitima.

### **Rezultati rada i diskusija / Results and discussion**

Kod nojeva u uzrastu od tri meseca, koji su praćeni tokom trajanja karantina, ustanovljeni su simptomi omfalitisa sa retencijom žumančane vrećice i nakon uzrasta od tri meseca, bolovi u predelu abdomena, neuzimanje hrane i vode, uz povećanu smrtnost. Primećena je i pojava tvrdog izmeta. Obdukcijom je ustanovljen zastoj želudačnog sadržaja u predželucu i želucu opisan kao akutan udar na želudac, uz infekciju izazvanu bakterijama *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiotskom terapijom datom intramuskularno i ubacivanjem mešavine jednog dela zeitina i devet delova mlake vode, direktno u želudac, korišćenjem sonde, nisu postignuti rezultati. Verovatno je već bilo kasno za terapiju. Pilići su dugo transportovani iz Francuske i hranjeni su tokom transportovanja, što je, verovatno, imalo kao posledicu zastoj hrane. Takođe, pilići su tokom noći bili zatvoreni u prostoru čiji je pod bio prekriven itisonom kojeg su tokom boravka nojevi čupkali, a vlakna su se natapala vodom i zatvarala veoma malu zapreminu predželuca i želuca. Inače, pilićima su tokom trajanja karantina aplikovani Vitoligam i AD<sub>3</sub> vitamini u vodi za piće, hranjeni su početnom krmnom smešom uvezenom iz Francuske (12% celuloze, 18% proteina, isključivo biljnog porekla, 3% masti uz dodatak 10-12% premiksa) i seckanom svežom detelinom.

Po savetu vlasnika nojeva iz Francuske, pilići uzrasta do tri meseca treba da utroše tri do četiri kilograma hrane za jedan kilogram prirasta, sa starošću većom od šest meseci pet kilograma hrane i od 8 do 12 meseci 4,5-6 kg po kilogramu prirasta. Očekivana telesna masa noja uzrasta 12 meseci je oko 100 kilograma. Nojevima u karantinu voda je sipana sa spoljašnje strane ograde kao svež napravljen vitaminsko-mineralni rastvor, nakon što pilići isprazne posude. Nojevski pilići su bili u kontaktu samo sa licima koja su radila u objektu, uz naše povremene posete. U karantinu je formiran jedan pregrađeni prostor u kome su bili smešteni klinički oboleli pilići koji su posmatrali pokretne i zdrave ptice oko sebe. Povremeno smo pilićima pomagali da hodaju tako što smo ih hvatali u predelu ispod karlice i grudi (ne za krila).

Pojava simptoma čupkanja kod nojeva može da bude vezana za nedostatak hrane, ili pojavljivanje stresa, uznemirenosti, dosade koju treba prekratiti stalnim zanimanjem za neke predmete koje nisu u stanju da progutaju.

Gastrointestinalni poremećaji u uslovima farmskog uzgoja su dominantna klinička i patološko-morfološka slika mortaliteta u odgojnoj fazi proizvodnje, koja može da ide i do 50 posto [4, 13]. Ishrana nojeva je više veština, nego

nauka, barem sudeći po pisanim stručnim radovima. Digestivni trakt noja, za razliku od ptica, poseduje sposobnost da vari celulozu kao kod preživara [6]. Oni se ne hrane kao ostala živina u intenzivnom odgoju, jer se razlikuju u anatomskom i funkcionalnom delu digestivnog trakta. Skladište i kisele hranu u predželucu. Želudac sa nežnim rožnatim slojem više je podesan za oštru travu i gruba vlakna, nego za mrvljenje žitarica. Veliki deo creva, cekum i gornji deo kolona su prostrani za fermentaciju. Ta karakteristika dozvoljava nojevima da vare celulozu efikasnije nego preživari [Swart i sar. 1993].

Mikrobiološkim ispitivanjem srca, jetre, bubrega, slezine, kloakalnih briseva i uzoraka fecesa starijih nojeva otkriveno je dominantno prisustvo *Escherichia coli* uz samo jedan nalaz *Salmonella typhimurium* u jetrici uginulog noja u uzrastu od šest meseci. Nalaz ovog uzročnika bio je uslovljen boravkom povređenog noja u ograđenom objektu koji je bio u blizini legla divljih golubova. To je bio povod da se golubovi uklone.

Bakteriološkim i mikološkim pregledom brisa grla noja uzrasta od oko dve godine, sa otokom celog vrata ustanovili smo prisustvo bakterija *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* bez prisustva gljivica. Pošto se u literaturi spominje sporadična pojava Njukasl bolesti [4, 13, usmeno saopštenje od D. Selenić-Minet] i navodi pojava kožnog oblika u vidu ploča na koži, kao i nervnog oblika uz pojavu opistotonusa, uvrtnje glave, padanje glave prema tlu uz parezu i paralizu. Iz radoznalosti smo obradili uzorak mozga uginulog noja odgojne starosti oko šest meseci, iz iste grupe u kojoj je bio i noj sa otokom vrata. Postupkom dvostruke pasaže na kokošijim embrionima, embrioni su ostali živi i alantohorionska tečnost sa kokošijim eritrocitima nije dala pozitivnu reakciju koja je karakteristična za umnoženi virus Njukasl bolesti.

Serološkim pregledom krvi nismo ustanovili postojanja antitela korišćenjem antigena za *My. gallisepticum*, *My. synoviae*, *S. gallinarum-pullorum* i infektivni bronhitis.

Klinički smo pratili pojavu otoka vrata koji se sam od sebe povukao bez bilo kakve intervencije.

Mikrobiološkim pregledom brisa oka kod koga je došlo do otoka gornjeg kapka i povlačenja trećeg očnog klapka na polovinu površine oka, nismo izolovali patogene uzročnike, jer je antibiotska terapija kapi i mast za oči bila već u toku. Ishod terapije je bio zadovoljavajući. Česte su pojave problema sa očima zbog mogućih povreda, prašine iz vazduha, a često je trljanje glave noja o telo zaprljano blatom i fecesom.

Problemi povreda nogu, lomljenje kostiju nogu, krivljenja nogu, čupanja perja, cepanja kože vrata, međusobno kljucanje, moguće su pojave na kojima u tehnologiji farmskog odgoja nojeva treba da se radi.

„Prisustvo laboratorije” u farmskom odgoju i eksploataciji nojeva može da bude itekako od koristi farmerima. Iskustvo u intenzivnoj živinarskoj proizvodnji može da se prenese i doprinese boljim rezultatima farmskog uzgoja ovih ptica.



Treba da se spomene da smo tokom istraživanja ustanovili dve vrste ektoparazita koji su se veoma brzo razmnožili i uznemiravali sve starosne kategorije nojeva. Radilo se o malofagama *Menopon gallinae* i *Menacanthus stramineus*. Infestacije su uspešno sanirane dvokratnom aplikacijom adekvatnih akaricida. Kao posledicu infestacije imali smo nedostatak perja i ogoljenu kožu, ali uz adekvatnu i dobru ishranu pera su ubrzo počela da rastu. Nalaz malofaga je bio rezultat kontaktnog prenošenja uzročnika koji pokazuje malu specifičnost prema domaćinu i parazitira kod velikog broja vrsta ptica u našoj sredini.

Ispitivanje fecesa na prisustvo parazita je preventivni način otkrivanja pojave heterahidoze, amidostomoze, askaridoze, kapilarioze. Pojava opuštenih krila u uzrastu od 5 do 6 meseci može da ukaže na postojanje parazitarne infekcije. Terapija u trodnevnom trajanju je preventivnog tipa, dok je u petodnevnom trajanju prava terapija.

Huchzermayer F. W. 2002. godine napominje da bi trebalo da se izbegava davanje antibiotika peroralnim putem zbog poremećaja korisne mikroflore creva i razvoja uslova za razmnožavanje patogenih gljivica. Od bolesti uzrokovanih gljivicama navode se aspergiloza kao sistemsko oboljenje i oboljenje respiratornog sistema, vazdušnih vrećica. Kandidioza se javlja sa promenama u ustima i ezofagusu, vazdušnim vrećicama i čak u plućima. Zigomikoza je uglavnom lokalizovana u želucu sa inflamatornim i nekrotičnim procesom u predelu žlezdanog i mišićnog želuca i akumulacijom bele želatinozne mase debljine i do 15 mm [Chute H. L. i Richard J.L. 1991; 8]. Infekcija vratnog dela kože može da bude rezultat trihoficije. Većina gljivica su saprofiti i nalaze se u okolini, prostirci i hrani ili su normalno deo flore creva zdravih jedinki. U uslovima neodgovarajućih farmских okolnosti, zatvorenog prostora, kontaminisanog vazduha, vlage, amonijaka, temperature objekta ili inkubatora, prostirke, stresa, imunosupresije, prolongiranog delovanja antibiotika, one se razvijaju u prouzrokovane bolesti.

Od bakterijskih bolesti posebno se navodi infekcija izazvana klostridijama, salmonelama i kampilobakter uzročnicima, uzročnicima tuberkuloze, antraksa, hlamidija i mikoplazmi. Od virusnih uzročnika navode se Njukasl, influenza, kongo-krimski hemoragični groznica, boginje, borna bolest, arbo i flavivirusne infekcije.

Sporna je bila sumnja kod starijih nojeva u dva Zoovrta u Nemačkoj na spongioznu encefalopatiju, čiji uzročnik nikada nije dokazan [Perelman B. 2002], a autori ovog teksta ne poseduju podatak iz literature kojim bi se ovaj citirani podatak demantovao.

Za uzročnikom slabe vitalnosti pilića („fading chicken syndrome”) još uvek se traga.

Prati se i pojava nove bakterije-megabakterija za koju se zna da je locirana u žlezdanom i mišićnom želucu.

### **Zaključak / Conclusion**

Farmski uzgoj nojeva traži nova saznanja u pogledu ishrane, me-nadžmenta, kvaliteta mesa i proizvoda od mesa, kože, perja, a sve radi dobijanja kvalitetnih proizvoda, uz povoljnije ekonomske pokazatelje.

