

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. 61 Br. 5-6 Str. 249-370 Beograd, 2007.



IZDAVAČ:

FAKULTET VETERINARSKЕ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF BELGRADE
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЈ МЕДИЦИНИ УНИВЕРСИТЕТА В БЕЛГРАДЕ

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

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK – EDITOR IN CHIEF: *Vitomir Čupić*

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD:

Vojin Ivetić, Milovan Jovićin, Vera Katić, Sanja Kovačević-Aleksić, Zoran Kulišić, Zoran Rašić, Horea Šamanc, Radoljub Tadić, Jadranka Tijanić, Dragiša Trailović

TEHNIČKI UREDNIK – TECHNICAL EDITOR: *Jadranka Tijanić*

LEKTORI – LECTORS:

Sanja Vranić, za srpski jezik / for Serbian language
Danijela Gledić, za engleski jezik / for English language
Boško Bošković, za ruski jezik / for Russian language



GODIŠNJE SE OBJAVLJUJE 6 BROJEVA ČASOPISA

Godišnja pretplata: za pravna lica 6 000 dinara
za individualne pretplatnike 2 000 dinara
za inostranstvo 200 USD
(The annual subscription outside Serbia and Montenegro is 200 US \$)

Žiro račun broj: 205-2982-66

U finansiranju časopisa učestvuje:

Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije
Publication of this journal is financially supported by:
Ministry of Science and Technological Development of Republic Serbia

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

Adresa časopisa:

Veterinarska komora Srbije – Veterinarski glasnik, 11000 Beograd,
Bulevar oslobođenja 18, tel/faks 011/2684-597, 2687-475,
e-mail: vetks@eunet.yu; www.vetks.org.yu

VETERINARSKI GLASNIK

VOL. 61

BROJ 5 - 6

STRANA 249 - 370

Beograd 2007.

5-6

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS FAKULTETA VETERINARSKЕ MEDICINE UNIVERZITETA U BEOGRADU

VET. GLASNIK Vol. 61 Br. 5 - 6 str. 249 - 370 Beograd, 2007.

SADRŽAJ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

ORIGINALNI RADOVI – ORIGINAL PAPERS – ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

- Lupulović Diana, Milić N., Petrović T., Prodanov Jasna, Lazić S.: Ispitivanje značaja vakcinacije protiv parvoviroze svinja kod perzistentno inficiranih krmača
Investigations of Significance of Vaccination Against Swine Parvovirus in Persistently Infected Sows
Испытание значения вакцинации против парвовируса у перзистентно инфицированных свиноматок **251**

- Tokić Vesna, Lazarević M., Sinovec Z., Baltić M. Ž., Jokić Ž.: Uticaj različitih aditiva u ishrani brojlera na proizvodne rezultate i klanične parametre
The Influence of Different Feed Aditives in Broiler Diets on Productivity and Meat Yield
Влияние различных аддитивов в кормлении бройлеров на производственные результаты и убойные параметры бройлерных цыплят **261**

- Milanović Svetlana, Lazarević M., Jokić Ž., Pešut Olivera, Kirovski Danijela, Jovanović I.: Uticaj organski i neorganski vezanog gvožđa na proizvodne rezultate brojlera
The Influence of Organic and Inorganic Fe Supplementation on Productivity of Broilers
Влияние органически и неорганически связанного железа на производственные результаты бройлеров **279**

- Jonić B., Mirilović M.: Prilog poznavanju apsorpcije kolostralnih imunoglobulina teladi u intenzivnim uslovima gajenja
Contribution to Knowledge of Colostral Immunoglobulin Absorption in Intensively Bred Calves
Приложение познанию абсорбции колостральных иммуноглобулинов телят в интенсивных условиях выращивания **291**

- Giadinis N. D., Filliusis G., Lafi S. Q., Panousis N., Pourliotis K., Bojkovski J., Karatzias H.: Field Evaluation of an Orf Vaccine in Sheep and Goat Flocks With High Neonatal Mortality
Procena orf vakcine na terenu kod stada ovaca i koza sa visokom neonatalnom smrtnošću
Оценка орф вакцины на месте у отары овец и коз с высокой новорожденной смертностью **301**

- Softić Almira, Gagić A., Kavazović Aida, Crnković Č., Katica V., Šakić V.: Influence of Stocking Density on Body Conformation in Broilers
 Uticaj gustoće naseljenosti na telesnu konformaciju kod pilića
 Влияние густоты населённости на конформацию тела у цыплят в откорме **313**

STRUČNI RADOVI – PROFESSIONAL PAPERS – СПЕЦИАЛИСТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

- Kobal S., Čupić V.: Značaj ispitivanja lekova koji se koriste u veterinarskoj medicini
 Importance of the Evaluation of Drugs Used in Veterinary Medicine
 Значение испытания лекарств, используемые в ветеринарной медицине **325**
- Petričević S. M., Ilić Tamara, Dimitrijević Sanda: Savremeni modeli i perspektiva kontrole parazitskih bolesti
 Contemporary Models and Prospects of Control of Parasitic Diseases
 Современные модели и перспектива контроля паразитарных болезней **337**

PRIKAZ SLUČAJA – CASE REVIEW – ОБЗОРЫ РАБОТЫ

- Prokić B., Lazarević-Macanović Mirjana, Prokić B. B.: Sanacija otvorenog preloma ramene kosti sove
 Healing of Open Fracture of Shoulder Bone in Owl
 Санация открытого перелома плечевой кости совы **351**

PRIKAZI KNJIGA – BOOK REVIEWS – ПРИКАЗ КНИГИ **359**

DIPLOMIRANI STUDENTI - DOKTORI VETERINARSKJE MEDICINE – GRADUATE STUDENTS
 - ДОКТОРЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ **363**

UPUTSTVO AUTORIMA - NOTES FOR CONTRIBUTORS **367**

**ISPITIVANJE ZNAČAJA VAKCINACIJE PROTIV
PARVOVIROZE SVINJA KOD PERZISTENTNO
INFICIRANIH KRMAČA***
*INVESTIGATIONS OF SIGNIFICANCE OF VACCINATION AGAINST
SWINE PARVOVIROSIS IN PERSISTENTLY INFECTED SOWS*

Diana Lupulović, N. Milić, T. Petrović, Jasna Prodanov, S. Lazić**

Parvovirusna infekcija svinja je oboljenje koje se manifestuje re- produktivnim poremećajima kod krmača i nazimica u vidu anestrija, prevremenih porođaja, pobačaja, mumifikacijom plodova, rađanjem slabovitalne prasadi i/ili smanjenim brojem prasadi u leglu. Infekcija je na farmama sa intezivnim uzgojem svinja prisutna u vidu endemske infekcije, kako u svetu tako i kod nas. Sprečavanje pojave i širenja ovog obolenja obezbeđuju pravovremena dijagnostika i adekvatna imunoprofilaksa.

Eksperimentalnim ispitivanjem obuhvaćena je 21 krmača, koje su svrstane u dve ogledne i treću, kontrolnu grupu. Prva ogledna grupa životinja vakcinisana je pre pripusta jednokratno, inaktivisanom vakcinom Porcilis Parvo, a druga ogledna grupa dvokratno, u intervalu od 3 nedelje, takođe inaktivisanom vakcinom Parvovax. Krmače kontrolne grupe nisu vakcinisane. Uzorkovanje krvi svih životinja vršeno je 4 puta tokom trajanja ogleda, a utvrđivanje specifičnih antitela protiv parvovirusa svinja vršeno je metodom inhibicije hemaglutinacije (HI test). Rezultati ispitivanja ukazuju na porast titra specifičnih antitela posle vakcinacije perzistentno inficiranih krmača parvovirusom svinja, odnosno prisutna antitela nisu sprečila stvaranje imunološkog odgovora. Poređenjem geometrijskih srednjih vrednosti titra antitela vakcinisanih krmača, ustanovljeno je da je značajan rast nivoa antitela nastao posle dvokratne vakcinacije Parvovax vakcinom u odnosu na vrednosti titra kod krmača koje su vakcinisane Porcilis Parvo vakcinom jednokratno. Kod kontrolnih životinja, prosečna vrednost nivoa antitela bila je više-

* Rad primljen za štampu 6. 02. 2008. godine

** Mr sci. med. vet. Diana Lupulović, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad; dr sci. med. vet. Nenad Milić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr sci. med. vet. Tamaš Petrović, naučni saradnik, mr sci. med. vet. Jasna Prodanov, istraživač saradnik, dr sci. med. vet. Sava Lazić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad

struko niža u poređenju sa utvrđenim vrednostima kod oglednih grupa. Time se smatra opravdanim sprovođenje imunoprofilakse protiv parvoviroze svinja putem vakcinacije krmača i nazimica pre pripusta, inaktivisanim vakcinama.

Ključne reči: parvoviroza svinja, perzistentna infekcija, inaktivisane vakcine

Uvod / Introduction

Parvovirus svinja (PPV) pripada porodici *Parvoviridae* i rodu *Parvovirus* (Cartwright i Huck, 1967; Tijssen, 1999). Virus izaziva reproduktivne probleme, i to najčešće bez klinički manifestnih simptoma. Ugrožene kategorije su seronegativne nazimice i krmače koje dolaze u kontakt sa već zaraženim jedinkama, ali i perzistentno inficirane životinje kod kojih se bolest javlja u vidu inaparentne infekcije. Kod krmača koje se inficiraju pre 70. dana gestacije, bolest se najčešće ispoljava u subakutnoj formi i jedinu kliničku sliku predstavljaju iznenadni pobačaj, pobačanje, anestrija, rađanje slabovitalne prasadi, rađanje malog broja prasadi u leglu i pojava mumificiranih plodova. Ukoliko infekcija nastupi posle 70. dana gestacije, plod preživljava infekciju, postaje imunokompetentan i stvara imunološki odgovor. Ove životinje kasnije rasejavaju virus tokom života (Rogan i sar., 2002; Huysman i sar., 1992; Gradil i sar., 1990).

U cilju otkrivanja parvovirusa u ispitivanom materijalu, u laboratorijskim uslovima, koriste se izolacija virusa, identifikacija virusnih antigena i genoma u tkivu. Od seroloških metoda za utvrđivanje visine titra specifičnih antitela protiv PPV-a u krvnom serumu najčešće se koriste test inhibicije hemaglutinacije (HI test) i imunoenimski test (ELISA), a ređe virus-neutralizacioni test (VN test). Savremenu dijagnostičku metodu za dokazivanje parvovirusa predstavlja PCR tehnika (Polimerase Chain Reaction) (Mengeling i sar., 2000; Simson i sar., 2002).

Parvovirusna infekcija se javlja u vidu endemske infekcije kod većine ispitanih zapata svinja, kako u svetu tako i kod nas (Pančić Beba i sar., 1992). Dijagnostička istraživanja su pokazala da je PPV jedan od najznačajnijih uzročnika embrionalnog i fetalnog uginuća (Mengeling i sar., 2000). U našim krajevima infekcija je prvi put zabeležena 70-ih godina prošlog veka i od tada je stalno prisutna, naročito među klinički zdravim svinjama u intenzivnom uzgoju u vidu inaparentne infekcije perzistentnog karaktera (Došen i sar., 2002). U toku 1987. godine na 14 farmi u Srbiji utvrđeno je da je 81% krmača, 75,2% nazimica, 30,2% nerastova i 3% prasadi bilo seropozitivno na prisustvo parvovirusa svinja, sa vrednostima titra antitela većim od 1:512 (Pančić Beba i sar., 1992). Sprovedena istraživanja u periodu od 1998–2002. god. pokazala su da se procenat seropozitivnih životinja kretao od 70–77% (Došen i sar., 2002).

Ustanovljeno je da se nazimice pre prispusta inficiraju međusobnim kontaktom i mešanjem sa zaraženim krmačama, pošto se virus prenosi oronazalnim putem, sekretom i ekskretom. Na taj način dolazi do razvitka aktivnog imuniteta kod mladih životinja, ali se o njegovoj perzistenciji i efikasnosti ne zna mnogo. Krmača koja ima visok titar specifičnih antitela protiv PPV-a putem kolostruma može zaštititi svoju prasad (Mengeling i sar., 2000). Takođe, postoji i mogućnost česte pojave tzv. "akutnih naleta" bolesti, što se u literaturi objašnjava kao pojava povremene akutne forme bolesti sa velikim brojem pobačaja i ekonomskim gubicima (Pančić Beba i sar., 1992). Jedna od preporučljivih mera imunoprofilakse je vakcinacija priplodnih nazimica i krmača protiv parvovirusne infekcije (Paul i sar., 1986).

Cilj našeg istraživanja je bio ispitivanje imunološke reaktivnosti perzistentno inficiranih krmača aplikacijom mrtvih (inaktivisanih) vakcina i utvrđivanjem nivoa specifičnih antitela protiv parvovirusa svinja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Eksperimentalna ispitivanja su obuhvatala 21 krmaču, koje su odgajane u farmskim uslovima intezivnog držanja. Odabrane svinje bile su melezi Velikog Jorkšira i Švedskog Landrasa, uzrasta od 7 do 8 meseci. Sve eksperimentalne životinje su bile klinički zdrave. Pre početka ogleada, svim krmačama je uzorkovana krv i testirana na prisustvo specifičnih antitela protiv PPV-a. Ustanovljeno je da su sve životinje bile seropozitivne. Krmače su zatim podeljene na dve ogledne i treću, kontrolnu grupu. Svaku eksperimentalnu grupu, uključujući i kontrolnu, činilo je 7 krmača. Krmače prve ogledne grupe vakcinisane su *Porcillis Parvo*, a druge ogledne grupe *Parvovax* vakcinom.

Porcillis Parvo i *Parvovax* su monovalentne, inaktivisane vakcine namenjene sprovođenju imunoprofilakse protiv parvoviroze svinja. *Porcillis Parvo* vakcina (*Intervet*, Holandija) sadrži inaktivisani parvovirus svinja, soj 014, koji je rastvoren u vodenom adjuvansu (*Diluvac Forte*). Preporuka proizvođača je da se nazimice vakcinišu jednokratno, dve nedelje pre pripusta. Vakcina se aplikuje u dozi od 2 ml, duboko intramuskularno, iza uha. Doza od 2 ml sadrži >2560 HA jedinica. *Parvovax* vakcina (*Merial*, Francuska) se prema preporuci proizvođača aplikuje dvokratno, duboko intramuskularno iza uha u dozi od 2 ml, u intervalu od 15–20 dana, pre pripusta. Jedna doza ove vakcine sadrži 128 HA jedinica parvovirusa svinja.

Uzorkovanje krvi svih životinja u ogledu je vršeno 4 puta, tako što je kod krmača prve grupe uzorkovanje obavljeno pred vakcinaciju, tri nedelje posle vakcinacije, šest nedelja posle vakcinacije i neposredno posle prašenja. Kod druge grupe uzorci krvi su prikupljeni neposredno pred vakcinaciju, tri nedelje posle prve vakcinacije (odnosno na dan revakcinacije), šest nedelja posle prve vakcinacije i neposredno posle prašenja. Kod kontrolne grupe (nevakcinisane

krmače) uzorkovanje krvi vršeno je u istim terminima kao i kod vakcinisanih krmača.

Za utvrđivanje visine titra specifičnih antitela protiv PPV-a u uzorcima krvnih seruma imunizovanih krmača korišćena je metoda inhibicije hemaglutinacije (HI test) (Ašanin Ružica i sar., 2006).

Rezultati / Results

Serološkim pregledom uzoraka krvnih seruma svih krmača pred vakcinaciju (ukupno 21 uzorak), ustanovljene su vrednosti titra antitela koje su prikazane u Tabeli 1.

Tabela 1. Vrednosti titra antitela protiv PPV-a u krvnom serumu krmača neposredno pred vakcinaciju /

Table 1. Titre values of antibodies against PPV in blood serum of sows immediately before vaccination

Grupe ogleđnih krmača / Group of experimental sows	Utvrđene vrednosti titra specifičnih antitela / Determined values of specific antibody titres						Ukupno / Total
	1:1024	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384	1:65536	
I <i>Porcilis Parvo</i>	2	1	3	0	0	1	7
II <i>Parvovax</i>	1	2	2	1	1	0	7
III Kontrolna grupa / Control group	1	1	1	4	0	0	7
Ukupno / Total	4	4	6	5	1	1	21

Prema prikazanim rezultatima, kod pregledanih jedinki utvrđene vrednosti titra antitela protiv PPV-a bile su u rasponu od 1:1024 do 1:65536. Posmatrano u odnosu na ukupan broj životinja pred vakcinaciju, vrednosti titra antitela od 1:1024 i 1:2048 utvrđene su kod 8 krmača, kod 6 krmača je utvrđena vrednost titra antitela od 1:4096, 5 životinja je imalo vrednost titra antitela 1:8192 i po jedna krmača 1:16384 i 1:65536.

Tri nedelje posle vakcinacije krmača protiv PPV-a ustanovljen je porast vrednosti titra specifičnih antitela protiv PPV-a (Tabela 2). Vrednosti titra antitela kretale su se u rasponu od 1:2048 do 1:32768. Vrednosti titra antitela od 1:2048, 1:4096, 1:8192 i 1:16384 ustanovljene su u krvnim serumima 4 životinje vakcinisane *Porcilis Parvo* vakcinom, dok je kod 3 krmače utvrđeni nivo antitela iznosio 1:32768. Krmače koje su vakcinisane vakcinom *Parvovax*, posle 3 nedelje su re-vakcinisane. Na dan revakcinacije kod 6 životinja ustanovljene su vrednosti titra antitela od 1:8192 i 1:16384, a kod jedne 1:32768. Kod kontrolne grupe životinja vrednosti titra antitela bile su sledeće: kod šest krmača 1:8192, a kod jedne 1:4096.

Tabela 2. Vrednosti titra antitela protiv PPV-a kod krmača 3 nedelje posle vakcinacije /
Table 2. Titre values of antibodies against PPV in sows 3 weeks after vaccination

Grupe ogleđnih krmača / Group of experimental sows	Utvrđene vrednosti titra specifičnih antitela / Determined values of specific antibody titres					Ukupno / Total
	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384	1:32768	
I <i>Porcilis Parvo</i>	1	1	1	1	3	7
II <i>Parvovax</i>	0	0	3	3	1	7
III Kontrolna grupa / Control group	0	1	6	0	0	7
Ukupno / Total	1	2	10	4	4	21

U Tabeli 3 prikazane su vrednosti nivoa antitela protiv PPV-a u krvnim serumima krmača šest nedelja posle vakcinacije *Porcilis Parvo* vakcinom, odnosno tri nedelje posle revakcinacije *Parvovax* vakcinom.

Tabela 3. Vrednosti titra antitela protiv PPV-a kod krmača 6 nedelja posle vakcinacije /
Table 3. Titre values of antibodies against PPV in sows 6 weeks after vaccination

Grupe ogleđnih krmača / Group of experimental sows	Utvrđene vrednosti titra specifičnih antitela / Determined values of specific antibody titres					Ukupno / Total
	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384	1:32768	
I <i>Porcilis Parvo</i>	0	1	3	2	1	7
II <i>Parvovax</i>	0	0	4	1	2	7
III Kontrolna grupa / Control group	1	3	3	0	0	7
Ukupno / Total	1	4	10	3	3	21

Kod krmača vakcinisanih *Porcilis Parvo* vakcinom ustanovljen je pad vrednosti titra antitela, tako da je kod 4 krmače ustanovljen nivo antitela od 1:4096 i 1:8192, kod dve životinje 1:16384, a kod jedne 1:32768. Kod krmača koje su vakcinisane i revakcinisane *Parvovax* vakcinom došlo je do porasta nivoa vrednosti antitela, tako da su četiri životinje imale vrednost titra antitela 1:8192, kod jedne je nivo antitela iznosio 1:16384, a kod dve 1:32768. Kod kontrolnih životinja utvrđeno je da je jedna krmača imala vrednost titra antitela 1:2048, a šest od 1:4096 i 1:8192.

U krvnom serumu krmača na prašenju, vakcinisanih *Porcilis Parvo* vakcinom, ustanovljen je pad vrednosti titra specifičnih antitela protiv PPV-a, dok je kod krmača vakcinisanih *Parvovax* vakcinom nivo antitela i dalje bio u porastu (Tabela 4). Kod životinja vakcinisanih *Porcilis Parvo* vakcinom, utvrđeno je da su po dve jedinice imale novo antitela od 1:4096 i 1:8192, a tri krmače 1:16384. U

krvnom serumu dve krmače vakcinisane *Parvovax* vakcinom, nivo antitela iznosio je 1: 8192 i 1:65536, a kod 3 životinje 1:16384. U krvnom serumu 4 krmače kontrolne grupe, ustanovljena je visina titra antitela od 1:4096, a kod tri od 1:8192.

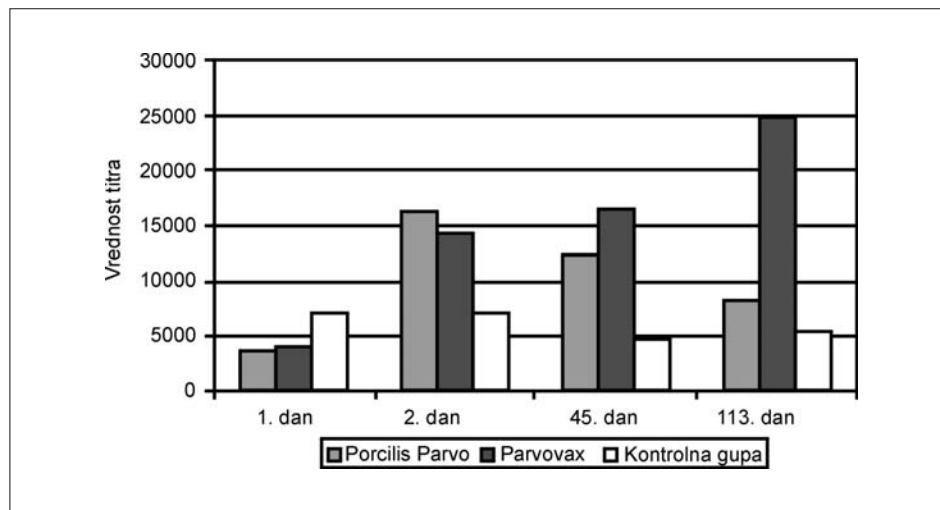
Tabela 4. Vrednosti titra antitela protiv PPV-a kod oglednih grupa krmača na prašenju /
Table 4. Titre values of antibodies against PPV in experimental groups of sows at parturition

Grupe oglednih krmača / Group of experimental sows	Utvrđene vrednosti titra specifičnih antitela / Determined values of specific antibody titres				Ukupno / Total
	1:4096	1:8192	1:16384	1:65536	
I <i>Porcillus Parvo</i>	2	2	3	0	7
II <i>Parvovax</i>	0	2	3	2	7
III Kontrolna grupa / Control group	4	3	0	0	7
Ukupno / Total	6	7	6	2	21

Diskusija / Discussion

Seropozitivnim životinjama smatraju se sve jedinke kod kojih je ustanovljena vrednost titra antitela iznosila $\geq 1:512$, a vrednosti titra antitela od 1:1024 što ukazuje na stalno prisustvo infekcije (Rogan i sar., 2002; Mengeling i sar., 2000). Ukoliko rezimiramo prethodno dobijene rezultate ispitivanja, možemo uočiti da su visoke vrednosti titra antitela protiv PPV-a ustanovljene u krvnim serumima svih krmača pre vakcinacije, što je verovatno posledica kontaktne infekcije. Vakcinacija perzistentno inficiranih jedinki izazvala je povećanje titra specifičnih antitela, tako da već prisutna antitela protiv PPV-a pre obavljanja vakcinacije nisu suprimirala imunološki odgovor. Radi boljeg prikaza, izvršeno je i poređenje geometrijskih srednjih vrednosti titra antitela GSV (Grafikon 1). U grafikonu se može uočiti da nivo antitela kod krmača vakcinisanih *Porcillus Parvo* vakcinom postepeno opada posle vakcinacije, dok je kod grupe krmača vakcinisanih i revakcinisanih *Parvovax* vakcinom titar antitela kontinuirano rastao, naročito posle revakcinacije. U grupi kontrolnih životinja, GSV titra antitela je u momentu vakcinacije bila viša u odnosu na vrednosti kod životinja oglednih grupa, ali se tokom eksperimenta nije značajnije menjala, a neposredno posle prašenja bila je višestruko niža u poređenju sa GSV titra antitela obe grupe vakcinisanih jedinki.

Slabiji imunološki odgovor koji je utvrđen kod krmača posle vakcinacije *Porcillus Parvo* vakcinom u odnosu na imunološki odgovor krmača vakcinisanih *Parvovax* vakcinom može se objasniti kao posledica jednokratne aplikacije vakcine, slabije imunogenosti vakcine, upotrebom različitih adjuvansa ili uticajem stresa. Poređenjem 6 komercijalnih vakcina protiv PPV-a (Thacker i sar., 1984) utvrđeno je da posle vakcinacije seronegativnih nazimica, tri ispitivane vakcine



Grafikon 1. Uporedni prikaz geometrijskih srednjih vrednosti titra antitela protiv PPV-a u krvnom serumu nazimica od momenta vakcinacije do prašenja /
Graph 1. Comparative presentation of geometric mean values of titres of antibodies against PPV in blood serum of gilts from moment of vaccination until parturition

nisu stimulisale imunološku reakciju kod vakcinisanih životinja, dok su druge tri izazvale serokonverziju kod pojedinih životinja u zapatu. Vakcinacija seronegativnih nazimica sa dozom vakcine koja je sadržavala 512 HA jedinica u 2 ml, stimulisala je slabiji imunološki odgovor u odnosu na vakcinu sa koncentracijom od 2048 HA jedinica u dozi (Rivera i sar., 1986). Takođe, uporednim ispitivanjem imunogenosti 4 vakcine sa različitim koncentracijama virusnog antigena po dozi (0,74 $\mu\text{g/ml}$, 0,19 $\mu\text{g/ml}$, 0,05 $\mu\text{g/ml}$ i 0,01 $\mu\text{g/ml}$), utvrđeno je da je vakcina sa najvećom koncentracijom virusnog antigena od 0,74 $\mu\text{l/ml}$, kod dvokratno vakcinisanih nazimica u farmskim uslovima držanja, izazvala zadovoljavajući imunološki odgovor (Sorensen i sar., 1988). Vakcinacija seropozitivnih nazimica, koje su imale titar specifičnih maternalnih antitela od 1:8 do 1:128, proizvela je slab imunološki odgovor posle aplikacije jedne doze, dok se posle revakcinacije titar antitela znatno povećao i iznosio je od 1:256 do 1:2048 (Paul i sar., 1986), tako da se može pretpostaviti da sprovođenje revakcinacije obezbeđuje dužu imunološku zaštitu kod vakcinisanih jedinki. Na farmi na kojoj je izveden ogled praćeno je zdravstveno stanje i reproduktivni parametri i nisu ustanovljene razlike u broju živorođene i mrtvorodene prasadi između krmača koje su vakcinisane i krmača koje su se inficirale prirodnim putem. Ali, zbog već pomenute pojave "akutnog naleta" bolesti, vakcinacija je preporučljiva kao mera zaštite. Ekonomska analiza troškova vakcinacije pokazala je da ukoliko se PPV epidemija na farmi pojavi samo jednom u 10 godina, ekonomski gubici koji tada nastaju veći su nego posle sprovođenja redovnog programa vakcinacije protiv parvoviroze svinja tokom is-

tog vremenskog perioda (Parke i sar., 1993). Prethodno izneti literaturni podaci, kao i dobijeni rezultati istraživanja, ukazuju na potrebu sprovođenja imunoprofilakse protiv parvoviroze svinja putem vakcinacije krmača i nazimica pre pripusta, inaktivisanim vakcinama.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja može se zaključiti sledeće:

– Prisutna specifična antitela protiv parvoviroze svinja u krvnom serumu krmača nisu sprečila stimulaciju imunog odgovora posle vakcinacije inaktivisanim vakcinama protiv parvoviroze svinja.

– Dvokratnom vakcinacijom krmača postignute su bolje vrednosti u odnosu na jednokratnu vakcinaciju, koje se ogledaju u postizanju višeg nivoa antitela i dužem trajanju humoralnog imuniteta.

– Upotreba inaktivisane vakcine je jedan od dobrih načina kontrole parvovirusne infekcije i mogućnosti da krmače stvore aktivan imunitet pre pripusta i koncepcije. Vakcinacija predstavlja i meru sprečavanja "akutnih naleta" bolesti sa pojavom povremenih reproduktivnih problema i značajnih ekonomskih gubitaka.

Literatura / References

1. Ašanin R, Krnjaić D, Milić N. Priručnik sa praktičnim vežbama iz mikrobiologije sa imunologijom, Autorsko izdanje, Beograd, 2006.
2. Cartwright SF, Huck RA. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. *Vet Rec* 1967; 81: 196-7.
3. Došen R, Gagrčin M, Jasna Prodanov, Orlić D. Parvoviroza svinja. *Veterinarski glasnik* 2002; 56(1-2): 13-9.
4. Gradil C M, Joo HS, Molitor TW. Persistence of Porcine Parvovirus in Swine Infected In Utero and Followed through Maturity. *J Vet Med* 1990; (B 37): 309-16.
5. Huysman CN, van Leengoed LAMG, De Jong MCM, van Osta ALM. Reproductive failure associated with porcine parvovirus in an enzootically infected pig herd. *Vet Rec* 1992; 131: 503-6.
6. Mengeling LW, Lager MK, Vorwald CA. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 2000; 60-61: 199-210.
7. Pančić B, Lončarević A, Jermolenko G, Knežević N, Dragić H, Tot G, Pavičević M. Parvovirusna infekcija svinja: reproduktivni gubici i vakcinacija. *Veterinarski glasnik* 1992; 46(6): 323-30.
8. Parke CR, Burgess GW. An economic assessment of porcine parvovirus vaccination. *Australian Veterinary Journal* 1993; 70(5).
9. Prem PS, Mengeling LW. Vaccination of swine with an inactivated porcine parvovirus vaccine in the presence of passive immunity. *JAVMA* 1986; 188(4).

10. Rivera E, Sjosten CG, Bergman R, Karlsson KA. Porcine Parvovirus: propagation in microcarrier cell culture and immunogenic evaluation in pregnant gilts. *Research in Veterinary Science* 1986; 41: 391-6.
11. Rogan D, Petrović T, Lazić S. Novija saznanja o parvovirusnim infekcijama svinja. Zbornik referata i kratkih sadržaja, 14. savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor, 2002.
12. Simson A, Hebert B, Sullivan MG, Parrish RC, Zadori Z, Tijssen P, Rossmann M. The structure of porcine parvovirus: comparison with related viruses. *Journal of Molecular Biology* 2002; 315(5): 1189-98.
13. Sorensen KJ, Madsen P, Lei JC. Efficacy of an Inactivated Porcine Parvovirus (PPV) Vaccine under Field Conditions. *Acta Vet Scand* 1988; 29: 295-302.
14. Tijssen P. Molecular and structural basis of the evolution of parvovirus tropisam. *Acta Veterinaria Hungarica* 1999; 47(3): 379-4.
15. Thacker B J, Larsen R, E Joo H S, Leman A D. Swine diseases transmissible with artificial insemination, *JAVMA* 1984; 185(5): 511-6.

ENGLISH

INVESTIGATIONS OF SIGNIFICANCE OF VACCINATION AGAINST SWINE PARVOVIROSIS IN PERSISTENTLY INFECTED SOWS

Diana Lupulović, N. Milić, T. Petrović, Jasna Prodanov, S. Lazić

Parvoviral infection of swine is a disease which is manifested in reproductive disorders in sows and gilts in the form of anestrus, premature births, miscarriages, mummified fetuses, the birth of poorly vital piglets and/or a reduced number of piglets in the litter. The infection is present in farms with intensive breeding conditions in the form of an endemic infection, all over the world, and also in our country. Timely diagnostics and adequate prophylaxis prevent the occurrence and spread of this disease.

Experimental investigations covered 21 sows, divided into two experimental and a third, the control, group. Animals of the first experimental group were vaccinated once before exposure to the boar using an inactivated vaccine, Porcilis Parvo, and animals of the second experimental group were vaccinated twice at an interval of 3 weeks, also using an inactivated vaccine, Parvovax. Sows of the control group were not vaccinated. Blood samples were taken from all animals four times during the course of the experiment, and specific antibodies against the swine parvovirus were determined using the method of hemagglutination inhibition (HI test). The results of the investigations indicate that there was an increase in the titre of specific antibodies following the vaccination of persistently infected sows with the swine parvovirus, and that the present antibodies did not prevent the creating of an immune response. It was established following a comparison of the geometric mean values of antibody titres of vaccinated sows that there was a significant increase in the antibody level following the two vaccinations using the Parvovax vaccine, against the titre values in sows vaccinated once with the Porcilis Parvo vaccine. In control animals, the average value of the antibody level was many times lower in comparison with the established values in the experimental groups. This provides justification for the implementation of immunoprophylaxis against swine parvovirus by the vaccination of sows and gilts before mating using inactivated vaccines.

Key words: swine parvovirus, persistent infection, inactivated vaccines

ИСПЫТАНИЕ ЗНАЧЕНИЯ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ПАРВОВИРОЗА У ПЕРСИСТЕНТНО ИНФИЦИРОВАННЫХ СВИНОМАТОК

Диана Лупулович, Н. Милич, Т. Петрович, Ясна Проданов, С. Лазич

Парвовирусная инфекция свиней заболевание, манифестируемое репродуктивными расстройствами у свиноматок и зимних свиней в виде анестрий, преждевременных родов, выкидышей, мумификацией плодов, рождением слабовитальных поросят и/или уменьшенным числом поросят в выводке. Инфекция на фермах с интенсивным выращиванием свиней присутствующая в виде эндемической инфекции, как в мире так и у нас. Предупреждение явления и расщирения этого заболевания обеспечивают своевременная диагностика и адекватная иммунопрофилактика.