Izгледа da je kod farmaskog držanja nojeva, poluintenzivna ili eksten-zivna proizvodnja daleko isplativija od intenzivne proizvodnje [Huchzermeyer F. W. 2002].

Na 10. kongresu nojara sveta održanom u Beču 2003. godine os-novana je Radna grupa: Ratite 13 (za nojeve, emue i ree), pri Evropskoj federaciji Svetskog naučnog udruženja živinara. Aktivnost ove grupe ima za cilj da organi-zuje prvi Ratite simpozijum u Madridu, Španija, oktobra 2005. godine, da poveže saznanja iz nauke i industrije sa farmerima. Održavaće se svake druge godine, na različitim mestima u Evropi.

### **Literatura / References**

1. Chute H. L., Richard J. L.: Fungal infections, in: B.W. Calnek H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid and H. M. Yoder (Eds), Diseases of Poultry, 9th edi., 326-339 (Ames, Iowa State University Press) 1999. - 2. Cooper G. Ross: Critical Factors in ostrich (*Struthio camelus australis*) production, a focus on Southern Africa, WPS Journal, 56, 3, 247-265, September 2000. - 3. Swart D., Mackie R. I., Hazes J. P.: Fermentative digestion on the ostrich (*S. camelus var. domesticus*), a large avian species that utilizes cellulose. South African Journal of Animal Science, 23, 127-135. 1993. - 4. Deeming D.C.: The Ostrich biology, production and health, CABI Publishing a div. of CAB International, 1999. - 5. Krajbić A., Zomer M.: Uzgoj nojeva, Poljoprivredno izdavačka kuća Münster-Hiltru, 1994. - 6. Huchzermeyer F. W.: Non-nutritional functions and ingredients of ostrich feeds, 10th Ostrich World Congress 18-19. October, University of Vet. Med. Vienna, 2003. - 7. Miljković Biljana, Zdravstvena zaštita nojeva, Časopis Noj 3-4, 5-7, 2003. - 8. Perelman B., Kuttin E. S.: Aspergillosis in ostriches. Avian Pathology, 21, 159-163, 1992. - 9. Perelman B., Kuttin E. S.: Zygomycosis in ostriches, Avian Pathology, 21, 675-680, 1992. - 10. Perelman B.: Management and infectious problems of the intestinal tract, 10th Ostrich World Congress 18-19. October, University of Vet. Med. Vienna, 2003. - 11. Perelman B.: Viral diseases in ostriches- prevention and vaccination, 10th Ostrich World Congress 18-19. October, University of Vet. Med. Vienna, 2003. - 12. Saif Y. M., Barnes H. J., Glisson J. R., Fadly A. M., McDougald L. R., Swayne D. E.: 11th edition Diseases of Poultry, Iowa State press, 2003. - 13. Selenić-Minet Dubravka: Uzgoj pilića nojeva, Časopis Noj 3-4, 2-4, 2003. - 14. Teodorović V., Stanković, Teodorović Radmila, Vasilev D.: Nojevi i druge egzotične životinje na domaćoj trpezi, Veterinarska komora Srbije, 2002. - 15. Šimpraga M., Eleonora Peter: Fiziologija nojeva, Hrvatski veterinarski vjesnik 25, 3-4, 77-83, 2002.

ENGLISH

**HEALTH PROBLEMS PRESENT IN OSTRICH PRODUCTION**

**Biljana Miljković, Ljiljana Spalević, I. Pavlović, Živka Ilić, Danka Maslić-Strižak, V. Ivetic**

Data from literature so far cover only parasitic infections, as specific infections, or contagious diseases in ostriches. However, since there is a potential danger of the transfer of agents from the environment, through rodents, birds or man, special attention is devoted to the study and monitoring of other diseases in these birds.

Potential causes of diseases registered in ostriches and which are transferred to humans are the following: Newcastle Disease, influenza, Congo-Crimean haemorrhagic fever, tuberculosis, salmonellosis, and campylobacteriosis. Great caution was taken following the reporting of a suspected case of spongiuous encephalopathy in an ostrich in a zoo in Germany.

Attempts are under way to discover the cause of the poor vitality of ostrich chicks, and ostriches are no longer bred in places where this disease occurs. Megabacteria is the new unknown cause of the glandular and muscular stomach, which has been detected in these largest avians.

The work is aimed at acquainting veterinarians and veterinary inspectors with the veterinary-medical and technological problems of farm maintenance of ostriches on the grounds of the personal experiences of the authors, by presenting the work of experts in that area, as well as data from literature.

At the last World Congress held in Vienna, Ratite Group 13 was formed with the World's Poultry Science Association, whose first meeting will be held in Madrid in 2005. Intensive production, in which technological, health, and other problems are present, cannot be developed in Europe without the help of research teams.

Key words: Ostrich, diseases of farm production, knowledge.

РУССКИЙ

**ЗДРАВООХРАНИТЕЛЬНАЯ ПРОБЛЕМАТИКА СЛЕДЯЩАЯ ПРОИЗВОДСТВО СТРАУСОВ**

**Биљана Миљковић, Лиљана Спадевич, И. Павлович, Живка Илић, Данка Маслич-Стрижак, В. Иветич**

Пока по сведениям из литературы специфические инфекции или контактные заболевания страусов относятся только на паразитарные инфекции. Между тем, с учётом, что существует потенциальная опасность от перенесения агентов из своей окрестности, через грызунов, птиц или человека отдельное внимание обращается изучению и слежке всех остальных болезней этих птиц.

Потенциальные возбудители, заявленные у страусов, а переходящие на людей следующие: Ньюкасла болезнь, Инфлюэнца, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, туберкулёз, сальмонеллёз и кампилобактериоз. Большая ос-

торожность последовала после заявленного сомнительного случая явления спонгиозной энцефалопатии у страуса в Зоопарке в Германии.

Для возбудителя „слабой витальности страусовых цыплят” ищется, а там, где это заболевание появится страусы больше не разводятся. Мегабактерия новый неизвестный возбудитель железистого и мышечного желудка, открытый у этих наибольших птиц.

Работа имеет для цели познакомить ветеринаров и ветеринарных инспекторов о ветеринарно-медицинской и технологической проблематике ферменного выращивания страусов на основе собственного опыта авторов, через знакомство с работой специалистов в этой области, словно и познания из литературы.

На последнем Конгрессе, проведённом в Вене формирована Ратите группа 13, при Мировом научном объединении птицеводов чьё первое собрание будет в Мадриде 2005. года. Интенсивное производство, следящее технологические, здравоохранительные и остальные проблемы не может развиваться в Европе без помощи исследовательских групп.

Ключевые слова: страус, болезни ферменного выращивания, познания

## INFLUENZA PTICA\* AVIAN INFLUENZA

D. Orlić, M. Kapetanov, Maja Velhner, Dubravka Potkonjak\*\*

*Visoko patogena avijarna influenza (Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI) je ekstremno zarazno oboljenje sa visokim mortalitetom. Uzročnici su neki od serotipova H5 i H7, tipa A virusa influenzae, iz familije Orthomyxoviridae. Većina sojeva virusa avijarne influenzae su umereno patogeni i uzrokuju supkliničku infekciju respiratornog i reproductivnog sistema, velikog broja domaćih i divljih vrsta ptica. HPAI se nalazi na Listi A OIE. Umereno patogeni virusi MPAI (Mildly Pathogenic Avian Influenza) održavaju se u prirodi u divljim vodenim pticama, kao svojim rezervoarima, a povremeno se izoluju iz divljih ptica u toku pojave zaraze kod domaće živine. Virus HPAI potiču od virusa MPAI, i nastali su mutacijama hemaglutininskog površinskog proteina.*

*U borbi protiv HPAI primenjuju se preventivne mere i mere eradikacije. Strategija borbe protiv HPAI podrazumeva nadzor i dijagnostiku, biozaštitu, edukaciju, karantin i depopulaciju. U nekim programima kontrole i eradikacije koristi se vakcinacija.*

*Ključne reči: Avijarna influenza, kuga živine, HPAI, Orthomyxovirusi*

### Uvod / Introduction

Visoko patogena avijarna influenza (Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI) izuzetno je kontagiozno, infektivno, sistemsko oboljenje živine, koje uzrokuje visok mortalitete i nekrobiotične, hemoragične i zapaljenjske promene više unutrašnjih organa, mozga i kože. HPAI i kuga živine su sinonimi. Termin kuga živine se ranije koristio za bolest opisanu kod domaće živine, a sada je zamenjen terminom HPAI, kojim se označava oboljenje kod svih vrsta ptica [1, 3, 6].

Prvi izveštaj o kugi živine datira iz 1878. godine, a opisao je Perroncito kao tešku bolest koja se izuzetno brzo širi i dovodi do visokog mortaliteta pilića u

\* Rad primljen za štampu 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Dušan Orlić, van. profesor, dr Miloš Kapetanov, naučni saradnik, dr Maja Velhner, viši naučni saradnik, Dubravka Potkonjak, dipl. vet., Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Italiji. Bolest se rasprostranila na sve kontinente i javlja se i u Evropi. Posle dužeg istraživanja virus je 1995. godine klasifikovan kao virus influence tip A (*orthomyxovirus*). Posle 1960. godine, izolovano je više virusa influence iz ćuraka sa blažom formom bolesti i ovi virusi su označeni kao umereno patogeni virusi *MPAI* (Mildly Pathogenic Avian Influenza), ili virusi niske patogenosti. Sedamdesetih godina prošloga veka, utvrđeno je da su glavni rezervoari i prirodni domaćini virusa *MPAI* divlje vodene ptice roda *Anseriformes* (patke i guske), a kao glavna determinanta virulencije *HPAI* utvrđen je HA protein [1, 6].