Экспериментальным испытанием охвачена 21 свиноматка, построенные в две опытные и третью, контрольную группу. Первая опытная группа животных, вакцинированная до припуска однократно, инактивационной вакциной "Процилис Парво", а вторая опытная группа двукратно, в интервале от 3 недели, также инактивационной вакциной "Парвовакс". Свиноматки контрольной группы не вакцинированы. Образчикование крови всех животных совершено нами 4 раза в течение продолжительности опыта, а утверждение специфических антител против парвовирусов свиней совершено нами методом торможения гемагглютинации (ГТ тест). Результаты испытания указывают, что пришло до роста титра специфических антител после вакцинации перзистентно инфицированных свиноматок парвовирусом свиней, то есть присутствующие антитела не предупредили создание иммунологического ответа. Сравнением геометрических средних стоимостей титра антител вакцинированных свиноматок, установлено нами, что значительный рост уровня антител возник после двукратной вакцинации "Парвовакс" вакциной в отношении стоимостей титра у свиноматок, вакцинированные "Процилис Парво" вакциной однократно. У контрольных животных, средняя стоимость уровня антител была многосложно более низкая в сравнении с утверждёнными стоимостями у опытных групп. Тем считается оправданным проведение иммунопрофилактики против парвовируса свиней путём вакцинации свиноматок и зимних свиней до припуска, инактивационными вакцинами.

Ключевые слова: парвовирус свиней, перзистентная инфекция, инактивационные вакцины

**UTICAJ RAZLIČITIH ADITIVA U ISHRANI BROJLERA NA
PROIZVODNE REZULTATE I KLANIČNE PARAMETRE***
*THE INFLUENCE OF DIFFERENT FEED ADITIVES IN BROILER
DIETES ON PRODUCTIVITY AND MEAT YIELD*

Vesna Tokić, M. Lazarević, **Z. Sinovec**, M. Ž. Baltić, Ž. Jokić**

Cilj ovih istraživanja je bio da se ispita uticaj prebiotika na bazi manan-oligosaharida i polisaharidnih kompleksa mikro elemenata (Fe, Cu, Zn, Mn) na proizvodne rezultate i klanične parametre kod brojler-skih pilića hibrida Arbor Acres. Ogled je izveden na 186 pilića razvrstanih u tri jednake grupe, trajao je 42 dana i bio podeljen u 3 faze. Prva faza trajala je 21, druga 14, a treća 7 dana. Potpuna smeša za početni tov pilića korišćena je od 1-21 dana, a potpune krmne smeše za završni tov od 21-35 dana, odnosno 35-42 dana ogleda. Ishrana je bila po volji, a pilići su bili u uslovima podnog sistema držanja.

Brojleri hranjeni smešama standardnog sirovinskog sastava i uobičajene hranljive vrednosti, ostvarili su prosečan dnevni prirast od 49,10 g pri prosečnoj dnevnoj konzumaciji hrane od 115,55 g i uz konverziju hrane od 2,35 dok je randman bio 71,90%. Dodavanje prebiotika na bazi manan-oligosaharida dovelo je do povećanja prosečnog dnevnog prirasta za 14,95% pri manjoj konzumaciji hrane za 2,67% i boljoj konverziji za 15,32%, dok je randman bio približno isti kao u kontrolnoj grupi. Korišćenjem smeša u koje su dodavani polisaharidni kompleksi mikroelemenata (Fe, Cu, Zn, Mn) postignuti su veći dnevni prirasti za 11,43%, pri manjoj konzumaciji hrane za 4,28% i boljoj konverziji za 14%. Randman je i u ovoj grupi bio približno isti kao u kontrolnoj.

Rezultati ostvareni u ovim istraživanjima, u toku celog oglednog perioda, ukazuju da je upotreba ispitivanih aditiva značajno uticala na prirast i telesnu masu pilića i da ima nutritivno i ekonomsko opravdanje.

Ključne reči: brojleri, tov, manan-oligosaharidi, polisaharidni kompleksi mikroelemenata, klanični parametri

* Rad primljen za štampu 22. 04. 2008. godine

** Mr. sci. med. vet. Vesna Tokić, Poljoprivredno veterinarska škola, Svilajnac; dr. sci. med. vet. Miodrag Lazarević, red. profesor, dr. sci. med. vet. Zlatan Sinovec, profesor, dr. sci. med. vet. Milan Ž. Baltić, red. profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr. sci. Živan Jokić, Poljoprivredni fakultet, Zemun

Uvod / Introduction

U cilju povećanja proizvodnje i poboljšanja kvaliteta namirnica, pored osnovnih hraniva, u smeše za ishranu životinja se dodaje veliki broj aditiva koji imaju različite namene. Aditivi se obično definišu kao supstancije koje, dodate drugim hranivima u malim količinama, potenciraju korisne a smanjuju eventualne štetne efekte. Poslednjih godina se u živinarskoj proizvodnji koristi veći broj aditiva na bazi manan-oligosaharida (MOS) i organifikovanih mikroelemenata. Zbog toga smo u ovom ogledu ispitivali pod istim uslovima, proizvodne efekte i uticaj na klanične parametre ove dve vrste aditiva.

Ispitivanjem proizvodnih rezultata Arbor Acres brojlera u našoj zemlji, utvrđena je telesna masa piladi na početku, sredini i kraju tova od 34,90; 1044,92 i 1869,96 g. Ostvaren je prosečan dnevni prirast od 43,69 g pri konverziji hrane od 1,715 kg i uz mortalitet od 6,67% (Hopić i sar., 1993). U jednom sličnom ogledu, prosečna telesna masa piladi je nakon tova od 42 dana, bila $1934,40 \pm 221,41$ g, a postignuta je konverzija hrane od 2,032 kg uz mortalitet od 8,80% (Vračar i sar., 1997). Prema rezultatima nekih novijih istraživanja proizvodnih rezultata brojlera Arbor Acres provenijence na 500 jedinki, telesna masa piladi na početku i na kraju tova bila je, istim redom, 38,9 i 1883,7 g. Ostvaren je prosečan dnevni prirast od 43,92 g pri konverziji hrane od 2,03 kg i uz mortalitet od 4,4% (Tolimir i sar., 2000). U ponovljenim ispitivanjima telesna masa piladi na 14, 28 i 42. dana tova bila je, istim redom, 287,87; 951,85 i 1861,91 g. Ostvarena je konverzija hrane od 2,11 kg i uz mortalitet od 4,56% (Bogosavljević-Bošković i sar., 2002).

Ispitivanjem klaničnih rezultata brojlera različitih provenijenci, utvrđen je randman hibrida Arbor Acres od 66,49% (Hopić i sar., 1993) dok je u drugom sličnom ogledu randman bio $68,88 \pm 1,34\%$ (Vračar i sar., 1997). Može se smatrati da je randman hibrida Arbor Acres oko 67,5% (Lukić, 2001).

Potpuniji podaci za ocenu kvaliteta mesa brojlera dobijaju se rasecanjem ohlađenih trupova na osnovne delove, odnosno utvrđivanjem njihovog udela u masi trupa. U masi trupa komercijalnih hibrida, učešće grudi se kreće između 28,9-30,0%, bataka i karabataka 32,0-34,1% i leđa sa karlicom 36,3-38,1% (Ellen i sar., 1973). U okviru istraživanja izvedenih na brojlerima Arbor Acres provenijence, utvrđeno je da se u masi trupa učešće grudi kreće oko 18,85%, bataka i karabataka 21,32% i leđa sa karlicom 25,92% (Lukić, 2001).

Princip dejstva manana bazira se na kompatibilnosti strukture manosa i lektina koji se nalaze na bakterijskim pilama i fimbrijama. Iz ovog razloga MOS sprečavaju adharenciju patogenih bakterija za sluzokožu creva i ubrzavaju njihovu eliminaciju iz digestivnog trakta. Pored lokalnog, manan-oligosaharidi imaju i sistemske efekte na ljude i životinje koji se prvenstveno ogledaju u pozitivnom dejstvu na imuni sistem u slučajevima različitih tumora i bakterijskih infekcija. Povećanje imunološkog odgovora je uglavnom rezultat dejstva manan-oligosaharida na makrofage i monocite i ogleda se u stimulanju fagocitoze, oslobađanju arahidonske kiseline, leukotrijena, interleukina, interferona i faktora nekroze

tumora. Manan-oligosaharidi doprinose povećanoj vitalnosti životinja, redukciji gubitaka i povećanju iskorišćavanja hrane čime se postižu optimalni proizvodni rezultati i povoljan ekonomski efekat. Zbog toga su oni već duže vreme integralni deo mnogih industrijskih proizvedenih krmnih smeša.

Bimos® je proizvod dobijen frakcionisanjem ćelijskog zida kvasca *Saccharomyces cerevisiae* 1026 koji sadrži složene ugljene hidrate, pretežno manan-oligosaharide međusobno vezane 1-3 vezama i u manjoj meri 1-6 vezama. Lanci manan-oligosaharida, različitih veličina, eksponirani su na spoljašnjoj površini ćelija kvasca i povezani su sa proteinima ćelijskog zida.

U literaturi postoje izvesna neslaganja oko uticaja manan-oligosaharida na svarljivost hranljivih sastojaka, kao i njihovog uticaja na proizvodne rezultate. Pojedini autori (Waldroup i sar., 1990) nisu uspeli da jasno utvrde negativan uticaj oligosaharida na svarljivost, dok veći broj autora (Trevino i sar., 1990; Carre i sar., 1995; Durst, 1996) tvrdi da korišćenje oligosaharida ne utiče bitno na svarljivost pojedinih sastojaka.

U jednom ispitivanju (Kumprecht i sar., 1998) efekata Bio-Mosa na svarljivost hranljivih sastojaka i proizvodne rezultate brojlera izvršenom na 560 brojlera Ross provinijence koji su hranjeni smešama sa različitim količinama Bio-Mosa utvrđeno je da su tokom prve tri nedelje brojleri oglednih grupa postigli značajno veću ($p < 0,01$) telesnu masu za (11,1-17,6%). U drugom delu oglada je ovo povećanje bilo značajno ($p < 0,05$) i to za 2,7-5,1%. U isto vreme, konverzija je bila bolja za 6,6-11,1%, odnosno 2,3-11,4%. Bolje proizvodne rezultate autori povezuju sa boljom svarljivošću proteina (za 5,4%) i posebno sirovih vlakana (61,5-147,7%). Iste godine je u tovu brojlera sa 0,1% Bio-Mosa u hrani, postignuta veća telesna masa brojlera za 3,8% uz konzumaciju, odnosno konverziju hrane nižu za 2,0, odnosno 5,4%. Interesantno je istaći da su se navedeni pozitivni efekti ispoljili tek na kraju šestonedelnog tova, dok su tokom tova bili numerički slični ili niži nego u kontrolnoj grupi brojlera (Roch, 1998).

Ispitivanjem efekata Bio-Mosa na proizvodne rezultate brojlera utvrđeno je povećanje dnevnog prirasta za 4% do 21. dana, a zatim do kraja oglada za 6%. U isto vreme, pri identičnoj konzumaciji, postignuta je signifikantno bolja konverzija hrane za 5%. Statističke razlike u mortalitetu između grupa nisu utvrđene, ali je mortalitet numerički bio niži u grupi sa Bio-Mosom. Dobijeni podaci ukazuju da su efekti ovog preparata izraženiji u završnom periodu porasta (Petersen, 1998).

Rezultati dva oglada izvedena u cilju ispitivanja uticaja manan-oligosaharida na proizvodne rezultate brojlera ukazuju da korišćenje Bio-Mosa u količini od 0,1, odnosno 0,2% VSM hrane ima za posledicu statistički značajno veću telesnu masu brojlera (u prvom ogledu za 4,8, a u drugom 5,5%). U isto vreme, konverzija hrane, istim redom, bila je niža za 8,9, odnosno 4,9%. Statističke razlike u mortalitetu između grupa nisu utvrđene, ali je on numerički bio niži u oglednoj grupi (Newman, 1999). Upotrebom manan-oligosaharida u koncentraciji od 0,3% VSM hrane brojleri su postigli statistički značajno veći prirast (do

12,6%) i konverziju hrane nižu do 2,2% (Iji i Tivey, 1998). U ogledu izvedenom na ukupno 900 jednodnevnih brojlera Hybro provinijence u trajanju od 42 dana, kontrolna grupa brojlera je postigla dnevni prirast od 41,70 g pri konzumaciji hrane od 93,38 g i uz konverziju hrane od 2,29 kg. Korišćenjem manan oligosaharida postignut je veći prirast za 7-12% uz manju konzumaciju hrane za 6-7% i bolju konverziju hrane za 13-17% (Pupavac i sar., 2007).

Pored neorganskih formi mineralnih materija, danas se sve više koriste tzv helatne forme, odnosno organski vezani mikroelementi (Hynes i Kelly, 1995). "Kompleks" je termin koji označava jedinjenje koje nastaje kada metalni jon reaguje sa ligandom, odnosno molekulom ili jonom koji sadrži atom sa slobodnim parom elektrona. Kada se formira kompleks koji poseduje jedan ili više heterocikličnih prstenova on se naziva helat. Komercijalni mineralni dodaci se opisuju kao proteinati, a biopleksi su smeše amino kiselina i peptida.

Uočeno je da su minerali vezani za amino kiseline ili peptide bolje zaštićeni za vreme pasaže kroz želudac do mesta resorpcije nego neorganske soli. Ovo se objašnjava činjenicom da su mineralne materije vezane za aminokiseline praktično bez električnog naboja, tako da ne reaguju na promene pH tokom pasaže kroz digestivni trakt. Elektroneutralnost helata je njihova veoma važna osobina, naročito za resorpciju, imajući u vidu naelektrisanje intestinalne sluzokože. Pozitivno naelektrisani kompleksi se jednostavno zalepe za površinu sluzokože umesto da prodru kroz nju. Nasuprot tome, negativno naelektrisani kompleksi se odbijaju od površine crevne sluznice zbog toga što imaju isti električni naboj. Takođe, smatra se da amino kiseline ili dipeptidi mogu da posluže kao nosači minerala kroz zid digestivnog trakta povećavajući resorpciju. Na taj način se mineralne materije, umesto da postanu nerastvorljive, unose u fiziološki prihvatljivoj formi za resorpciju i rešavaju postojeći problem mineralne deficijencije (Lyons, 1994).

Helatne forme mikroelemenata posebni značaj imaju u slučajevima pojave oboljenja ili stresa kada organizam pokazuje povećane potrebe u mikroelementima. U toku akutnog imunološkog odgovora koncentracija mikroelemenata u krvnoj plazmi (pre svega cinka, gvožđa i mangana) se smanjuje usled redistribucije navedenih minerala u efektorske ćelije imunog sistema (makrofagi, neutrofilni leukociti, limfociti). Za razliku od neorganskih soli, koje samo prolazno povećavaju koncentraciju unetih mikroelemenata, helatne forme znatno duže održavaju visoku koncentraciju minerala u krvi. Kako se resorpcija organski vezanih mikroelemenata ne vrši konvencionalno (nosač/difuzija), direktna homeostatska kontrola na nivou enterocita ne postoji, a pored toga retencija i biološki poluzivot helatnog oblika su veći nego kod anorganske forme (Lyons, 1994).

Pored proteinata, poslednjih godina se koriste i polisaharidni kompleksi mikroelemenata (Gallaher i sar., 1999). Za razliku od proteinata koji se sintetišu hemijskim putem, polisaharidni kompleksi mikroelemenata se dobijaju kontrolisanim hidrotermičkim procesom koji dovodi do formiranja elektrostatičkih veza između pozitivno naelektrisanih metalnih jona i negativnih jona na spe-

cifičnim polisaharidima dobijenim iz morskih algi. Nagrađeni kompleks štiti mikroelemente od mogućih interakcija u gornjim partijama digestivnog trakta, a pre svega u želucu. U tankom crevu, polisaharidi se razlažu delovanjem pankreasne amilaze pri čemu se oslobađaju metalni joni čime se omogućava resorpcija mikroelemenata prirodnim putem.

Od posebnog je značaja podatak da su polisaharidi kompleksi mešavina kompleksa različite rastvorljivosti što omogućava postepeno oslobađanje metalnih jona u digestivnom traktu koje se odvija u dužem vremenskom periodu (Salzer i sar., 1997). Oko 30% ovih kompleksa su nerastvorljivi metal-polisaharidni kompleksi, a ostatak čine čvrsto vezani i slabo vezani voda-metal-polisaharidni kompleksi. Takva priroda vezivanja omogućava dugotrajnije otpuštanje mikroelemenata u gastrointestinalnom traktu, a time i ravnomernije snabdevanje i uspešniju resorpciju.

Veoma je važno da polisaharidni kompleksi redukuju reaktivnost mikroelementa čime se prevenira interakcija među mineralima i formiranje nerastvorljivih i neiskoristivih metal-fosfat kompleksa sa fosfatima prisutnim u hrani. Isto tako, smanjen je štetan uticaj mineralnih materija na stabilnost vitamina. Ispitivanje bioiskoristivosti polisaharidnih mikroelemenata ukazalo je da se oni 2,5 puta bolje koriste od sulfatnih, a čak 3,2 puta bolje od oksidnih formi (Ho i Hidirglou, 1997). Zbog navedenih osobina, mikroelementi protektirani ugljenim hidratima omogućavaju maksimalno zadovoljenje potreba životinja uz istovremenu redukciju suplementacije hrane neorganskim izvorima mikroelemenata.

Polisaharidni kompleksi mikroelemenata su u praksi doveli do optimizacije proizvodnih rezultata stimulacijom prirodnih enzimskih, hormonskih i imunoloških funkcija jedinki. Najznačajniji rezultati su postignuti u poboljšanju dnevnog prirasta i smanjenju konverzije u ishrani teladi i prasadi (Steam i Gezer, 1998). Osim toga, poboljšane su reproduktivne karakteristike krmača i krava, reproduktivni vek je produžen, a u mleku krava smanjen je broj leukocita. Do sad su primenjivani organski kompleksi mikroelemenata u praksi često dovodili do optimizacije proizvodnih rezultata stimulacijom prirodnih enzimskih, hormonskih i imunoloških funkcija jedinki.

Kvantitativne i kvalitativne osobine mesa brojlera uslovljene su velikim brojem faktora koji deluju interakcijski i veoma ih je teško posmatrati odvojeno. Veliki broj autora među najvažnije faktore za procenu mesa brojlera svrstava masu trupa i udeo osnovnih delova u obrađenim trupovima. Potpuni podaci za ocenu kvaliteta mesa brojlera dobijaju se rasecanjem ohlađenih trupova na osnovne delove, odnosno utvrđivanjem njihovog udela u masi trupa. U masi trupa komercijalnih hibrida, učešće grudi se kreće između 32,0-34,1 %, leđa sa karlicom 36,3-38,1%.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

U tabeli 1. je prikazan hemijski sastav smeša korišćenih za ishranu pilića u ogledu. Iz tabele se uočava da je hemijski sastav potpunih smeša bio takav da zadovoljava potrebe i odgovara zahtevima koji su postavljeni prilikom formiranja ogleda (AEC, 1993).

U smešama za ishranu prve ogledne grupe (O I) Bio-Mos je korišćen u količini 0,2% dok je u smešama za ishranu druge ogledne grupe (O II) 30% sulfatnih izvora Fe, Cu, Zn, Mn bilo zamenjeno organifikovanim mikroelementima.

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

Hemijski sastav / <i>Chemical composition</i>	u % smeše / <i>in % mix</i>		
	1-21 dan / <i>days 1-21</i>	21-35 dana / <i>days 21-35</i>	35-42 dana / <i>days 35-42</i>
Voda / <i>Water</i>	10,96	11,32	11,58
Pepeo / <i>Ash</i>	5,47	5,16	4,79
Protein / <i>Protein</i>	22,38	19,51	17,27
Mast / <i>Lipids</i>	6,87	6,01	5,50
Celuloza / <i>Cellulose</i>	3,14	3,00	3,00
BEM / <i>Nitrogen-free extract</i>	51,18	55,00	57,86
Ca	1,03	0,94	0,81
P	0,76	0,70	0,60
Me, Mj/kg	13,11	13,17	13,21
Lizin / <i>Lysine</i>	1,34	1,11	0,92
Metionin + cistin <i>Methionine + cystine</i>	0,65	0,70	0,50

Na osnovu rezultata merenja izračunavana je prosečna telesna masa, a iz razlika telesnih masa ukupan prirast, dok je dnevni prirast izračunavan na osnovu trajanja pojedinih faza i celog ogleda. Tokom ogleda je svakodnevno merena količina potpunih smeša datih pojedinim grupama. Na kraju svake faze i ogleda u celini, na osnovu sabiranja dnevnih količina, utvrđen je ukupan utrošak hrane. Iz dobijenih podataka o konzumaciji i prirastu izračunavana je konverzija hrane i to posebno za svaku fazu kao i za ceo ogled.

U cilju utvrđivanja klasičnih osobina brojlera, hranjenih ispitivanim smešama, iz svake ogledne grupe je zaklano po 8 jedinki relativno ujednačene telesne mase oba pola (50-50 %) odabranih metodom slučajnog uzorka. Hlađenje trupova je izvršeno kombinovanim kontinuiranim postupkom (voda – vazduh)

u trajanju od 110 minuta. Na kraju hlađenja u mesu je postignuta temperatura od 4°C, a trup je bio suv.

Ogledna grla su pojedinačno merena pre i posle klanja, kao i tokom hlađenja. Randman klanja izračunat je određivanjem odnosa mase ohlađenog trupa i telesne mase grla pre klanja. Ohlađeni trupovi su rasecani na propisan način na osnovne delove (batak i karabatak, grudi, krila, karlica sa leđima), a zatim je izračunat njihov udeo u ohlađenom trupu.

Rezultati / Results

Proizvodni rezultati

Kretanje telesne mase brojlera tokom oglada prikazano je u tabeli 2. Na osnovu datih podataka se uočava da su brojleri na početku oglada imali odgovarajuću telesnu masu za provenijencu, a razlike u telesnoj masi između grupa nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$). Telesna masa brojlera kontrolne grupe tokom oglada kretala se u okviru granica predviđenih tehnološkim normativima za hibrid Arbor Acres. U odnosu na kontrolnu grupu, uočava se veća telesna masa brojlera oglednih grupa, a numeričke razlike su bile manje ili više izražene. Statistička analiza je ukazala da su utvrđene numeričke razlike signifikantne ($p < 0,05$) do visoko signifikantne ($p < 0,01$).

Ostvaren prosečan dnevni prirast je prikazan u tabeli 3. iz koje se vidi da je dnevni prirast brojlera kontrolne grupe tokom oglada bio u granicama predviđenim tehnološkim normativima. Tokom perioda tova, obe ogledne grupe ostvarile su bolje priraste i to posebno O-I grupa, što je, posmatrano zbirno za ceo ogled, rezultiralo višim dnevnim prirastima u odnosu na kontrolnu grupu, a razlike su bile visoko signifikantne ($p < 0,01$).

Dnevna konzumacija hrane prikazana je u tabeli 4. Na osnovu prikazanih podataka se uočava da je kontrolna grupa konzumirala uobičajene količine hrane. U početnom periodu tova, konzumacija hrane je bila gotovo identična između grupa, dok se u narednim fazama tova uočava trend smanjenja, koji je u početku blag, a zatim jasnije izražen. Posmatrano za ceo ogled zbirno, ogledne grupe su ostvarile značajno nižu dnevnu konzumaciju hrane u odnosu na kontrolnu grupu, dok su razlike između oglednih grupa slabije izražene.

Promene konverzije hrane u toku oglada prikazane su u tabeli 5, a na osnovu podataka se uočava pozitivan uticaj različitih tretmana, odnosno korišćenja biotehnoških aditiva. Konverzija hrane brojlera kontrolne grupe bila je veća u svima fazama oglada, a posebno u završnom periodu između 35-42. dana. Posmatrano zbirno za ceo ogled, kontrolna grupa je ostvarila značajno slabiju konverziju hrane u odnosu na ogledne grupe, dok su razlike između oglednih grupa O - I i O - II bile relativno male.

Tabela 2. Telesna masa ($X \pm Sd$) brojlera tokom ogleada (g)
 Table 2. Body mass ($X \pm Sd$) of broilers during experiment (g)

Grupa / Group	n	X	±	Mere varijacije / Variation measures			
				Sx	Sd	Cv	Iv
				1. dan / Day 1			
K	60	31,64		0,27	2,09	6,61	28,00-35,50
O-I	60	31,70		0,27	2,06	6,50	28,00-35,50
O-II	60	31,60		0,27	2,07	6,55	27,60-35,50
				21. dan / Day 21			
K	50	743,50	a, x	17,65	124,84	16,79	53,00-1020,00
O-I	50	811,00	y	15,56	110,01	13,57	475,00-1075,00
O-II	50	794,60	b	18,21	128,74	16,20	275,00-975,00
				35. dan / Day 35			
K	40	1801,75	x	32,32	204,41	11,34	1420,00-2170,00
O-I	40	1982,75	y	22,65	143,24	7,22	1750,00-2300,00
O-II	40	1968,00	y	33,14	209,59	10,65	1650,00-2400,00
				42. dan / Day 42			
K	40	2093,88	x	26,40	166,95	7,97	1800,00-2500,00
O-I	40	2402,00	y	38,60	244,13	10,16	1850,00-2855,00
O-II	40	2339,38	y	42,21	266,98	11,46	1900,00-2980,00

a, b – $p < 0,05$; x, y – $p < 0,05$

Tabela 3. Dnevni prirast ($X \pm Sd$) brojlera tokom ogleada, g
 Table 3. Daily growth ($X \pm Sd$) of broilers during experiment, g

Grupa / Group	n	X	±	Mere varijacije / Variation measures			
				Sx	Sd	Cv	Iv
				1-21. dan / Days 1-21			
K	60	33,90	a, x	0,83	5,87	17,30	23,86-46,91
O-I	60	37,11	y	0,73	5,17	13,92	21,24-49,53
O-II	60	36,33	b	0,86	6,07	16,70	11,71-44,80
				21-35. dan / Days 21-35			
K	50	75,66	x	1,31	8,31	10,98	61,43-91,07
O-I	50	83,32	y	0,96	6,05	7,26	74,64-98,21
O-II	50	82,88	y	1,72	10,87	13,11	67,14-104,64
				35-42. dan / Days 35-42			
K	40	41,73	x	1,24	7,84	18,78	25,71-54,29
O-I	40	59,89	y	2,62	16,57	27,66	14,29-79,29
O-II	40	51,63	z	1,80	11,38	22,04	35,71-85,00
				1-42. dan / Days 1-42			
K	40	49,10	x	0,62	3,94	8,03	42,17-58,71
O-I	40	56,44	y	0,91	5,78	10,25	43,36-67,17
O-II	40	54,71	y	1,00	6,33	11,56	44,55-70,14

a, b – $p < 0,05$; x, y – $p < 0,05$

Tabela 4. Dnevna konzumacija hrane tokom ogleđa, kg /
Table 4. Daily feed consumption during experiment, kg

Period / Period	Grupa / Group		
	K	O-I	O-II
1-21. dan / Days 1-21	57,50	57,86	57,22
index	100,00	100,63	99,51
21-35. dan / Days 21-35	153,71	147,55	152,55
index	100,00	95,99	99,25
35-42. dan / Days 35-42	213,41	205,37	186,85
index	100,00	96,23	87,55
1-42. dan / Days 1-42	115,55	112,47	110,60
index	100,00	97,33	95,72

Tabela 5. Konverzija hrane tokom ogleđa, kg /
Table 5. Food conversion during experiment, kg

Period ogleđa, dana / Period of experiment, days	Grupa / Group		
	K	O-I	O-II
1-21.	1,70	1,56	1,58
index	100,00	91,76	92,94
21-35.	2,03	1,77	1,84
index	100,00	87,19	90,64
35-42.	5,11	3,43	3,62
index	100,00	67,12	70,84
1-42.	2,35	1,99	2,02
index	100,00	84,68	85,96

Klanični rezultati

Telesna masa živih brojlera, odabranih metodom slučajnog uzorka uz tendenciju relativno jednakih telesnih masa, nije se značajnije razlikovala između pojedinih grupa ($p > 0,05$), ali je u osnovi zadržala osnovna svojstva grupe koje predstavljaju, kao i utvrđene odnose između grupa. U isto vreme, uočena je numerička razlika mase ohlađenih trupova brojlera pojedinih grupa koja je bila uglavnom proporcionalna razlici telesnih masa živih brojlera, ali statistički značajne razlike nisu utvrđene ($p > 0,05$).

Tabela 6. Odnos ($X \pm Sd$) telesne mase i mase trupa (randman) (%) /
Table 6. Ratio ($X \pm Sd$) between body mass and carcass mass (yield) (%)

Grupa / Group	n	Mere varijacije / Variation measures				
		X	±	Sx	Sd	Cv
TM živih brojlera, g / BM of live broilers, g						
K	8	2123,75	55,55	157,11	7,40	1920,00-2360,00
O-I	8	2315,00	96,94	274,17	11,84	2000,00-2730,00
O-II	8	2245,00	43,42	122,82	5,47	2060,00-2400,00
Masa trupova brojlera, g / Mass of broiler carcasses, g						
K	8	1526,25	40,22	119,77	7,45	1340,00-1666,00
O-I	8	1666,25	61,66	174,39	10,47	1478,00-1960,00
O-II	8	1619,75	36,97	104,55	6,45	1493,00-1770,00
Randman, % / Yield, %						
K	8	71,90	0,63	1,79	2,49	69,79-75,46
O-I	8	72,09	0,60	1,71	2,37	69,74-74,55
O-II	8	72,12	0,40	1,13	1,57	70,88-73,55

Na osnovu prikazanih podataka može se uočiti da se randman trupova eksperimentalnih grupa "spremno za roštilj" statistički značajno ne razlikuje ($p > 0,05$) između pojedinih grupa. Pored navedenog, može se uočiti da je randman oglednih grupa nešto veći nego randman mesa kontrolne grupe.

Masa osnovnih jestivih delova trupa u masi oglednih brojlera posle klanja prikazana je u tabeli 7. Numeričke razlike između kontrolne i oglednih grupa su bile relativno dobro izražene kod svih parametara, a sa stanovišta statističke analize, utvrđene su značajne razlike između grupa ($p > 0,05$). U odnosu na kontrolnu grupu, masa grudi i leđa sa krilcima bila je značajno veća kod brojlera u grupama O-I i O-II.

Udeo osnovnih jestivih delova trupa u masi oglednih brojlera posle klanja prikazan je u tabeli 8. Numeričke razlike između kontrolne i oglednih grupa su bile slabo izražene kod svih parametara, ali su sa stanovišta statističke analize, utvrđene značajne razlike između grupa ($p < 0,05$). Udeo grudi u trupovima brojlera O-I grupe bio je značajno veći ($p < 0,05$) u odnosu na udeo grudi u trupovima O-II grupe kod kojih je dominiralo učešće leđa sa krilcima ($p < 0,05$).

Tabela 7. Masa važnijih delova trupa brojlera, g /
Table 7. Mass of more important broiler carcass parts

Grupa / Group	n	Mere varijacije / Variation measures					
		X	±	Sx	Sd	Cv	Iv
Batak i karabatak, g / Leg and thigh, g							
K	8	463,13		17,48	49,45	10,68	390,00-525,00
O-I	8	515,50		24,79	70,11	13,60	440,00-624,00
O-II	8	486,53		11,51	32,54	6,69	440,00-529,00
Grudi, g / Breast, g							
K	8	473,13	a	19,34	54,70	11,56	400,00-535,00
O-I	8	540,00	b	21,49	60,77	11,25	430,00-608,00
O-II	8	493,74		15,98	45,20	9,15	430,00-553,00
Leđa sa krilcima, % / Back with wings, %							
K	8	590,50	a	13,75	38,90	6,59	524,00-636,00
O-I	8	610,75		26,29	74,37	12,18	500,00-728,00
O-II	8	639,47	b	13,49	38,17	5,97	578,00-688,00

a, b – p<0,05

Tabela 8. Relativno učešće (X±Sd) važnijih delova trupa brojlera, % /
Table 8. Relative participation (X±Sd) of more important broiler carcass parts, %

Grupa / Group	n	Mere varijacije / Variation measures					
		X	±	Sx	Sd	Cv	Iv
Batak i karabatak, g / Leg and thigh, g							
K	8	30,28		0,47	1,33	4,41	28,01-31,86
O-I	8	30,89		0,65	1,85	5,99	28,56-34,15
O-II	8	30,04		0,26	1,73	2,42	29,23-31,86
Grudi, g / Breast, g							
K	8	30,92		0,64	1,81	5,85	28,69-33,69
O-I	8	32,41	a	0,64	1,82	5,62	29,09-35,37
O-II	8	30,45	b	0,43	1,21	3,98	28,57-31,78
Leđa sa krilcima, % / Back with wings, %							
K	8	38,79		1,04	2,94	7,57	34,61-43,31
O-I	8	36,70	a	1,08	3,06	8,33	30,49-41,14
O-II	8	39,51	b	0,52	1,47	3,73	36,86-41,71

a, b – p<0,05

Iz prikazanih podataka se uočava da je relativno učešće najkvalitetnijih jestivih delova i to pre svega grudi, ali i bataka sa karabatacima, najveće u trupovima O-I grupe, dok je učešće leđa sa karlicom preovladavalo u trupovima O-II grupe.

Diskusija / Discussion

Na početku oglada, brojleri su imali odgovarajuću telesnu masu za provenijencu, a razlike u telesnoj masi između grupa nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$). Na kraju prve faze oglada numeričke razlike su bile jasno izražene i to između kontrolne i oglednih grupa, a razlike su statistički značajne ($p < 0,05$) do vrlo značajne ($p < 0,01$). Potrebno je istaći da je grupa hranjena smešama u koje je dodat prebiotik postigla višu telesnu masu za 2,06% u odnosu na grupu hranjenu smešama sa organski vezanim mikroelementima, ali ove razlike nisu bile signifikantne. Na kraju druge faze oglada, dobijeni su slični rezultati, pri čemu su obe ogledne grupe postigle višu telesnu masu u odnosu na kontrolnu grupu, a razlike su bile vrlo signifikantne ($p < 0,01$). Na kraju ispitivanja ogledne grupe, po redosledu, su postigle višu telesnu masu za 14,72 i 11,72% u odnosu na kontrolnu grupu, a razlike su bile vrlo signifikantne ($p < 0,01$). Istovremeno razlike između oglednih grupa nisu bile statistički signifikantne ($p > 0,05$). Rezimirajući rezultate oglada u celini može da se konstatuje da su brojleri kontrolne grupe postigli rezultate uobičajene za provenijencu, uzrast i način ishrane i držanja, a korišćenje prebiotika, odnosno organskih izvora mikroelemenata u ishrani brojlera ispoljava pozitivne efekte na telesnu masu.

Iako je telesna masa dobar pokazatelj, smatra se da je dnevni prirast pouzdaniji pokazatelj kvaliteta hrane. Analizirajući dobijene rezultate, može se konstatovati da se u prvoj fazi tova dnevni prirasti brojlera oglednih grupa hranjenih smešama sa dodatim aditivima razlikuju signifikantno od dnevnog prirasta brojlera kontrolne grupe, pri čemu je značajnost razlika kod prve grupe na nivou od 99%, a kod druge grupe od 95%. Međutim, u narednoj fazi tova ostvareni prirast oglednih grupa je statistički veoma značajno viši u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,01$). U poslednjoj fazi tova ogledne grupe su postigle značajno bolji dnevni prirast ($p < 0,01$) u odnosu na kontrolnu grupu, ali, za razliku od prethodnih faza, iste razlike postoje i između oglednih grupa, pri čemu je grupa hranjena smešama u koje je dodat prebiotik postigla višu telesnu masu za 16.0%.

Sumirajući rezultate oglada u celini, može se konstatovati da je primena prebiotika i organski vezanih mikroelemenata u ishrani brojlera ispoljila pozitivne efekte na dnevni prirast. Posmatrajući dnevni prirast za ceo ogled zbirno, uočava se bolji prirast oglednih grupa u odnosu na kontrolnu, a razlike su statistički vrlo značajne ($p < 0,01$). Između oglednih grupa, i pored postojanja numeričkih razlika nije dokazana statistička značajnost razlika.

Apetit je jedan od osnovnih indikatora zdravlja životinja i kvaliteta hrane. Prosečna dnevna konzumacija hrane tokom oglada varirala je između

grupa, a posebno između oglednih. U početnom periodu tova, konzumacija hrane je bila gotovo identična između grupa. U narednim fazama tova uočava se trend smanjivanja konzumacije hrane, koji je u drugoj fazi jasnije izražen pri dodavanju prebiotika, a u trećoj fazi pri korišćenju organskih izvora mikroelemenata. Generalno sumirajući dobijene rezultate, posmatrano zbirno za ceo ogled, prosečna dnevna konzumacija hrane brojlera oglednih grupa bila je niža u odnosu na pilad kontrolne grupe. Tako se može zaključiti da korišćenje prebiotika i organski vezanih mikroelemenata smanjuje konzumaciju hrane za 2,67 i 4,28% u odnosu na ishranu smešama standardnog sirovinskog sastava bez dodatih korišćenih aditiva.

Konverzija hrane, kao interakcija prirasta i konzumacije, je rezultanta koja, u krajnjem, predstavlja i jedan od najboljih pokazatelja ekonomičnosti proizvodnje, odnosno kvaliteta hrane i njenih mogućnosti da zadovolji specifične i visoke potrebe mladih životinja u porastu. Ogledne grupe hranjene smešama sa dodatim aditivima su u svim fazama ogleda ostvarile bolju konverziju hrane od kontrolne grupe, a posebno u završnom u periodu između 35-42. dana. Posmatrano zbirno za ceo ogled, uočava se pozitivan uticaj različitih tretmana, odnosno korišćenja biotehnoških aditiva. Kontrolna grupa ostvarila je značajno slabiju konverziju hrane u odnosu na ogledne grupe, dok su razlike između oglednih grupa bile relativno male. Ogledne grupe su ostvarile bolju konverziju hrane za 15,32 do 14,04% u odnosu na kontrolnu grupu. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da korišćenje prebiotika u smešama za ishranu brojlera ima pozitivan efekat na konverziju hrane.

Poredeći naše rezultate sa podacima iz literature uočava se velika podudarnost. Neki ogledi izvedeni na brojlerima ukazuju na to da korišćenje prebiotika utiče na povećanje prirasta i poboljšanje konverzije hrane u znatnoj meri (Kumprecht i sar., 1998; Iji i Tivey, 1998), dok su sa druge strane neka istraživanja na brojlerima završena sa slabo izraženim pozitivnim rezultatima (Roch, 1998; Petersen, 1998).

Rezultati dobijeni u izvedenom ogledu se donekle mogu porediti sa rezultatima ranije izvedenog ogleda (Pupavac i sar., 2007). Ostvaren dnevni prirast je skoro identičan istom pokazatelju dobijenom u prethodno izvedenom ogledu. Sa druge strane, konverzija hrane, iako bolja nego u kontrolnoj grupi, znatno je slabija od one u prethodnom ogledu, što je i razumljivo s obzirom na to da su efekti dodavanja prebiotika na konzumaciju hrane nešto slabije izraženi.

Za razliku od korišćenja prebiotika u ishrani živine, o korišćenju polisaharidnih kompleksa, odnosno SQM minerala postoji ograničen broj podataka. Naime, većina radova u ovoj oblasti se odnosi na korišćenje organski vezanih mikroelemenata na amino kiselinama ili peptidima, a dobijeni rezultati su relativno komparabilni. Međutim, efekti korišćenja polisaharidnih kompleksa nisu detaljno opisani, pa ostaje samo da se konstatuje da korišćenje SQM minerala, pored pozitivnih efekata u ishrani teladi i prasadi (Steam i Gezer, 1998), ispoljava pozitivan uticaj i na proizvodne rezultate brojlera.

Postignuti pozitivni efekti na proizvodne rezultate korišćenjem prebiotika i organski vezanih mikroelemenata u ishrani brojlera zasnivaju se, pre svega, na obezbeđivanju eubiotičkih odnosa i optimalnim uslovima za resorpciju u crevima (Gibson i Roberfroid, 1995), a zatim i na većoj svarljivosti pojedinih mikroelemenata jer se zaobilazi konvencionalni put resorpcije, odnosno homeostatska kontrola na nivou enterocita (Hynes i Kelly, 1995). Razmatrajući dobijene rezultate u celini, kao i dostupne literaturne podatke, može se zaključiti da korišćenje biotehnoloških dodataka (prebiotika i SQM minerala) kao pronutritivnih materija u cilju stimulisanja rasta ima svoje nutritivno i ekonomsko opravdanje.

Dobijeni rezultati ispitivanja prinosa trupova ukazuju na to da su se ostvareni klanični randmani brojlera oglednih grupa numerički razlikovali kako u odnosu na kontrolnu grupu, tako i između sebe, ali razlike nisu bile signifikantne ($p > 0,05$). U odnosu na kontrolnu grupu, nešto bolji randman ostvaren je u grupi hranjenoj smešama sa prebiotskim dodatkom (+0,26), odnosno u grupi hranjenoj smešama sa organski vezanim mikroelementima (+0,31%). Generalno, može se zaključiti da korišćenje ispitivanih biotehnoloških dodataka u ishrani brojlera nema uticaj na ostvarene klanične rezultate.

Posmatrajući učešće i masu važnijih delova trupa, numeričke razlike između kontrolne i oglednih grupa su bile relativno dobro izražene kod svih parametara, a sa stanovišta statističke analize, utvrđene su značajne razlike između grupa ($p > 0,05$). U odnosu na kontrolnu grupu, masa grudi, odnosno leđa sa krilcima brojlera O-I, odnosno O-II grupe je bila značajno veća. Daljom analizom dobijenih podataka se uočava da je relativno učešće najkvalitetnijih jestivih delova i to pre svega grudi, ali i bataka sa karabatacima, najveće u trupovima O-I grupe, dok je učešće leđa sa krilcima preovladavalo u trupovima O-II grupe.

Kritički razmatrajući dobijene rezultate potrebno je da se istakne da su brojleri kontrolne grupe ostvarili zadovoljavajući randman u odnosu na slične podatke iz literature (Hopić i sar., 1993; Vračar i sar., 1997) odnosno rezultate koji se postižu u uslovima proizvodnje koji vladaju u našoj zemlji (Lukić, 2001). Sa druge strane, ishranom smešama sa dodatim biotehnološkim aditivima ostvaren je nešto bolji randman klanja, ali je rezultate teško objektivno analizirati jer ne postoje podaci dobijeni u sličnim ispitivanjima.

S obzirom na bolje proizvodne rezultate i nešto bolji randman može se zaključiti da je korišćenje ispitivanih biotehnoloških dodataka u ekonomskom smislu opravdano.

Literatura / References

1. AEC Tables. Recommendation for animal nutrition. Rhone-Poulenc, Animal Nutrition 1993, France.
2. Bogosavljević-Bošković S, Tolimir N, Gutić M, Petrović M, Rajčić V. Proizvodne osobine brojlerskih pilića različitih provenijenci. *Savremena poljoprivreda* 2002; 51: 219-21.

3. Carre B, Gomez J, Chagneau AM. Contribution of oligosaccharide and polysaccharide digestion, and excreta losses of lactic acid and short chain fatty acids, to dietary metabolisable energy values in broiler chickens and adult cockerels, *Br Poult Sci* 1995; 36: 611-29.
4. Durst L. Inclusion of fructo-oligosaccharides in broiler diets. *Archiv fur Geflugelkunde* 1996; 60: 160-4.
5. Ellen L, Bouwkamp E, Bihbee C, Wabek J. Strain influences on broiler parts yields. *Poult Sci* 1973; 52: 327-33.
6. Gallaher D, Gallaher M, Shulman S, McElhome A, Brokken A, Shurson G. Bioavailability of different sources of protected zinc. 10th International Symposium on trace elements in man and animal; 1999: 225-79.
7. Gibson RG, Roberfroid M. Dietary modulation of human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-12.
8. Ho K, Hidioglou S. Effect of dietary chelated and sequestered zinc and zinc sulphate on growing lambs fed a purified diet. *Can J Anim Sci* 1997. 57: 93-9.
9. Hopić S, Pavlovski Z, Mašić B. Usporedno ispitivanje proizvodnih osobina brojlera različitih provenijenci 1991. godine. *Biotehnologija u stočarstvu* 1993; 9: 25-32.
10. Hynes MJ, Kelly P. Metal ions, chelates and proteinates. In: *Biotechnology in the feed Industry. Proceedings of the 11th Annual Symposium* (Lyons TP, Jacques KA eds). Nottingham University Press, Loughborough, Leics, UK. 1995: 233-48.
11. Iji PA, Tivey DR. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. *Poult Sci* 1998, 54(2): 129-43.
12. Kumprecht I, Zobac P, Siske V, Sefton AE, Spring P. Effect of dietary mannanoligosaccharide level on performance and nutrient utilization of broilers, Poster. In: *Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Alltechs 14th Annual Symposium*. (Ed.: TP Lyons), Nicholasville Kentucky, Enclosure code, 1998: 016 C.
13. Lukić M. Uticaj fitaze u ishrani brojlera na proizvodne rezultate i zdravstveno stanje. *Magistarska teza. Fakultet veterinarske medicine, Beograd*, 2001.
14. Lyons PT. Biotechnology in the feed industry: 1994 and beyond. In: *Biotechnology in the feed industry 1994*; 1-50.
15. Newman KE. Feeds with antibiotic growth promoters - The oligosaccharide alternative. *Biotechnology Responds. Alltech's 1999 European, Middle Eastern and African Lecture Tour*, 1999.
16. Petersen CB. Comparative effects of ZooLac, Bio-Mos and Bio-Pro on performance of broilers to 36 days. Poster. In: *Biotechnology in the Feed Industry, Proc. Alltechs 14th Annual Symposium*, (Ed.: TP Lyons) Nicholasville Kentucky, Enclosure code 1998; 51: 160.
17. Pupavac S, Sinovec Z, Jerković B. Rezultati korišćenja manan-oligosaharida u ishrani brojlera (neobjavljeni rezultati), 1998.
18. Roch C. Effect of Bio-Mos and Flavomycin on commercial broiler performance. Poster. In: *Biotechnology in the Feed Industry, Proc. Alltechs 14th Annual Symposium* (Ed.: TP Lyons) Nicholasville, Kentucky, Enclosure code 1998; 51: 163.
19. Salzer M, Shurson C, Johnson L, Gallaher D. Multiple response for assessing zinc status in weanling pigs containing sub-requirement levels of Zn from ZnO, Zn polysaccharide complex, and Zn methionine. *J Anim Sci* 1997, 75(1): 27-39.
20. Steam A, Geyer H. Effect of organic zinc on horn quality in beef cattle. *International Symposium on Lameness in Ruminants*, 1998: 233-5.

21. Tolimir N, Hopić S, Anokić N, Petrović D, Đorđević N, Dašić R. Uporedno ispitivanje proizvodnih osobina dve provenijence brojlerskih pilića, Zbornik naučnih radova, XV savetovanja agronoma, veterinara i tehnologa, Arandelovac 2000; 6(1): 489-94.
22. Trevino J, Centeno C, Brenes A, Yuste P, Rubio L. Effect of dietary oligosaccharides on the digestion of pea starch by growing chicks. Anim Feed Sci Technol 1990; 30: 313-9.
23. Vračar S, Pavlovski Z, Hopić S, Lukić M, Škrbić Z. Uticaj genotipa na proizvodne i klanične karakteristike brojlerskih pilića. Nauka u živinarstvu 1997; 2: 135-9.
24. Waldroup PW, Tidwell NM, Izat AL. The effects of energy and amino acid levels on performance and carcass quality of male and female broilers grown separately. Poult Sci 1990; 69: 1513-21.

ENGLISH

THE INFLUENCE OF DIFFERENT FEED ADITIVES IN BROILER DIETES ON PRODUCTIVITY AND MEAT YIELD

Vesna Tokić, M. Lazarević, Z. Sinovec, M. Ž. Baltić, Ž. Jokić

The objective of these investigations was to examine the influence of prebiotics based on mannan-oligosaccharides and polysaccharide complexes of micro elements (Fe, Cu, Zn, Mn) on production results and abattoir parameters for broilers of the hybrid Arbor Acres. The experiment was performed on 186 chicken divided into three equal groups, it lasted 42 days and was divided into 3 phases. The first phase lasted 21 days, the second 14, and the third seven days. The complete mix for initial fattening of broilers was used from days 1-21, and complete fodder mixes for closing fattening from days 21-35, and on days 35-42 of the experiment. Feeding was ad libitum and the broilers were maintained in a floor system.

Broilers fed mixes of standard raw material composition and the usual nutritive values achieved an average daily growth of 49.10 g at an average daily feed consumption of 115.55 g and with food conversion of 2.35, while the yield was 71.90%. The addition of prebiotics based on mannan-oligosaccharides resulted in an increased average daily growth by 14.95% with a lower feed consumption by 2.67% and better conversion by 15.32%, while the yield was approximately the same as in the control group. The use of mixes to which polysaccharide complexes of micro elements have been added (Fe, Cu, Zn, Mn) resulted in a higher daily growth by 11.43%, with a lower feed consumption by 4.28% and better conversion by 14%. The yield was approximately the same in this group as in the controls.

The results realized in these investigations, throughout the experimental period, indicate that the use of the examined additives significantly affected the growth and body mass of chicks and that it is nutritionally and economically justified.

Key words: broilers, fattening, mannan-oligosaccharides, polysaccharide complexes of micro elements

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АДДИТИВОВ В КОРМЕЛНИИ БРОЙЛЕРОВ НА ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И УБОЙНЫЕ ПАРАМЕТРЫ БРОЙЛЕРНЫХ ЦЫПЛЯТ

Весна Токич, М. Лазаревич, З. Синовец, М. Ж. Балтич, Ж. Йокич

Цель этих исследований была испытать влияние пребиотиков на основании манган-олигосахаридов и полисахаридных комплексов микроэлементов (Fe, Cu, Zn, Mn) на производственные результаты и убойные параметры у бройлерных цыплят гибридов "Арбор Акрес". Опыт выполнен на 186 цыплят расставленных в три одинаковые группы, продолжался 42 дня и был разделен в три фазы. Первая фаза продолжалась 21, вторая 14, а третья 7 дней. Полная смесь для начального откорма цыплят пользована от 1-21 дня, а полные кормовые смеси для конечного откорма от 21-35 дней, или 35-42 дня опыта. Кормление было по желянию а цыплята были в условиях половой системы содержания.

Бройлеры, кормленные смесями стандартного сырьевого состава и привычной питательной стоимости, осуществили средний дневной прирост от 49,10 г при среднем дневном потреблении корма от 115,55 г и при потреблении корма от 2,35 пока выход был 71,90%. Добавление пребиотиков на основании манган-олигосахаридов привело увеличение среднего дневного прироста за 14,95% при более маленьком потреблении корма за 2,67% и более хорошем потреблении за 15,32%, пока выход был приблизительно тот же самый как в контрольной группе. Пользованием смесей в которые добавлены полисахаридные комплексы микроэлементов (Fe, Cu, Zn, Mn) достигнуты большие дневные приросты за 11,43%, при меньшем потреблении корма за 4,28% и более хорошей конверсии за 14%. Выход в этой группе был приблизительно тот же самый как в контрольной.

Результаты, осуществлённые в этих исследованиях, в течение целого опытного периода, указывают, что употребление испытанных аддитивов значительно влияло на прирост и массу тела цыплят и что имеет питательное и экономическое оправдание.

Ключевые слова: бройлеры, откорм, манган-олигосахариды, полисахаридные комплексы микроэлементов, убойные параметры

**UTICAJ ORGANSKI I NEORGANSKI VEZANOG GVOŽĐA NA
PROIZVODNE REZULTATE BROJLERA******THE INFLUENCE OF ORGANIC AND INORGANIC Fe
SUPPLEMENTATION ON PRODUCTIVITY OF BROILERS***

Svetlana Milanović, M. Lazarević, Ž. Jokić, Olivera Pešut,
Danijela Kirovski, I. Jovanović**

U ovom radu su prikazani rezultati ispitivanja uticaja organski i neorganski vezanog gvožđa u ishrani brojlera na telesnu masu, konverziju hrane i dnevni prirast. Ogled je izveden na ukupno 200 brojlera podeljenih u četiri jednake grupe. U smeše za ishranu brojlera dodavano je gvožđe u količini od 40 mg/kg koje je poticalo iz različitih izvora: fero-sulfat (ogledna grupa I), gvožđe vezano za kvasac (ogledna grupa II), fero-askorbat (ogledna grupa III) i helatno gvožđe (ogledna grupa IV). Kod piladi u dobi od 21, 35 i 42 dana praćeni su sledeći parametri: telesne mase, prosečan dnevni prirast, dnevno konzumiranje hrane i konverzija hrane.

Veću prosečnu telesnu masu imala su pilad koja su hranom dobijala organski vezano gvožđe u odnosu na pilad u čijoj je ishrani korišćeno neorganski vezano gvožđe (fero-sulfat). Konverzija hrane je bila bolja kod piladi tretiranih organskim oblicima gvožđa u odnosu na pilad tretiranu fero-sulfatom. Najbolju konverziju imala su pilad koja su hranom dobijala fero askorbat.

Ključne reči: brojleri, gvožđe, proizvodni rezultati

Uvod / Introduction

Gvožđe je jedan od najzastupljenijih elemenata u prirodi i neophodno je za sve forme živih organizama, počev od onih najjednostavnijih, kao što su bakterije i biljke, pa do složenih, kao što su kičmenjaci. Gvožđe se u organizmu nalazi

* Rad primljen za štampu 22. 04. 2008. godine

** Mr. sci. med. vet. Svetlana Milanović, asistent, dr. sci. med. vet. Miodrag Lazarević, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr. sci. Živan Jokić, profesor, Poljoprivredni fakultet, Zemun; dr. sci. vet. med. Olivera Pešut, profesor, dr. sci. vet. med. Danijela Kirovski, docent, dr. sci. vet. med. Ivan Jovanović, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

u dva oksidaciona stanja, kao fero i feri oblik ($+2$ i $+3$). Zahvaljujući tome što lako prelazi iz jednog u drugo oksidaciono stanje, gvožđe učestvuje u brojnim oksidoredukcionim reakcijama u organizmu: ono ulazi u sastav više komponenti respiracionog lanca; time što kontroliše aktivnost ribonukleotid reduktaze utiče na proces ćelijske deobe; ulazi u sastav specijalizovanih proteina za prenos i skladištenje kiseonika kao što su hemoglobin i mioglobin. Gvožđe je i potencijalno toksičan element jer može učestvovati u generisanju slobodnih radikala i dovesti do oksidativnog oštećenja proteina i nukleinskih kiselina i smrti ćelije. Zbog ovih važnih funkcija viši organizmi imaju dobro razrađene homeostatske mehanizme kojima se reguliše nivo gvožđa (Kaneko, 1997).

U tankom crevu se resorbuje oko 5-10% gvožđa iz hrane. Resorpcija gvožđa podrazumeva najmanje tri koraka: transport kroz četkastu membranu enterocita, transport kroz enterocite i transport kroz bazalnu membranu enterocita do prelaska gvožđa u cirkulaciju.

Manji deo neorganskog gvožđa u hrani se nalazi u fero (divalentnom) obliku koji se efikasnije resorbuje od trovalentnog gvožđa. Membranski molekul nazvan **Dcytb** (eng. duodenal cytochrome b) odgovoran je za redukciju feri gvožđa u fero oblik pogodan za resorpciju (Riedel, 1995). Divalentno gvožđe se transportuje u enterocite pomoću nosača divalentnih jona nazvanog **DMT 1** (eng. divalent metal transporter 1). Ovaj molekul kroz membranu enterocita prvenstveno transportuje Fe^{2+} ali može prenositi i neke druge jone kao što su Zn^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} i Cu^{2+} . Sam transport kroz enterocite je još uvek nepoznanica ali se pretpostavlja da je ovaj molekul odgovoran i za transport gvožđa kroz samu ćeliju (Gunshin, 1997). Molekul odgovoran za eksport divalentnog gvožđa iz enterocita je tek nedavno identifikovan i nazvan **feroportin 1** (Donovan, 2000). Pre konačnog vezivanja za transferin i distribucije u tkiva, gvožđe mora biti oksidovano u feri oblik. Oksidacija se odvija dejstvom hefestina, bakar zavisne feroksidaze, koja je vezana za bazalnu membranu enterocita (Petrak, 2005).

Na resorpciju gvožđa utiču mnogi faktori koji se mogu podeliti na nutritivne i endogene. Nutritivni faktori (tabela 1) podrazumevaju prisustvo ili odsustvo određenih mikroelemenata i drugih jedinjenja u hrani životinja koji mogu uticati na iskoristivost gvožđa. I sam oblik gvožđa bitno utiče na njegovu bioiskoristivost, što je prikazano u tabeli 2.

Oblici gvožđa koji se koriste kao dodaci u ishrani ljudi i domaćih životinja dele se na rastvorljive u vodi (fero-sulfat), rastvorljive u razblaženim kiselinama (fero-fumarat, feri-saharat) i slabo, ili nerastvorljive u vodi i slabim kiselinama, kao što su feri-pirofosfat, feri-ortofosfat i elementarno gvožđe. Bioiskoristivost gvožđa se najčešće upoređuje sa bioiskoristivošću fero-sulfata i označava sa RBV (eng. relative bioavailability value) tako da se izražava u procentima. U tabeli 2. je navedena bioiskoristivost različitih oblika gvožđa u odnosu na fero-sulfat (AAFCCO, 2003).

Tabela 1. *Nutritivni faktori koji utiču na resorpciju gvožđa*
 Table 1. *Nutritive factors affecting iron resorption*

Promoteri resorpcije / <i>Resorption promoters</i>	Inhibitori resorpcije / <i>Resorption inhibitors</i>
Askorbinska kiselina / <i>Ascorbic acid</i>	Fitinska kiselina / <i>Phytin acid</i>
Eritorbinska kiselina / <i>Erythorbic acid</i>	Polifenoli (tanini) / <i>Polyphenols (tannins)</i>
Na ₂ EDTA / <i>Na₂EDTA</i>	Kalcijum / <i>Calcium</i>
Vitamin A / <i>Vitamin A</i>	Proteini / <i>Proteins</i>
Organske kiseline / <i>Organic acids</i>	
Tkiva životinjskog porekla / <i>Tissue of animal origin</i>	
Amino kiseline / <i>Amino acids</i>	

Tabela 2. *Relativna bioiskoristivost različitih oblika gvožđa (AAFCO, 2003)*
 Table 2. *Relative bioutilizability of different forms of iron (AAFCO, 2003)*

Oblik gvožđa / <i>Form of iron</i>	Hemijska formula / <i>Chemical formula</i>	Relativna bioiskoristivost, % / <i>Relative bioutilizability (%)</i>
Feri-amonijum-citrat / <i>Ferrous ammonium citrate</i>	Fe(NH ₄)C ₆ H ₅ O ₇	107
Feri-hlorid / <i>Ferrous chloride</i>	FeCl ₃	44
Feri-holin-citrat kompleks / <i>Ferric choline citrate complex</i>	*	102
Feri-metionin kompleks / <i>Ferrous methionine complex</i>	*	88
Feri-ortofosfat / <i>Ferrous orthophosphate</i>	FePO ₄	6-46
Feri-pirofosfat / <i>Ferrous pyrophosphate</i>	Fe ₄ (P ₂ O ₇)	45-58
Feri-sulfat / <i>Ferrous sulfate</i>	Fe ₂ (SO ₄) ₃	83
Fero-karbonat / <i>Ferrous carbonate</i>	FeCO ₃	88
Fero-hlorid / <i>Ferrous chloride</i>	FeCl ₂	98
Fero-fumarat / <i>Ferrous fumarate</i>	FeC ₄ H ₂ O ₄	95
Fero-glukonat / <i>Ferrous gluconate</i>	Fe(C ₆ H ₁₁ O ₇) ₂	97
Fero-glicin kompleks / <i>Ferric-glycine complex</i>	*	*
Gvožđe aminokiselinski kompleks / <i>Iron-amino acid complex</i>	*	*
Gvožđe aminokiselinski helat / <i>Ferrous amino acid chelate</i>	*	*
Gvožđe proteinat / <i>Ferrous proteinate</i>	*	*

Osim mineralnih materija u neorganskoj formi, u intenzivnoj stočarskoj proizvodnji se sve više koriste organski vezani mikroelementi – helati. Amino kiseline mogu formirati stabilan petočlani prsten sa metalnim jonom, a kompleks koji poseduje jedan ili više heterocikličnih prstenova naziva se helat (Hynes, 1995). Smatra se da su ovako vezani mikroelementi za vreme pasaže kroz želudac bolje zaštićeni od dejstva mikrookoline (inhibitora) u odnosu na neorganske soli (Lyons, 1994). Metali ovako vezani za amino kiseline su praktično bez električnog naboja tako da ne reaguju na promene pH tokom pasaže kroz digestivni trakt.

Ashmead i saradnici (Ashmead, 1979) navode da amino kiseline i dipeptidi imaju funkciju nosača kroz membranu enterocita i da se zbog ovakvog načina resorpcije zaobilazi mehanizam homeostatske kontrole na nivou enterocita. Međutim, nedavna istraživanja idu u prilog tvrdnjama da je resorpcija gvožđa u obliku helata takođe regulisana na nivou enterocita istim mehanizmom kao i resorpcija gvožđa iz fero-sulfata (Bovel-Benjamin, 2000). Mazariegos i saradnici (2004) su na Caco-2 ćelijama upoređivali stepen resorpcije fero-askorbata i fero-bisglicinata. Oni nisu uočili statistički značajne razlike između stepena resorpcije, transepitelijalnog transporta i intracelularne koncentracije gvožđa, zaključivši da se gvožđe iz helata resorbuje kao nehemsko gvožđe.

Pizzaro i saradnici (2002) su kombinujući hemsko (hemoglobin) i helatno gvožđe (fero-bisglicinat), i nehemsko (fero-sulfat) i helatno gvožđe došli do zaključka da helatno gvožđe ima isti put resorpcije kao i nehemsko gvožđe. Ovaj zaključak je potvrđen i istraživanjem na Caco-2 ćelijskoj liniji (Yeug, 2005). Ovi autori su u medijum dodavali jone Co^+ i Mn^+ koji se kompetitivno vezuju za nosač DMT 1 i na taj način sprečavaju unos gvožđa u ćeliju. Na ovaj način su smanjili stepen resorpcije gvožđa iz fero-sulfata, kao i gvožđa iz feri EDTA i fero-bisglicinata.

Ashmead (1979) je krmačama u toku gestacije i laktacije hranom davao helatno gvožđe u obliku proteinata. Njihova prasadi je kasnije bez suplementacije gvožđa imala zadovoljavajući porast koncentracije hemoglobina, kao i dobar prirast. Sličan eksperiment su izveli Brady i saradnici (1976) sa gvožđem vezanim za amino kiseline koji su uočili povećanje nivoa gvožđa u depoima jetre prasadi nakon prašenja.

Creech i saradnici (2004) su u eksperimentu na zalučenim prasadima podelili eksperimentalne životinje u tri grupe. Kontrolna grupa je dobijala 180 mg gvožđa kg^{-1} u obliku fero-sulfata; druga grupa je dobijala 25 mg gvožđa kg^{-1} u obliku fero-sulfata, a treća 25 mg gvožđa kg^{-1} sa 50% gvožđe proteinata i 50% gvožđa u obliku fero-sulfata. Performanse prasadi iz kontrolne grupe nisu se razlikovale od prasadi iz druge i treće grupe. Konverzija hrane je bila lošija kod prasadi iz druge grupe (neorgansko gvožđe) u odnosu na treću grupu (organsko gvožđe). Prasad iz druge grupe je takođe imala i nižu koncentraciju hemoglobina u krvi u odnosu na prasad iz treće grupe.

U eksperimentu na zalučenim prasadima testiran je uticaj suplementacije organski vezanim mikroelementima (Zn, Fe, Cu, Mn i Se) na njihovu

koncentraciju u serumu, imunološke parametre, telesnu masu i koncentraciju u tkivima (Novotny, 2003). Autori su dokazali značajno povećanje koncentracije gvožđa u serumu kod jedinki suplementiranih navedenim organski vezanim mikroelementima, kao i povećanje telesnih masa oglednih životinja.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj različitih oblika gvožđa na proizvodne parametre (telesna masa, prirast, utrošak hrane i konverzija) piladi tokom tova od 42 dana. U ogledu su korišćena pilad oba pola, Arbor Acres provinijence. Brojleri su hranjeni potpunim krmnim smešama čiji je sastav prikazan u tabeli 3. U smeše je dodavano gvožđe u količini od 40 mg/kg koje je poticalo iz različitih izvora: fero-sulfat, gvožđe vezano za kvasac, fero-askorbat i helatno gvožđe. U skladu sa tim, pilad su podeljena u četiri ogledne grupe. Grupa I je dobijala fero-sulfat (neorgansko gvožđe), najčešće upotrebljavan oblik gvožđa u intenzivnoj proizvodnji. Ogledne grupe II, III i IV su dobijale organski vezano gvožđe i to ogledna grupa II gvožđe vezano za kvasac; ogledna grupa III fero-askorbat i ogledna grupa IV helatno gvožđe.

Tabela 3. Sastav potpunih smeša za ishranu brojlera tokom ogleda, (%) /
Table 3. Composition of complete mixes for broilers during experiment (%)

Komponente / <i>Components</i>	1-21	22-35	36-42
Kukuruz / <i>Maize</i>	50,35	58,40	62,65
Sojin griz / <i>Soybean grits</i>	21,00	22,00	20,00
Sojina sačma / <i>Soybean meal</i>	17,50	8,50	7,50
Stočni kvasac / <i>Fodder yeast</i>	2,50	2,50	2,50
Monokalcijum-fosfat / <i>Monocalcium phosphate</i>	1,30	1,30	1,20
Stočna kreda / <i>Feeding chalk</i>	1,70	1,65	1,50
Stočna so / <i>Salt</i>	0,40	0,40	0,40
Esencijal plus* / <i>Essential plus*</i>	4,00	4,00	3,00
Tufozel / <i>Tufozel</i>	0,25	0,25	0,25
VMD / <i>VMD</i>	1,00	1,00	1,00
ME, MJ/kg / <i>Me, Mj/kg</i>	13,05	13,51	13,54
Sirovi proteini / <i>Crude proteins</i>	23,09	20,17	18,77
Ca (%) / <i>Ca (%)</i>	1,03	0,94	0,81
P (%) / <i>P (%)</i>	0,76	0,70	0,60
Lizin / <i>Lysine</i>	1,45	1,26	1,12
Metionin + Cistin / <i>Methionine-Cystine</i>	0,97	0,89	0,79

*Zamena za animalna hraniva / *Substitute for animal fodder*

Kontrolna merenja težine oglednih brojlera izvršena su na tehničkoj vagi 21, 35. i 42. dana ogleda. Na osnovu rezultata merenja izračunavana je prosečna telesna masa jedinki uključenih u ogled. Posle svake faze ogleda, meren je utrošak hrane po grupama i na osnovu prirasta i utroška hrane, izračunavana je konverzija hrane posebno za svaku fazu, kao i ukupna konverzija hrane na kraju ogleda.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Telesne mase pilića merene su 21., 35. dana i na kraju ogleda. Za svaki od navedenih perioda, određivani su utrošak i konverzija hrane.