#### **Pregled pojava HPAI / Review of HPAI influenza**

*HPAI* izaziva lokalne i regionalne enzootije kod kokošaka i ćuraka na velikim komercijalnim farmama i kod živine na farmama koje prodaju kokice iz odgoja ili podmladak. Od do sada poznatih 17 slučajeva, a bilo ih je i više, *HPAI* u 7 slučajeva obolelo je preko 100.000 živine, a u preostalih 10 manje od 100.000 živine. Sprovedena je eradicacija bolesti 2003 godine u Italiji, Holandiji i Nemačkoj, a isto je urađeno u Vjetnamu i Tajlandu. Ukupan broj domaće živine pogođene *HPAI* predstavlja mali procenat ukupne svetske proizvodnje od 22 milijarde ptica godišnje, ili približno 750 milijardi ptica od 1955. godine [1, 3, 4, 5, 6, 7].

#### **Virusi influence kod ptica i sisara / Influence of viruses in birds and mammals**

Virusi influence su infektivni za širok spektar domaćina, veliki broj ptica i sisara. Virus je dobro adaptiran na prirodnog domaćina divlje vodene ptice, kod kojih dovodi do malog uginuća, ali kod drugih divljih vrsta često uzrokuje pojavljivanje oboljenja. Masovna i teška oboljenja su ustanovljena kod živine, prvenstveno kokošaka i ćuraka, kao i kod sisara (svinje, konji, lasice, foke i ljudi). Iako se smatra da su virusi koji su bolje adaptirani na određenu vrstu patogeni samo za tu vrstu, postoje i izuzeci. Tako je poznato da klasični H1N1 virusi svinja u principu inficiraju samo svinje, ali ovaj virus može da inficira ljude i ćurke, često dovodeći do ozbiljnog oboljenja [1, 4, 5].

#### **Virusi MPAI kod divljih ptica / MPAI viruses in wild fowl**

Uprkos geografskim barijerama i ograničenom broju pojava virusa *HPAI*, virusi *MPAI* su široko rasprostranjeni u svetu, i inficiraju prvenstveno divlje ptice, ali i neke domaće ptice. Virusi influence ptica su izolovani na pet kontinenta, uključujući Severnu Ameriku, Evropu, Aziju, Afriku i Australiju. Prirodni domaćini i rezervoari virusa influence ptica su divlje barske ptice, uključujući patke, galebove i ostale obalske ptice. Kod divljih ptica je utvrđeno svih 15HA i 9NA pod-

tipova virusa influence. Glavni rezervoari virusa influence su ptice iz rodova *Anseriformes*, patke, guske, labudovi i *Charadriiformes*, galebovi, terns, ptice koje žive na površinskim vodama i peskarice [1, 4, 5].

Influenca kod divljih vodenih ptica najčešće protiče kao asimptomatski enterična. Inficirane ptice obično nose velik broj virusnih partikula, koje dospavaju u vodu defekacijom. Kontaminacija akvatične sredine je efikasan način prenošenja virusa na prijemčive divlje ili domaće ptice, koje dele stanište. Voda kontaminirana fecesom ili inficirane divlje patke, izvor su infekcije domaćih ćurki i ostale živine [1, 4, 5].

#### **Virusi MPAI kod domaćih ptica / MPAI viruses in domestic fowl**

Kokoške i ćurke nisu prirodni domaćini virusa AI. Verovatno glavni faktor prenošenja AI na kokoške je direktno prenošenje virusa influence sa vodenih ptica u migraciji na ćurke koje se drže slobodno. Prenosenje sa divljih vodenih ptica na kokoške i ćurke može da bude i preko intermedijarnih domaćina, posebno domaćih pataka i gusaka koje se gaje u blizini. Od momenta unošenja virusa u proizvodni ciklus komercijalnog gajenja živine, virus se vrlo brzo širi na nove lokalitete ili se održava dugo vremena. Virusi MPAI su izolovani i iz domaćih pataka, domaćih i uvezenih egzotičnih ptica, nojeva, emua, i povremeno iz prepelica i kućnih ptica [1].

#### **Virusi HPAI / HPAI viruses**

Zarazu prouzrokuje bilo koji virus iz grupe virusa influence A (HPAI), sistematizovan u red *Orthomyxoviridae*, rod *Influenzavirus* tip A. Ortomiksovirusi su sverična telašca, prečnika 80 do 120 nm, sa dvoslojnom lipidnom membranom. Sa spoljašnje strane membrane nalaze se glikoproteini, hemaglutinin – HA i neuraminidaza – NA, dva površinska antigena koji imaju važnu ulogu u stimulisanju imunog odgovora domaćina. Ova dva površinska glikoproteina imaju i veoma važnu ulogu u nastajanju čestih varijabilnosti virusa influence A. Velika varijabilnost virusa influence A uzrokovala je pojavljivanje velikog broja subtipova zbog čega je Svetska zdravstvena organizacija uvela nomenklaturu na osnovu H antigena, od H-1 do H-15, i N antigena od N-1 do N-9 [1, 6].

Istraživanjima virusa AI u divljim habitatima barskih ptica, identifikovano je na hiljade virusa AI, i svi su MP virusi. U većini slučajeva HPAI virusi su nastali nakon mutacije H5 MPAI virusa koji cirkuliše u populaciji domaće živine. Na eksperimentalnom modelu pilećeg embriona, pokazano je da neki H5 i H7 MPAI virusi mogu da mutiraju u HPAI viruse koji su patobiološki i molekularno slični terenskom izolatu HPAI virusa. Ovaj podatak upućuje da u populaciji domaće živine HPAI virusi nastaju od MPAI virusa, a ne održavaju se široko kao HPAI

virusi u populaciji divljih ptica. Do danas je poznato 256 subtipova virusa influence A koji su patogeni za ptice [1, 6].

#### **Infekcija i oboljenje / *Infection and disease***

Većina sojeva virusa HPAI iz domaće živine su izolati iz ćuraka i kokošaka, ali se infekcija, klinička slika i visok mortalitet najčešće nalaze kod različitih vrsta iz roda *Galliformes*, fam. *Phasianidae*, uključujući japanske prepelice, biserke (*Numida meleagris*), jarebice (*Alectoris chukar*), severne graoraste prepelice (*Colinus virginianus*) i fazane (*Phasianus colchicus*). U inficiranim jatima sa HPAI uočava se visok morbiditet i mortalitet, a ptice ispoljavaju tešku kliničku sliku, često sa brzim uginućem. Nasuprot ovome, većina MPAI, u prirodnim i eksperimentalnim uslovima, protiče kao supklinička infekcija ili kao blagi do umereni simptomi respiratornog, urinarnog i reproduktivnog sistema.

#### **Klinička slika / *Clinical picture***

Kokoške i ćurke najčešće uginu od HPAI sa slabo izraženim kliničkim simptomima, uglavnom depresija, groznica i komatozno stanje. Bližom opservacijom živih jedinki, uočava se slabija aktivnost, dehidracija i smanjeno unošenje hrane, što sve progresivno vodi teškoj depresiji i uginuću. Kako ptice sve više slabe, sve je veći broj kliničkih znakova. Kod roditelja i nosilja, nakon 3-5 dana nosivost pada na gotovo 0 posto. Povremeno mogu da se uoče tortikolis, pareza, paraliza, ekscitacije, konvulzije, prevrtanje ili kretanje u krug, i to kod nekih ptica koje prežive akutnu fazu i bolest pređe u subakutnu fazu. Može da bude prisutna dijareja, sa prisustvom žuči ili urata i različitom količinom sluzi. Ređe, kada je u pitanju HPAI, a često u slučaju MPAI, mogu da se uoče respiratorni simptomi kao što su nosni iscedak, kašalj, kihanje ili respiratorni stres. Kod HPAI je primećeno otežano disanje [1, 3, 4, 5, 6, 7].

#### **Patoanatomske promene / *Pathoanatomical changes***

U perakutnom toku u većini slučajeva nema vidljivih patoanatomskih promena. Neki sojevi kao što su H5N1 i H5N2 doveli su do teških promena na plućima i kongestije pluća, krvarenja i edema, takvih razmera i težine da su eviscerisana tkiva bila prepunjena seroznom tečnošću i krvlju. Zapažen je i edem mozga.

U akutnom toku, kod kokošaka zapažaju se kongestija i cijanoza kreste i podbradnjaka, otok glave, posebno periorbitalni i intramandibularni edem, zapažaju se hiperemija i edem očnih kapaka, konjunktiva i traheje. Kod uginulih ptica, moguć je nalaz generalizovane kongestije i krvarenja. Promene su najčešće locirane na kresti i podbradnjacima, posebno u odraslih kokošaka, sa petehijama i ehimozama, otokom i eventualno tamnocrvenim do plavim poljima



ishemične nekroze kao rezultat vaskularne infekcije. Supkutana krvarenja i edem mogu da budu prisutni oko skočnih zglogova, na nogama i krilima. Na parenhimatoznim organima prisutne su petehije i ehimoze na površini seroza, po epikardu srca, serozi tankih creva, abdominalnog masnog tkiva, serozi sternuma, cekalnim tonzilama, Meckelovom divertikulumu, Pejerovim pločama tankih creva, predželucu oko izvodnih kanala žlezdica ili između žlezdica, ispod kutikule mišićnog želuca i interfascijalnim prostorima skeletne muskulature. Primarni limfatični organi, *burza Fabricii* i timus, atrofični su, dok slezina može da bude normalne veličine ili uvećana. Ponekad, na slezini su prisutna bela nekrotična polja. Pankreas može biti crvene do svetlo narandžastobraon boje, prošaranog izgleda. Kod nosilja i druge polno zrele živine, može da nastane ruptura jajnih folikula i egg peritonitisa [1, 3, 4, 5, 6, 7].

#### Patohistološke promene / *Pathohistological changes*

Histološke promene ispoljavaju visok stepen variranja u intenzitetu i po lokalizaciji na parenhimatoznim organima, a tipične su istovremene nekroze, krvarenje ili zapaljenje, u više organa. Promene su najviše izražene u mozgu, srcu, pankreasu, plućima, nadbubregu i koži, a slične mogu da se uoče i u drugim organima. Tipične promene su *meningoencephalitis et vasculitis lymphohistocytaria* i fokalni gubitak i razređenje ćelija, rasprostranjena kazeozna nekroza pankreasa, terminalni vaskulitis sa trombozom i infarkcijom, *myocarditis lymphohistocytaria* sa hijalinom nekrozom miofibrila i jako izražena nekroza primarnih i sekundarnih limfatičnih organa [1].