Telesne mase brojlera / Body mass of broilers

Na početku ogleda brojleri su imali odgovarajuću telesnu masu za provenijenciju. Na kraju prve faze ogleda, 21. dana, postojale su izvesne numeričke razlike između kontrolne grupe (621.46 g) i oglednih grupa II (630.47 g) i III (635.07 g), ali uočene razlike nisu bile statistički značajne. Na kraju druge faze ogleda, 35. dana, sve ogledne grupe, (II, III i IV), imale su veće prosečne telesne mase i to za 4,63% (ogl. grupa II), 11,52% (ogl. grupa III) i 5,05% (ogl. grupa IV). Statistički značajna razlika ($p < 0,01$) je postojala samo između kontrolne grupe i ogledne grupe koja je hranom dobijala fero-askorbat (tab. 4)

Tabela 4. Telesne mase brojlera tokom ogleda, g /
Table 4. Body mass of broilers during experiment, g

Grupa / Group	n	Xsr (g)	SD	Se	Cv (%)	Iv
<i>Jednodnevna pilad / One-day-old chicks</i>						
Kontrola / Control	50	45,13	3,39	0,48	7,52	39,00-53,00
II	50	43,64	3,67	0,52	8,41	35,20-51,70
III	50	43,08	3,31	0,47	7,68	36,50-50,90
IV	50	43,36	3,55	0,50	8,19	37,10-50,10
<i>21. dan ogleda / Day 21 of experiment</i>						
Kontrola / Control	48	621,46	107,70	15,55	17,33	280,00-830,00
II	49	630,47	105,70	15,10	16,77	268,00-815,00
III	46	635,07	144,77	21,35	22,80	128,00-865,00
IV	44	619,43	94,26	14,21	15,22	430,00-805,00
<i>35. dan ogleda / Day 35 of experiment</i>						
Kontrola / Control	38	1415,79	224,84	36,47	15,88	750,00-1900,00
II	35	1481,43	256,41	43,34	17,31	1000,00-2000,00
III	34	1578,82**	281,81	48,33	17,85	900,00-2000,00
IV	34	1487,35	284,66	48,82	19,14	850,00-2070,00

nastavak tabele 4.						
42. dan ogleda / <i>Day 42 of experiment</i>						
Kontrola / <i>Control</i>	28	1916,07	320,32	60,53	16,72	1000,00-2400,00
II	25	1976,40	383,64	76,73	19,41	1300,00-2850,00
III	24	2213,33**	443,41	90,51	20,03	1370,00-2950,00
IV	24	2037,50	468,64	95,66	23,00	1200,00-2900,00

statistički značajno $p < 0,01$ / *statistically significant* $p < 0,01$

Na kraju ogleda, pilad ogledne grupe koja su hranom dobijala kvasac obogaćen gvoždem imala su veće telesne mase za 3,13%, ali ta razlika u odnosu na kontrolnu grupu nije bila statistički značajna. Ogledna pilad III grupe (fero-askorbat) je imala za 15,51% veću prosečnu telesnu masu od piladi kontrolne grupe. Lim i sar. (2000) su takođe zabeležili više telesne mase riba koje su hranom dobijale askorbinsku kiselinu. Razlika u telesnim masama ove dve ispitivane grupe (kontrolne i grupe III) je bila statistički vrlo značajna ($p < 0,01$). Veća prosečna telesna masa ogledne grupe IV (helatno gvožđe) za 6,34% nije bila statistički značajna (tabela 4) i u skladu je sa rezultatima Oliveire i sar. (1995). Budimirović (2003) je takođe zabeležila veće prosečne telesne mase piladi peroralno suplementiranim organski vezanim mikroelementima pri čemu je telesna masa bila čak 11,72 % veća od telesnih masa piladi kontrolne grupe.

Prosečan dnevni prirast / Average daily growth

Smatra se da je dnevni prirast pouzdaniji pokazatelj kvaliteta hrane od telesne mase. Ostvareni prosečni dnevni prirasti u ovom ogledu su u skladu sa propisanim normativima za ovu provenijenciju. U prvoj fazi ogleda prosečan dnevni prirast je bio ujednačen u svim ispitivanim grupama. U drugoj fazi ogleda, od 22. do 35. dana, najveći prosečni dnevni prirast ostvarila je ogledna grupa III (fero-askorbat) koja je imala za 10,68 grama veći dnevni prirast od piladi kontrolne grupe (fero-sulfat). Ogledne grupe II (kvasac obogaćen gvoždem) i IV (helatno gvožđe) su takođe ostvarile veći prosečni dnevni prirast i to za 4,05, odnosno 6,49 grama.

Tabela 5. Prosečan dnevni prirast po periodima ogleda, (g) /
Table 5. Average daily growth per periods of experiment, (g)

Period ogleda / <i>Period of experiment</i>	Kontrola / <i>Control</i>	I	II	III
1-21	27,44	27,94	28,19	27,43
22-35	56,73	60,78	67,41	63,22
36-42	71,47	70,71	90,64	78,59
1-42	44,55	46,02	51,67	47,48

Najveća razlika u dnevnom prirastu između ispitivanih grupa, ostvarena je u poslednjoj fazi ogleda kada su pilad ogledne grupe koja je dobijala fero-askorbat imala za 26,82% veći dnevni prirast od piladi tretiranih fero-sulfatom. Posmatrajući ogled u celini, najveći dnevni prirast ostvarila su pilad koja su dobijala organski vezano gvožđe u obliku fero askorbata, a najmanji pilad kontrolne grupe koja je dobijala neorganski vezano gvožđe u obliku fero sulfata (tabela 5). Grupa koja je hranom dobijala organski vezano gvožđe u obliku helata, takođe je ostvarila veći dnevni prirast, što je u skladu sa rezultatima Budimirović (2003).

Dnevno konzumiranje hrane / Daily food consumption

Prosečna dnevna konzumacija hrane se nije u većoj meri razlikovala u prvoj fazi tova (1-21 dan). U narednim fazama ogleda dolazi do uočljive razlike u dnevnoj konzumaciji hrane pri čemu je tokom celog ogleda najveća kod piladi hranjenih fero-askorbatom. Pilad oglednih grupa II (kvasac obogaćen gvožđem) i IV (helatno gvožđe), hranjena organski vezanim gvožđem, takođe imaju nešto veću prosečnu dnevnu konzumaciju hrane što je prikazano u tabeli 6.

Tabela 6. Prosečna konzumacija hrane, g /
Table 6. Average feed consumption, g.

Period ogleda / <i>Period of experiment</i>	Kontrola / <i>Control</i>	I	II	III
1-21	42,33	45,02	44,17	42,56
22-35	102,06	104,62	111,49	97,47
36-42	178,82	186,26	207,44	189,58
1-42	92,33	94,45	97,77	94,77

Dobijeni rezultati nisu u skladu sa rezultatima Budimirović (2003) koja je upotrebom organski vezanih mikroelemenata dobila niže vrednosti ovog parametra u odnosu na upotrebu neorganski vezanih mikroelemenata.

Konverzija hrane / Food conversion

Konverzija hrane je najpouzdaniji pokazatelj efikasnosti proizvodnje, a definiše se kao količina utrošene hrane za kg prirasta. U stočarskoj proizvodnji osnovni cilj je ostvariti što manji utrošak hrane za kg prirasta.

Najbolju konverziju hrane u izvedenom ogledu je imala ogledna grupa koja je hranom dobijala fero-askorbat (tabela 7). U ogledima na drugim životinjskim vrstama nisu uočene statistički značajne razlike u konverziji hrane pri upotrebi neorganski i organski vezanog gvožđa. Tako, Lim i sar. (2000) su kod riba ustanovili približno iste vrednosti za konverziju hrane pri upotrebi fero-sulfata i kombinacije fero-sulfata sa askorbinskom kiselinom. Appel i sar. (2001) takođe

nisu uočili razlike u konverziji hrane kod pacova tretiranih neorganskim gvožđem (fero-sulfat) i organski vezanim gvožđem (FeEDTA). Bolja konverzija hrane kod ogleđnih grupa koje su hranom dobijale organski vezano gvožđe u skladu je sa rezultatima koje iznosi Budimirović (2003).

Tabela 7. Konverzija hrane tokom ogleđa /
Table 7. Food conversion during experiment

Period ogleđa / Period of experiment	Kontrola / Control	I	II	III
1-21	1,54	1,61	1,56	1,55
22-35	1,78	1,72	1,65	1,56
36-42	2,5	2,6	2,3	2,58
1-42	2,07	2,05	1,9	1,99

Zaključak / Conclusions

Pilad u čijoj je ishrani korišćeno organski vezano gvožđe, imala su veću telesnu masu u svim fazama ogleđa u odnosu na pilad koja su hranom dobijala neorganski vezano gvožđe. Na kraju ogleđa, najveću prosečnu telesnu masu su imala pilad koja su hranom dobijala fero-askorbat i to za 15,51% u odnosu na pilad u čijoj je ishrani korišćeno neorganski vezano gvožđe (fero-sulfat). Konverzija hrane je bila bolja kod piladi peroralno suplementiranih organskim oblicima gvožđa u odnosu na pilad tretiranu fero-sulfatom. Najbolju konverziju imala su pilad koja su hranom dobijala fero-askorbat.

Literatura / References

1. AAFCO (American Association of Feed Control Officials). Official Publication 2003; 278-9.
2. Appel MJ, Kuper CF, Woutersen RA. Disposition, accumulation and toxicity of iron fed as iron (II) sulfate or as sodium iron EDTA in rats. Food and chemical toxicology 2001; 39: 261-9.
3. Ashmead D. The influence of chelated iron proteinate, fed to sows with no iron supplementation to their baby pigs, J Anim Sci 1979; 49: 235.
4. Bovel-Benjamin AC, Viteri FE, Allen LH. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. Am J Clin Nutr 2000; 71: 1563-9.
5. Brady PS, Miller ER, Ku PK, Green FF, Ullrey DE. Evaluation of an amino acid iron chelate hematinic. Report of swine research. Michigan State, University agricultural experiment station 1976; 4.
6. Budimirović V. Uticaj različitih aditiva u ishrani brojlera na proizvodne rezultate i imunski odgovor. Magistarski rad 2003. Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

7. Creech BL, Spears JW, Flowers WL, Hill GM, Lloyd KE, Armstrong TA, Engle TE. Effect of dietary trace mineral concentration and source (inorganic vs. chelated) on performance, mineral status, and fecal mineral excretion in pigs from weaning through finishing. *J Anim Sci* 2004; 82(7): 2140-7.
8. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 17: 776-81.
9. Gunshin H, MacKenzie B, Berger UV. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter, *Nature* 1997; 388: 482-8.
10. Hynes M, Kelly M. Metal ions, chelates and proteinates. *Biotechnology in feed industry* 1995; 233-48.
11. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th ed, San Diego: Academic 1997; 209.
12. Lim C, Klesius PH, Li MH, Robinson EH. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture* 2000; 185:313-27.
13. Lyons PT. *Biotechnology in fed industry: 1994 and beyond*. In: *Biotechnology in fed industry* 1994; 1-50.
14. Mazariegos DI, Pizarro F, Olivares M, Nuñez MT, Arredondo M. The mechanism for regulating absorption of Fe bis-glycine chelate and Fe-ascorbate in Caco-2 cells are similar. *J Nutr* 2004; 134: 395-8.
15. Novotny J, Pistl J, Kovač G. Effects of supplementation of organic-bound trace elements on blood and tissues – micromineral profile and immune parameters of piglets. *Acta Vet* 2003; 53: 11-9.
16. Oliveira JE, Freitas ML, Ferreira JF, Goncalves AL, Marchini JS. Iron from complex salts and bioavailability to rats. *Int J Vitam Nutr Res* 1995, 65: 272-5.
17. Petrak J, Vyoral D. Hephaestin - a ferroxidase of cellular iron export. *Inter J Biochem Cell Biol* 2005, 37: 1173-8.
18. Pizarro F, Olivares M, Hertrampf E, Mazariegos DI, Arredondo M, Leterier A, Gidi V. Iron bis-glycine chelate competes for the nonheme-iron absorption pathway, *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 577-81.
19. Riedel HD, Remus AJ, Fitscher BA, Stremmel W. Characterization and partial purification of a ferrireductase from human duodenal microvillus membranes, *Biochem J* 1995; 309 (Pt 3): 745-8.
20. Yeug CK, Glahn R, Miller DD. Inhibition of iron uptake from iron salts and chelates by divalent metal cations in intestinal epithelial cells. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 132-6.

ENGLISH

THE INFLUENCE OF ORGANIC AND INORGANIC FE SUPPLEMENTATION ON PRODUCTIVITY OF BROILERS

Svetlana Milanović, M. Lazarević, Ž. Jokić, Olivera Pešut, Danijela Kirovski, I. Jovanović

The aim of this study was to investigate the influence of organic and inorganic Fe supplementation on productivity of broiler chickens. The trial was conducted on 200 Arbor Acres chickens divided into four equal groups. Birds from all groups were fed standard broiler feed, supplemented with 40 mg/kg of Fe originating from different sources: Group I (FeSO_4), Group II (Fe bound to yeast), Group III (ferrous ascorbate) and Group IV (iron chelate). From each group, 10 birds were sacrificed on the 21st, 35th and 42nd day and the following parameters were measured: body mass, daily body mass gain, food consumption and conversion rate. At the end of the trial, the highest average body mass was measured in the group supplemented with ferrous ascorbate (15,51% higher when compared with the group supplemented with FeSO_4). The conversion rate was lower in birds supplemented with organic iron forms and had the lowest value in the group supplemented with ferrous ascorbate.

Key words: broilers, iron, productivity

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИ И НЕОРГАНИЧЕСКИ СВЯЗАННОГО ЖЕЛЕЗА НА ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БРОЙЛЕРОВ

Светлана Миланович, М. Лазаревич, Ж. Йокич, Оливера Пешут, Даниела Кировски, И. Йованович

В этой работе показаны испытания влияния органически и неорганически связанного железа в кормлении бройлеров на массу тела, конверсию корма и дневной прирост. Опыт выполнен на совокупно 200 бройлеров, разделенных в четыре одинаковые группы. В смеси для кормления бройлеров добавляно железо в количестве от 40 мг/кг, которое происходило из различных источников: ферро сульфат (опытная группа I), железо, связанное для дрожжей (опытная группа II), ферро аскорбат (опытная группа III) и хелатное железо (опытная группа IV). У цыплят в возрасте от 21, 35 и 42 дня слежены следующие параметры: масса тела, средний дневной прирост, дневное потребление корма и конверсия корма.

Большую среднюю массу тела имели цыплята, которые кормом получали органически связанное железо в отношении цыплят в чьем корме пользовано неорганически связанное железо (ферро сульфат). Конверсия корма была более хорошая у цыплят, леченных органическими формами железа в отношении цыплят, леченных ферро сульфатом. Наиболее хорошую конверсию имели цыплята, которые кормом получали ферро аскорбат.

Ключевые слова: бройлеры, железо, производственные результаты

**PRIOLOG POZNAVANJU APSORPCIJE KOLOSTRALNIH
IMUNOGLOBULINA TELADI U INTENZIVNIM USLOVIMA
GAJENJA***

***CONTRIBUTION TO KNOWLEDGE OF COLOSTRAL
IMMUNOGLOBULIN ABSORPTION IN INTENSIVELY BRED CALVES***

B. Jonić, M. Mirilović**

Na stepen apsorbpcije kolostralnih imunoglobulina, utiče čitav niz faktora. Jedan od najvažnijih faktora je vreme napajanja novorođene teladi kolostrumom u prvim časovima posle dolaska na svet.

Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrdi uticaj koncentracije imunoglobulina u kolostrumu na proces apsorpcije imunoglobulina u toku prvog dana života teladi.

Za ovo istraživanje odabrana je farma krava holštajn-frizijske rase. Ispitivanje je obuhvatilo 35 krava. Za ispitivanje ukupne koncentracije imunoglobulina uziman je kolostrum dva časa posle teljenja. Koncentracija imunoglobulina određena je metodom elektroforeze na papiru (filtracionoj hartiji) i RID- partigen ploče (INEP Zemun). Količina imunoglobulina u krvnom serumu teladi određena je metodom zamućenja zink sulfata (ZST).

Prosečna koncentracija imunoglobulina u kolostrumu dva časa posle teljenja bila je $65,95 \pm 15,80$ g/l. Najveća postignuta prosečna koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu teladi usledila je posle apsorpcije imunoglobulina u toku prvog dana i iznosila je $27,18 \pm 10,2$ g/l, što predstavlja $1,91 \pm 0,72$ g/kg TM teladi. Linearna jednačina prave je $\hat{y} = 0,595 + 0,25x$. Koeficijent korelacije zavisnosti odnosa unetih i resorbovanih imunoglunulina iznosi $r=0,80$. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je količina imunoglobulina u kolostrumu pri prvom napajanju od primarnog značaja za zdravstveni status teladi i da se sa svakim gramom imunoglobulina unetih kolostrumom povećava resorpcija za 0,25 grama.

Ključne reči: tele, imunoglobulini, kolostrum

* Rad primljen za štampu 02. 07. 2007. godine

** Dr. sci. med. vet. Branko Jonić, docent, Katedra za bolesti papkara, dr. sci. med. vet. Milorad Mirilović, asistent, Katedra za ekonomiku i statistiku, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Na količinu apsorbovanih kolostralnih imunoglobulina, koja se meri na osnovu nivoa imunoglobulina u krvnom serumu teladi, utiče čitav niz faktora. Jedan od najvažnijih faktora je vreme napajanja novorođene teladi kolostrumom u prvim časovima posle dolaska na svet.

Pasivna imunizacija novorođene teladi zavisi od apsorpcije imunoglobulina iz kolostruma (Ben Romdhane S i sar., 1997; Besser TE i Gay CC, 1994). Mnoga istraživanja pokazuju da su telad kojima je uskraćen kolostrum, iz bilo kog razloga, ili pak koja su apsorbovala nedovoljnu količinu kolostralnih imunoglobulina, daleko osetljivija na bakterijske infekcije i predisponirana za pojavu septikemije, enteritisa i enterotoksemije (Brunig-Fann i Kaneene JB, 1992). Niske koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu novorođene teladi, uvek su praćene visokim stepenom morbiditeta i mortaliteta, većom podložnošću prema respiratornim infekcijama i slabijim prirastom, a kod junica i kasnijim polnim sazrevanjem (DeNise KS i sar., 1989; McGuirk SM, 1998). Moguće faktore koji utiču na koncentraciju serumskih imunoglobulina proučavali su i mnogi autori (Perino LJ i sar., 1995; Stott GH i Fellah A, 1983; Zarembo W i sar., 1993). U nekim eksperimentima, koncentracija imunoglobulina u kolostrumu je određena, ali u uskom rasponu (Bush LJ i Staley TE, 1980; Stott GH i Fellah A, 1983). Uticaj koncentracije imunoglobulina nije mogao biti razmatran odvojeno od uticaja načina ishrane i životne dobi teladi.

Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrdi uticaj koncentracije imunoglobulina u kolostrumu na proces apsorpcije imunoglobulina kod teladi u toku prvog dana života. Ovakvo istraživanje je interesantno jer se u praksi telad vrlo često hrani malim zapreminama kolostruma ili sa nezadovoljavajućom koncentracijom imunoglobulina u njemu.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Za ovo istraživanje odabrali smo jednu farmu na kojoj se nalaze krave holštajn-frizijske rase. Ispitivanje je obuhvatilo 35 krava koje su odabrane metodom slučajnog uzorka i sve su se otelile u periodu od dva meseca. Za ispitivanje ukupne koncentracije imunoglobulina uzimali smo kolostrum dva časa posle teljenja. Koncentracija imunoglobulina određena je metodom elektroforeze na papiru (filtracionoj hartiji) i RID-partigen ploče (INEP Zemun). Količina imunoglobulina u krvnom serumu teladi određena je metodom zamućenja zink-sulfata (ZST) (Jonić B, 1992) dvadeset četiri časa po rođenju teladi.

Tokom eksperimenta je ispitivana apsorpcija kolostralnih imunoglobulina novorođene teladi u farmskim uslovima industrijskog načina držanja mlečnih krava, u strogo kontrolisanim uslovima prvog napajanja teladi. Telad su po volji pila prvi kolostrum. Odvojena su od majki odmah posle rođenja da bi se

izbeglo nekontrolisano uzimanje kolostruma. Majke su bile u mogućnosti da ih ližu. Telad su dobijala prvu količinu kolostruma tokom prva dva sata života.

Uzorci krvi su uzimani od teladi neposredno pre hranjenja da bi se odredile koncentracije precolostralnih imunoglobulina. Zatim su ponovo uzimani i 24 sata nakon hranjenja, kako bi se odredila ukupna apsorbovana količina imunoglobulina.

Posle sakupljanja, krvni serum je odvojen centrifugiranjem u narednih 24 sata, a zatim uskladišten na -20°C do analize. Uzorci kolostruma su posle izdvajanja kolostralnog seruma, takođe, uskladišteni do analize (Jonić B, 1988; Jonić B, 1992; Jonić B i Basarić-Dinić Ljiljana, 1998).

U kolostrumu i krvnom serumu imunoglobulini su kvantitativno određivani procedurom zonske elektroforeze na papiru i ZST-testom. Da bi se osigurala maksimalna preciznost analize korišćen je profiltrovani kolostralni serum i nehemolizirani krvni serum.

Proračunima koji su izvedeni na osnovu izmerene zapremine popijenog kolostruma i koncentracije imunoglobulina u njemu utvrđena je ukupna količina imunoglobulina uneta sa prvim kolostrumom.

Statistička analiza dobijenih rezultata ovog istraživanja izvedena je deskriptivnim statističkim metodama. Tendencija kretanja koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu teladi određena je pomoću jednačine prave prvog stepena. Korelaciona zavisnost između koncentracije imunoglobulina u kolostrumu i imunoglobulina u krvnom serumu teladi određena je na osnovu koeficijenta korelacije. Dobijeni rezultati prikazani su tabelarno i grafički.

Rezultati / Results

Na osnovu koncentracija imunoglobulina u kolostrumu dva časa posle teljenja ustanovili smo da je prosečna vrednost bila $65,95 \pm 15,88$ g/l (tabela 1). U uslovima eksperimenta, kada je vreme uzimanja prvog kolostruma standardizovano, najveća postignuta prosečna koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu teladi usledila je posle ukupne apsorpcije imunoglobulina u toku prvog dana i iznosila je $27,18 \pm 10,22$ g/l.

Na osnovu podataka o koncentraciji gamaglobulina u kolostrumu (kolostralni imunoglobulini), popijenoj količini kolostruma, koncentraciji imunoglobulina u krvnom serumu, telesnoj masi teladi na rođenju i količini njihove plazme, izvršena je procena količine kolostruma i imunoglobulina unetih i resorbovanih od strane novorođene teladi, što je izraženo kao procenat (%) ili g/kg TM teladi. Prosečna telesna masa ispitivane teladi bila je $38,08 \pm 3,94$ kg, a koeficijent varijacije telesne mase iznosio je 10,35%. Ukupna vrednost absorbovanih imunoglobulina iznosila je prosečno $72,55 \pm 25,5$ g, što predstavlja $\bar{X} = 1,91 \pm 0,72$ g/kg TM teladi. U odnosu na telesnu masu (TM) teleta ta prosečna vrednost je $5,13 \pm 2,24$ g/kg. Navedena količina imunoglobulina nalazila se u količini kolostruma koja odgovara proseku telesne mase teladi $7,5 \pm 2,71$ procenta (tabela 2).

Tabela 1. Deskriptivni statistički parametri imunoglobulina u kolostrumu i krvnom serumu /
Table 1. Descriptive statistical parameters for colostrum and blood serum immunoglobulins

Stat. parametri / Statistical parameters	Koncentracije imunoglobulina u kolostrumu (g/l) / Immunoglobulin concentration in colostrum (g/l)	Količina popijenog kolostruma (l) / Amount of drunk colostrum (l)	Ukupna vrednost unetih imuno- globulina (g) / Total value of con- sumed immuno- globulins (g)	Koncentracija imu- noglobulina u krvnom serumu (g/l) / Immunoglobulin concentration in blood serum (g/l)
\bar{X}	65,95	2,86	94,5	27,18
SD	15,88	0,79	74,00	10,22
Sx	2,97	0,13	12,00	1,72
CV	24,36	27,76	36,41	37,41
IV	23,6-98,14	1,5-5,0	42,28-423,00	4,00-50,00

Tabela 2. Procena količine kolostruma i imunoglobulina unetih i resorbovanih od strane novorođene teladi

Table 2. Average quantities of colostrum and immunoglobulins consumed and resorbed by newborn calves

Stat. parametri / Statistical parameters	TM (kg)	DK %	Dlg g/kg TM	KP l	UAlg (g)	Kig (g/kg TM)
\bar{X}	38,08	7,50	5,13	2,66	72,55	1,91
SD	3,94	2,71	2,24	0,27	26,56	0,72
Sx	0,66	0,45	0,37	0,04	4,48	0,58
CV	10,35	36,16	43,69	10,41	36,60	37,79
IV	3l-48	3,54-16	1,25-13,64	2,17-3,15	10,08-112	0,3-3,5

TM (kg) – telesna masa teleta pri rođenju (kg) / *body mass of calf at birth (kg)*

DK – doziranje kolostruma (količina kolostruma koju je tele popilo izražena kao % od telesne mase) /
dosage of colostrum (amount of colostrum drunk by the calf expressed as percent of body mass)

Dlg – doziranje imunoglobulina (količina imunoglobulina koju je tele unelo izraženo na kg TM) /
dosage of immunoglobulin (amount of immunoglobulin consumed by calf expressed in kg body mass)

KP – količina plazme u l / *amount of plasma in l*

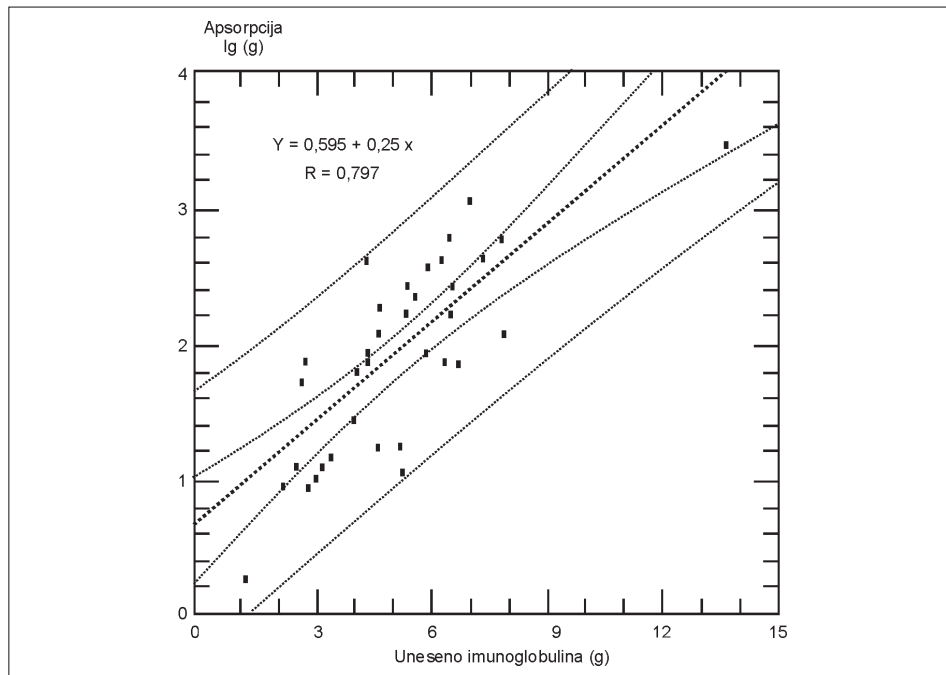
UAlg – ukupno apsorbovanih imunoglobulina (g) nakon 24 sata od rođenja teleta /
total absorbed immunoglobulins (g) 24 hours after birth of calf

Kig – Koncentracija imunoglobulina (količina imunoglobulina koja je apsorbovana na kg/TM) /
concentration of immunoglobulins (amount of immunoglobulins absorbed per kg body mass)

Ispitivani kolostralni uzorci (35 krava) imali su različite koncentracije imunoglobulina (od 26,3-98,14 g/l), a telad su popila različite zapremine kolostruma koje su se kretale u intervalu od 1,50 do 5,00 l što je rezultovalo različitim količinama unetih imunoglobulina izraženo kao g/kg TM (1,25-13,64 g/kg TM) (tabela 2). Apсорpcija imunoglobulina je određena utvrđivanjem koncentracije imu-

noglobulina u krvnom serumu, 35. teladi i prikazana nizom sa varijacionom širinom 4,0-50,0 g/l (tabela 1). Uzimajući u obzir da je literaturno obračunata količina plazme novorođenog teleta 7,00% njegove telesne težine, telad su apsorbirale količinu imunoglobulina od 0,3-3,5 g/kg TM (tabela 2).

Na osnovu pojedinačnih podataka o količini imunoglobulina koju je tele unelo (g/kg TM, "doziranje imunoglobulina" DIg) i količini imunoglobulina koju je tele apsorbiralo g/kg TM - koncentracije imunoglobulina - KIg urađena je regresiona analiza (slika 1).



Slika 1. Odnos između količine unetih imunoglobulina sa kolostrumom i količine resorbovanih imunoglobulina od strane novorođene teladi /

Figure 1. Ratio between amount of immunoglobulins consumed in colostrum and amount of resorbed immunoglobulin by newborn calves

Na osnovu jednačine prave, utvrđeno je da se količina apsorbiranih imunoglobulina povećava sa količinom unetih imunoglobulina, a linearna jednačina prave je $\hat{y} = 0,595 + 0,25x_i$. Koeficijent korelacije zavisnosti odnosa unetih i apsorbiranih imunoglobulina iznosi $r = 0,80$ što predstavlja jaku i pozitivnu korelaciju zavisnost količine unetih imunoglobulina i porasta koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu teladi. Nasuprot količini unetih imunoglobulina, njihova koncentracija u kolostrumu, kao nezavisni faktor, imala je zanemarljiv uticaj na koncentraciju imunoglobulina u krvnom serumu teladi ($r = 0,47$).

Korelativni odnosi između količine datih imunoglobulina sa kolostrumom i nivoa imunoglobulina u krvnom serumu teladi 24 sata posle rođenja (izraženi kao koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu posle završenog re-sorptivnog perioda) su prikazani (Jonić B i Basarić-Dinić Ljiljana, 1998). Iz rezultata se moglo videti postojanje visoke korelacije između ukupno unete količine imunoglobulina sa kolostrumom i postignutog nivoa u krvnom serumu teladi 24 sata posle rođenja ($r=0,88$). Takođe je utvrđena srednja pozitivna korelacija ($r=0,71$) između količine popijenog kolostruma i koncentracije serumskih imunoglobulina.

Diskusija / Discussion

Rezultati ispitivanja pokazuju da nivo imunoglobulina u krvnom serumu teladi direktno zavisi od sledeća dva faktora: (1) količine uzetog kolostruma ($r=0,710$) i (2) količine imunoglobulina toga kolostruma ($r=0,88$), odnosno $0,797(0,80)$ izraženo kao g/kg TM. Oba ova faktora pokazuju linearnu zavisnost: mala količina popijenog kolostruma-niska koncentracija, povećano unošenje kolostralnih imunoglobulina-povećana koncentracija imunoglobulina u krvnom serumu teladi.

Razlike između ukupne količine imunoglobulina popijenih sa prvim kolostrumom i količine unetih imunoglobulina bitno utiču na koncentraciju imunoglobulina u krvnom serumu posle uzimanja kolostruma. To ukazuje na veliki značaj navedenih faktora na zdravlje i prirast mladunčadi neposredno posle rođenja kao i u kasnijoj fazi odgoja. Razmatrani faktori su značajni za tehnologiju napajanja novorođene teladi, jer su hipogamaglobulinemije posle uzimanja kolostruma među najčešćim uzrocima neotpornosti teladi prema neonatalnim infekcijama, bez obzira na njihovu etiologiju (Grit Tiertz, 1996; Stengel KH, 1998).

Masa imunoglobulina u kolostrumu zavisi od njihove zapremine i koncentracije imunoglobulina u njemu, a u svetlu rezultata (Stott GH i Fellah A, 1983), prema kojima pri nižim koncentracijama imunoglobulina u kolostrumu (ispod 20 g/l) dolazi do neadekvatne apsorpcije imunoglobulina bez obzira na zapreminu kolostruma (2 ili 3 litara). Ovo jasno pokazuje da je koncentracija imunoglobulina u kolostrumu veoma značajan faktor zdravstvene zaštite teladi, što je utvrđeno ovim istraživanjem i izračunavanjem visoke korelacione zavisnosti između koncentracije imunoglobulina iz kolostruma i koncentracije imunoglobulina iz krvnog seruma teladi. Efikasnija apsorpcija iste mase imunoglobulina iz zapremine od jednog litra kolostruma od one iz dva litara kolostruma, podrazumeva napajanje teladi prvim kolostrumom čija je zapremina manja, a sadrži veću koncentraciju imunoglobulina.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu rezultata dobijenih ovim eksperimentom i analiza koje su izvršene može se zaključiti sledeće:

1. Prosečna koncentracija imunoglobulina u kolostrumu dva časa posle teljenja iznosila je $65,95 \pm 15,88$ g/l, telad su prosečno popila $2,86 \pm 0,79$ l kolostruma i nakon toga imala prosečnu koncentraciju $27,18 \pm 10,22$ g/l imunoglobulina u krvnom serumu.

2. Svako tele, koje je imalo prosečnu telesnu masu $38,08 \pm 3,94$ kg, prosečno je apsorbovalo po $72,55 \pm 25,50$ g, što predstavlja $1,91 \pm 0,72$ g/kg TM teladi. Posmatrajući telesnu masu (TM) teleta to je prosečno $5,13 \pm 2,24$ g/kg.

3. Utvrđeno je da se količina apsorbovanih imunoglobulina povećava sa količinom unetih imunoglobulina, a linearna jednačina prave je $\hat{y} = 0,595 + 0,25x$. Koeficijent korelacije zavisnosti odnosa unetih i apsorbovanih imunoglobulina iznosi $r=0,80$, što predstavlja jaku i pozitivnu korelacionu zavisnost.

4. Nasuprot količini unetih imunoglobulina, njihova koncentracija u kolostrumu, kao nezavisni faktor, imala je zanemarljiv uticaj na koncentraciju imunoglobulina u krvnom serumu teladi ($r=0,47$).

5. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je količina imunoglobulina u kolostrumu pri prvom davanju (napajanju) od primarnog značaja za zdravstveni status teladi i da se sa svakim gramom unetih imunoglobulina povećava apsorpcija za 0,25 grama.

Literatura / References

1. Ajaib Singgh, Sat Pal Ahuja. Calf. J Dairy Sci 1993; 76: 1148-56.
2. Ben Romdhane S, Khiari D, Makram J, Romdane MN, Louzir H, MBazaa A. Revue Med Vet 1997; 148(7) 627-32.
3. Besser TE, Gay CC. Vet Clin North Am Food Anim Pract 1994; 10: 107-17.
4. Brunig-Fann, Kaneene JB. A Review an Epidemiological Perspective. Veterinary Bulletin 1992; 62(5): 399-413.
5. Bush LJ, Staley TE. J Dairy Sci 1980; 63: 672-80.
6. DeNise KS, Robinson JD, Stott CH, Armstrong DV. J Dairy Sci 1989; 72: 552-4.
7. Grit Tiertz. Inaugural – dissertation zur Erlangung des Grades eines Doctor medicine veterinariae durch die Tierarztliche Hochschule Hannover, 1996.
8. Jonić B. Veterinarski glasnik 1988; 42(6-7): 389-95.
9. Jonić B. Veterinarski glasnik 1989; 43(12): 1143-51.
10. Jonić B. Veterinarski glasnik 1989; 43(10): 923-33.
11. Jonić B. Veterinarski glasnik 1990; 44(10): 807-12.
12. Jonić B. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet. Beograd, 1992.
13. Jonić B. Veterinarski glasnik 1997; 51(9-10): 435-40.
14. Jonić B, Basarić-Dinić Lj. Zbornik radova. 7 kongres veterinarara Jugoslavije. Sava centar 27-29 oktobar 1998. Beograd.