#### Dijagnostika / *Diagnostics*

Za otkrivanje inficiranih jata virusom AI koristi se kombinacija virusne izolacije, seroloških proba i direktne detekcije Ag. Za izolaciju virusa AI koriste se 9 do 11 dana stari pileći embrioni, kojima se inokuliše homogenizat iz pluća, traheje, fecesa i unutrašnjih organa zaražene živine. Alternativno može da se koristi i kultura ćelija. Iz kliničkih slučajeva virusi influence se rutinski izoluju, a neuspeh izolacije može da bude ako postoji virusna ili bakterijska kontaminacija materijala, ili zbog lošeg tajminga uzimanja uzoraka (uzimanje uzoraka kada prestane izlučivanje virusa). Nakon izolacije, određuje se HA i NA podtip, upotrebom HI i NI testova. Virulencija virusa iz izolata se određuje individualnim i/v testom patogenosti [1, 2].

Serološki odgovor potencijalno inficiranih ptica je drugi važan faktor za uspešnu eradikaciju. Najčešće se po metodi slučajnog uzorka odabere 30 ptica iz sumnjivog jata, a ptice se testiraju specifičnim testom za otkrivanje serotipa. Koriste se AGID i ELISA. Za AGID se koriste Ag dobijeni od horioalantoisne membrane inficiranih pilećih embriona, i otkrivaju se At na nukleoproteine i *matrix* 1 protein. AGID je manje osetljiv u odnosu na ELISA probu, i najčešće je potrebna

inkubacija dva dana pre čitanja rezultata. Postoji nekoliko *ELISA*, uključujući i dve komercijalne indirektna za kokoške, i kompetitivne *ELISA* za sve vrste. Oba testa se koriste za detekciju A<sub>t</sub> na nukleoprotein [1, 2, 7].

#### **Diferencijalna dijagnoza / *Differential diagnosis***

Slična klinička slika i patoanatomske promene mogu da se nađu kod velogene forme *New Castle* bolesti i povremeno kod akutnih bakterijskih septikemija, posebno *Pasteurella multocida* [3, 4, 5].

#### **Uticaj na opšte zdravlje / *Effect on general health***

Virusi influence su dobro adaptirani na vrstu i lako se prenose sa jedinke na jedinku, na primer, čovek-čovek, svinja-svinja i kokoška-kokoška. Interspecijsko prenošenje influence je moguće, najlakše i najčešće između dve bliske vrste, kada se virus adaptira na novog domaćina, na primer, sa kokoške na ćurku ili sa kokoške na prepelicu. Interspecijsko prenošenje virusa A<sub>I</sub> između sisara i ptica retko se javlja, kao što su prenošenje sa kokoške na čoveka ili sa divljih vodenih ptica na svinje. Izuzetak od ovog pravila je lako i često prenošenje virusa H1N1 sa svinja na roditelje ćuraka, ali je ovakav način prenošenja sporadičan i odnosi se samo na MP viruse. Ostali faktori kao što su geografska barijera, mešanje vrsta, starost i gustina populacije, vremenski uslovi i temperatura, takođe utiču na sposobnost virusa A<sub>I</sub> da se kreću unutar i između vrsta i utiču na sveukupnu incidenciju infekcija [1, 6].

Tri pandemije gripa su zabeležene kod ljudi u ovom veku, 1918. (H1N1), 1957. godine (H2N2) i 1968. godine (H3N2). Dokumentovano je više pojedinačnih slučajeva koji dokazuju direktno prenošenje virusa influence sa ptica na ljude. Ovakvi incidenti naglašavaju potencijal interspecijskog prenošenja nekih virusa A<sub>I</sub>. Ipak, prenošenje među humanom populacijom i ostalim vrstama, izuzetno je retko u prirodnim uslovima. Drugi istraživači govore da postoji veći potencijal virusa influence da pređu sa svinja na ljude i svinje bi mogle da budu intermedijarni kanal avijarnih i mamalnih gena virusa influence [1].

Svetska zdravstvena organizacija za sada smatra da verovatnoća da avijarni virusi uđu u humanu populaciju, preurede se i uspostave novu strukturu humanih virusa influence sposobnu da izazovu pandemiju je veoma mala. Glavna opasnost nije direktno širenje na ljude i *in toto* adaptacija na novu humanu populaciju, nego rekombinacija virusa A<sub>I</sub> sa već adaptiranim virusima A<sub>I</sub> na ljude koja bi uslovlila antigeno prestrojavanje virusa i posledičnu pandemiju ljudi [1].

#### **Mere kontrole / *Measures of control***

Kada je u pitanju *HPAI*, prevencija je definisana strategijom sprečavanja unošenja i izlaganja živine virusu. Međutim, ako se pojavi *HPAI*, eradicacija

je jedina ispravna opcija. Sa druge strane, kontrola podrazumeva smanjenje incidencije na nizak ili ekonomski ostvariv nivo. Programi kontrole su prihvatljivi za neke sojeve *MPAI*, ali ne i za bolesti sa Liste A OIE, kao što su *HPAI* ili *NCD* [1, 2]. Za *HPAI* ili *MPAI*, efikasni programi kontrole ili eradikacije treba da poseduju :

- a) integrisan nadzor i dijagnostika na nacionalnom nivou,
- b) pojačane mere biosigurnosti na svim nivoima proizvodnje,
- c) edukacija farmera i ostalih radnika o kontroli AI,
- d) karantin i kontrolisano transportovanje inficirane živine,
- e) stamping out ili program klanja svih slučajeva *HPAI* i nekih H5 i H7 (MPAI),
- f) upotreba vakcina pod strogim nadzorom države.

#### **Nadzor i dijagnostika / *Monitoring and diagnostics***

Integrisan nadzor i dijagnostički program je neophodan za utvrđivanje zastupljenosti AI kod komercijalne živine i živine na prodajnim mestima, i divljih ptica, posebno selica. Ovakve informacije su neophodne kako bi se ustanovila prevalencija *MPAI* i *HPAI* na nacionalnom ili regionalnom nivou, što značajno utiče na uvoz i izvoz živine i živinskih proizvoda. Za brzu i tačnu dijagnozu AI i utvrđivanje da li se radi o HP ili MP, neophodna je razvijena nacionalna ili regionalna veterinarsko-medicinska infrastruktura. Brza i tačna dijagnostika *HPAI* je važna, jer omogućava brzo reagovanje i eliminaciju oboljenja pre nego što se inficiraju nove jedinke i bolest poprimi endemski karakter [1, 2, 7].

#### **Biosigurnost / *Bioprotection***

Poboljšanje biosigurnosti je važan segment svakog programa prevencije i kontrole AI, sa dva osnovna cilja:

- a) zadržavanje i ograničenje virusa na zaraženim farmama,
- b) prevencija unošenja virusa na nezaražene farme.

Mere biosigurnosti moraju da se primenjuju na svim nivoima živinarske proizvodnje, a njima podležu svi zaposleni. Ovo se odnosi na osoblje na farmama, laboratorija i državnih organa koji su u kontaktu sa živinom, proizvodima, otpadom, opremom i drugim predmetima na farmama. Na prvom mestu su pravilna dezinfekcija i dekontaminacija kompletne opreme koja se koristi na više od jedne farme, i osoblje treba da preduzima pravilne mere predostrožnosti kako bi se izbeglo prenošenje virusa iz fecesa i respiratornih sekreta na obuću i odeću. Idealno, radnici treba da rade strogo na jednoj operaciji, ne treba da rade na drugim živinarskim farmama i ne bi trebalo da privatno drže živinu. Program biosigurnosti nije „mrtvo slovo na papiru”, nego primenjivanje mera do najmanjeg detalja, od svakog pojedinca, i na svim farmama. U slučaju da je neizbežno da radnici rade na više farmi, kao što je to slučaj pri vakcinaciji i sličnim akcijama, moraju da

se preduzmu najviši nivo biosigurnosti. Neuspešna primena mera biosigurnosti predstavlja realnu opasnost za produžetak epizootije i širenje terenskih virusa između farmi [1, 3, 4, 5, 6].

#### **Edukacija / Education**

Kako bi se prihvatili i uspešno realizovali programi kontrole, neophodna je stalna edukacija i informisanje farmera i radnika, veterinaru, državnih radnika i medija, u vezi sa statusom AI i neophodnim merama biosigurnosti. Izostanak protoka informacija doprinosi panici i garant je neuspeha primene i realizacije programa kontrole. Davanje lažnih informacija medijima negativno utiče na poverenje javnog mnjenja u pogledu biosigurnosti i generalno svih proizvoda živine za ljudsku upotrebu. Posebno je važno da se naglasi nizak potencijal prenošenja AI na ljude potrošnjom proizvoda živine [1, 6].

#### **Karantin / Quarantine**

Zadržavanje infekcije na pojedinačnim farmama ili oblastima, kontrolisanim transportom živine, opreme i osoblja, od najveće je važnosti za sprečavanje širenja AI na nezaražena područja. Za vreme trajanja zaraze HPAI, potrebno je da se obavlja depopulacija i obavlja uklanjanje u zoni karantina. Uklanjanje treba izvoditi spaljivanjem, kompostom, alkalnom hidrolizom, fermentacijom ili zakopavanjem u skladu sa ekološkim standardima i propisima. Kompletnu opremu treba očistiti i dezinfikovati pre iznošenja sa zaražene farme. U ovakvim okolnostima, ptice bi trebalo premeštati samo nakon infekcije organizovano i pri niskim titrima virusa u ekskreciji, najčešće minimalno tri nedelje posle pojavljivanja prvih kliničkih znaka AI [1].

#### **Depopulacija / Depopulation**

U slučaju pojavljivanja HPAI, najbolje je u prvom krugu odbrane od širenja i za eliminaciju oboljenja stamping out ili klanje. EU kao i OIE, zastupaju stav da je, u slučaju pojavljivanja HPAI i drugih bolesti sa Liste A, depopulacija važna mera kontrole. Program stamping out treba započeti u ranoj fazi izbijanja bolesti kako bi bio efikasan i ekonomski opravdan, što je čest problem i vezan je za velike troškove [1, 3, 6].

#### **Vakcinacija / Vaccination**

Vakcinacija se koristi kao jedan element programa za eradikaciju HPAI. Upotreba vakcina protiv AI bila bi kontraproduktivna za eliminaciju, ukoliko ostalih pet navedenih mera nisu deo programa za eradikaciju. Primena vakcine treba da se ograniči na živinu u karantinu, postavljanje barijere ili vakcinaciju u

krugu ugroženih na periferiji karantina, ili na vakcinaciju visokovrednog materijala u regionu u toku ekspanzije *HPAI* [1].

Kao alternativa vakcinaciji, predlažu se antivirusni lekovi za terapiji infekcije AI živine. U eksperimentalnim istraživanjima zapažen je brz razvoj rezistencije na amantidin, što dovodi u pitanje primene antivirusnih lekova u terapiji živine. Živina tretirana antivirusnim lekovima ne može da se koristi za ishranu ljudi [1].

#### **Mere prevencije uvoza AI / Measure of prevention of export**

Na osnovu prihvaćenih OIE sanitarnih standarda za Listu A bolesti, prisustvo *HPAI* u zemlji onemogućava izvoz živine i živinskih proizvoda. Potvrda slobodnog statusa od *HPAI* može da se obezbedi serološkom kontrolom. Negativan rezultat AGID ili *ELISA* pouzdan je dokaz slobodnog statusa na *HPAI*. Međutim, pozitivan rezultat testova može da bude i u slučaju *MPAI* i *HPAI*. Kako bi se izbegla ovakva situacija, zemlja izvoznica mora da potvrdi virusnom izolacijom i *in vivo/in vitro* patotipizacijom da se pozitivni titri odnose na *MPAI*. Rizik uvoza *MPAI* preko mesa i proizvoda od mesa je zanemarljiv, jer se *MPAI* virusi umnožavaju u digestivnom i respiratornom traktu, ali ne i u mesu. Nasuprot tome, *HPAI* je sistemsko oboljenje, i virus može da bude prisutan u većini tkiva, pa i u mesu [1, 2, 7].

#### **Literatura / References**

1. Swayne D. E., Suarez D. L.: Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 19, 2, 463-477, 2000.
2. Miljković Biljana, Velhner Maja: 15. savetovanje veterinarara Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 35-43, Zlatibor, 2003.
3. Orlić D.: Savremeni Farmer, 15, 20, Polj. fak. Novi Sad, 2004.
4. Orlić D., Kapetanov M., Velhner Maja, Potkonjak Dubravka: Simpozijum „Veterinarstvo i stočarstvo u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane“ Zbornik kratkih sadržaja, 100, Polj. fak. Novi Sad, Herceg Novi, 2004.
5. Orlić D., Ilić Živka, Rašić Z.: 15. savetovanje veterinarara Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 3-12, Zlatibor, 2003.
6. Resanović Radmila: 15. savetovanje veterinarara Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 45-53, Zlatibor, 2003.
7. Šekler M., Ašanin Ružica, Palić T., Žarković A., Debeljak Z., Knežević N., Kozlina B.: Živinarstvo, 5, 7-13, 2004.

#### **ENGLISH**

#### **AVIAN INFLUENZA**

**D. Orlić, M. Kapetanov, Maja Velhner, Dubravka Potkonjak**

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) is an extremely contagious disease with a high mortality rate. The causes are some of the H5 and H7 serotypes of the type A influenza virus, from the family *Oromyxovirida*. Most of the strains of the avian influenza virus are moderately pathogenic and cause subclinical infection of the respiratory and reproductive systems in large numbers of domestic and wild bird species. HPAI is on List A of the OIE. Mildly Pathogenic Avian Influenza (MPAI) viruses are maintained in nature in wild

aquatic birds, as their reservoirs, and they are occasionally isolated from wild birds in the course of incidences of infections in domestic poultry. HPAI viruses originate from MPAI viruses, and they were formed through the mutation of the haemagglutinin surface protein.

Preventive and eradication measures are implemented in fighting HPAI. The strategy of fighting HPAI implies monitoring and diagnostics, bioprotection, education, quarantine and depopulation. In some control and eradication programs, vaccination is applied.

Key words: Avian influenza, poultry plague, HPAI, orthomyxoviruses.

РУССКИЙ

### ИНФЛЮЭНЦА ПТИЦ

**Д. Орлич, М. Капетанов, Мая Велхнер, Дубравка Потконяк**

Высоко патогенная авиарная инфлюэнца (*Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI*) – экстремное заразное заболевание с высокой смертностью. Возбудители некоторые из серотипов H5 и H7, типа А вируса инфлюэнцы, из семейства *Orthomyxoviridae*. Большинство штаммов вируса авиарной инфлюэнцы умеренно патогенные и причиняют подклиническую инфекцию респираторной и репродуктивной системам, большого числа домашних и диких видов птиц. *HPAI* находится на Списке А *OIE*. Умеренно патогенные вирусы *MPAI* (*Mildly Pathogenic Avian Influenza*) одерживаются в природе в диких водяных птицах, как своих резервуарах, а повременно изолируются из диких птиц в течение явления заразы у домашних птиц. Вирусы *NPAI* происхождением от вирусов *MPAI*, и настали мутациями гемагглютинного поверхностного протеина.

В борьбе против *HPAI* применяются превентивные меры и меры искоренения. Стратегия борьбы против *HPAI* подразумевает надзор и диагностику, биозащиту, образование, карантин и депопуляцию. В некоторых программах контроля и искоренения пользуется вакцинация.

Ключевые слова: Авиарная инфлюэнца, чума домашних птиц, *HPAI*, *Orthomyxovirus*

**UTICAJ EKSTRUDIRANJA NA KVALITET OPLEMENJENOG  
KUKURUZNOG STOČNOG BRAŠNA\***

***INFLUENCE OF EXTRUSION ON QUALITY OF ENRICHED  
CORN MEAL***

**S. Filipović, Marijana Sakač, M. Ristić, Š. Kormanjoš, Jelena Filipović,  
Z. Zlatković\*\***

*U ovom radu prikazane su hemijsko-nutritivne karakteristike oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna dobijenog klasičnim procesom mlevenja i isključivanja kukuruza i ekstrudiranog oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna.*

*Prezentirani rezultati ukazuju da proces ekstruzije povećava nutritivnu vrednost oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna.*

*Ključne reči: oplemenjeno kukuruzno stočno brašno, ekstrudirano oplemenjeno kukuruzno stočno brašno, hemijsko-nutritivne karakteristike*

**Uvod / Introduction**

Oplemenjeno kukuruzno stočno brašno predstavlja sporedni proizvod mlinске prerade kukuruza, u čiji sastav ulaze delovi endosperma, omotača i klice. Ovo hranivo se do sada nije dovoljno koristilo u industriji hrane za životinje, pa je neophodno, s jedne strane, usmeriti istraživanja na sticanje uvida u njegovu nutritivnu vrednost, koja treba da posluži kao neoborivi dokaz za povećanje njegove primene u komponovanju gotove hrane za životinje, a sa druge, početi sa primenom postupaka njegove termičke obrade (na primer ekstrudiranja), kako bi se povećala njegova nutritivna vrednost, što bi omogućilo njegovu bolju valorizaciju.

Termičko tretiranje žitarica se koristi za poboljšanje njihovih nutritivnih, higijenskih, fizičko-hemijskih i drugih karakteristika, odnosno njime se povećava hranljiva vrednost nekih nutritivenata, poboljšavaju senzorna svojstva (na primer,

\* Rad primljen za štampu 10. 5. 2005. godine

\*\* Dr Slavko Filipović, naučni savetnik, dr Marjana Sakač, naučni saradnik, dr Milutin Ristić, naučni savetnik, mr Šandor Kormanjoš, istraživač-saradnik, Jelena Filipović, dipl. inž., Tehnološki fakultet, Novi Sad; Zoran Zlatković, dipl. inž., „Napredak” d.d., Čuprija

povećava „slast” pri obradi kukuruza), obezbeđuje mikrobiološka ispravnost proizvoda [1, 2] i inaktiviraju eventualno prisutni termolabilni antinutritienti.

Proces ekstruzije uzrokuje promene na ugljenohidratnom kompleksu kukuruznog stočnog brašna, odnosno smanjuje sadržaj skroba usled njegove razgradnje do dekstrina. Ovakve promene uslovljavaju povećanje *in vitro* i *in vivo* svarljivosti skroba, s obzirom da želatinizacija skroba obezbeđuje povećanu dostupnost enzima koji razlažu skrob, a paralelno navedenom, vodi i inaktivaciji inhibitora -amilaze [3, 4, 5].

Ekstrudiranje kukuruznog stočnog brašna prati i sniženje sadržaja ukupnih i redukujućih šećera kao rezultata odigravanja Maillardove reakcije, jedne od neželjenih reakcija u hemiji hrane, koja podrazumeva interakciju šećera i proteina, pre svega amino-kiselinskih ostataka lizina [6]. S obzirom na kratko vreme boravka mase u ekstruderu (manje od 30 sekundi), stepen očuvanja nutritivno vrednih komponenti žitarica u postupku ekstruzije je relativno visok [7], stoga, tokom ekstrudiranja kukuruznog stočnog brašna nastaje neznatna degradacije amino-kiselina, primarno lizina, u odnosu na netretirani materijal, uz porast svarljivosti proteina [5]. Paralelno navedenom, ovaj termički tretman obezbeđuje i povećanu svarljivost ulja ekstrudata, mada nju prati i povećanje podložnosti reakciji oksidacije lipida usled povećanja dodirne površine ekstrudata sa vazduhom [8, 9].