15. McGuirk SM. Quality and Quantity. Cattle Practice 1998; 6(1): 63-6. British Cattle Veterinary Association BCV.
16. Perino LJ, Wittum ET, Gary S Ros. Am J Vet Res 1995; 56: 1144-8.
17. Stott GH, Fella A. J Dairy Sci 1983; 66: 1319-28.
18. Stengel KH. Inaugural dissertation. Giesen. 1998.
19. Zaremba W, Guterbock WM, Holmberg CA. J Dairy Sci 1993; 76: 831-6.

ENGLISH

**CONTRIBUTION TO KNOWLEDGE OF COLOSTRAL IMMUNOGLOBULIN
ABSORPTION IN INTENSIVELY BRED CALVES**

B. Jonic, M. Mirilovic

A whole series of factors affect the degree of absorption of colostrum immunoglobulins. One of the most important factors is the time of feeding of newborn calves with colostrums in the first hours following birth.

The objective of these investigations was to determine the effect of immunoglobulin concentration in colostrum on the process of immunoglobulin absorption during the first day of life of calves.

A farm of Holstein-Friesian cows was selected for these investigations. The examinations covered 35 cows. For the examination of total immunoglobulin concentration, colostrum was taken two hours after calving. The immunoglobulin concentration was determined using the method of paper electrophoresis and RID-partigen immunodiffusion plates (INEP, Zemun). The amount of immunoglobulin in blood serum of calves was determined using the method of the zinc sulphate turbidity test (ZST).

The average concentration of immunoglobulin in colostrum two hours after calving was 65.95 ± 15.80 g/l. The biggest reached average concentration of immunoglobulin in blood serum of calves was determined following the absorption of immunoglobulin during the first day, and it amounted to 27.18 ± 10.2 g/l, which presents 1.91 ± 0.72 g/kg of the body mass of calves. The straight-line linear equation is $\hat{y} = 0.595 + 0.25x_i$. The correlation coefficient between taken and resorbed immunoglobulins amounts to $r = 0.80$. It can be concluded on the grounds of the obtained results that the amount of immunoglobulin in colostrum in the first drinking is of primary importance for the health status of the calves and that resorption is increased by 0.25 grams with every gram of immunoglobulin taken with colostrum.

Key words: calf, immunoglobulins, colostrum

ПРИЛОЖЕНИЕ ПОЗНАНИЮ АБСОРБЦИИ КОЛОСТРАЛЬНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ТЕЛЯТ В ИНТЕНСИВНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

Б. Йонич, М. Мирилович

На степень абсорбции колостральных иммуноглобулинов, влияет целый ряд факторов. Один из наиболее важных факторов время напаивания новорождённых телят колострумом в первых часах после родов.

Цель этого исследования была утвердить влияние концентрации иммуноглобулинов в колоструме на процесс абсорбции иммуноглобулинов в течение первого дня жизни телят.

Для этого исследования отобрана ферма Холшайн-Фризийской породы. Испытание охватило 35 коров. Для испытания совокупной концентрации иммуноглобулинов бран колострум два часа после теления. Концентрация иммуноглобулинов определена методом электрофореза на бумаге (фильтрационной бумаге) и РИД-плиты (Институт для применения ядерной энергии ИПЯЭ Земун). Количество иммуноглобулинов в кровяном сыворотке телят определено методом замутнения цинк сульфата (ЦС).

Средняя концентрация иммуноглобулинов в колоструме два часа после теления была $65,95 \pm 15,80$ г/л. Наибольшая достигнутая средняя концентрация иммуноглобулинов в кровяном сыворотке телят последовала после абсорбции иммуноглобулинов в течение первого дня и составляла (в сумме) $27,18 \pm 10,2$ г/л, что представляет собой $1,91 \pm 0,72$ г/кг МТ телят. Прямолинейное уравнение прямой $\hat{y} = 0,595 \pm 0,25 x_j$. Коэффициент корреляции зависимости отношений, внесённых и резорбционных иммуноглобулинов составляет (в сумме) $r = 0,80$. На основе, полученных результатов можно сделать вывод, что количество иммуноглобулинов в колоструме при первом напаивании первично важно для здравоохранительного статуса телят и что с каждым граммом иммуноглобулинов, внесённых колострумом увеличивается резорбция за 0,25 граммов.

Ключевые слова: телёнок, иммуноглобулины, колострум

FIELD EVALUATION OF AN ORF VACCINE IN SHEEP AND GOAT FLOCKS WITH HIGH NEONATAL MORTALITY*
PROCENA ORF VAKCINE NA TERENU KOD STADA OVACA I KOZA SA VISOKOM NEONATALNOM SMRTNOŠĆU

N. D. Giadinis, G. Filliusis, S. Q. Lafi, N. Panousis, K. Pourliotis,
J. Bojkovski, H. Karatzias**

A high percent of annual neonatal mortality attributed to orf infection was observed between 2001 and 2004 in 2 sheep and 2 mixed (sheep and goat) flocks of Northern Greece. In order to protect the neonatal lambs and kids from orf infection a commercially available live orf vaccine was used. Pregnant sheep and goats were vaccinated subcutaneously a month before parturition, while 10 sheep and 10 goats in each flock remained unvaccinated and were used as negative controls. The vaccine was significantly effective ($P < 0.05$) in reducing the orf lesions and the mortality rate in lambs and kids of the 4 flocks. During the next year 3 of the 4 flocks were revaccinated. A significantly low percentage of orf lesions and neonatal mortality continued to occur in revaccinated flocks, while a significant percentage ($P < 0.05$) of orf lesions and neonatal mortality reappeared in the nonrevaccinated flock. The antibody titres in vaccinated sheep and goats were increased significantly on days 60 and 105 post-vaccination, while the titres in the controls remained low ($P < 0.05$).

Key words: lambs, kids, mortality, protection, orf, live vaccine

Introduction / Uvod

Contagious ecthyma (synonyms: contagious pustular dermatitis, orf, contagious pustular stomatitis, malignant aphtha, sore mouth, scabby mouth) is

* Rad primljen za štampu 21. 12. 2007. godine

** Nektarios D. Giadinis, Clinic of Farm Animals; George Filliusis, Laboratory of Microbiology and Infections Disease, School of Veterinary Medicine, Aristotle University, Thessaloniki, Greece; Shawkat Q. Lafi, Department of Pathology and Animal Health, Faculty of Veterinary medicine, Jordan University of Science and Technology, Irbid, Jordan; Nikolaos Panousis, Konstantinos Pourliotis, Clinic of Farm Animals, School of Veterinary medicine, Aristotle University, Thessaloniki, Greece; Jovan Bojkovski, Department of ruminants and swine disease, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Serbia; Harilaos Karatzias, Clinic of Farm Animals, School of Veterinary medicine, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

an infectious viral disease affecting mainly sheep and goats, but also reindeer and musk oxen. Experimental infection has been achieved in cattle, rabbits, horses and monkeys (Michelsen PGE, 2002). The orf virus is a zoonotic pathogen, as humans are also susceptible to orf, which is an occupational hazard of those that handle sheep and goats (Robinson AJ, Balassu TC, 1981). It has worldwide prevalence and causes noticeable economic effect through loss of condition, mastitis, abandonment and related deaths (Scott DW *et al.*, 1984; Scott DW, 1988), although in some cases the disease can have no economic impact (McElroy MC and Bassett HF, 2007).

The orf causative agent is a DNA epitheliotropic *Parapoxvirus* (family *Poxviridae*) virus. Genetic heterogeneity of the orf virus isolates circulate in different geographic regions as concluded from several molecular studies (Mazur C *et al.*, 2000; Kottaridi C *et al.*, 2006). The orf virus infects damaged or scarified skin and replicates in regenerating epidermal keratinocytes (McKeever DJ *et al.*, 1988; Haig DM and McInnes CJ, 2002; Haig DM *et al.*, 2002). The clinical progression of the infection is erythema, papule, vesicle, pustule and scab. The virus is shed with the scab to seed the environmental pool, where it survives for a long time (Reid HW, 2002). Transmission occurs through direct and indirect (fomite) contact (Scott DW *et al.*, 1984).

In sheep and goats, the disease usually occurs in young animals 3-6 months old, although neonatal lambs and kids aged 10-12 days old can be severely affected as well. In naive flocks the disease can affect also adult animals (Radostits OM *et al.*, 2000; Navarre CB *et al.*, 2002). Clinical signs include papules, vesicles, pustules and scabs. The lesions usually heal in 2-4 weeks (Scott DW *et al.*, 1984; Smith MC and Sherman DM, 1994; Reid HW, 2002). In lambs they are distributed around the mouth and nostrils, along the gums and in the oral cavity, on the thigh, axilla, poll, genitalia, lower limbs, coronet and ewe udder (Reid HW, 2002). In kids the lesions are distributed on the lips, muzzle, eyelids, oral cavity, udder, teats and feet (Scott DW., 1988). Affected animals usually exhibit a decrease in feed consumption and some become depressed, anorectic and febrile (Scott DW *et al.*, 1984; Scott DW, 1988). Complications of contagious ecthyma include secondary bacterial infections (respiratory, gastrointestinal, integumentary), myiasis, mastitis and lameness (Scott DW *et al.*, 1984; Scott DW., 1988; Anderson DE *et al.*, 2002). The morbidity can reach up to 100 % and the case fatality rate usually ranges between 5-15 %, although case fatality rates, up to 75 % (Radostits OM *et al.*, 2000) and mortality up to 78 % (Darbyshire JH, 1961) have been reported.

The host immune response controlling orf virus replication in the skin of infected animals is based on CD4 (+) T-cells and orf-virus-specific antibodies (McKeever DJ and Reid HD, 1987; McKeever DJ *et al.*, 1987; Lloyd JB *et al.*, 2000). Since the orf virus can produce a series of immune-modulator and virulence proteins, the host immune response is not effective to eliminate the virus rapidly (Haig DM, 2006). In primary infections, the virus is able to replicate for a period of time

before the host can mount an effective immune response. On the contrary, in re-infections, the immune memory response ensures a rapid accumulation of host immune effector molecules and the virus is contained and eliminated more rapidly than in primary infections (Haig DM and McInnes CJ, 2002). Nevertheless, re-infections are frequent.

Mild infections are usually self-limiting (Clarckson MJ, Faull WB, 1990; Michelsen PGE, 2002). In more severe infections various treatments have been applied, but results generally were not satisfactory (Reeid HW, 2002). Therefore, a great interest exists for disease prevention. Only live vaccines are recommended. The traditional vaccine virus is prepared from the infected scabs of orf virus lesions in sheep and is used to vaccinate animals by scratching with an applicator. Up to date, several studies were conducted to evaluate the efficacy of live vaccines against orf in sheep. However, there is a lack of accord between the researchers about their efficacy (Valder WA *et al.*, 1979; Mayr A *et al.*, 1981; Buddle BM and Pulford HD, 1984; Buddle, BM *et al.*, 1984; Pye D, 1990; Nettleton PF *et al.*, 1996). From these studies, only some (Mayr A *et al.*, 1981) have conducted a field trial, while all the other trials have been conducted in controlled conditions. The majority of these efficacy trials have been accomplished in sheep, while data for goat vaccination is very limited in literature.

Considering all the above information, the aim of this study was to assess the protection ability of a commercially available live vaccine, under field conditions in 4 small ruminant flocks in Greece, that had high lamb and kid mortality attributed to severe orf infections.

Materials and methods / Materijal i metode rada

Animals / Životinje

The main experimental study was conducted in 4 flocks of northern Greece (Macedonia and Thrace) in the year 2005. The next year, 2006, the same 4 flocks were monitored for their health status and the vaccine clinical efficacy.

Flock 1. consisted of Lacaune sheep and was reared in Kozani area of West Macedonia. Flock 2. consisted of Lacaune and Friesian sheep and was reared in Xanthi area (Thrace). Flock 3. was mixed and consisted of Chios sheep (purebred and crosses with other local dairy breeds) and goats of local dairy breeds; the flock was reared in the Kavala area (East Macedonia). Flock 4. was also mixed and consisted of purebred Chios sheep and goats of local dairy breeds; this flock was reared in the Thessaloniki area (Central Macedonia).

During the past years (2001-2004) high neonatal mortality, attributed to contagious ecthyma has been recorded in all flocks, as was confirmed by clinical examination, histopathology and PCR.

The animals of the 4 flocks were reared under a closed intensive feeding system. The adults were fed alfalfa hay, straw and a commercial concentrated feed according to their dietary requirements (NRC, 1981; 1985). The neonatal

lambs and kids were suckling their mothers and had free access to alfalfa hay and commercial concentrated feed. All the animals were free of ectoparasites, regularly dewormed and vaccinated against clostridial infections.

Vaccine / Vakcina

The vaccine Ecthybel[®], a product of Merial-France was used for this study. It contains live ecthyma virus cultured in cells at least 2.5×10^4 PFU.

Experimental design / Plan eksperimenta

In order to achieve homogenous crops of lambs and kids all ewes and does were estrus synchronized in June 2004. Each adult animal was also ear-tagged and at 2.5 months of pregnancy was examined by ultrasonography for their pregnancy status. In each flock, a month before the expected date of parturition (Day 0), all pregnant sheep and goats of each flock were separated from the non-pregnant animals.

From each participated flock, 10 sheep and 10 goats were randomly selected (a total of 40 sheep and 20 goats) as unvaccinated controls. From these animals blood samples were taken by jugular vein puncture and then they received a 1 ml subcutaneous injection of 0.9 % saline solution (Group 1 – control). The remaining pregnant sheep (1060 totally) and goats (130 totally) in each flock were vaccinated subcutaneously against orf virus (Group 2) with 1 ml of a commercial live vaccine (Ecthybel[®]) according to the vaccine instructions. Before vaccination blood samples were taken from 10 sheep and 10 goats randomly selected in each flock (40 sheep and 20 goats totally). After grouping, the animals of the 2 groups remained separate and were monitored daily for their health status. After parturition, their neonatal lambs and kids were also monitored daily. Lambs or kids with orf lesions were treated and the dead ones were immediately necropsied to identify the cause of death. Blood samples were also taken on days 60 and 105 post-vaccination from the adult animals.

The next lambing season (2006) the flocks 2, 3 and 4 were revaccinated as previously, while the owner of flock 1 refused to vaccinate his animals. The neonatal lambs and kids of the 2 groups were attended for their health status for 2 months.

Antibody determination / Određivanje koncentracije antitela

The blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 20 min and the serum was kept at 4 °C. A commercial ELISA kit (Teqlab Rothe- Swizerland) based on a specific antigen was used and the serum was tested in four subsequent ten-fold dilutions. The samples were examined in duplicate for flock 2. One sample series was examined in the Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases of the Veterinary School of Thessaloniki-Greece and the other in the Veterinary School of Hannover-Germany. For the other 3 flocks the samples were examined only in Thessaloniki.

Statistical analysis / Statističke analize

Data were stored in a database and analyzed using SPSS 10.0 software (SPSS, 2000). The statistically significant association was determined by the Chi-squared test and the level of significance was $P < 0.05$. In cases where the Chi-squared test was not applicable (expected frequency less than 1 and over 20% of expected frequencies less than 5), Fisher's exact test was applied.

Results / Rezultati

The vaccine efficacy assessment was based on the number of newborn lambs and kids of the 2 groups (vaccinated and controls) with orf lesions, on the neonatal mortality rate and on blood serum antibody levels of vaccinated and unvaccinated ewes and does.

The vaccine was significantly effective ($P < 0.05$) in reducing the orf lesions and the mortality in lambs and kids of the 4 flocks in total.

Flock 1. Fifteen out of 15 lambs (100 %) from unvaccinated mothers (Group 1) had orf lesions at the age of 10-20 days and they all died despite treatment. In dead lambs severe stomatitis and bronchopneumonia was observed at necropsy. On the contrary, all the lambs (210 out of 210-100 %) of group 2 remained healthy and no losses due to orf were recorded. *Flock 2.* Ten out of 20 lambs (50 %) from unvaccinated mothers (Group 1) had orf lesions when they were 10-12 days old and they died despite treatment. At necropsy the same lesions as in lambs of flock 1 were observed. Five out of the 10 (25 %) other lambs of Group 1 showed orf lesions and after treatment they survived, while the other 5 lambs (25 %) had no orf lesions and grow normally. Regarding Group 2 animals, only 6 out of 230 lambs (2.6 %) had mild orf lesions at the commissures of the lips and no deaths were recorded. *Flock 3.* All the lambs (18 out of 18-100 %) and kids (15 out of 15-100 %) from unvaccinated mothers (Group 1) had orf lesions at the age of 10-15 days and they died despite treatment. At necropsy severe stomatitis and bronchopneumonia were also observed. Mild orf lesions at the lips were observed in only 3 out of 700 (0.43 %) lambs of Group 2 and they were treated successfully, while neither orf lesions nor deaths were found in kids (65 out of 65-100 %) from vaccinated does. *Flock 4.* All the lambs (19 out of 19-100 %) and kids (19 out of 19-100 %) from unvaccinated mothers (Group 1) had orf lesions when they were 15 days old and all were treated. After treatment only 1 out of 19 lambs survived (5.26 %), while all the kids died despite treatment. At necropsy they were found to have severe stomatitis and bronchopneumonia. All the lambs (290 out of 290-100 %) and kids (160 out of 160-100 %) of Group 2 were fully protected. No orf lesions and mortality attributed to the orf virus were recorded.

The 2nd year (2006), the flocks 2, 3 and 4 that were revaccinated 1 month before parturition had minimal losses due to orf infection. The 1st flock that was not revaccinated had orf lesions in 80 % of the neonatal lambs and mortality in 51.74 % of neonatal lambs (150 out of 290). The deaths were attributed to severe

stomatitis and bronchopneumonia. The morbidity and mortality rate in unvaccinated flock 1 were significantly higher compared with the previous year ($P < 0.05$).

No difference in antibody titres was recorded in the serological examination between the 2 laboratories. On Day 0 there were no significant differences in mean antibody titres ($P > 0.05$) of the animals in the 2 groups. Besides, there were no significant differences in mean antibody titres of unvaccinated sheep and goats (Group 1) on days 0, 60 and 105 ($P > 0.05$). A statistically significant increase ($P < 0.05$) in mean antibody titres of sheep and goats among the 3 samplings (105 day > 60 day > 0 day) of the vaccinated Group 2 was recorded. The antibody titres in animals of Group 2 were significantly higher ($P < 0.05$) than in Group 1 on days 60 and 105.

The number of the animals of each flock and the losses of the previous year (2004), before the experiment, are shown in Table 1. The mortality rates for vaccinated and non-vaccinated flocks are shown in Table 2. Figure 1 shows the results of serological examination from sheep of flock 2.

Table 1. Number of animals and losses in the 4 flocks for the year 2004 /

Tabela 1. Broj životinja i gubici kod 4 stada tokom 2004.

Flock No / Stado broj	Adult animals / Odrasle životinje		Neonates / Neonatalne životinje		Dead / Uginule		Alive / Žive	
	Ewes / Ovce	Does / Koze	Lambs / Jagnjad	Kids / Jarad	Lambs / Jagnjad	Kids / Jarad	Lambs / Jagnjad	Kids / Jarad
1	200	-	300	-	297	-	3	-
2	200	-	290	-	275	-	15	-
3	500	50	750	95	220	30	530	65
4	200	100	290	200	150	50	140	150

Table 2. Lamb and kid mortality rate for vaccinated and non-vaccinated (control) sheep and goat flocks /

Tabela 2. Stopa smrtnosti jagnjadi i jaradi kod vakcinisanih i nevakcinisanih (kontrolnih) stada ovaca i koza

Flock No / Stado broj	Vaccinated sheep / Vakcinisane ovce	Control sheep / Kontrolne ovce	Vaccinated goats / Vakcinisane koze	Control goats / Kontrolne koze
1	0 %	100 %	-	-
2	0 %	50 %	-	-
3	0 %	100 %	0 %	100 %
4	0 %	94.74 %	0 %	100 %

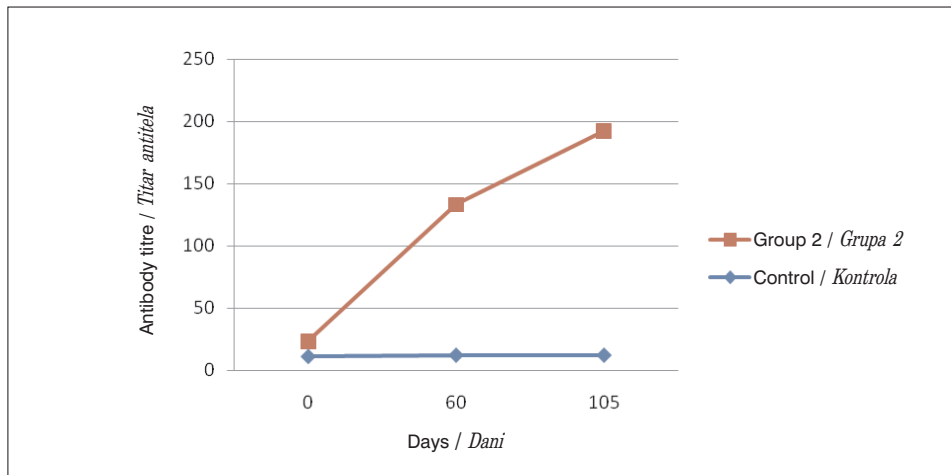


Figure 1. Antibody titres in sheep of the 2 groups on days 0, 60 and 105 /
Slika 1. Titri antitela kod ovaca grupe 2 na dane 0, 60 i 105

Discussion / Diskusija

Although a number of proprietary treatments as well as homeopathic preparations are available, the treatment of orf infections is usually not effective (Reid HW, 2002). Moreover, the possible beneficial effects of treatment must be weighed against the danger of zoonotic infection (Valder WA *et al.*, 1979; Smith MC and Sherman DM, 1994). Therefore, prevention measures of applying effective vaccination programs was essential, especially in flocks which experienced a high neonatal mortality rate in the previous years despite the application of different treatment protocols.

The use of orf vaccines in the field had a long story with controversial aspects about their efficacy and safety. Although they can limit the severity of the disease, they are not completely effective and vaccine strains may be the source of outbreaks (Girly JA *et al.*, 1998). Nevertheless, their use is considered necessary especially in cases with a high neonatal mortality rate, as has been shown in the 4 flocks referred to in this study. Since there are no commercial vaccines against orf virus licenced in the Greek market, a special licence was obtained from the Ministry of Agriculture for the use of Ecthybel[®] that is available in France. In literature, no available scientific information was found regarding the efficacy of this commercial vaccine in the field, something that probably makes this trial more interesting.

According to the vaccine instructions, pregnant animals should be vaccinated one month before parturition. Otherwise, neonatal lambs or kids should be vaccinated after the onset of the symptoms of the disease. In the pres-

ent study, it was decided to vaccinate only adult animals, because results of a previous preliminary study conducted in Greece (Giadinis N, 2006) indicated that vaccination of neonatal lambs and kids with Ecthybel[®] was not effective.

Several trials for the evaluation of different orf vaccines had contradictory results. Different routes of vaccine administration and only sheep of different age and productive stage were used. Information regarding orf vaccination in goats is limited. In fact, only one trial so far has been reported in Norway. Unfortunately, the results of this trial were not reliable, as there was a contamination of the vaccine with the Border disease virus (Loken T *et al.*, 1991). The results from our study could be the first field trial with orf vaccine in goats.

In the present study, pregnant sheep and goats were vaccinated 1 month before parturition. The vaccine was administered with subcutaneous injection, which is an easy way of administration and is the common route of administration for the majority of small ruminant vaccines (Mobini S *et al.*, 2002). The subcutaneous route to vaccinate sheep against orf has been used only by some authors (Mayr *et al.*, 1981), while skin scarification of the inner thigh or the axilla is the most preferable route of orf vaccine administration (Buddle BM and Pulford HD, 1984; Buddle BM, 1984; Scott DW, 1988; Clarckson MJ and Faull WB, 1990; Pye D, 1990; Nettleton PF *et al.*, 1996). Regarding the age and productive stage of vaccinated animals, many researchers in order to achieve better efficacy preferred to vaccinate lambs and not adult animals (Buddle BM and Pulford HD, 1984; Buddle BM, 1984; Nettleton PF *et al.*, 1996). Vaccination with the Scabivax[®] (Coopers Pitman-Moore) was more effective when administered in lambs or in the early or mid-gestation period of ewes (Clarckson MJ and Faull WB, 1990). In our study, the vaccine administration 1 month before parturition to ewes and does was effective without side effects. Our results are in accordance with the findings of Mayr A *et al.* (1981), who vaccinated 4 sheep flocks with high lamb morbidity and mortality due to orf infection. They found, that sheep vaccination in late pregnancy reduced significantly morbidity and minimized almost totally the neonatal mortality. Lamb vaccination in the later study was also effective, but not as effective as in the vaccination of pregnant sheep.

The efficacy of vaccination in other trials differed. In Germany, Mayr A *et al.* (1981) had similar problems in sheep flocks with high morbidity and mortality and the live vaccine they used was also effective. Buddle *et al.* (1984) and Buddle and Pulford (1984) had also good efficacy by vaccinating lambs, but had no efficacy by vaccinating pregnant ewes. Nettleton *et al.* (1996) used a commercial vaccine that was very effective in lambs, as in vaccinated lambs the lesions were milder than in unvaccinated ones. In literature, there were no studies reported about the efficacy of the orf vaccine in goats. As it has been shown in our study, the vaccination of pregnant does 1 month before parturition gives good protection to neonatal kids, as they had a low morbidity and mortality rate compared with non-vaccinated controls.

Michelsen (2002) considered that vaccination failures can be attributed to the different strain virulence, but Reid HW (2002) assessed that there was no evidence to suggest that field isolates of different virulence existed. Pye (1990) had different results in Australia vaccinating sheep with 2 different vaccine strains (effective, non-effective).

In literature, vaccination failures for the orf virus are not attributed to the antigenic difference between the vaccine and field strains (Buddle BM, Pulford HD, 1990; Nettleton PF *et al.*, 1996; Michelsen PGE, 2002). According to Nettleton PF *et al.* (1996) a live orf vaccine with an Australian strain had very good efficacy against the British strains. Our results are also confirmatory, since the French vaccine strain of Echthel was very effective in protecting the animals of 4 flocks in different areas of northern Greece.

The vaccine was clinically effective in reducing the morbidity and mortality rates in lambs and kids, while the orf lesions were milder in lambs and kids of vaccinated mothers. The clinical efficacy of the vaccine was further confirmed by the 2nd year of the study, because the owner of flock 1 refused to vaccinate his flock, while the owners of the other flocks vaccinated them. There was an increased morbidity and mortality rate in flock 1 compared with the previous year (when he had vaccinated the animals) and the other 3 flocks, that continued to have reduced morbidity and mortality due to vaccination. Since the immunity is not long lasting (McKeever DJ and Reid HD, 1987) and reinfections are frequent, revaccination appears necessary.

In the present study, antibody levels determination by the ELISA test in sheep and goats showed an increase after vaccination. The same results have also been found in other studies with ELISA (Buddle BM, Pulford HD, 1990; Nettleton PF *et al.*, 1996). Yirell *et al.* (1989) vaccinated SPF Suffolk crossbred lambs and found an increase in antibody titres post-vaccination using ELISA, although some animals did not respond. The humoral response is affected by several factors; one of them is the animal breed (McKeever DJ *et al.*, 1987). In other studies, an increase on post-vaccination titres was also found with other methods as the virus neutralization test (VN) and microtitre plate system (Mayr A *et al.*, 1981; Buddle BM *et al.*, 1984; Pye D, 1990). As it has been shown by Housawi FMT *et al.* (1992), ELISA is superior to AGID and CFT for orf antibody detection. However, in orf infections antibody determination is not indicative of the degree of protection from the disease (Buddle BM and Pulford HD, 1984; McKeever DJ *et al.*, 1987), because the cellular immune response and related immunomodulatory factors play a primary part in the protection from orf infection (McKeever DJ *et al.*, 1987; Haig DM *et al.*, 2002). So, post-vaccination antibody titres for the orf virus could be a good indicator for previous exposure to the virus, as was the vaccination with a live vaccine, but not for protection from the disease (Nettleton PF *et al.*, 1996).

From this study, it could be concluded, that vaccination of pregnant sheep and goats during the last month of gestation with a live orf vaccine (Echthel

bel[®]-Merial) appears to give good protection to neonatal lambs and kids against orf virus infection. However, annual re-vaccination seems to be necessary.

Literatura / References

1. Anderson DE, Rings DM, Pugh DG. Sheep and Goat Medicine. DG Pugh editor: WB Saunders co, 2002: 203-4.
2. Buddle BM, Dellers RW, Schurig GG. Am J Vet Res 1984; 45: 263-6.
3. Buddle BM, Pulford HD. Vet Microbiol 1984; 9: 515-22.
4. Clarkson MJ, Faull WB. A handbook for the sheep clinician. 4th edition: Liverpool University Press, 1990: 101-2.
5. Darbyshire JH. Br Vet J 1961; 117: 97-105.
6. Giadinis N. Ktin En 2006; 75: 16-7.
7. Haig DM. Curr Opin Infect Dis 2006; 19: 127-31.
8. Gilray JA, Nettleton PF, Pow I, Lewis CJ, Stephens SA, Madeley JD, Reid HD. Vet Rec. 1998; 143: 237-40.
9. Haig DM, McInnes CJ. Virus Res 2002; 88: 3-16.
10. Haig DM, Thomson J, McInnes C, McCaughan C, Imlach W, Mercer A, Fleming S. Vet Immun Immunop 2002; 87: 395-9.
11. Housawi FMT, Abu Elzein ME, Al Afaleq AI, Amin MM. J Comp Pathol 1992; 106: 153-8.
12. Kottaridi C, Nomikou K, Teodori L, Savini G, Lelli R, Markoulatos P, Mangana O. Vet Microbiol 2006; 116: 310-6.
13. Lloyd JB, Gill HS, Haig DM. Vet Immun Immunop 2000; 74: 249-62.
14. Loken T, Kroqsrud J, Bjerkas I. J Comp Pathol 1991; 104: 195-209.
15. Mayr A, Herlyn M, Mahnel H, Danco A, Zach A, Bostedt H. Zbl Vet Med 1981; B 28: 535-52.
16. Mazur C, Ferreira II, Rangel Filho FB, Galler. Vet Microbiol 2000; 73: 253-9.
17. McElroy MC, Bassett HF. Vet J 2007; 174: 663-4.
18. McKeever DJ, McEwan Jenkinson D, Hutchison G, Reid HW. J Comp Pathol 1988; 99: 317-28.
19. McKeever DJ, Reid HD. Vet Microbiol 1987; 14: 3-13.
20. McKeever DJ, Reid HW, Inglis NF, Herring AJ. Vet Microbiol 1987; 15: 229-41.
21. Michelsen PGE. Large Animal Internal Medicine. BP Smith editor, 3rd edition. Mosby co, 2002; 704-6.
22. Mobini S, Wolf C, Pugh DG. Sheep and Goat Medicine. DG Pugh editor. WB Saunders co 2002; 421-34.
23. Navarre CB, Lowder MQ, Pugh DG. Sheep and Goat Medicine. DG Pugh editor. WB Saunders co 2002; 66-7.
24. Nettleton PF, Brebner J, Pow I, Gilray JA, Bell GD, Reid HW. Vet Rec 1996; 138: 184-6.
25. NRC. Nutrient Requirements of Goats. National Academy Press, 1981.
26. NRC. Nutrient Requirements of Sheep. 6th edition. National Academy Press, 1985.
27. Pye D. Aust Vet J 1990; 67: 182-6.
28. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary Medicine. 9th edition. WB Saunders co 2000; 1242-4.

29. Reid HW. Diseases of sheep. WB Martin & I.D. Aitken editors. 3rd edition. Blackwell Science co 2002; 261-6.
30. Robinson AJ, Balassu TC. Vet Bull 1981; 51: 771-82.
31. Robinson AJ, Mercer AA. Arch Virol 1988; 101: 255-9.
32. Scott DW. Large Animal Dermatology. WB Saunders co 1988; 102-3.
33. Scott DW, Smith MC, Manning OT. Cont Educ Pract Vet 1984; 6: 473-84.
34. Smith MC, Sherman DM. Goat Medicine. Lea & Febiger co 1994; 22-3.
35. SPSS. SPSS Software. 10.0 Version. SPSS Inc. 2000.
36. Valder WA, Straub OC, Thiel W, Wachendörfer G, Zettl K. Tier Umsch 1979; 34: 828-36.
37. Yirrell DL, Reid HW, Norval M, Howie SEM. Vet Imm Immunol 1989; 22: 321-32.

ENGLISH

PROCENA ORF VAKCINE NA TERENU KOD STADA OVACA I KOZA SA VISOKOM NEONATALNOM SMRTNOŠĆU

N. D. Giadinis, G. Filliuisis, S. K. Lafi, N. Panousis, K. Pourliotis, J. Bojkovski, H. Karatzias

Visok stepen godišnje smrtnosti neonatalnih životinja doprineo je orf infekcijama uočnim između 2001 i 2004 kod dva stada ovaca i dva mešovita stada ovaca i koza u severnoj Grčkoj. Komercijalno dostupna živa orf vakcina je upotrebljena da bi se zaštitila neonatalna jagnjad i jarad od orf infekcije. Bređe ovce i koze su vakcinisane subkutano mesec dana pre partusa, dok je 10 ovaca i 10 koza u svakom stadu ostalo nevakcinisano i poslužile su kao negativne kontrole. Vakcina je bila značajno efikasna ($P < 0,05$) u smanjenju orf lezija i stope smrtnosti kod jagnjadi i jaradi sva četiri stada. Tokom sledeće godine, 3 od 4 stada su revakcinisana. Nastavljena je pojava značajno niskog procenta orf lezija i smrtnosti neonatalnih životinja u revakcinisanim stadima, dok se ponovo pojavio značajan procenat ($P < 0,05$) orf lezija i smrtnosti neonatalnih životinja kod stada koja nisu revakcinisana. Titri antitela kod vakcinisanih ovaca i koza su bili značajno povišeni 60 i 105 dana posle vakcinacije, dok su titri kod kontrola ostali niski ($P < 0,05$).

Ključne reci: jagnjad, jarad, smrtnost, zaštita, orf, živa vakcina

РУССКИЙ

ОЦЕНКА ОРФ ВАКЦИНЫ НА МЕСТЕ У ОТАРЫ ОВЕЦ И КОЗ С ВЫСОКОЙ НОВОРОЖДЁННОЙ СМЕРТНОСТЬЮ

N. D. Giadinis, G. Filliuisis, S. K. Lafi, N. Panousis, K. Pourliotis, J. Бойковски, H. Karatzias

Высокая степень годовой смертности новорождённых животных содействовал орф инфекциям замеченным между 2001 и 2004 у двух отар овец и двух смешанных отар овец и коз в северной Греции. Коммерчески доступная живая орф

вакцина употреблена, чтобы охранились новорождённые ягнята и козлята от орф инфекции. Беременные овцы и козы вакцинированы подкожно месяц тому назад до родов, пока 10 овец и 10 коз в каждой отаре остались невакцинированы и воспользовались как отрицательные контроли. Вакцина была значительно эффективная ($P < 0,05$) в уменьшении орф повреждений и ставки смертности у ягнят и козлят всех четырёх отар. В течение следующего года, 3 и 4 отар ревакцинированы. Продолжено явление значительно низкого процента орф повреждений и смертности новорождённых животных в ревакцинированных отарах, пока снова появился значительный процент ($P < 0,05$) орф повреждений и смертности новорождённых животных у отар, которые не ревакцинированы. Титры антител у вакцинированных овец и коз были значительно увеличены 60 и 105 дней после вакцинации, пока титры у контролей остались низкие ($P < 0,05$).

Ключевые слова: ягнята, козлята, смертность, охрана, орф, живая вакцина

**INFLUENCE OF STOCKING DENSITY ON BODY
CONFORMATION IN BROILERS*****UTICAJ GUSTOĆE NASELJENOSTI NA TELESNU KONFORMACIJU
KOD PILIĆA****Almira Softić, A. Gagić, Aida Kavazović, Ć. Crnkić, V. Katica, V. Šakić****

In this experiment the influence of stocking density on the body conformation of broiler carcasses was investigated. One hundred and twenty broiler chickens were divided into three groups; each group comprised 40 chickens. At the end of the first week of the fattening period 20 chickens in each group were marked by random sampling. The first testing group (P₁) represented the one with a lower stocking density (12 chickens per square meter); the second one (P₂) with a higher stocking density (18 chickens per square meter), while the control group (K) was set in accordance with the technological recommendations (15 chickens per square meter). Breast circumference, drumstick circumference, keel length (crista sterni), breast depth and breast angle were monitored and measured on a weekly basis. Body conformation measures were determined on the carcasses in a horizontal position with their backs placed on the table. The appropriate instruments such as millimetre tape, caliper and ZP-3 protractor were used. In addition, a weekly live weight and feed consumption were measured. Production results (live weight, gain, feed-to-gain ratio and European Production Index (EPI) were calculated. Carcass grades were calculated based on the mass ratio of the cooled carcass and the live body weight before slaughtering. The research findings have confirmed that overcrowding in production facilities is always risky in regard to the expected production results. In contrast, by fully conforming to the production technology requirements, it is possible to achieve better production results.

Key words: broiler, body conformation, stocking density

* Rad primljen za štampu 20. 12. 2007. godine

** Dr. sci. med. vet. Almira Softić, viši asistent, dr. sci. med. vet. Abdulah Gagić, profesor, dr. vet. med. Aida Kavazović, stručni saradnik, dr. vet. med. Ćazim Crnkić, viši asistent, dr. sci. med. vet. Velija Katica, vanr. profesor, dr. sci. med. vet. Vedad Šakić, docent, Fakultet veterinarske medicine, Sarajevo

Introduction / Uvod

Stocking density is one of the most important factors in broiler production. It affects the health and well-being of broilers to a large extent in the sense of productivity and behaviour. Definition of the concept of stocking density in poultry production is given on the basis of various criteria. So far, the crucial criteria have been established relating to economic factors, and consequently, the practice has been to place the greatest possible number of chickens per square metre in the final stage of the fattening period. In technical terms it has been expressed as a live weight of chickens per square metre at the end of the fattening period (Broiler Campaign, 2001; Broiler Management Guide Cobb 500, 1998).

Density is an exceptionally important non-genetic factor in regard to successful fattening and it has often been attempted to reconcile the two diametrically opposed views within this determinant. On the one hand, we have productivity goals in terms of the highest possible yield of meat per area unit; while on the other hand, there is a physiological reality and the irrefutable fact that we are dealing with living creatures that cannot be overcrowded in an unacceptable manner. As a result, stocking density is a problem that all producers of commercial hybrids have attempted to resolve for the benefit of animals and the breeding farm as such.

It is a common practice that farmers are trying to maximize the number of chickens per square unit to get the optimal yields. Animal welfare activists have been insisting on humanizing the production process in the fattening period, but also on other segments of poultry breeding with the aim of reducing the stocking density of animals per square unit. According to recommendations of commercial broiler breeders (Cobb, Ross) stocking density depends on many factors, the most important being the manner of breeding and its goals. In open (non controlled environment) poultry houses the calculation of stocking density is dependent on temperature, especially in the summer season, in addition to the type of production facilities. In controlled environment houses for intensive broiler fattening, the maximal stocking density should be up to 34 kg of live weight per one square metre (Broiler Management Guide Cobb 500, 1998).

The increased demand for chicken meat in markets has imposed a challenge for big selection centres to produce broiler chickens with a wide breast circumference and good body conformation. The term "conformation" is of American origin, but it is nowadays used in many countries around the globe to determine form (shape), type and body build of broilers (Pavlovski and Mašić, 1983). Determining body conformation in carcasses is vital for any qualitative assessment in research or commercial production. It is done by applying subjective and objective assessment methods (Pavlovski and Mašić, 1983; Antonijević *et al.*, 1981; Mašić *et al.*, 1980; Mašić, 1967).

Over the past few years a number of different broiler hybrids have been used in Bosnia and Herzegovina that have remained on the market for a

shorter or longer period. Nevertheless, the dominant breeds used in our country today are Ross and Cobb commercial hybrids. Consequently, we conducted our research to examine the influence of this particular factor stocking density on body conformation of broiler chickens in testing and breeding conditions during the fattening period. In addition we also measured their production results such as live body weight, total gain, feed-to-gain ratio and EPI index, as well as the carcass grade.

Materials and methods / Materijal i metode rada

During the six-week fattening period 120 broiler chickens Cobb 500 were divided into three groups; each group comprised 40 chickens. At the end of the first week 20 chickens in each group were marked by random sampling. The chickens in the first testing group (P_1) represented the one with a lower stocking density (12 chickens per square metre); the second one (P_2) with a higher stocking density (18 chickens per square metre), while the control group (K) was set in accordance with the technological recommendations (15 chickens per square metre).

Conditions in breeding capacities (such as temperature, humidity and light program) were in accordance with the producer's recommendations relating to floor keeping. Inside the facilities three boxes, differing in size, were set. Each box was adapted to a particular tested group. The manual equipment was installed in the boxes and all production amenities were in conformity with the selector's instructions. Broiler chickens were fed in accordance with nutritional requirements of the Cobb broiler breeds.

During the testing period breast circumference, drumstick circumference, keel length (*crista sterni*), breast depth and breast angle were monitored and measured on a weekly basis. Body conformation measures were determined on the carcasses in a horizontal position with their backs placed on the table. The appropriate instruments such as millimetre tape, caliper and ZP-3 protractor were used. In addition, a weekly live weight and feed consumption were measured.

Production results (live body weight, total gain, feed-to-gain ratio and European Production Index (EPI) were calculated and presented for the total number ($n=40$) of the tested broiler chickens. Carcass grades were calculated based on the mass ratio of the cooled carcass and the live body weight before slaughtering. Body conformation measurements were calculated and presented for the marked ($n=20$) broiler chickens.

The results were analyzed by ANOVA Single factor. If the Fisher's p value proved to be significant ($p<0.05$), the differences between means were tested by Duncan's multiple range test. The significance was determined at the level of $p<0.05$.

Results / Rezultati

The means of production results are shown in Table 1. The highest final body weight of 2.36 kg and highest total gain of 2.32 kg were achieved in Group K. The best feed-to-gain ratio (1.78 kg) was also achieved by the chickens from the same group as well as the highest EPI index (317).

Table 1. Means of production results of fattening chickens from 1 to 42 days
Tabela 1. Srednja vrednost proizvodnih rezultata kod pilića u tovu starosti od 1-42 dana

	P ₁	P ₂	K
Number of chickens Day 1 / <i>Broj pilića 1. dana</i>	40	40	40
Number of chickens Day 42 / <i>Broj pilića 42. dana</i>	40	40	40
Body weight day 1 (kg) / <i>Telesna masa 1. dana (kg)</i>	0.04	0.04	0.04
Body weight day 42 (kg) / <i>Telesna masa 42. dana (kg)</i>	2.34	2.26	2.36
Total gain (kg) / <i>Ukupni prirast (kg)</i>	2.30	2.21	2.32
Daily gain (kg) / <i>Dnevni prirast (kg)</i>	0.05	0.05	0.06
Total feed consumption (kg) / <i>Ukupni unos hrane (kg)</i>	4.12	4.10	4.12
Daily feed consumption (kg) / <i>Dnevni unos hrane (kg)</i>	0.10	0.10	0.10
Feed to gain ratio / <i>Odnos hrane i prirasta</i>	1.79	1.85	1.78
European Production Index (EPI) / <i>Indeks za evropsku proizvodnju (EPI)</i>	310	290	317

The highest carcass weight and carcass grade was confirmed in Group K, but were not significantly different compared to the other two groups (Table 2).

Means of body conformation measurements of broiler carcasses are presented in Table 3. The highest value of the breast circumference was found in Group K which was significantly higher than in Group P₂, but not in Group P₁. Drumstick circumference and keel length were essentially the same in all tested groups. Breast depth was the highest in Group P₁ and the lowest in Group K, and breast angle was also highest in Group P₁.

Table 2. Means of broiler carcass weight and carcass grade (% live body weight)
Tabela 2. Srednje vrednosti težine trupa pilića u tovu i ocene trupa (% žive mase)

	Groups / Grupe			S. E. M.
	P ₁	P ₂	K	
Carcass weight (kg) / Težina trupa (kg)	1.66	1.59	1.70	0.23
Caracass grade (% live body weight) / Ocena trupa (% žive mase)	70.94	70.35	72.03	1.04

Table 3. Means of body conformation measurements of broiler carcasses /
Tabela 3. Srednje vrednosti merenja telesne konformacije trupova pilića u tovu

Parameters / Parametri	P ₁	P ₂	K	S.E.M.
Ljve weight, g / Živa masa, g	2334	2315	2347	44.58
Breast circumference, mm / Obim grudi, mm	309.65 ^{ab}	302.65 ^a	312.95 ^b	2.92
Drumstick circumference, mm / Obim batka, mm	142.65	144.15	145.60	2.12
g/mm	16.36	16.06	16.12	0.31
Keel length, mm / Dužina kobilice, mm	110.15	109.55	114.15	1.66
g/mm	21.18	21.13	20.56	0.44
Breast depth, mm / Dubina grudi, mm	108.75 ^a	104.85 ^{ab}	96.15 ^b	2.91
g/mm	21.46 ^a	22.08 ^{ab}	24.41 ^b	0.78
Breast angle* / Grudni ugao*	126.35 ^a	118.05 ^{bc}	116.05 ^b	1.75

abc – means in the same row with different superscript differ significantly ($p < 0.05$) /

abc – srednje vrednosti u istom redu sa različitim indeksom se značajno razlikuju ($p < 0.05$)

S.E.M. – standard error of mean / S.E.M. standardna greška srednje vrednosti

g/mm – index calculated as grams of live weight divided by millimeters of given body measure /

g/mm – indeks izračunat kao grami žive mase podeljeni milimetrima date telesne mere

Discussion / Diskusija

Production results / Proizvodni rezultati

Our production results were in conformity with the highest performance scores of this hybrid (Broiler Growth Cobb 500, 1998; Broiler Performance Cobb 500, 1998). Results have also proved that high stocking density in production capacities is always risky in respect to the expected breeding results. The pa-

parameters such as body weight, total gain and feed-to-gain ratio were below the technological norms, while the asserted EPI index in broiler chickens bred in conditions of a high stocking density has been proven to be economically unprofitable. Hence, these findings are in conformity with the data from literature (Kavazović *et al.*, 2004; Softić *et al.*, 2004; Alibegović-Zečić *et al.*, 2003; Softić *et al.*, 2003; Feddes *et al.*, 2002; McLean *et al.*, 2002; Broiler Growth Cobb 500, 1998; Broiler Performance Cobb 500, 1998; Martrenchar *et al.*, 1997). We observed only three cases of discrepancy in respect to quantity regarding the final results (Alibegović-Zečić *et al.*, 2003; Pavlovski *et al.*, 2003; Pejin *et al.*, 1980), but they are attributable to a different test design and the use of other broiler breeds in it.

We could not confirm any important influence of stocking density on production results, which is absolutely in conformity with the results obtained by Thomas *et al.* (2004) who report that the stocking density of 10, 15 and 20 chickens per square metre did not significantly influence the achieved production results.

Carcass weight and carcass grade / Težina i ocena trupova

After slaughtering and processing the weight of the carcasses in broiler chickens from the control group amounted to 1.70 kg with a carcass grade of 72.03 %. At the same time, these were by far the best expected results based on the selector's recommendations and breeding conditions as such (Broiler Growth Cobb 500, 1998; Broiler Performance Cobb 500, 1998). The weight of the processed carcasses and the carcass grade appeared to be better, and as such it could elicit some doubts. This outcome was hinted at by the production results of live broiler chickens, and in spite of the fact that chickens from this group had a somewhat larger living space, it did not result in irrational use of food energy for movement and did not influence the gain. On the contrary, the chickens from the group that had a reduced living space, or the least capacity for movement, did not use the feed rationally, and thus, they achieved the poorest pre-slaughter results. In production circumstances these results may have been caused by difficult access to water and feed, which was not a case in our experiment. Therefore, the causes should be looked for in a wide range of factors relating to high stocking density, but generally, they can be summed up under the notion of a disrupted well-being of individual chickens. In this respect, our research results are similar to those of authors who reported etological factors as serious causes of production failures in intensive poultry breeding conditions (Spinu *et al.*, 2003; Tablante *et al.*, 2003; Estevez *et al.*, 2002; Feddes *et al.*, 2002; Sanotra *et al.*, 2001; Martrenchar *et al.*, 2000; Sorensen *et al.*, 2000; Martrenchar *et al.*, 1997; Cherry and Barwick, 1962). Otherwise, the slaughter-related results that we obtained for the control and the first testing group are similar to those of other authors (Kavazović *et al.*, 2004; Alibegović-Zečić *et al.*, 2003; Pavlovski *et al.*, 2003; Feddes *et al.*, 2002; Supić *et al.*, 2000; Alibegović-Zečić, 1999; Mitrović, 1996; Petrović, 1981), but they are even better than the results obtained by others (Čaklović *et al.*, 1991; Pav-

lovski *et al.*, 1980). The reasons could be related to different broiler strains used in their experiments (Čaklović *et al.*, 1991), or a different experiment design aimed at establishing the influence of various feed brands on the fattening results (Pavlovski *et al.*, 1980), but not the housing conditions.

Body conformation of broiler carcass / Telesna konformacija trupova pilića

Body conformation is a crucial indicator in assessing the quality of chicken carcasses. The measures of body conformation of broiler carcasses, expressed as the index of body weight before slaughtering and the observed measures on the carcasses themselves, aimed at reducing the effect of the body weight and accentuating the importance of the applied treatment, are also considered to be the important indicators of the carcass quality. We could not find data in the available literature for some tested parameters because of the nature of our experiment design. Consequently, in such conditions we tried to compare our results related to body conformation measures with available results from other authors, being fully aware that the results of the latter were most commonly influenced by other factors, namely, by other experiment designs.

The trend of breast circumference increase on carcasses of the broiler chickens bred in conditions in conformity with the recommended technical standards proved to be statistically different compared to the carcasses of two other testing groups. Nevertheless, the best mean value of breast circumference in our experiment was lower than that reported by Latshaw and Bishop (2001). It must here be mentioned that the authors in their experiment on broiler chickens, which were divided according to sex, used another set of instruments for measuring breast circumference. On the other hand, our values regarding the breast circumference of all the three groups are higher in comparison with the results obtained by Antonijević *et al.* (1981) who conducted their experiments on broad-breasted broiler chickens of the Hubbard breed.

Drumstick meat, along with white breast meat, is classified as the top-quality part of the chicken carcass. Taking into consideration the fact that drumstick circumference is bigger in broiler chickens with full, rounded drumsticks, our results for all the tested groups are better than those reported by other authors (Lukić, 2001; Hopić, 1996; Pavlovski and Mašić, 1983; Pavlovski *et al.*, 1980).

The lower index value of the drumstick is an indicator of a more favourable body conformation factor (Pavlovski and Mašić, 1983; Mašić, 1973). In accordance with the said criterion the most favourable body conformation was observed in broiler chickens bred in conditions of a higher stocking density, although the total values for all the three groups were very similar. The keel length index can be observed from two points. The longer the keel means the more space is provided for breast musculature, but the breast roundness in this case is smaller, and as a result, the carcass appears less compact. When priority is given to carcass meatiness, it is understood that longer-keel carcasses have an advantage. Therefore, a lower index value indicates a more favourable body conforma-

tion. The broiler chickens from the control group achieved the best results although statistically they did not differ from the other two groups. Our results for all the three groups are approximately the same as those of other authors (Hopić, 1996; Pavlovski and Mašić, 1983), but considerably lower than the results reported by Pavlovski *et al.* (2003). It must be emphasized that the latter authors used several broiler breeds in their study, and chickens were divided according to sex.

Selection, aimed at improving body conformation and slaughter-related parameters of broiler chickens, was focused on the breast part of the carcass. Bearing in mind that a higher index of breast depth indicates a more favourable body conformation, the results we obtained in this respect were also better in comparison with other research results (Pavlovski *et al.*, 1980; Lukić, 2001). Although breast meatiness and roundness need not always be in correlation, our results have also proven that, apart from selection, the limited movement of broiler chickens is an indispensable prerequisite of a better body conformation. However, this does not mean that the factor of limited movement should be used indiscriminately because other research findings in the present study appear to be against a higher stocking density of broiler chickens in the fattening period.

Conclusion / Zaključak

The best results were achieved by the broiler chickens from the control group that were fattened in conformity with the recommended stocking density of 15 individual broilers per one square metre. The research findings have confirmed that overcrowding in production facilities is always risky in regard to the expected production results. Fully conforming to the production technology requirements is needed for the achievement of the best production results.

Literatura / References

1. Alibegović-Zečić F. Nutritivna vrijednost industrijskih tovnih smjesa korištenih u Bosni i Hercegovini i njihov uticaj na rezultate tova brojlera. Izvod iz doktorske disertacije. Veterinaria 1999; 48(1-2), Sarajevo.
2. Alibegović-Zečić F, Gagić A, Piplica S, Čaklović F, Rešidbegović E, Kavazović A, Crnković Č. Uticaj kvaliteta krmnih smjesa na kvalitativno kvantitativna svojstva brojler-skog mesa linije "COBB". Veterinaria 2003; 52(1-4): 137-46, Sarajevo.
3. Antonijević N, Pavlovski Z, Milošević N, Mašić B. Usporedne morfološke karakteristike nekih kostiju tovnih petlića različite konformacije. Veterinarski glasnik 1981; 35(8): 769-884, Beograd.
4. Broiler Growth Cobb 500, 1998, revised.
5. Broiler Management Guide Cobb 500
6. Broiler Performance Cobb 500, 1998 revised.
7. Broiler Campaign, 2001, [Http://www.ciwf.co.uk/Camp/Main/Broiler/broiler_campaign.htm](http://www.ciwf.co.uk/Camp/Main/Broiler/broiler_campaign.htm). Revised, July, 13.

8. Cherry P, Barwick MW. The effect of light on broiler growth: II light patterns. *Br Poult Sci* 1962; 3: 41-50.
9. Cravener TL, Roush WB, Mashaly MM. Broiler production varying population densities. *Poult Sci* 1992; Mar 71(3): 427-33.
10. Čaklovića F, Milanović A, Gagić A, Karić R, Lončarević S, Nedić D, Škandro-Kazić M. Klaoničke vrijednosti brojlera Hybro držanih u ekstenzivnim uslovima. *Veterinaria* 1991; 40(3-4), Sarajevo.
11. Estevez I, Pettit-Riley R, Russek-Cohen E. Effects of density and perch availability on aggressive behaviour in broilers. *Poult Sci* 2002; 82(4).
12. Feddes JJ, Emmanuel EJ, Zuidhof MJ. Broiler Performance, Bodyweight Variance, Feed and Water Intake, and Carcass Quality at Different Stocking Densities. *Poultry Science* 2002, 81: 774-9.
13. Homidan al A, Robertson JF. Effect of litter type and stocking density on ammonia, dust concentrations and broiler performance. Spring Meeting of the WPSA UK branch-papers, 2003.
14. Hopić S. Uticaj genotipa i pola na konformaciju, sastav trupa i osobine kostiju brojlera. Magistarski rad 1996. Beograd.
15. Kavazović A, Sivro Š, Rešidbegović E, Alibegović-Zečić F, Gagić A. Utjecaj probiotika na proizvodne rezultate tovnih pilića provenijencije "COBB". *Krmiva* 2004; 46(3): 135-9, Zagreb.
16. Latshaw JD, Bishop BL. Estimating Body Weight and Body Composition of Chickens by Using Noninvasive Measurements. *Poultry Science* 2001; 80: 868-73.
17. Lukić M. Uticaj fitaze u ishrani brojlera na proizvodne rezultate i zdravstveno stanje. Magistarska teza 2001. Beograd.
18. Martrenchar A, Huonnic D, Cotte JP, Boilletot E, Morisse JP. Influence of stocking density, artificial dusk and group size on the perching behaviour of broilers. *British Poultry Science* 2000; 41: 125-30.
19. Martrenchar A, Morisse JP, Huonnic D, Cotte JP. Influence of stocking density on some behavioural, physiological and productivity traits of broilers. *Vet Res* 1997. Sep-Oct, 28(5): 473-80.
20. Mašić B, Pavlovski Z, Vasović B, Apostolov N. Instrument za mjerenje konformacije grudi pilića "uglomer ZP-3". *Veterinaria* 1980; 29(1-2), Sarajevo.
21. Mašić B, Žigić Lj, Petrović V. Selekcija u suprotnim smjerovima na grudni ugao u 10-nedjeljnom uzrastu kod jedne populacije White Rock rase. *Stočarstvo* 1967. 21: 267-74.
22. Mašić B. Instrument za mjerenje konformacije grudi pilića-profiler ZP. *Stočarstvo* 1967; 21: 275-80.
23. Mašić B. Ispitivanje najpovoljnije tehnike merenja konformacije grudi pilića profilerom ZP i njegove efikasnosti u poređenju sa uglomerom ZP-2. *Savremena poljoprivreda* 1973; XXI(5-6): 61-8, Novi Sad.
24. McLean JA, Savory CJ, Sparks NH. Effects of stocking density on performance and behaviour of male and female broiler chickens. *Animal Welfare* 2002; 11: 55-73.
25. Mitrović S. Vrste, rase hibridi živine. Univerzitetski udžbenik. Beograd 1996.
26. Pavlovski Z, Arsenijević Ž, Lukić M. Proizvodnja i kvalitet trupa Arbor Acres i Hybro G brojlera. *Živinarstvo* 2003, 1-2.
27. Pavlovski Z, Mandić A, Jelić T. Uticaj različitih hibrida kukuruza u smešama na prirast, iskorišćavanje hrane i kvalitet mesa pilića. *Veterinaria* 1980; 29(1-2), Sarajevo.

28. Pavlovski Z, Mašić B. Konformacija trupova pilića. Zbornik referata VII jugoslovenskog savetovanja o problemima kvaliteta mesa i standarizacije 1983; 115-26, Bled.
29. Pejtin G, Višnjic Č, Supić B, Rede R, Pribiš V. Uticaj nivoa energije u hrani i dobi kod klanja na prirast i kvalitet mesa pilića. Veterinaria 1980. 29(1-2) Sarajevo.
30. Petrović V. Živinarstvo 1981. Naučna knjiga. Beograd.
31. Sanotra GS, Lawson LG, Vestergaard KS. Influence of Stocking Density on Tonic Immobility, Lameness, and Tibial Dyschondroplasia in Broilers. Lawrence Erlbaum Associates, Inc. Journal of Applied Animal Welfare Science Copyright©2001; 4(1): 71-87.
32. Softić A, Gagić A, Kustura A, Goletić T, Alibegović-Zečić F, Kavazović A, Šakić V, Katica V. Karakteristike tjelesne konformacije brojlera provenijence Cobb 500. Zbornik radova 2003. Peto savjetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja sa međunarodnim učešćem. Clinica vetreinarina. Budva.
33. Softić A, Kavazović A, Gagić A, Rešidbegović E, Katica V, Alibegović-Zečić F, Šakić V. Rast pojedinih dijelova tijela brojlera kod različite gustoće naseljenosti. Veterinaria 2004. 53(2-4): 127-32, Sarajevo.
34. Sorensen P, Su G, Kestin SC. Effects of age and stocking density on leg weakness in broiler chickens. Poult Sci 2000. Juni, 79(6): 864-70.
35. Spinu M, Benveneste S, Degen AA, 2003, Effect of density and season on stress and behaviour in broiler breeder hens. British Poultry Science 44(2): 170-4.
36. Supić B, Milošević N, Čobić T. Živinarstvo 2000. Udžbenik. Novi Sad.
37. Tablante NL, Estevez I, Russek-Cohen E. Effect of Perches and Stocking Density on Tibial Dyschondroplasia and Bone Mineralization as Measured by Bone Ash in Broiler Chickens. J Appl Poult Res 2003. 12: 53-9.
38. Thomas D, Ravindran V, Thomas DV, Camden BJ, Cottam YH, Morel PCH, Cook CJ. Influence of stocking density on the performance, carcass characteristics and selected welfare indicators of broiler chickens. New Zealand Veterinary Journal April 2004.52(2) 76-81(6).

SRPSKI

UTJECAJ GUSTOĆE NASELJENOSTI NA TJELESNU KONFORMACIJU KOD PILIĆA U TOVU

Almira Softić, A. Gagić, Aida Kavazović, Č. Crnkić, V. Katica, V. Šakić

U radu je istraživana utjecaj gustoće naseljenosti na tjelesnu konformaciju trupova kod pilića u tovu. U tov je bilo uključeno ukupno 120 pilića podjeljenih u tri grupe po 40 jedinki. Na kraju prve sedmice tova metodom slučajnog uzorka uzeto je i obilježeno po 20 pilića. Pilići prve pokusne grupe (P_1) predstavljali su grupu sa manjom gustoćom naseljenosti (12 pilića/m^2), pilići druge pokusne grupe (P_2) predstavljali su grupu pilića sa većom gustoćom naseljenosti (18 pilića/m^2), dok je naseljenost kontrolne grupe (K) pilića bila u skladu sa tehnološkim preporukama (15 pilića/m^2). Tokom pokusa kod obilježenih pilića sedmično su praćeni i mjereni obim grudi, obim batka, dužina kobilice (*crista sterni*), dubina grudi i grudni ugao. Mjere tjelesne konformacije su utvrđene na trupovima u horizontalnom položaju, sa leđima na stolu uz korištenje odgovarajućih instrumenata: milimetarska mjerna traka, šubler, uglomjer ZP-3. Osim toga kod svih pilića sedmično je mjerena tje-

lesna masa kao i utrošak hrane. Randmani su izračunati iz odnosa mase ohlađenog trupa i tjelesne mase prije klanja. Dobiveni rezultati pokazali su da je prenaseljavanje proizvodnih objekata s aspekta očekivanih efekata tova uvijek rizično, te da je uz potpuno poštivanje proizvodne tehnologije moguće ostvariti bolje proizvodne pokazatelje.

Ključne reči: pilići, telesna konformacija, gustoća naseljenosti

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ГУСТОТЫ НАСЕЛЁНОСТИ НА КОНФОРМАЦИЮ ТЕЛА У ЦЫПЛЯТ В ОТКОРМЕ

Алмира Софтич, А. Гагич, Аида Кавазович, Ч. Црнкич, В. Катица, В. Шакич

В работе исследовано влияние густоты населённости на конформацию тела туловищ у цыплят в откорме. В откорм было включено совокупно 120 цыплят, разделенных в три группы по 40 отдельных животных. На конце первой недели откорма методом случайного образчика взято и обозначено по 20 цыплят. Цыплята первой опытной группы ($Ц_1$) представляли собой группу с более маленькой густотой населённости (12 цыплят/м^2), цыплята второй опытной группы ($Ц_2$) представляли собой группу цыплят с бóльшей густотой населённости (18 цыплят/м^2), пока населённость контрольной группы (К) цыплят была в соответствии с технологическими рекомендациями (15 цыплят/м^2). В течение опыта у обозначенных цыплят недельно слежены и мерены объём груди, объём ножки, длина грудной кости (*crista sterni*), глубина груди и груной угол. Меры конформации тела утверждены на туловищах в горизонтальном положении, со спиной на столе при пользовании соответствующих инструментов: миллиметровая измерительная лента, угломер-циркуль, угломер ЗП-3. Кроме того у всех цыплят недельно мерена масса тела словно и затрата корма. Выходы высчитаны из отношения массы охлаждённого туловища и массы тела до убоя. Полученные результаты показали, что перенаселение производственных объектов в аспекте ожидающих эффектов откорма всегда рисковано, и что при полном уважении производственной техноогии возможно осуществить более хорошие производственные показатели.

Ключевые слова: откорм цыплят, населённость, конформация тела

**ZNAČAJ ISPITIVANJA LEKOVA KOJI SE KORISTE U
VETERINARSKOJ MEDICINI***
*IMPORTANCE OF THE EVALUATION OF DRUGS USED IN
VETERINARY MEDICINE*

Silvestra Kobal, V. Čupić**

Upotreba lekova u veterinarskoj medicini u Republici Sloveniji regulisana je Zakonom o lekovima, Zakonom o veterinarstvu i podzakonskim aktima iz ove oblasti. Koordinacija i nadzor nad prekliničkim (laboratorijskim) i kliničkim ispitivanjima lekova, koji se koriste u veterinarskoj medicini vrši se u saglasnosti sa Katedrom za farmakologiju i toksikologiju, koja (zajedno sa Veterinarskim nacionalnim institutom), čini jedinstven sistem za Laboratorijsko i kliničko ispitivanje lekova. U tom pravcu, Katedra za farmakologiju i toksikologiju takođe saraduje i sa klinikama i institutima Veterinarskog fakulteta u Ljubljani.

Cljučne reči: ispitivanje lekova, zakonska regulativa, farmakologija

Uvod / Introduction

Lekovi, koji se koriste u veterinarskoj medicini a nalaze se na tržištu u Republici Sloveniji, moraju ispunjavati standarde za kvalitet, željenu efikasnost i bezbednost, da bi se mogli aplikovati životinjama. Na osnovu Zakona o lekovima i medicinskim sredstvima (Službene novine Republike Slovenije br. 101/99) donet je Pravilnik o vrsti, sadržaju i načinu farmakološko-toksikološkog i kliničnog ispitivanja lekova za upotrebu u veterinarskoj medicini (Službene novine Republike Slovenije br. 28/2004). U poglavlju III navedenog Pravilnika prikazan je sadržaj prekliničkih farmakološko-toksikoloških ispitivanja lekova, na osnovu kojih se ispituju (i utvrđuju) farmakodinamske, farmakokinetske i toksikološke osobine lekova na laboratorijskim životinjama, izolovanim organima, tkivima, drugim farmakološkim modelima ili na ciljnoj vrsti životinja, za koju je lek namenjen.

* Rad primljen za štampu 06. 11. 2007. godine

** Dr. sci. med. vet. Silvestra Kobal, profesor, Veterinarski Fakultet, Ljubljana, Slovenija; dr. sci. med. vet. Vitomir Čupić, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Postupci i sadržaj prekliničkih ispitivanja moraju ispunjavati uslove naučno-istraživačkog razvoja, dobre laboratorijske prakse (DLP) i zahteve važećih propisa iz te oblasti.

Osoba (osobe) koja obavlja preklinička ispitivanja je pravno ili fizičko lice koje ispunjava propisane uslove u vezi sa potrebnim prostorijama, opremom, brojem i stručnim zvanjem zaposlenih, te dobre laboratorijske prakse (DLP).

U prekliničkim ispitivanjima potrebno je utvrditi farmakološku aktivnost (efikasnost leka), stepen podnošljivosti (toleranciju) i bezbednost leka. Dokumentacija o bezbednosti leka mora sadržavati:

- Podatke o toksičnosti leka, odnsono opasne ili neželjene štetne učinke leka koji se mogu pojaviti na životinjama, posle propisanog načina aplikacije leka;

- Podatke o farmakološkim osobinama leka;

- Podatke o potencijalno štetnim učincima zaostataka leka ili njegovih metabolita (rezidua) na čoveka ili na procese industrijske prerade namirnica životinjskog porekla;

- Podatke o potencijalnoj opasnosti izlaganja ljudi leku za vreme upotrebe tog leka;

- Podatke o potencijalnoj opasnosti za životnu sredinu ili prirodu (ekotoksičnost) posle upotrebe ispitujućeg leka.

Da bi se neki lek mogao koristiti u lečenju određene životinjske vrste čiji se proizvodi koriste za ishranu ljudi, u dokumentaciji za registraciju leka moraju biti navedeni podaci o maksimalno dozvoljenoj količini zaostataka leka ili njegovih metabolita (MDK=MRL) u mesu, jestivim tkivima, mleku, jajima, medu i drugim proizvodima koji se nalaze u lancu ishrane čoveka.

Osnovni podaci, (koji bi mogli biti korisni za daljnja ispitivanja iz ove oblasti) mogu se dobiti već i u toku prekliničkih ispitivanja sudbine leka u organizmu (tj. farmakokinetike leka) nakon njegove sistemske ili apsorptivne aplikacije, zatim aplikacije na kožu ili na sluznicu ciljne vrste životinje.