U ovom radu prikazani su preliminarni rezultati koji daju uvid u nutritivnu vrednost oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna dobijenog klasičnim procesom mlevenja i isklicavanja kukuruza i ekstrudiranog oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna – novih hraniva koja bi, s obzirom na njihov nutritivno-hemijski profil, trebala da se učestalije koriste u proizvodnji hrane za životinje.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

##### *Ekstrudiranje oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna /*

##### *Extrusion of enriched corn meal*

Za ekstrudiranje oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna korišćeno je oplemenjeno kukuruzno stočno brašna sa 14 posto vlage iz mlina „Tisa” – „Mirotin” u Vrbasu, koje je navlašeno do 20 posto vlage i nakon toga ekstrudirano. Ekstrudiranje oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna obavljeno je na ekstruderu „Metal-Matik”, model 11-1000 (Beočin), sa četiri segmenta (zone) grejanja u procesu ekstruzije. Kapacitet ovoga ekstrudera je 1000 kg/h ekstrudirane hrane. Instalirana snaga elektromotora ekstrudera iznosi 75 kW, a pužnog dozatora sa elektromotorom 1,5 kW.

Ekstrudiranje je obavljeno na temperaturi od 95 i 105°C, što se smatra optimalnim za adekvatnu termičku obradu žitarica [5].



*Hemijske metode za određivanje kvaliteta oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna i ekstrudiranog oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna /  
Hemical methods for determination of quality enriched corn meals and extruded enriched corn meal*

Osnovni hemijski sastav (vlaga, sirovi proteini, sirova celuloza, sirova mast i mineralne materije) oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna i ekstrudiranog oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna određen je po metodama AOAC [10].

Sadržaj skroba, kao i ukupnih i redukujućih šećera određen je po Pravilniku o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlin-skih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo zamrznutih testa [11], dok je sadržaj kalcijuma, fosfora, gvožđa, bakra, natrijuma, -karotina i zapreminske mase određen po Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i metodama vršenja fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane [12].

Određivanje sadržaja ukupnih tokoferola u oplemenjenom kukuruznom stočnom brašnu obavljeno je po metodi BASF, prezentovanoj u „Estimation of Vitamins and Carotenoids in Premixes and Feeds” pod brojem MAE/EC 1 [13].

Indeks rastvorljivosti azota (Nitrogen Solubility Index – NSI) određen je po metodi AOCS [14].

#### **Rezultati i diskusija / Results and discussion**

Nutritivno-hemijski profil reprezentativnog uzorka oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna može da se sagleda uvidom u pokazatelje kvaliteta predstavljene u tabeli 1.

Maksimalno dozvoljeni nivo vlage oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna (14%) definisan je s obzirom na primenu tehnološkog procesa kondicioniranja i suvog postupka isklicavanja kukuruza, a predstavlja bitan orijentir u korišćenju ovog hraniva u industriji hrane za životinje, s obzirom da utiče na njegovu higijensku ispravnost i stabilnost, tj. održivost, pogotovo tokom letnjeg perioda proizvodnje i skladištenja. Oplemenjeno kukuruzno stočno brašno proizvedeno po Bühlerovoj tehnologiji isklicavanja kukuruza predstavlja novo proteinsko-energetsko hranivo u industriji hrane za životinje, jer ga odlikuju povišeni nivoi sirovih proteina i masti u poređenju sa kukuruznim stočnim brašnom proizvedenim klasičnim postupkom. Porast sadržaja proteina ovog hraniva u odnosu na kukuruzno zrno iznosi i do 25 posto. Druga suštinska odlika ovog hraniva jeste njegova povećana energetska vrednost uslovljena povećanjem sadržaja ulja, kao posledice sjedinjavanja kukuruznog brašna i klice. Kukuruz, kao osnovno energetsko hranivo u industriji hrane za životinje i najčešće upotrebljavana žitarica u komponovanju gotovih smeša [4], ima energetska vrednost 16,2 MJ/kg, dok oplemenjeno kukuruzno stočno brašno ima 17,8 MJ/kg.

Tabela 1. *Hemijski sastav oplemenjenog i ekstrudiranog oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna /*

*Table 1. Chemical composition of enriched and extruded enriched corn meal*

Pokazatelj kvaliteta / <i>Quality indicator</i>	Oplemenjeno kukuruzno stočno brašno / <i>Enriched corn meal</i>	Ekstrudirano oplemenjeno kukuruzno stočno brašno / <i>Extruded enriched corn meal</i>
Vlaga / <i>Humidity (%)</i>	11,85	8,44
Sirovi proteini / <i>Crude proteins (%)</i>	10,79	10,68
Sirova celuloza / <i>Crude cellulose (%)</i>	3,60	3,55
Sirova mast / <i>Crude fat (%)</i>	7,34	6,64
Mineralne materije / <i>Mineral matter (%)</i>	2,13	2,00
Skrob / <i>Starch (%)</i>	51,44	50,68
Kalcijum / <i>Calcium (%)</i>	0,17	0,18
Fosfor / <i>Phosphorus (%)</i>	0,48	0,41
Natrijum / <i>Sodium (%)</i>	0,10	0,10
-karotin / <i>β-carotene (mg/kg)</i>	1,10	1,28
Ukupni tokoferoli / <i>Total tocopherols (mg/kg)</i>	103,20	–
Nasipna masa / <i>Pouring mass (g/dm<sup>3</sup>)</i>	526,1	359,0
NSI / <i>NSI</i>	–	18,71

Nutritivnoj vrednosti oplemenjenog kukuruznog stočnog brašna doprinosi i prisustvo tokoferola, pre svega  $\beta$ -tokoferola kao glavnog konstituenta liposolubilnog vitamina E, ali i jednog od izrazito moćnih antioksidanata [15], kao i  $\beta$ -karotina, provitamina A, koga, takođe, odlikuju antioksidativna svojstva [16].

Proces ekstrudiranja značajno snižava sadržaj vlage u navlaženom oplemenjenom kukuruznom stočnom brašnu (sa oko 20% na oko 10%), što ekstrudat čini podesnim sa stanovišta održivosti, odnosno skladištenja (tabela 1). Pored navedenog, ekstrudirano kukuruzno stočno brašno karakteriše sniženje nasipne mase tokom procesa ekstruzije (526,1 g/dm<sup>3</sup>:359,0 g/dm<sup>3</sup> – tabela 1). Smanjenje nasipne mase nakon primene procesa ekstruzije ili nekog drugog termičkog tretmana zabeležili su i Bekrić [4] i Filipović i saradnici [5], a ono je od značaja kako pri skladištenju i transportovanju, tako i pri proizvodnji hrana za životinje sa specijalnim zahtevima (na primer, hrana za pastirmke, kućne ljubimce i drugo).

Indeks rastvorljivosti azota (NSI) je jedan od pokazatelja kvaliteta koji se koristi u optimizaciji primenjenog termičkog tretmana. Navodi Holmesa [17] mogu da posluže kao orijentacija u proceni adekvatnosti tretmana i kvaliteta pro-

izvoda – nivo NSI od 12,5 posto smatra se rezultatom primene preagresivnog tretmana, a nivo NSI od 17 do 25 posto rezultatom optimalnog tretmana. S obzirom da je vrednost NSI ekstrudata 18,71 posto, može da se zaključi da je primenjeni termički tretman – proces ekstruzije, bio optimalan i rezultirao dobijanjem hraniva sa minimalnim sniženjem sadržaja termolabilnih amino-kiselina.

Iako navodi u literaturi ukazuju na fizičko-hemijske promene ugljenohidratne frakcije kukuruza posle primene termičkih tretmana [5, 18], sadržaj skroba se tokom primenjenog procesa ekstruzije nije bitno smanjio u odnosu na isti u oplemenjenom kukuruznom stočnom brašnu, što ukazuje na odigravanje delimične degradacije komponenti skroba, amiloze i amilopektina, usled relativno kratkog vremena izlaganja povišenom pritisku i temperaturi tokom procesa ekstruzije.

Primena HT/ST principa ekstruzionog kuvanja objašnjava i stabilnost -karotina tokom primene procesa ekstruzije (tabela 1), što obezbeđuje, barem kada je ovaj antioksidant u pitanju, veću antioksidativnu delotvornost ekstrudata, dakle, i povećanu održivost povezanu sa odigravanjem neželjene reakcije oksidacije lipida [8]. Relativno male promene sadržaja -karotina tokom procesa ekstruzije soje registrovali su i Sakačeva i saradnici [19].

#### **Zaključak / Conclusion**

Oplemenjeno kukuruzno stočno brašno i ekstrudirano oplemenjeno kukuruzno stočno brašno predstavljaju nova visokovredna proteinsko-energetska hraniva u industriji hrane za životinje.

Ekstrudirano oplemenjeno kukuruzno stočno brašno je hranivo povećane nutritivne vrednosti u odnosu na brašno koje nije termički obrađeno, pa može da se prvenstveno preporučuje za ishranu mladih kategorija životinja i za proizvodnju hrane za ribe.

Napomena: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologije i razvoj Republike Srbije, u okviru nacionalnog projekta ev. br. BTN.5.07.0418.B/2

#### **Literatura / References**

1. Jansen H. D.: *Advan. Feed Technol.*, 5, 58-66, 1991.
2. Verheul J. A.: *Cebeco Con. Engin. Inform.*, 7, 7-8, 1997.
3. Douglas J. H., Sullivan T. K., Bond P. L., Struwe F. J.: *Poultry Science*, 69, 1147-1155, 1990.
4. Bekrić V.: *Industrijska proizvodnja stočne hrane*, Beograd, 1999.
5. Filipović S., Sakač M., Ristić M., Kormanjoš Š.: *PTEP*, 7, 1-2, 3-7, 2003.
6. Eichner K., Wolf W.: *Maillard reaction products as indicator compounds for optimizing drying and storage conditions*, Wallen G.R., Feather M.S. (eds.), *The Maillard Reactions in Foods and Nutrition*, ACS Symposium Series 215, Washington, DC, 1983.
7. Van der Poel A. F. B.: *Advan. Feed Technol.*, 4, 22-36, 1990.
8. Namiki M.: *Food Sci. Nutr.*, 29, 273-300, 1990.
9. Camire M.E., Dougherty M.P.: *J. Food Sci.*, 63, 3, 516-518, 1998.
- 10.