Za utvrđivanje farmakokinetičkih osobina nekog leka kod ciljne životinjske vrste moraju se upotrebljavati dovoljno osetljive, pouzdane, opisane i validne analitičke metode.

U poslednje vreme u Sloveniji, ali i u drugim državama, sve više se uzgajaju divlje životinje sa ciljem da se uključe u lanac ishrane čoveka. U zdravstvenoj zaštiti tih životinja moraju se takođe upotrebljavati lekovi, kako u preventivne, tako i u terapijske svrhe. Da bi se određeni lek mogao upotrebljavati kod divlje životinje, ta životinja u Uputstvu za upotrebu leka mora biti navedena kao ciljna životinjska vrsta ili se pak lek upotrebljava prema Pravilniku o izuzetnoj upotrebi leka za lečenje životinja i o evidenciji o lečenju životinja (Službene novine Republike Slovenije br.53/2006). U tom slučaju doktor veterinarske medicine mora sam (na osnovu svog celokupnog znanja, kao i podataka iz literature) propisati karencu.

Da bi se na divljim životinjama moglo obaviti farmakokinetičko ispitivanje leka, u ogled se mora uključiti veći broj zdravih ciljnih životinja. Pored toga, potrebne su i specialne lovke u kojoj će se životinje za vreme aplikacije leka na odgovarajući način fiksirati radi aplikacije leka ili uzimanja uzoraka krvi u određenim vremenskim intervalima. Isto tako, potrebne su i odgovarajuće validne analitičke metode za utvrđivanje koncentracije leka ili njegovih metabolita u krvi.

Kliničko ispitivanje lekova u veterinarskoj medicini predstavlja organizovano, samim tim kontrolisano testiranje delovanja lekova na organizam životinja sa osnovnim ciljem da se utvrde ili potvrde kliničke i farmakološke ili farmakodinamske karakteristike leka, koji je u ispitivanju. Cilj kliničkog ispitivanja leka je da se pre svega otkrije centralna neželjena dejstva leka na ciljne životinje i da se zatim dobiju podaci o brzini i stepenu apsorpcije, raspodeli ili distribuciji u organizmu, načinu i stepenu biotransformacije, te izlučivanju lijeka iz organizma. Sve ovo doprinosi kvalitetnoj proceni bezbednosti nekog leka i njegove efikasnosti, odnosno boljem učinku u lečenju neke bolesti kod životinje kod koje je indikovano (Zakon o lekovima, Službeni list. R. Slovenije br. 31/06).

U Republici Sloveniji kliničko ispitivanje lekova za upotrebu u veterinarskoj medicini vrši se u saglasnosti sa laboratorijom Katedre za farmakologiju i toksikologiju, koja (zajedno sa Veterinarskim nacionalnim institutom), čini jedinstven sistem za laboratorijsko i kliničko ispitivanje lekova. U tom pravcu, Katedra za farmakologiju i toksikologiju takođe, saraduje i sa klinikama i institutima Veterinarskog fakulteta u Ljubljani.

Upotreba lekova u zdravstvenoj zaštiti životinja u Republici Sloveniji je u skladu sa Zakonom o lekovima (ZZdr-1) i Zakonom o veterini (Zvet - 1), kao i sa mnogobrojnim podzakonskim propisima, koji precizno uređuju pojedine zahteve, a navedeni su u oba zakona. Kliničko ispitivanje lekova je opisano u 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63. i 64. tački ZZdr-1, kao i u Pravilniku o vrsti, obimu i načinu analizirajućeg, farmakološko-toksikološkog i kliničkog ispitivanja lekova za upotrebu u veterinarskoj medicini (Službeni list R. Slovenije br. 28/2004).

U ZZdr-1 (u 23. tački, 4. alineja) navedeno je da predlog za odobrenje stavljanja leka u promet osim zahteva (molbe) i ostale zakonom propisane dokumentacije, mora sadržavati i deo dokumentacije vezan za klinička ispitivanja. Klinički deo dokumentacije sadrži opšte podatke o ispitivanju, o načinu ispitivanja, rezultate ispitivanja, kliničko-farmakološke podatke, podatke o bioraspoloživosti i bioekvivalenciji, o kliničkoj bezbednosti i delotvornosti, kao i dokumentaciju o posebnim okolnostima u kojima su obavljena ispitivanja. Pored toga, u kliničkom delu dokumentacije navode se podaci o upotrebi navedenog leka nakon njegovog stavljanja u promet u drugim državama.

U organizaciji kliničkog ispitivanja leka za upotrebu u veterinarskoj medicini laboratorija Katedre za farmakologiju i toksikologiju saraduje i koordinira ispitivanje sa pojedinim klinikama i institutima Veterinarskog fakulteta u Ljubljani.

Koje će klinike i instituti saradivati u kliničkim ispitivanjima leka zavisi od indikacija kao i od toga za koju životinjsku vrstu je lek namenjen. U Republici

Sloveniji klinička ispitivanja lekova za upotrebu u veterinarskoj medicini obavljaju se u skladu sa ZZdr-1, Zvet – 1, Zakonom o zaštiti životinja, a sve u skladu sa dobrom kliničkom praksom u kliničkom ispitivanju (DKP) i dobrom laboratorijskom praksom (DLP), kao i sa preporukama određenih organizacija u Evropi (Organisation for Economic Co-operation and Development-OECD) i direktivama Evropske unije (EEC 2377/90, EEC/81/852, EEC/92/18).

U kliničkim ispitivanjima lekova potrebno je poštovati zahteve dobre kliničke prakse. Dobra klinička praksa u kliničkom ispitivanju je međunarodni etički i naučno-istraživački sistem kvaliteta samog programa izvođenja, beleženja, kontrole i obaveštavanja o kliničkom ispitivanju lekova na životinjama za koje je namenjen (ciljne životinje). Sistem dobre kliničke prakse u kliničkom ispitivanju omogućava verodostojnost podataka koji se dobiju tokom kliničkog ispitivanja, ali isto tako i zaštitu životinja u skladu sa propisima o zaštiti životinja.

Lekovi se (u skladu sa propisima) mogu klinički ispitivati tek nakon priloženih pozitivnih rezultata analize i farmakološko-toksikološkog ispitivanja leka. Način kliničkog ispitivanja leka mora biti priložen u dokumentaciji zahteva za prijavu ispitivanja (ogleda).

Kliničko ispitivanje leka za upotrebu u veterinarskoj medicini mogu predlagati:

1. naručilac ispitivanja;
2. istraživači (što obavlja glavni istraživač);
3. ministarstvo ili ovlašćeni organ.

Sve troškove kliničkog ispitivanja mora refundirati pravno ili fizičko lice koje je predložilo kliničko ispitivanje leka. U slučaju, da ovlašćeno ministarstvo zahteva kliničko ispitivanje leka koji je u Republici Sloveniji već u prometu, zbog zaštite javnog zdravlja ili iz nekog drugog razloga, a rezultati kliničkog ispitivanja potvrde da sigurnost i delovanje leka zadovoljavaju zahteve koji su navedeni u rešenju o odobrenju za stavljanje u promet, sve nastale troškove mora refundirati ovlašćeno ministarstvo. U slučaju da su rezultati kliničkog ispitivanja u suprotnosti sa zahtevima koji su navedeni u rešenju o odobrenju za stavljanje u promet, sve troškove kliničkog ispitivanja leka mora platiti nosilac rešenja.

Predlagač (naručilac) kliničkog ispitivanja leka za upotrebu u veterinarskoj medicini dužan je da pre početka ispitivanja na životinjama pripremi zahtev za obaveštenje o kliničkom ispitivanju leka, kojeg podnosi ovlašćenom organu za područje lekova za upotrebu u veterinarskoj medicini, a to je Veterinarska uprava Republike Slovenije. U zahtevu za obaveštenje o kliničkom ispitivanju leka za upotrebu u veterinarskoj medicini moraju biti jasno navedeni sledeći podaci:

- ime leka,
- oblik leka,
- jačina leka,
- doziranje leka,
- način upotrebe leka,
- podaci o proizvođaču leka,

- oblik (vrsta) kliničkih ispitivanja (farmakokinetička ispitivanja, rezidualna ispitivanja, ispitivanja podnošljivosti i dr.),
- cilj kliničkog ispitivanja,
- vrsta, pol, starost, telesna masa i ocena zdravstvenog stanja ciljnih životinja,
- adresa izvođača kliničkog ispitivanja,
- imena istraživača,
- ime osobe koja vrši nadzor nad kliničkim ispitivanjima,
- podaci o podnosiocu zahteva za kliničko ispitivanje,
- podaci o glavnom istraživaču kliničkog ispitivanja,
- praćenje kliničkog ispitivanja od strane podnosioca zahteva (naručioca) kliničkog ispitivanja leka;
- planirani datum početka i datum završetka kliničkog ispitivanja leka.

Organizacija u kojoj se vrši kliničko ispitivanje leka mora imenovati stručno lice odgovorno za kvalitet kliničkog ispitivanja leka (Quality Assurance-QA).

Izvođač kliničkog ispitivanja leka za upotrebu u veterinarskoj medicini mora da poštuje/prati posebne radne protokole (testne liste) za svaku životinju koja je uključena u ogled (kliničko ispitivanje). Navedeni radni protokoli (testni listovi) pripremljeni su na osnovu prihvaćenog i potvrđenog programa (protokola) kliničkog testiranja leka. Program (protokol) kliničkog testiranja mora biti prihvaćen od strane izvođača i od naručioca kliničkog testiranja.

Uslovi smeštaja životinja u ogledu (temperatura, vlažnost i cirkulacija vazduha, broj životinja u prostoru ili u kavezu), način hranjenja i snabdevanja pitkom vodom i sam kvalitet hrane i vode moraju biti jasno definisani i kontrolisani i moraju biti u skladu sa potrebama vrste životinje koja je uključena u klinička ispitivanja leka.

Dobro poznavanje fizioloških svojstava vrste životinje, koja je uključena u klinička ispitivanja je veoma značajan faktor koji utiče na uspešnost sprovođenja kliničkog ispitivanja, kao i na analize dobijenih podataka, koji moraju biti u skladu sa važećom veterinarskom doktrinom.

Lek se u kliničkom testiranju aplikuje životinjama na način i u dozama koje su navedene u tekstu Uputstva za upotrebu leka (Zakon o lekovima i medicinskim proizvodima).

Za vreme izvođenja kliničkog ispitivanja leka moraju se poštovati specifični zoohigienski uslovi koji su primereni vrsti na kojoj se ispitivanje vrši. Životinje se mogu uključiti u ogled kliničkog ispitivanja, tek kada su ispunjeni sledeći uslovi:

- životinje moraju biti zdrave,
- izvor (uzgoj) životinja mora biti poznat, proveren i dokumentovan,
- životinje se mogu uključiti u ogled tek posle prilagođavanja prostoru i okolini u kojoj će se ogled (ispitivanje) vršiti, odnosno izvoditi,

– životinje se mogu uključiti u ogled kliničkog testiranja tek nakon obavljenog opšteg kliničkog pregleda i obavljenih obaveznih (u protokolu ogleda navedenih) laboratorijskih pretraga. Prilikom kliničkog pregleda ocenjuju se osnovni pokazatelji zdravstvenog stanja životinja kao što su: temperament, telesna temperatura, vidljive sluznice, koža, mišići, kosti, respiratorni, digestivni i kardiovaskularni sistem, a kod preživara i broj kontrakcija buraga. Hematološke, biohemijske i serološke pretrage kod životinja koje su uključene u ogled moraju se obaviti pre početka, u toku i na kraju kliničkog ispitivanja leka.

U slučaju da rezultati pretraga nisu u granicama normalnih referentnih vrednosti, isti se tretiraju kao kliničko (ne)važna odstupanja ili se pretrage moraju obaviti ponovo.

Broj životinja u ogledu zavisi od vrste i cilja kliničkog ispitivanja leka. Da li je neka životinja pogodna za ogled, odnosno kliničko ispitivanje leka, zavisi od toga da li zadovoljava kriterijume neophodne za uključivanje životinja u navedene ogledne. Životinje se moraju isključiti iz ogleda ukoliko se utvrdi, da su bile lečene do 4 nedelje pred početak kliničkog testiranja ili u slučaju značajnih odstupanja utvrđenih na kliničkom pregledu životinje, te dobijenih hematoloških, biohemijskih i seroloških vrednosti. U klinička ispitivanja moraju uvek pored testiranih životinja, biti uključene i životinje kontrolne/kontrolnih grupa. Za vreme trajanja ogleda životinje svih grupa moraju biti izložene jednakim uslovima. Životinje kontrolne/kontrolnih grupa se tretiraju na isti način i sa jednakim volumenom vehikuluma (nosač leka), kao i životinje oglednih grupa.

U zavisnosti od postupka kliničkog ispitivanja leka potrebno je definisati režim hranjenja i napajanja životinja u ogledu.

Da bi se smanjio broj neuspelih ogleda važno je, da aparati, instrumenti i druga pomagala koja se upotrebljavaju u ogledu u toku kliničkog ispitivanja budu u potpunosti čisti, ako je potrebno i sterilni, da se nalaze stalno na istom mestu i da su kalibrirani.

Sva opažanja u toku ogleda, odnosno kliničkog ispitivanja se precizno i redovno beleže u testne liste posebno oformljene za kliničko ispitivanje.

Pred samu aplikaciju leka potrebno je definisati:

- ime leka, broj serije i rok upotrebe leka,
- način aplikacije leka/vehikuluma,
- volumen leka/vehikuluma,
- dozu leka,
- vremenske intervale uzimanja uzoraka za analize.

Životinje koje su uključene u ogled, odnosno kliničko ispitivanje leka moraju biti pod kontrolom pre, za vreme i posle aplikacije leka ili vehikuluma. Svakodnevno se kontroliše količina konzumirane hrane i vode, telesna masa, opšte stanje i temperament životinje. Dnevni klinički pregled se obavlja standardnim kliničkim metodama. Sve vrednosti se moraju redovno upisivati u testne liste, koje su sastavni deo dokumentacije o kliničkom ispitivanju leka. Kliničko ispitivanje leka mora se obavljati na način koji je za životinju najmanje stresan.

Životinje koje se uključuju u ogled moraju se prethodno držati najmanje 72 sata u prostoriji, radi adaptacije. U slučaju kada se životinje u ogledu moraju držati duže vreme, izvođač ogleada mora vršiti redovne kliničke preglede uključujući kontrolu telesne mase životinja i pretrage na parazite.

Pri analizi rezultata hematoloških pretraga potrebno je imati na umu, da životinje kojima je kretanje ograničeno imaju povećane vrednosti hematokrita, a utvrđene su i promene u broju leukocita, u koncentraciji šećera u krvi, kao i nekih hormona (Sok, 1996).

U protokolu kliničkog testiranja lekova moraju biti navedeni sledeći podaci:

1. Uvod
 - a) Informacije o leku
 - b) Indikacije
 - c) Naručilac kliničkog testiranja lekova
2. Svrha i ciljevi testiranja
3. Podaci o naručiocu, izvođaču i kraju kliničkog testiranja leka
 - a) Naručilac kliničkog testiranja leka
 - b) Izvođač kliničkog testiranja leka
 - c) Vođa kliničkog testiranja leka
 - č) Izvođači pojedinačnih testiranja
 - d) Posmatrač kliničkog testiranja leka od strane naručioca
 - đ) Osoba za kontakt od strane naručioca kliničkog testiranja leka
 - e) Odgovorna oseba QA
 - f) Osoba za kontakt od strane izvođača kliničkog testiranja leka
 - g) Osoba odgovorna za biološki deo kliničkog testiranja leka
 - h) Vođa kliničkog testiranja leka
 - i) Izvođači pojedinačnih testiranja
 - *Eksperimentalni deo obavljen na životinjama
 - *Hematološko /serološke analize

– Rezultati patomorfološkog pregleda životinje u slučaju, da životinja za vreme trajanja kliničkog testiranja lijeka uginu.

4. Datumi:
 - a) Datum odobrenja protokola kliničkog ispitivanja leka
Potpis

Vođa kliničkog testiranja leka
(Ime i prezime) _____

Odgovorna osoba QA
(Ime i prezime) _____

Sponzor (naručilac)
(Ime i prezime) _____

Posmatrač (monitor) od strane sponzora (naručioca)
(Ime i prezime) _____

b) Datum početka i datum završetka kliničkog ispitivanja leka

Početak kliničkog ispitivanja leka: _____

Početak eksperimenta na životinjama: _____

Završetak (kraj) eksperimenta na životinjama: _____

c) Datum pripremljenog nacrtu konačnog izveštaja _____

č) Datum konačno završenog izveštaja _____

5. Zakonski propisi koji su poštovani tokom kliničkog ispitivanja leka:

6. Svrha izbora odgovarajućeg ogleđa i načina aplikacije leka

7. Opis i identifikacija proizvoda (leka)

8. Mesto izvođenja kliničkog ispitivanja leka

a) Mesto izvođenja eksperimentalnog dela na životinjama

b) Mesto izvođenja hematoloških i seroloških analiza uzoraka krvi

c) Mesto izvođenja patomorfoloških pretraga

9. Opis sistema kliničkog ispitivanja leka

a) Životinje

b) Uslovi uzgoja i prehrane životinja

Izvođač kliničkog ispitivanja leka mora u konačni izvještaj uključiti i izveštaj o analizi hrane, koja se upotrebljavala tokom eksperimentalnog dela kliničkog ispitivanja leka.

10. Opis testiranja

a) Doza leka

b) Način i frekventnost aplikacije leka

c) Način pripreme proizvoda (leka) za aplikaciju

d) Raspoređivanje životinja u eksperimentalne grupe i njihova identifikacija (označavanje)

e) Opis parametara koji se prate tokom eksperimenta

11. Dodaci protokolu

a) Promene/odstupanja od protokola kliničkog testiranja leka

Promene i odstupanja od protokola kliničkog testiranja leka moraju se uskladiti i biti potvrđeni od strane za to odgovorne osobe, koju je ovlastio naručilac. Sva odstupanja/promene moraju biti zabeležene u konačnom izveštaju. Sve promene i svi dodaci protokolu moraju se uključiti u konačni izveštaj. U njemu mora biti navedeno koji deo protokola je promenjen ili dodat i uzroci za to. Sve navedene promene moraju biti potpisane i datirane od strane vođe kliničkog testiranja leka.

Sve neočekivane događaje potrebno je pažljivo zapisati i uključiti u konačni izveštaj. U slučaju da su događaji koje nismo očekivali takvi da mogu bitno uticati na rezultate kliničkog testiranja leka, o njima se mora odmah obavestiti naručilac kliničkog testiranja leka.

12. Zaštita životinja

Kliničko testiranje lekova mora se obavljati, odnosno biti u saglasnosti sa Zakonom o lekovima i medicinskim proizvodima, Zakonom o veterinarstvu, Zakonom o zaštiti životinja, dobrom kliničkom praksom, dobrom laboratorijskom praksom, preporukama OECD-a i direktivama Evropske unije (EEC 2377/90, EEC/81/852 i EEC/92/18).

Kliničko testiranje lekova mora se prijaviti odgovornom organu pri Ministarstvu za poljoprivredu, šumarstvo i prehranu, zaduženom za lekove, koji su namenjeni upotrebi u veterinarskoj medicini. Prijavu mora obaviti naručilac kliničkog testiranja leka.

13. Završni izveštaj

Završni izveštaj o kliničkom testiranju leka za upotrebu u veterinarskoj medicini priprema izvođač na slovenačkom ili engleskom jeziku. Nacrt konačnog izveštaja – koji ima sve elemente konačnog izveštaja osim datiranih potpisa, mora se poslati naručiocu.

Naručilac ima pravo da saopšti svoje primedbe na nacrt konačnog izveštaja. Primedbe naručioca kliničkog testiranja leka izvođač mora vrednovati i uzeti u obzir, te ih usaglasiti sa zahtevom naručioca. Primedbe se mogu nakon usaglašavanja uključiti u konačni izveštaj. Konačni izveštaj mora sadržavati sve podatke i informacije koje se traže po međunarodnim propisima (npr. OECD Principles on Good Laboratory Practice, ENV/MC/CHEM(98)17).

Konačni izveštaj se priprema u dva primerka, pri čemu jedan mora biti trajno povezan.

14. Arhiviranje izveštaja i podataka dobijenih u toku kliničkog ispitivanja leka

Protokol kliničkog ispitivanja leka, osnovni podaci, uzorci leka, izveštaji svih QA i konačni izveštaj moraju se arhivirati i čuvati u narednih 5 godina. Nakon pet godina, izvođač kliničkog testiranja leka mora se obratiti naručiocu sa

molbom da mu saopšti uputstva u vezi sa budućim postupkom arhiviranja navedenog materijala.

15. Tajnost

Svi podaci koji su dobijeni u toku kliničkog testiranja leka moraju biti u saglasnosti sa potpisanim ugovorom između naručioca i izvođača kliničkog testiranja leka, tj. – biti tajni.

16. Dodaci

Originalni obrasci (testni listovi) kliničkog ispitivanja leka za upotrebu u veterinarskoj medicini.

Literatura / References

1. Zakon o lekovima (Službeni list R. Slovenije br. 31/06)
2. Zakon o lekovima i medicinskim pomagalicama (Službeni list R. Slovenije br. 101/99)
3. Zakon o veterinarstvu (Službeni list R. Slovenije br. 33/2001)
4. Zakon o zaštiti životinja (Službeni list R. Slovenije br. 98/99)
5. Pravilnik o vrsti, obsegu in načinu analznog, farmakološko-toksikološkog in kliničkog istraživanja lekova za uporabu u veterinarskoj medicini (Službeni list R. Slovenije br. 28/2004)
6. Sok M. Temelji eksperimentalne kirurgije in poskusov na živalih. Ljubljana: Založba Podvinski, 1996: 15-71.

ENGLISH

IMPORTANCE OF THE EVALUATION OF DRUGS USED IN VETERINARY MEDICINE

Silvestra Kobal, V. Čupić

The use of veterinary medicines in Slovenia is regulated by the Medicinal Products Act, by the Veterinary Practice Act, other legislative acts and some administrative acts.

Supervision and coordination over pre-clinical and clinical evaluation is performed by the Laboratory of Pharmacology and Toxicology which is a part of the Unit for Laboratory and Clinical Testing of Drugs at the National Veterinary Institute, on the basis of the concession. The Laboratory of Pharmacology and Toxicology to cooperate with the clinics and institutes of the Veterinary Faculty in Ljubljana.

Key words: evaluation of drugs, legislativa, pharmacology

ЗНАЧЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВ, ПОЛЬЗУЕМЫЕ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Силвестра Кобал, В. Чупич

Употребление лекарств в ветеринарной медицине в Республике Словении регулировано Законом о лекарствах, Законом о ветеринарии и субзаконными актами из этой области. Координация и надзор над предклиническими (лабораторными) и клиническими испытаниями лекарств, используемые в ветеринарной медицине совершается в согласии с Кафедрой фармакологии и токсикологии, которая (вместе с Ветеринарным Национальным Институтом) составляет единую систему для Лабораторного и клинического испытания лекарств. В этом направлении, Кафедра фармакологии и токсикологии также, сотрудничает и с клиниками и институтами Ветеринарного факультета в Любляне.

Ключевые слова: испытание лекарств, законная регулятива, ветеринарная фармакология

**SAVREMENI MODELI I PERSPEKTIVA KONTROLE
PARAZITSKIH BOLESTI***
*CONTEMPORARY MODELS AND PROSPECTS OF CONTROL OF
PARASITIC DISEASES*

S. M. Petričević, Tamara Ilić, Sanda Dimitrijević**

Ekonomski, socijalni i stručno-naučni faktori uslovljavaju aktivnosti vezane za razvoj kontrole parazitskih infekcija, u predstojećem periodu 21.veka. Primarne istraživačke aktivnosti usmerene su ka izučavanju fizioloških funkcija parazita i ekološkog odnosa parazit-domaćin, a sve u cilju obezbeđenja adekvatne farmakoterapije/farmakoprofilakse i imunoprofilakse. Kako je sinteza hemijskih jedinjenja u ogromnoj ekspanziji, postoji veliki broj potencijalnih supstanci za primenu u vidu leka. U skladu sa time, i aktivnosti razvoja novih antiparazitika i/ili modifikacije postojećih se zasnivaju prvenstveno na "obezbeđivanju" kvalitetnog ciljnog mesta delovanja.

Druga mogućnost na istraživačkom planu je vezana za problem rezistencije parazita i intenzivno izučavanje biohemijsko-fizioloških karakteristika parazita, kao i razvijanje aktivne epidemiološko-epizootiološke mreže za praćenje rezistencije. Paralelno sa razvojem lekova, rezultati ispitivanja fizioloških funkcija parazita i njihovog međusobnog odnosa sa domaćinom, intenzivno se koriste za razvoj imunološke kontrole, odnosno razvoj vakcina (na primer, razvoj vakcina za kontrolu kokcidioze, babezioze, ehinokokoze i sl.).

Drugi važan pristup je proučavanje parazitskih zoonoza, uticaja globalnog zagrevanja na epidemiološko-epizootiološke karakteristike parazitskih bolesti i selekcije otpornijih rasa/hibrida životinja. Od značaja je i dobrobit životinja, usavršavanje pouzdanih, brzih i jeftinih metoda za dijagnostikovanje parazitskih bolesti i razvoj in vitro metoda za ispitivanje rezistencije na antiparazitike.

Ključne reči: paraziti, farmakoterapija, imunoprofilaksa, rezistencija, ciljna mesta

* Rad primljen za štampu 07. 05. 2008. godine

** Mr. sci. med. vet. Saša M. Petričević, Galenika a.d., Institut za istraživanje i razvoj, Beograd; dr. sci. med. vet. Tamara Ilić, asistent, dr. sci. med. vet. Sanda Dimitrijević, profesor, Katedra za parazitske bolesti, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Primena zootehničkih i zoohigijenskih mera (koncept biološke sigurnosti – Biosecurity) ne gubi značaj ni u 21. veku. Savremene tehnologije podrazumevaju uvođenje i primenu novih metoda gajenja životinja (koje uključuju zaštitu dobrobiti), pravilne ishrane, primene veterinarsko-medicinskih mera (planska primena preventivnih mera), izgradnje objekata (adekvatni materijali, termoregulacija, ventilacija, fizičke mere zaštite objekata od štetočina), pripreme i obrade ispušta i pašnjaka (melioracija), primene hemijskih sredstava (dezinficijensi, insekticidi)...

Zoohigijenske mere predstavljaju osnov proizvodnje, odnosno gajenja, bilo koje vrste životinja. U praktičnim uslovima, primenom ovih mera ne može se izbeći infekcija životinja, ali se može značajno smanjiti mogućnosti infekcije, što je od velikog značaja. Zato je primena ovih mera obavezna i neophodna u kombinaciji sa drugim načinima preventive.

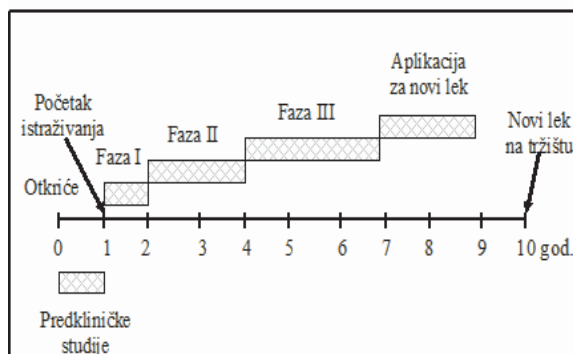
Treba napomenuti da koncept biološke sigurnosti nije ni opšti ni jedinstven, on je, naprotiv, specifičan za pojedine parazitoze. Naime, priprema i sprovođenje određenog modela, zavisice od sagledavanja i identifikacije tačaka rizika u konkretnom proizvodnom/odgajivačkom ciklusu. Zbog toga se ne može ni preporučiti „opšti recept biološke sigurnosti“.

Lekovi, razvoj rezistencije i vakcine / Medicines, development of resistance and vaccines

Sinteza hemijskih jedinjenja je u ogromnoj ekspanziji, tako da postoji veliki broj potencijalnih supstanci za primenu u vidu leka („kandidati za lek“). Međutim, razvoj novih lekova predstavlja dugotrajan, mukotrpan i skup proces. Iza otkrića novog hemijskog jedinjenja, sa antiparazitskim dejstvom, specifičnog mehanizma delovanja, bezbednog i visokopouzdanog za primenu, nalazi se proces koji može da traje čitav radni vek jednog istraživača.

Osim toga, značajan je i ekonomski aspekt – pretpostavlja se da cena otkrića jednog antikokcidijalnog leka iznosi od 50 do 100 miliona US\$. Otkriću novog hemijskog jedinjenja sa antiparazitskim dejstvom suprotstavlja se druga mogućnost: modifikacija postojećih lekova u cilju povećanja njihove efikasnosti i bezbednosti.

Zato se aktivnosti vezane za razvoj novih antiparazitika i/ili modifikaciju postojećih, zasnivaju prvenstveno na pronalaženju kvalitetnog ciljnog mesta delovanja (na primer, inhibicija enzima farnesiltransferaze kod lajšmanija ili farnesildifosfonat/geranildifosfat sintetaze kod toksoplazme). Cilj je poboljšanje aktivnosti i/ili širenja spektra delovanja antiparazitika. Najveći doprinos daju ispitivanja fiziologije parazita i ekološkog odnosa parazit-domaćin.



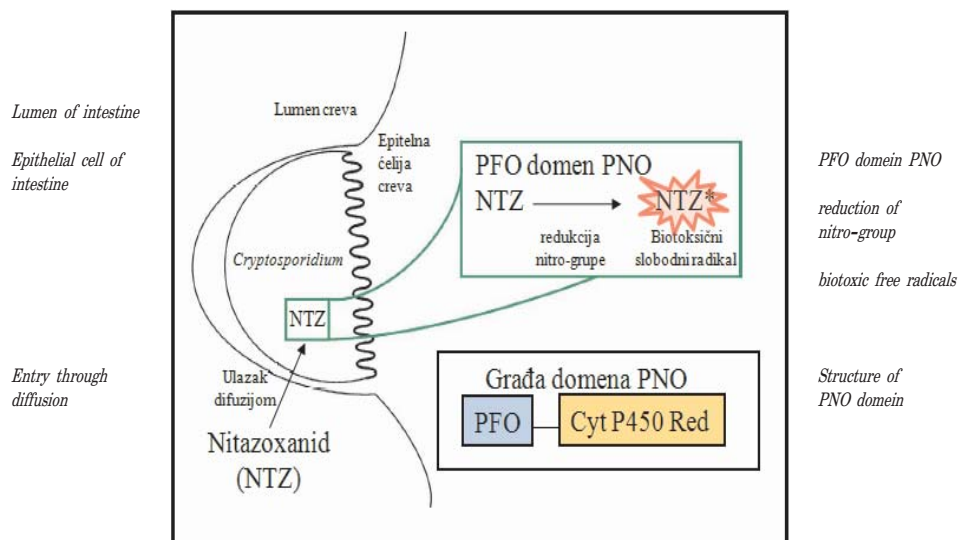
Shema 1. Razvojni put otkrivanja leka od sinteze do pojave na tržištu (u idealnim uslovima)
Schematic presentation 1. Development pathway of medicine discovery from synthesis to appearance on market (in ideal conditions)
(in ideal conditions)
Preclinical studies
0 - Discovery, 1 - Beginning of research, 2 - Phase I, 3-4 -Phase II, 4-7 - Phase III, 7-9 - Application for new medicine, 10 - New medicine on market (10 years)

Moguće novo napadno mesto za delovanje leka / Possible new target spot for medicine action

Korak napred u istraživanjima antiparazitika predstavlja otkriće enzima koji učestvuju u šikimate ciklusu, kao i gena koji ih kodiraju, kod *Toxoplasma* i *Plasmodium* vrsta. Šikimate ciklus predstavlja centralni put sinteze aromatičnih jedinjenja, uključujući neke amino kiseline, ubihinone i folate, kod biljaka i mnogih mikroorganizama. Sisari ne poseduju ovaj ciklus, što predstavlja značajnu karakteristiku u interventnoj strategiji za selektivnu inhibiciju enzima šikimate ciklusa. Jedan od enzima ovog ciklusa – 5-enolpiruvil šikimate 3-fosfat sintetaza, je ciljno mesto delovanja herbicida glifosfata, za koji se zna da ispoljava i slabo antiparazitsko delovanje na *P. falciparum*, *T. gondii* i *C. parvum*. Osim toga, analozi fluorošikimata ispoljavaju efikasnost protiv *Plasmodium*-a. Ovi nalazi daju podršku ideji da se šikimate ciklus kod kokcidija može iskoristiti kao napadno mesto za nove antikokcidijalne lekove. Prepreku predstavlja lokalizacija ciklusa na ćeljskom nivou apikompleksa, međutim, novija istraživanja ukazuju na to da je šikimate ciklus kod *Plasmodium*-a lokalizovan u citosolu, što je povoljno sa aspekta hemioterapije (Coombs i sar., 2002; Ridley, 1998).

Kao posebno interesantan primer izdvajaju se kriptosporidije, koje se fiziološki donekle razlikuju od drugih kokcidija. One poseduju jednu kiseonik-osetljivu piruvat-NADP oksidoreduktazu, koja uključuje dva fuzionisana domena – jedan na N kraju, koji je homolog kiseonik-osetljivoj piruvat-feredoksin oksidoreduktazi, i drugi na C kraju, sličan NADPH citohrom P450 reduktazi. Ovaj enzim je

uočen i kod *Euglena gracilis*, ali za razliku od nje, kod kriptosporidija nema vidljivu ciljnu mitohondrijalnu sekvencu. Ovo se može dovesti u vezu sa odsustvom mitohondriona, ali se o mogućim ciljnim mitohondrijalnim sekvencama može još uvek samo nagađati. Ovaj enzim se javlja i kod intracelularnih oblika i kod sporozoita kriptosporidija, a njegov značaj u energetske metabolizmu parazita još uvek nije jasan. Piruvat-NADP oksidoreduktaza je interesantan novi cilj za antikokcidijnu hemioterapiju. Naime smatra se da je upravo prisustvo ovog enzima ključno za osetljivost kriptosporidija na nitazoksanid (Coombs i sar., 2002).



Slika 1. Hipotetički model delovanja nitazoksanida; PNO = piruvat-NADP oksidoreduktaza; PFO = piruvat-feredoksin oksidoreduktaza; Cyt P450 Red = citohrom P450 reduktaza (prilagođeno iz Coombs i Müller, 2002).