AOAC: Official Methods of Analysis, 14<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1984. - 11. Pravilnik o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa, Službeni list SFRJ, 74, 1854-1887, 1988. - 12. Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama vršenja fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane, Sl. list SFRJ, 15, 421-456, 1987. - 13. BASF: Estimation of Vitamins and Carotenoids in Premixes and Feeds, MAE/EC 1, 1990. - 14. AOCS: Official and Tentative Methods, Ba 11-65, Nitrogen Solubility Index (NSI), Champaign, Illinois, 1987. - 15. Burton G.W., Traber M.G.: Annu. Rev. Nutr., 10, 357-382, 1990. - 16. Everett S.A., Dennis M.F., Patel K.B., Maddix S., Kundu S.C., Willson R.L.: J. Biol. Chem., 271, 8, 3988-3994, 1996. - 17. Holmes B.: Krmiva, 30, 11-12, 217-226, 1988. - 18. Bekrić V., Božović I., Pejić Đ.: Uticaj termičke obrade pojedinih vrsta žita na njihov fizičko-hemijski sastav, IV Simpozijum tehnologija stočne hrane, Zbornik radova, 14-26, Divčibare, 1991. - 19. Sakač M., Ristić M., Filipović, S.: Savremena poljoprivreda, 52, 3-4, 77-80, 2003.

## ENGLISH

### INFLUENCE OF EXTRUSION ON QUALITY OF ENRICHED CORN MEAL

**S. Filipović, Marijana Sakač, M. Ristić, Š. Kormanjoš, Jelena Filipović, Z. Zlatković**

The chemical-nutritive characteristics of enriched corn meal which has been produced by dry milling and corn degerminating procedure and extruded enriched corn meal have been shown in this work.

The presented results show that the extruding procedure increased the nutritive value of enriched corn meal.

Key words: enriched corn meal, extruded enriched corn meal, extruding, chemical-nutritive characteristics

## РУССКИЙ

### ВЛИЯНИЕ ЭКСТРУДИРОВАНИЯ НА КАЧЕСТВО ОБЛАГОДАРЕННОЙ КУКУРУЗНОЙ МУКИ ДЛЯ СКОТА

**С. Филипович, Марияна Сакач, М. Ристич, Ш. Корманёш, Елена Филипович, З. Златкович**

В этой работе показаны химическо-питательные характеристики обогащённой кукурузной муки для скота, полученной классическим процессом помола и прорастания кукурузы и экструдированной обогащённой кукурузной муки для скота.

Презентированные результаты указывают, что процессе экструзии увеличивает питательную стоимость, обогащённой кукурузной муки для скота.

Ключевые слова: обогащённой кукурузной муки для скота, экструдированной обогащённой кукурузной муки для скота, химическо-питательные характеристики

**KLASIČNE I SAVREMENE METODE U OTKRIVANJU SVINJA  
OSETLJIVIH NA STRES\***

**CONVENTIONAL AND MODERN METHODS FOR DETECTING STRESS  
SENSITIVE SWINE**

**Slavica Košarčić, Milena Stevanović, R. Došen, Mira Kovačević,  
M. Gagrčin, D. Košarčić, Ljiljana Stajić, D. Đisalov\*\***

*Iznenadna uginuća svinja izazvana stresom, na farmama pričinjavaju velike gubitke i utiču na rentabilnost proizvodnje. Stoga smo sprovedli istraživanje ove pojave na tri farme. Prvi rezultati datiraju od uvođenja halotan-testa 1974. godine, do DNK- testa i sigurne potvrde da je stres-sindrom svinja nasledno oboljenje životinja koje na šestom hromozomu nose tačkastu mutaciju.*

*Navedene činjenice opredelile su cilj naših istraživanja da utvrdimo trenutno stanje tačkaste mutacije na našim farmama, kakav je stepen učestalosti pojavljivanja homozigota i heterozigota, provera halotan testa na molekularnom nivou i predlog programa selekcije za kontrolu osetljivosti na stres.*

*Testirani su hibridi iz uobičajenog programa ukrštanja na našim farmama i obuhvaćeno je 500 prasadi. Utvrdili smo da je učestalost homozigota oko 23 posto i da je zastupljenost različita od, 2 posto, 9 posto do 12 posto. Halotan pozitivne jedinice testirali smo PCR-RFLP metodom molekularne genetike i potvrdili bolesne genotipove T/T. Odbranim životinjama je urađen DNK-test i utvrdili smo 31 posto heterozigota. Učestalost pojavljivanja po farmama je 6 posto, 11 posto i 14 posto.*

*Prema dobijenim rezultatima neophodna je kontrola svih životinja koje se uvode u reproduktivnu eksploataciju, eradikacija homozigota u testu i dozirana pravilna hibridizacija heterozigota, radi kontrolisanja i upravljanja poznatim genima.*

*Ključne reči: svinja, halotan test, DNK-test, stres, selekcija*

\* Rad primljen 9. 5. 2005. godine

\*\* Dr Slavica Košarčić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad; dr Milena Stevanović, red. prof., IMGGI, Beograd; dr Radosav Došen, istraživač saradnik, dr Mira Kovačević, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad; dr Dušan Košarčić, viši naučni saradnik, privatna veterinarska ambulanta „Košarčić”, Futog; dr Mladen Gagrčin, van. profesor, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad; Ljiljana Stajić dipl. ing, Dane Đisalov, dipl. vet., PIK Bečež, Bečež

## Uvod / Introduction

Ekonomska opravdanost proizvodnje u uzgoju svinja i zahtev za dobijanje zdravstveno bezbednog proizvoda motivisali su predstavnike struke i nauke da istražuju činioce koji mogu da utiču na kvalitet namirnica životinjskog porekla.

Istraživački tim u ovom radu imao je za cilj da utvrdi kritičnu tačku u lancu proizvodnje na farmama svinja koja se manifestovala iznenadnim uginućem životinja i pojavom bledog, mekog i vodnjikavog mesa (PSE).

Istraživanja, saopštenja i objavljeni rezultati datiraju od prvih otkrića životinja osetljivih na stres, halotan testom kao klasičnom metodom, koja nije otkrivala direktne uzroke maligne hipertermije i uginuća, do najsavremenijih metoda molekularne biologije i lociranja problema na nivo molekularne genetike [1, 2, 3]. Halotan test predstavlja početke traganja za uzrocima učestalih pojavljivanja iznenadnog uginuća svinja i dugo se koristi na farmama, jer omogućuje ranu trijažu i isključenje homozigota. U intenzivnoj proizvodnji svinja aparat za halotan test nalazi se u samom pogonu, jer su njegove prednosti: brzo otkrivanje, relativno jednostavno rukovanje, nizak mortalitet, kratka obuka, ušteda u samom odabiranju životinja za reprodukciju. Zbog nemogućnosti da otkrije heterozigote za potpuno kontrolisanje osetljivosti na stres uvedena je metoda molekularne biologije DNK-test. Ovim testom moguća je genotipizacija na nivou baznih parova u molekulu DNK i mogu da se identifikuju genotipovi: C/C, T/T i C/T. Životinje C/C genotipa su zdrave, dok je genotip osetljivih na stres T/T, sa tačkastom mutacijom, jer je u genu za rianodin receptor na poziciji 1843 zamenjen citozin timinom, što se odražava na zamenu amino-kiselina, jer se cistein nalazi umesto arginina. Ove zamene utiču na regulisanje nivoa kalcijuma u mišićnim ćelijama, što uzrokuje nekontrolisanu kontrakciju skeletne muskulature, malignu hipertermiju i uginuća. Životinje genotipa C/T su nosioci mutacije i važno je da se zna u zapatima njihova učestalost pojavljivanja tokom sprovođenja programa ukrštanja po liniji muških jedinki.

Ova naučna saznanja potvrđuju da je stres-sindrom svinja nasledno, autozomalno recesivno oboljenje. Javlja se kod pojedinih selekcionisanih rasa svinja, koje na šestom hromozomu, na kome se nalazi gen odgovoran za regulisanje kalcijuma u mišićima ćelija, nose tačkastu mutaciju [3, 4, 5].

Konačan cilj naših istraživanja je da utvrdimo trenutno postojanje tačkaste mutacije na našim farmama, kakva je učestalost pojavljivanja homozigota i heterozigota, provera halotan testa na molekularnom nivou i kontrola osetljivosti na stres kroz predlog programa selekcije.

## Materijal i metode rada / Materials and methods

Na tri farme svinja odabrano je 500 prasadi telesne težine od 25 do 30 kilograma. Urađen je halotan test prema metodama koje su razvili Christian u Am-

erici, Eikeleboom i Minkema u Holandiji (1974), [3]. Koristili smo aparat za anestezijsku marke Dräger i gasni anestetik halotan (2-brom-2-hlor-1,1,1-trifluoroacetan).

Primerici halotan pozitivnih životinja testirani su DNK - testom. Ovaj test analizira mutirani deo u lancu DNK na mestu (C-T1843) RYR1 [7, 9].

DNK-test je urađen metodom Ož Brien *et al.* [4], korišćena je citratna krv uzeta uz mere bezbednosti da ne bi nastala genomna infekcija. Deproteinizacija je urađena digestijom protinazom K. Upotrebom PCR - tehnologije umnožena je mutirana sekvenca do potrebne količine (više od milion kopija). Umnoženi fragmenti su tretirani restrikcionim enzimom koji specifično seče DNK na mestu mutacije i na kontrolnom mestu. Dobijeni isecci se razdvajaju elektroforezom na agarozu gelu, boje fluoroscentnim markerom, detektuju UV svetlošću i fotografiju.

### Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Na odabranim farmama halotan testom su obuhvaćena prasad različitih rasa i pola. S obzirom da se ovom metodom otkrivaju halotan pozitivne životinje, koje su homozigoti za tačkastu mutaciju, utvrdili smo da je zastupljenost životinja osetljivih na stres 23 posto i da je različit stepen pojavljivanja od 2 posto, 9 posto i 12 posto osetljivih na stres na tri različite farme. Na ovom malom uzorku otkrivamo visoku zastupljenost homozigota za tačkastu mutaciju u odnosu na najnovija istraživanja u Kanadi u kojoj je procenat homozigotnih svinja za PSS mutaciju bio 1 posto i 2 posto u SAD-u i Engleskoj [6]. Sedamdesetih godina prošloga veka o rasprostranjenosti pojavljive PSS-mesa i svinja pozitivnih na halotan govorilo se u epidemijским razmerama. Sagledani su činiooci koji su uticali na brzo širenje ove pojave. Primenom pravilne selekcije i kontrolom zastupljenosti homozigota u hibridizovanim rasama svinja ova mutacija se smanjivala iz godine u godinu. U našoj zemlji, s obzirom na poznato stanje u stočarskoj proizvodnji objavljeni su podaci halotan testa koji su različiti na kontrolisanim farmama, ali je prosečna zastupljenost tih godina bila 31 posto [1]. Broj otkrivenih životinja pozitivnih na halotan u ovom radu je 23 posto u odnosu na prethodne podatke i ranija istraživanja je manji, ali to nije rezultat pravilne selekcije i eradikacionog programa na stres, već ukupno smanjene proizvodnje i iz ekonomskih razloga mali broj obuhvaćenih farmi i ispitivanih životinja. Neophodno je da se ova klasična metoda, koja je ekonomski prihvatljiva, uvede kao redovna kontrola pre nego što se uvedu jedinke u reprodukciju i otkriveni homozigoti isključe.

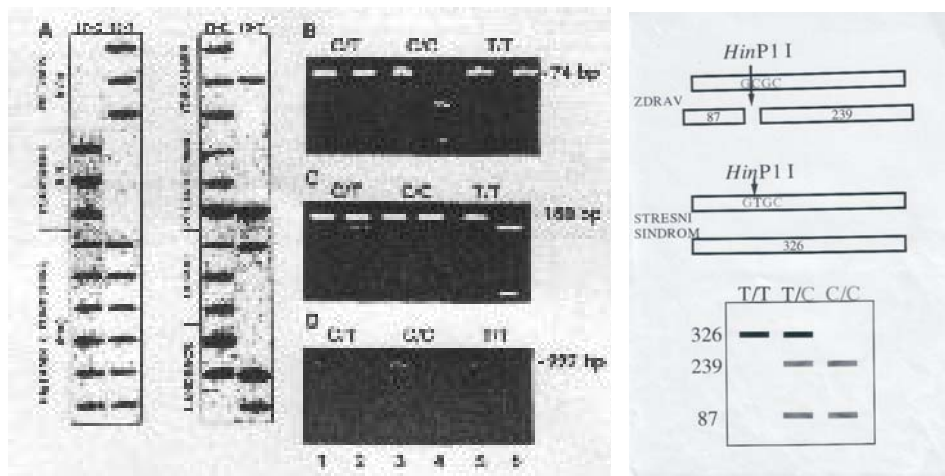
Rezultati DNK testa životinja pozitivnih na halotan potvrđuju homozigote genotipa T/T.

Metodom molekularne genetike PCR - RFLP na odabranom uzorku utvrdili smo da je zastupljenost heterozigota prenosilaca osetljivih na stres 31 posto i da su na farmama zastupljeni sa 6 posto, 11 posto i 14 posto.

Ovo su prvi zvanični rezultati DNK-testa urađenog u našoj zemlji na našim hibridizovanim rasama svinja [8]. Na elektroforetogramu i shemi prikazani su genotipovi zdravih C/C, heterozigotnih C/T i homozigotnih za stres T/T (bolesnih) svinja (slika 1).

Pristup rešavanju problema pojave PSS mesa zahteva primenu određene strategije u selekciji koja podrazumeva ograničeno korišćenje gena [8].

Istraživanja upućuju na mogućnost manipulacije ovim genom u službi ekonomski opravdane proizvodnje, jer isključivanjem mutacije u majčinskim linijama i doziranim uvođenjem i praćenjem gena preko linija nerastova stavljammo stres-sindrom pod kontrolu i poboljšavamo proizvodne performanse.



Slika 1. Elektroforetogram i shema genotipova C/C, heterozigotnih C/T i homozigotnih za stres T/T (bolesnih) svinja /

Figure 1. Electrophoretogram and scheme of genotypes C/C, heterozygote C/T and homozygote for stress T/T of (diseased) swine

### Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata primene klasične i savremene metode u otkrivanju svinja osetljivih na stres mogu da se izvedu zaključci:

1. Na farmama svinja u našoj zemlji u visokom procentu su zastupljene hemozigotne (23%) i heterozigotne životinje (31%).

2. U velikim aglomeracijama svinja halotan-test treba da se uvede kao redovan postupak pre uvođenja životinja u reprodukciju, jer je jednostavniji i ne iziskuje značajna materijalna ulaganja.

3. U redovnim postupku treba da se koristi halotan-test, dok heterozigoti treba da se kontrolišu DNK-testom.

Tokom hibridizacije pretiti gen.

Napomena: Ova istraživanja je finansiralo Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije, u okviru nacionalnog projekta ev. br. BTR 4334 B.



## Literatura / References

1. Gagrčin M., Jovanović S., Sarač M., Košarčić Slavica: Naučni skup, javna prezentacija rezultata istraživanja u okviru projekta P - 1277 NIV - NS Novi Sad 1995. godine, Zbornik radova, 33 - 36, 1995. - 2. Fujii J., Otsu K., Zonzato F., De Leon S., Khanna V. K., Weiles J. E., Ož Brien P. J., MacLennan D. H.,: Science 253, 448-451, 1991. - 3. Eikelenboon G., Minkena D., Neth J.: Vet Sci. 99, 421-526. 1974 - 4. Ož Brien P. J., Hua Schen, Cory R. C., Xia Zhang: Journal of the American Vet. Medical Association 203, 6, 842-851, 1993. - 5. Vogeli P., Bolt R., Fries R., Stranzinpes G.: Animal Genetics 25, 1, 59-66, 1994. - 6. Schmolzl S., Mol. Biolo (Life Sci. Adv.) 12, 1-11, 1993. - 7. Fujii J., Otsu K.: Science 253, 5018; Pro Quest Agriculture Journals 1991. - 8. Momin G.; Animal Science 77, 2, 408 - 15, 1999. - 9. Milena Stevanović, Tamara Rajić, Jelena Đurović, Milka Sokolović, Mašić Z., Slavica Košarčić, Došen R., Mira Kovačević, Ivana Rajačić: Zbornik radova i kratkih sadržaja 12. savetovanja veterinara Srbije, Vrnjačka Banja, 2000.

## ENGLISH

### CONVENTIONAL AND MODERN METHODS FOR DETECTING STRESS SENSITIVE SWINE

**Slavica Košarčić, Milena Stevanović, R. Došen, Mira Kovačević, M. Gagrčin, D. Košarčić, Ljiljana Stajić, D. Đisalov**

Sudden stress-induced deaths of swine on farms cause severe losses and affect feasibility of production. That is why we conducted investigations of this occurrence on three farms. The first results were from the time of the introduction of the halothane test in 1974, to the DNA test, and the definite confirmation that the stress syndrome of pigs is an inherited disease of animals that have a point mutation on the 6<sup>th</sup> chromosome.

The listed facts set the objective of our investigations – to determine the current state of the point mutation in our farms, to determine the rate of incidence of homozygotes and heterozygotes, to verify the halothane test at molecular level, and to make a draft program for selection in controlling stress sensitivity.

The testing covered hybrids from the usual cross-breeding program in our farms and it was performed on 500 piglets. We established that the incidence of homozygotes was about 23%, and that their representation differed, being 2%, 9%, up to 12%. We tested halothane-positive animals using the PCR-RFLP molecular genetics method and confirmed altered genotypes T/T. The DNA test was performed on selected animals and we established 31% heterozygotes. The incidence in farms was 6%, 11% and 14%.

The obtained results indicate that it is necessary to control all animals that are being introduced into the reproduction process, to eradicate the homozygote in the test and to secure dose-regulated hybridization of heterozygotes, with the objective to secure control and management of known genes.

Key words: Swine, halothane test, DNA test, stress, selection

**КЛАССИЧЕСКИЕ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В ОТКРЫТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СВИНЕЙ**

**Славица Кошарчич, Милена Стеванович, Р. Дошен, Мира Ковачевич,  
М. Гагрчин, Д. Кошарчич, Лиляна Стаич, Д. Джисалов**

Внезапные околения свиней, вызванные стрессом, на фермах причиняют большие убытки и влияют на рентабельность производства. Оттого мы провели исследование этого явления на 3 фермы. Первые результаты датируют от введения Халотан теста 1974 года, до ДНК-теста и надёжного подтверждения, что стресс синдром свиней наследственное заболевание животных, которое на шестой хромосоме несут точную мутацию.

Приведённые факты определили цель наших исследований утвердить мгновенное состояние точечной мутации на наших фермах, какая степень частоты гомозигот и гетерозигот, проверка Халотан теста на молекулярном уровне и предложение программы селекции для контроля стресс чувствительности.

Тестированы гибриды из привычной программы скрещивания на наших фермах и охвачено 500 поросят. Мы утвердили, что частота гомозигот около 23%, и что представительство различное от 2%, 9% до 12%. Халотан положительные единичные животные мы тестировали *PCR-RFLP* методом молекулярной генетики и мы подтвердили большие генотипы Т/Т. Отобраным животным сделан ДНК-тест и мы утвердили 31% гетерозигот. Частота по фермам 6%, 11% и 14%.

Согласно с полученными результатами необходим контроль всех животных, вводимые в репродуктивную эксплуатацию, искоренение гомозигот в тесте и дозирования правильная гибридизация гетерозигот, с целью контролирования и управления знакомыми генами.

Ключевые слова: свинья, халотан тест, ДНК-тест, стресс, селекция