Figure 1. Hypothetical model of nitazoxanid action; PNO = pyruvate-NADP oxidoreductase; PFO = pyruvate-ferredoxin oxidoreductase; Cyt P450 Red = cytochrome P450 reductase (adapted from Coombs and Muller, 2002)

Rezistencija / Resistance

Problematika rezistencije parazita usko je vezana za problematiku intenzivnog izučavanja biohemijsko-fizioloških karakteristika parazita, kao i razvijanje aktivne epidemiološko-epizootiološke mreže za praćenje rezistencije. Paralelno sa razvojem lekova, rezultati ispitivanja fizioloških funkcija parazita i njihovog međusobnog odnosa sa domaćinom, intenzivno se koriste za razvoj imunološke kontrole, odnosno razvoj vakcina (na primer, razvoj vakcina za kontrolu kokcidioze, babezioze, ehinokokoze i sl.).

Postojanje rezistencije je nasledna, fiziološka osobina u jednoj populaciji parazita. Razvoj rezistentnih linija helminata je evolucijska karakteristika i bazira se na unutarpopulacijskoj selekciji parazita koji nose alele odgovorne za rezistenciju na hemijske komponente iz leka. Ova osobina poznata je pod nazivom genetska varijabilnost. Duža upotreba istog antiparazitika ili sredstava koja imaju sličan mehanizam delovanja ima za posledicu stvaranje otpornosti na lek kod parazita. Jednom uspostavljena rezistencija može da potraje više godina ili nestaje pod uticajem selekcije i genetičkog drifta, koji deluju tako što vraćaju osetljivost u populaciju. Stvaranje rezistencije prema lekovima nastaje na više nivoa molekularne i ćelijske organizacije, a prema Gutteridge-u (1993) postoji 5 osnovnih biohemijskih mehanizama kojima mikroorganizmi stvaraju rezistenciju na lekove: 1 – metabolisanje lekova u neaktivne forme; 2 – promena permeabilneta membrane, čime je ulazak leka u ćeliju jako usporen, odnosno njegovo izlučivanje iz ćelije izuzetno ubrzano; 3 – razvijanje alternativnih metaboličkih puteva kojima se prevazilazi nastali, lekom indukovani metabolički defekt; 4 – oštećenja na receptorima (na biohemijskom nivou), usled čega lek ne može da se veže za receptor i ispolji dejstvo i 5 – sinteza određenog enzima (na čiju funkciju određeni lek deluje) u velikim količinama koje ni primena visokih doza leka ne može da suprimira.

Analizirajući pojedine grupe parazita, ustanovljeno je da se rezistencija na antiparazitike razvija različitom brzinom. Kokcidije i ektoparaziti izuzetno brzo postaju rezistentni, što je posledica preživljavanja i favorizovanja otpornih sojeva u populaciji. Pojava stvaranja rezistencije kokcidija na antikokcidijalne lekove, zapažena je neposredno nakon početka primene sulfonamida u cilju kontrole kokcidioze (Dimitrijević i sar., 2004). Rezistencija se kod kokcidija javlja kao posledica neracionalne primene antikokcidijala u profilaktičke svrhe (na prvom mestu suboptimalnih doza) i nepoštovanja „shuttle“ ili „switching“ programa. Za razvijanje rezistencije neophodno je da nekoliko uzastopnih generacija kokcidija bude izloženo delovanju faktora koji uslovljavaju nastanak rezistencije (neefikasna doza, loš program ili nepostojanje programa). Obično je potrebno 7–15 generacija, a nekada čak i 23–24, što zavisi od korišćenog leka. Lekovi koji se smenjuju, bilo u „shuttle“ ili „switching“ programu treba da imaju različite mehanizme delovanja, odnosno da pripadaju različitim farmakološkim grupama. Mogućnosti kombinacija su veoma velike i praktično su ograničene izborom antikokcidijala na tržištu i rezistencijom prisutnih sojeva kokcidija (Petričević i sar., 2006).

Kod helminata, rezistencija se sporije razvija, a ustanovljena je najčešće kod konja (fam. *Strongylidae*) i ovaca (*Haemonchus* i *Ostertagia spp.*), uglavnom na lekove iz grupe benzimidazola. Upravo zbog toga, u programima kontrole parazitskih bolesti neophodno je da se naizmenično primenjuju sredstva iz različitih hemijskih grupa, najčešće u vidu rotacije tokom godine, odnosno jednog generacijskog ciklusa parazita. Upotreba kombinacija aktivnih supstancija (na primer, benzimidazola i levamizola) pokazala se kao veoma uspešna u smanji-

vanju razvoja rezistencije i unapređenju efikasnosti samog tretmana. Ovo se naročito odnosi na slučajeve kada se na jednu komponentu, unutar kombinacije, već razvila rezistencija (Silvestre i sar., 2004).

Razvoj vrsta/sojeva i populacija parazita rezistentnih na jedan ili više korišćenih antiparazitika predstavlja svakodnevni rastući problem za parazitologe širom sveta. Ovaj problem je i najveći pokretač istraživanja na polju parazitologije. Osnovni uzrok za stvaranje rezistencije je nepravilna primena leka (subdoziranje, kratkotrajan tretman, neplanski tretmani...).

Uspešna implementacija programa kontrole parazita, dizajniranog da ograniči razvoj rezistencije u populaciji parazita, zavisi od primenljivosti efikasne i osetljive metode za detekciju i kontrolu rezistencije. Od velikog je značaja postojanje rutinskih, jeftinih i brzih, a uz to relativno pouzdanih metoda i upravo njihova primena predstavlja imperativ za parazitologe u 21. veku.

Vakcine / Vaccines

Primena vakcina u cilju kontrole parazitskih bolesti do skoro je predstavljala samo viziju istraživača za daleku budućnost. Razvoj na polju genetskih/molekularnih/imunoloških istraživanja doveo je do toga da su danas one realnost i svakodnevnica, tako da se razvoj novih vakcina kreće sve brže od razvoja novih lekova. Primena vakcina (osim u slučaju kontrole kokcidioze pilića) nije zauzela značajnije mesto, niti ugrozila značaj primene lekova.

Izveštaji o pojavi genetski modifikovane hrane, ekspanziji zaraznih bolesti (na primer, *E. coli*, BSE) i pojavi rezidua lekova u hrani, povećali su zabrinutost konzumenata u vezi sa hranom koju unose. Takođe, postoji i zabrinutost u pogledu neželjenih uticaja hemikalija na životnu sredinu i dobrobit životinja, zbog čega raste interesovanje za razvojem bezbednih i efikasnih vakcina. Tokom poslednjih 15 godina zabeležen je ogroman progres u razvoju veterinarskih vakcina ostvaren zahvaljujući naučnim dostignućima iz oblasti izolacije i karakterizacije proteina, imunoloških tehnika i metoda genskog kloniranja (Augustine, 2001; Fricsh, 1999; Lightowlers i sar., 2000; Pruet, 1999).

U odnosu na lekove, vakcine imaju prednost, jer ne dovode do razvoja rezistencije parazita, ne ostavljaju hemijske rezidue, povoljne su za okolinu i prihvatljive za konzumente, a njihova primena veoma je slična konceptu vakcinacije u humanoj medicini. Ova prednost vakcina je osnovna pokretačka snaga, koja će razvoj novih vakcina učiniti realnim.

Zahtev za vakcinama je visok zbog velikog profita koji su neke farmaceutske kompanije (Novartis i Bayer) uložile u vakcine protiv buva, krpelja i dirofilarija. Trenutno je na tržištu prisutan veoma mali broj antiparazitskih vakcina (tabela 1). Sa izuzetkom TickGarda, sve komercijalno dostupne vakcine predstavljene u tabeli 1 sastoje se od živih ili atenuiranih parazita. Proizvodnja ovih vakcina je mukotrpa i skupa, zbog čega su one dostupne samo za velika tržišta. Procedura za proizvodnju zračenjem atenuiranih helmintskih vakcina može se

savladati, ali je malo optimizma u pogledu njihovog komercijalnog uspeha. Ozračena vakcina protiv *Dictyocaulus viviparus* goveda, imala je višegodišnji komercijalni uspeh, nakon čega je njena upotreba opala i farmeri su se vratili anti-helminthicima (Bain, 1999). Komercijalna realnost je takva da vakcine moraju pokazati opravdanu i vidljivu dobrobit za farmere i vlasnike kućnih ljubimaca, da bi se oni ohrabрили da lekove zamene vakcinama.

Tabela 1. Komercijalne antiparazitske vakcine kod nas i u svetu /
Table 1. Commercial antiparasitic vaccines in Serbia and in the world

Oboljenja parazitske etiologije / <i>Diseases of parasitic etiology</i>	Naziv vakcine / <i>Name of vaccine</i>
Kokcidioza ivine / <i>Poultry coccidiosis</i>	Paracox (Schering Plough)
Kokcidioza ivine / <i>Poultry coccidiosis</i>	Coccivax (Schering Plough)
Kokcidioza ivine / <i>Poultry coccidiosis</i>	Livacox (Biopharm)
Kokcidioza ivine / <i>Poultry coccidiosis</i>	Immucox (Vetex Lab. Inc.)
Toksoplazmoza ovaca / <i>Ovine toxoplasmosis</i>	Toxovac (Intervet)
Đardioza pasa / <i>Canine giardiasis</i>	GiardiaVax (Wyeth Co.)
Anaplazmoza goveda / <i>Bovine anaplasmosis</i>	Anaplaz (Wyet Co.)
Plućni vlašci / <i>Lungworm</i>	Huskvac (Intervet)
Plućni vlašci / <i>Lungworm</i>	Dictol (MSD Agvet)
<i>B. microplus</i>	TickGard (Biotech)
<i>B. microplus</i>	Gavac (Heber Biotech S.A.)

Proizvodnja vakcina upotrebom tehnologije rekombinantne DNK, čini proizvodnju i komercijalizaciju vakcina realnim, i većina naučnika pretpostavlja da će sledeća generacija vakcina biti proizvedena na ovaj način (Alcron i sar., 1999; Meensen i sar., 2007). Rekombinantne vakcine protiv cestoda iz rodova *Echinococcus* (EG95) i *Taenia* (45W), pokazale su se izuzetno uspešnim. Vakcina EG95, može da indukuje 96–100% zaštite kod goveda protiv ove infekcije, a njena efikasnost je dokazana u nekoliko nezavisnih ispitivanja sprovedenih u Novom Zelandu, Australiji, Argentini i Kini. Vakcina protiv *Taenia ovis*, 45W, indukuje preko 92% zaštite kod ovaca, a njen homolog iz *T. saginata* pokazao je istu efikasnost u zaštiti goveda od ovog parazita (Lightowlers i sar., 2000). Obe vakcine, imaju potencijala za upotrebu u prevenciji humanih infekcija, ali je njihova budućnost na tržištu neizvesna zbog niskog komercijalnog interesa.

Proteaze, katepsin L1 i katepsin L2, su glavni molekuli koje sekretuje veliki metilj – *Fasciola hepatica*. Vakcinacija preživara ovim molekulima indukuje 73% zaštite protiv ove trematode i za 60% redukuje vijabilnost jaja, oslobođenih iz preživelih parazita. Pored toga, skoro sva jaja parazita (98%) revitalizovana iz žučnih kanala vakcinisanih životinja, nisu uspela da embrioniraju. Ukoliko bi se

ovaj anti-embrionalni efekat vakcine mogao ponoviti na paši, imao bi značajan uticaj na širenje fascioloze (Mulcahy i sar., 1999).

Gastrointestinalne nematode iz rodova *Haemonchus*, *Ostertagia* i *Trichostrongylus* su najrasprostranjeniji i najvažniji paraziti goveda i ovaca. Trenutna kontrola helmintoza uzrokovanih ovim parazitima obuhvata primenu širokog spektra antihelmintika, kao što su benzimidazoli, koji danas predstavljaju najveći deo tržišta svih antiparazitika. Shodno tome, uložen je veliki trud u otkrivanje vakcine protiv ovih parazita, a postignut je i značajan uspeh.

Identifikacija velikog broja molekula sa protektivnim karakteristikama protiv *H. contortus*, stvara dobre preduslove za budući razvoj molekularne vakcine protiv ovog parazita (Murray i sar., 2007). Postavlja se, međutim, pitanje da li relativno nizak marketinški prostor u pogledu ovog uzročnika može da podrži proizvodnju i komercijalizaciju ove vakcine. Postoje istraživanja na gastrointestinalnim nematodama koja se bave razvojem molekularne vakcine širokog spektra delovanja, koja bi bila sposobna da zaštiti ovce i goveda od *Haemonchus*, *Ostertagia* i *Trichostrongylus spp.* i da se takmiči sa antihelminticima širokog spektra delovanja (Dalton i sar., 2001; Smith i sar., 2000).

Glavna prekretnica u razvoju vakcina protiv komercijalno značajnih ektoparazita goveda i ovaca, bilo je lansiranje genetski rekombinovane Bm86 vakcine, TickGard™, od strane Biotech Australia, zajedno sa Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), koja je usmerena protiv krpelja *Boophilus microplus* (Willadsen, 1995). Slična rekombinantna vakcina, koja je razvijena u kvascu *Pichia pastoralis*, proizvedena je na Kubi, a komercijalizovana je od strane Heber Biotec S.A, Havana (Garcia-Garcia i sar., 2000).

Postoje i brojni ektoparaziti protiv kojih su vakcine u razvoju, uključujući one protiv *Hematobia irritans exigua*, *Chrysomya bezziana*, *Pediculus humanus* i *Lucilia cuprina* (Meija i sar., 2006). Rekombinantna vakcina usmerena protiv proteaze (hipodermin A) iz larve *Hypoderma lineatum*, pokazala se obećavajućom u toku ispitivanja i odobrena je za komercijalizaciju - Alberta/Canada Livestock Trust (Pruett, 1999).

Do sada je uložen veliki napor u razvoj rekombinantnih vakcina protiv nekoliko značajnih protozoa domaćih životinja, uključujući toksoplazmozu kod ovaca, kriptosporidiozu kod novorođene teladi, kokcidiozu jagnjadi, teladi i živine, babeziozu i tajleriozu goveda, neosporozu goveda i pasa i đardiozu pasa. Vakcina za kontrolu toksoplazmoze kod ovaca (Toxovax) zasnovana je na živom, atenuiranom *T. gondii* soju S48, dobijenom iz miševa. Postoje i ohrabrujući rezultati eksperimentalnih studija, u kojima se nazalna DNK primenjuje u cilju zaštite od toksoplazmoze i kriptosporidioze (Dalton i sar., 2001). Iako naučnici raspolažu velikim brojem podataka iz oblasti imunologije, genetike i vakcinologije, koja su bazirana na istraživanjima medicinski značajnih protozoa kao što su *Plasmodium*, *Leishmania* i *Trypanosoma spp.* (Mendez i sar., 2007), još uvek nije postignut uspeh kao u slučaju vakcina protiv helminta (Morrison i sar., 2006).

U poslednjih nekoliko godina na tržište je lansirano nekoliko vakcina protiv kokcidioze živine. Vakcine protiv *Eimeria* vrsta živine sastoje se ili od živih, virulentnih organizama (Coccivac i Immucox) ili od nekoliko vrsta živih atenuiranih parazita (Paracox i Livacox). Zbog jednostavnosti i bezbednosti primene, pogodne su za masovnu upotrebu, jer izazivaju kontinuirano stvaranje ujednačenog imuniteta prema kokcidiozi. Iako su se ove vakcine pokazale efikasnim, one imaju i neke nedostatke uključujući visoke troškove proizvodnje i varijacije u efikasnosti među grupama. Postoji, takođe, i opasnost od povratka virulencije, kada su u pitanju sve žive vakcine (Petričević i sar., 2006).

Parazitske zoonoze u odnosu na globalno zagrevanje i selekciju *Parasitic zoonoses with respect to global warming and selection*

U drugi plan, ali svakako ne manje bitan, svrstava se proučavanje parazitskih zoonoza, uticaja globalnog zagrevanja na epidemiološko-epizootičke karakteristike parazitskih bolesti i selekcije otpornijih rasa/hibrida životinja. Od značaja je i dobiti životinja, usavršavanje pouzdanih, brzih i jeftinih metoda za dijagnostikovanje parazitskih bolesti i razvoj *in vitro* metoda za ispitivanje rezistencije na antiparazitike. Profesionalna aktivnost veterinarskih radnika je usmerena na proizvodnju zdravstveno ispravne hrane. Ova činjenica ukazuje na to da je pažnja najviše usmerena na kontrolu zaraznih bolesti, koje se sa životinja mogu preneti na ljude, a potom na bolesti koje ugrožavaju samo životinje.

Problem narušavanja ozonskog omotača Zemlje i globalnog zagrevanja još uvek predstavlja nepoznanicu za parazitologe. Međutim, postavlja se pitanje – kako ova pojava može da utiče na geografsku rasprostranjenost različitih vrsta i sojeva parazita, kao i promenu njihovih životnih navika? Geografska distribucija većine vrsta parazita ograničena je distribucijom potencijalnih domaćina ili uticajem životne sredine na stopu rasta parazita. Mnoge zarazne bolesti, koje prenose vektori, limitirane su u svojoj rasprostranjenosti zbog toga što trajanje razvojnog ciklusa parazita prevazilazi prosečni životni vek insekta-vektora (Kovats i sar., 2001; Strathdee i sar., 1998). Ali, izgleda da porast spoljašnje temperature povećava brzinu razvoja određenih razvojnih stadijuma u životnom ciklusu parazita, tako da će dugotrajan porast temperature verovatno dovesti do porasta rasprostranjenosti mnogih bolesti koje prenose insekti, kakve su malarija i filarioza. Ako dugotrajne klimatske promene dovedu do migracije parazita u nova geografska područja, u trenutku kada je naša mogućnost da ih kontrolišemo nedovoljna, mnoge vrste domaćih životinja suočiće se sa novim izazovima. U nekim slučajevima ovo će dovesti do napuštanja postojećih staništa, koja mogu postati rezervati prirode. U drugim regionima, gladna humana populacija vršiće pritisak u cilju iskorišćavanja postojećih rezervi. Izgleda neverovatno, da će konačan rezultat tih promena favorizovati život u divljini (Kutz i sar., 2005).

Postoje ugrožene vrste čija je gustina populacije svedena na tako nizak nivo da su prisutne samo u pojedinačnim prirodnim rezervatima. U ovakvim okolnostima, buduće smanjenje veličine populacije, usled globalnog zagrevanja, redukovaće delovanje parazita koji su već prisutni u toj populaciji. Međutim, imigracija novih vrsta domaćina u definisanu oblast, kao odgovor na globalno zagrevanje, može da dovede do unošenja novih patogena. Ako ovi paraziti nisu imali prethodnih kontakata sa ugroženom vrstom - domaćinom, oni možda neće uspeti da se adaptiraju (jer je domaćin potpuno nov), a ukoliko se adaptiraju, prouzrokuje visok mortalitet (Parmesan i sar., 2003). Pod ovim uslovima, porast gustine populacije domaćina imigranata dovešće do porasta transmisije parazita i opasnost se može očekivati u interakciji između ugrožene vrste i vrste koja je upravo imigrirala. Tamo gde ugrožene vrste uspešno tolerišu porast temperature i vlažnosti, ipak postoji mogućnost da se suoče sa učestalim napadima parazita, čija se transmisija efikasno povećava sa porastom temperature i vlažnosti (na primer, tropske bolesti postaju značajnije u umerenoj zoni). Tačnije, one populacije čiji se broj povećava sa porastom temperature, pre će se suočiti sa problemima koji nastaju širenjem parazita. Ako se veličina populacije domaćina smanjuje usled klimatskih promena, njihove retke vrste parazita i mutualista mogu da nestanu. Odsustvo parazita može da bude značajno isto koliko i njihovo prisustvo, s obzirom da neke vrste domaćina mogu da prerastu u štetočine, u odsustvu patogena koji regulišu njihovu brojnost (Poulin, 2006).

Paraziti su, po definiciji organizmi koji kolonizuju i eksploatišu. One vrste parazita koje su već uobičajene biće u mogućnosti da se šire i kolonizuju nove, prijemčive domaćine, koji nisu genetski rezistentni na njih. Parazitske vrste koje su retke i specifične možda će biti dovedene do izumiranja. Generalno, efekti globalnog zagrevanja biće teži u umerenim zonama, gde paraziti iz tropskih zona mogu da kolonizuju nove domaćine, nego u tropskim zonama, gde će paraziti morati da se prilagode ili evoluiraju (Kutz i sar., 2005).

Selekcija životinja u smislu povećanja otpornosti prema parazitima je bitan segment unapređenja kontrole parazitskih bolesti. Suština se sastoji u tome da se iskoristi genetski potencijal otpornih varijeteta u stvaranju hibrida sa boljom opštom otpornošću. Proces je spor i pokazuje efekte na duge staze. Selekcija u smislu stvaranja hibrida otpornih samo na pojedine specifične bolesti je skuplji i manje uspešan posao. Interes za ovu strategiju u prevenciji kokcidioze raste, kako se razvija i moderna tehnologija genetske manipulacije (Petričević i sar., 1998).

Veći praktični značaj ima selekcija genetski otpornih linija živine, zasnovana na intraspecijskom ukrštanju različitih rasa i linija, odnosno unutar linija rasa. Na ovome se zasniva i rad Pinard-van der Laan i sar. (1998), koji su ispitivali otpornost pet neselekcionisanih linija kokošaka (po dve linije Leghorn-a i Fayoumi rase i jedna linija Rodajlend rase). Zapažena je velika genetska varijacija rezistencije prema *E. tenella*, pri čemu se kao najotpornija pokazala linija egipatske rase Fayoumi. Ona ima reputaciju veoma otporne rase, tako da pokazuje i veću otpor-

nost prema drugim bolestima (na primer, Marekovoju bolesti ili infekciji sa Rouse-Sarcoma virusom). Takođe, ona može biti interesantna za proizvodnju F2 meleza sa mnogo osetljivijom Leghorn rasom, zbog izučavanja genetskih markera za otpornost.

Iako se poslednjih godina selekcionisanje otpornijih linija živine na kokcidiozu značajno razvija, ono još duže vreme neće moći da pruži značajnije rezultate. Selekcionisana živina će biti samo otpornija od neselekcionisane, a to opet znači nedovoljnost samo jedne metode preventive. Međutim, troškovi preventive će kod otpornije živine biti verovatno manji.

Razlog što se ovaj način preventive do sada nije razvijao, delimično je i posledica efikasnosti i primenljivosti lekova, a delom i posledica drugih prioriteta u odgajivačkim programima. Međutim, razvoj citogenetike i molekularne genetike verovatno će omogućiti sigurnije rezultate nego dosadašnja fenotipska selekcija.

Literatura / References

1. Alarcon JB, Waine GB, McManus DP. DNA vaccines: technology and application as anti-parasite and anti-microbial agents. *Adv. Parasitol.* 1999; 42: 344-410.
2. Augustine P. Cell: sporozoite interactions and invasion by apicomplexan parasites of the genus *Eimeria*. *Int. J. Parasitol.* 2001; 31: 1-8.
3. Bain RK. Irradiated vaccines for helminth control in livestock. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29: 185-91.
4. Coombs GH, Müller S. Recent advances in the search for new anti-coccidial drugs. *Int. J. Parasitol.* 2002; 32: 497-508.
5. Dalton JP, Mulcahy G. Parasite vaccines – a reality? *Vet. Parasitol.* 2001; 98: 149-67.
6. Dimitrijević Sanda, Ilić Tamara. Rezistencija na anthelmintike – rasprostranjenost, otkrivanje i mere za njeno preveniranje. *Veterinarski glasnik* 2004; 58(5-6): 685-92.
7. Fricsh JE. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29: 57-71.
8. Garcia-Garcia JC, Montero C, Redondo *et al.* Control of ticks resistant to immunization with Bm86 in cattle vaccinated with the recombinant antigen Bm86 isolated from the cattle tick. *Boophilus microplus*. *Vaccine* 2000; 18: 2275-87.
9. Gutteridge WE. Chemotherapy. In: Cox, F.E.G. (Ed) *Modern Parasitology*, Blackwell science, Oxford, 137-56, 1993.
10. Kovats RS, Campbell-Lendrum DH, McMichael AJ, Woodward A, Cox J.S. Early effects of climate change: do they include changes in vector-borne disease? *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2001; 356: 1057-68.
11. Kutz SJ, Hoberg EP, Polley L, Jenkins EJ. Global warming is changing the dynamics of arctic host-parasite systems. *Proc. Biol. Sci.* 2005; 272: 2571-6.
12. Lightowers MW, Fliser A, Gauci CG, Heath HD, Jensen O, Rolfe R. Vaccination against cysticercosis and hydatid disease. *Parasitol. Today* 2000; 16: 191-6.
13. Meeusen NT, Walker J, Peters A, Pastoret PP, Jungersen G. Current Status of Veterinary Vaccines. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007; 20(3): 489-510.
14. Mejia JS, Bishop JV, Titus RG. Is it possible to develop pan-arthropod vaccines? *Trend in Parasitology* 2006; 22: 367-70.

15. Mendez F, Herrera S, Murrain B, Gutierrez A, Moreno LA, Manzano M, Munoz A, Plowe CV. Selection of antifolate resistant *Plasmodium falciparum* by sulfadoxine-pyrimethamine treatment and infectivity *Anopheles mosquitoes*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2007; 77(3): 438-43.
16. Morrison WI, Mc Keever DJ. Current status of vaccine development against *Theileria* parasites. Parasitol. 2006; 133: 169-87.
17. Mulcahy G, Joyce P, Dalton JP. Immunology of Fasciola hepatica infection. In: Dalton JP (Ed.). Fasciolosis. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 341-76, 1999.
18. Murray L, Geldhof P, Clark D, Knox DP, Britton C. Expression and purification of an active cysteine protease of *Haemonchus contortus* using *Caenorhabditis elegans*. Int. J. Parasitol. 2007; 21: 1745-8.
19. Parmesan C, Yohe G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. Nature 2003; 421: 37-42.
20. Pinard-van der Laan MH. Comparison of outbred lines of chickens for resistance to experimental infection with coccidiosis (*Eimeria tenella*). Poultry science 1998; 62(2): 175-8.
21. Petričević MS, Rusov Č, Đukić B. Kritički osvrt na aktuelne preventivne mere protiv kokcidioze živine. Nauka o živinarstvu 1998; 3(3-4): 479-90.
22. Petričević MS, Ilić T, Dimitrijević S. Aktuelni koncept kontrole kokcidioze pilića. Veterinarski glasnik 2006; 60(5-6): 271-82.
23. Poulin R. Global warming and temperature mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. Parasitology 2006; 132: 143-51.
24. Pruetz JH. Immunological control of arthropod ectoparasites-a review. Int. J. Parasitol. 1999; 29: 25-32.
25. Ridley RG. Planting new targets for antiparasitic drugs. Nature 1998; 4(8): 894-5.
26. Silvestre A, Humbert JF. Diversity of benzimidazole – resistance alleles in populations of small ruminant parasites. Int. J. Parasitol. 2002; 32(7): 921-8.
27. Smith WD, Smith SK, Pettit D. Evaluation of immunization with gut membrane glycoproteins of *Ostertagia ostertagi* against homologous challenge in calves and against *Haemonchus contortus* in sheep. Parasite Immunol. 2000; 22: 239-47.
28. Strathdee AD, Bale JS. Life on the edge: insect ecology in arctic environments. Annu. Rev. Entomol. 1998; 43: 85-106.
29. Willadsen P. Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. Parasitol. 1995; 110: 43-50.

ENGLISH

CONTEMPORARY MODELS AND PROSPECTS OF CONTROL OF PARASITIC DISEASES

Saša M. Petričević, Tamara Ilić, Sanda Dimitrijević

Economic, social and expert-scientific factors determine activities in connection with the development of the control of parasitic infections in the upcoming period of the 21st century. The primary research activities are directed at studies of the physiological functions of parasites and the ecological relations between the parasite and the host, and all that is undertaken with the objective of securing adequate pharmacotherapy/pharma-

coprophylaxis and immunoprophylaxis. As there is a huge expansion in the synthesis of chemical compounds, there is a great number of potential substances for use in the form of a medicine. Along these lines, activities concerning the development of new antiparasitics and/or modification of existing ones are primarily based on securing a quality target spot for its action.

Another possibility in the area of research is connected to the problem of resistance of parasites and intensive studies of the biochemical-physiological characteristics of parasites, as well as the development of an active epidemiological-epizootiological network for monitoring resistance. In parallel with the development of medicines, the results of investigations of physiological functions of parasites and their mutual relations with their host, are intensely used for the development of immunological control, and the development of vaccines (for example, the development of vaccines for the control of coccidiosis, babesiosis, echinococcosis).

The second important approach is related to studies of parasitic zoonoses, the effect of global warming on the epidemiological-epizootiological characteristics of parasitic diseases and the selection of resistant animal breeds/hybrids. Animal welfare is also of importance, the perfecting of reliable, rapid and less-costly methods for diagnosing parasitic diseases and the development of *in vitro* methods for the examination of resistance to antiparasitics.

Key words: Parasites, pharmacotherapy, immunoprophylaxis, resistance, target spots

РУССКИЙ

СОВРЕМЕННЫЕ МОДЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВА КОНТРОЛЯ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

С. М. Петричевич, Тамара Илич, Санда Димитријевич

Экономические, социальные и специально-научные факторы обуславливают активности, связанные для развития контроля паразитарных инфекций, в предстоящем периоде 21 века. Первичные исследовательские активности, направленные к изучению физиологических функций паразитов и экологического отношения паразит-хозяин, а всё с целью обеспечения адекватной фармакотерапии/фармакопрофилактики и иммунопрофилактики. Как синтез химических соединений в огромной экспансии, существует большое число потенциальных субстанций для применения в виде лекарства. В соответствии с этим, и активности развития новых антипаразитиков и/или модификации существующих основываются в первую очередь на "обеспечении" качественного целевого места действия.

Вторая возможность на исследовательском плане, связанная для проблемы сопротивления паразитов и интенсивное изучение биохимическо-физиологических характеристик паразитов, словно и развитие активной эпидемиологическо-эпизоотологической сети для слежки сопротивления. Параллельно с развитием лекарств. результаты испытания физиологических функций паразитов и их взаимного отношения с хозяином, интенсивно пользуются для развития иммунологического контроля, то есть развитие вакцин (например, развитие вакцин для контроля кокцидиоза, бабезиоза, эхинококкоза и т.п.).

Второй важный подход изучение паразитарных зоонозов, воздействия глобального потепления на эпидемиологическо-эпизоотологические характерис-

тики паразитарных болезней и выбора более сопротивляемых пород/гибридов животных. Важно и благосостояние животных, усовершенствование надёжных, быстрых и дешёвых методов для диагностирования паразитарных боелней *in vitro* методов для испытания сиопротивления на антипаразитики.

Ключевые слова: паразиты, фармакотерапия, иммунопрофилактика, сопротивление, целевые места

SANACIJA OTVORENOG PRELOMA RAMENE KOSTI SOVE* *HEALING OF OPEN FRACTURE OF SHOULDER BONE IN OWL*

B. Prokić, Mirjana Lazarević-Macanović, B. B. Prokić**

Sanacija i terapija akcidentalnih povreda ptica koje imaju karakter složenih, starih i kontaminiranih rana, zahteva od hirurga maksimalnu opreznost. Ptice, posebno divlje, osetljive su na manipulaciju prilikom pregleda i dijagnostikovanja povreda. Procena složenosti povrede i opšteg stanja pacijenta, su od ključnog značaja za pravilan izbor dijagnostičkih postupaka, anestezije i operativnog zahvata. Primena keta-min hlorida i diazepama za opštu injekcionu anesteziju, daje mogućnost za nesmetano izvođenje operativnog zahvata. Primena Kišnerovih igala i klinova su dobar izbor za osteofiksaciju dugih cevas-tih kostiju kod ptica. Postoperativni tok zahteva stalni medicinski i stručni nadzor pacijenta koji se mora u potpunosti ispoštovati.

Ključne reči: ptica, prelom, anestezija, osteofiksacija

Uvod / Introduction

Hirurška terapija povreda divljih životinja, posebno ptica, veoma je kompleksna i složena. Etiologija povreda je širokog spektra, a izostajanje potpunih anamnestičkih podataka u dijagnostičkoj proceduri, otežava kvalitetno i brzo postavljanje hirurške dijagnoze i zbrinjavanje pacijenta. Ovo se naročito odnosi na povrede i oboljenja mekih tkiva, organa i sistema organa.

Postavljanje hirurške dijagnoze povreda i oboljenja koštanog sistema, posebno lokomotornog, je relativno lakše i brže, s obzirom na to da pacijent povredu ispoljava delimičnim ili potpunim isključenjem regije iz funkcije. Manifestacija povrede omogućava bližu lokalizaciju regije koju treba podvrgnuti rendgenskom snimanju.

Povrede ekstremiteta kod divljih ptica najčešće su posledica ranjavanja (lov), ali i najrazličitijih situacija života u divljini. U većini slučajeva radi se o otvorenim, starih i kontaminiranim povredama. Oštećenja koštano-zglobnog si-

* Rad primljen za štampu 25. 01. 2008. godine

** Dr. sci. med. vet. Branislav Prokić, docent, dr. sci. med. vet. Mirjana Lazarević-Macanović, asistent, Branko B. Prokić, student, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

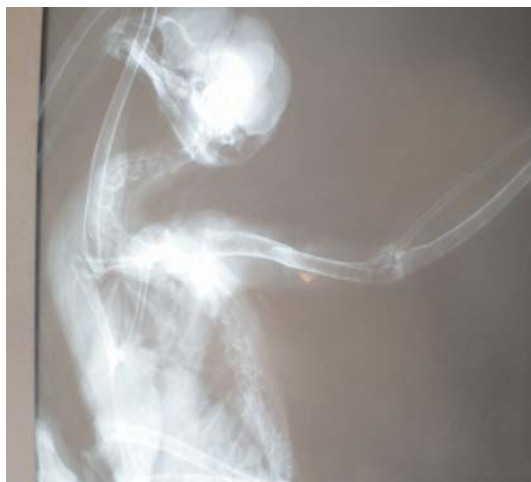
stema se kreću od minimalnih (fisura, subluksacija zglobova) do složenih, u koje spadaju otvoreni prelomi sa odlomnim fragmentima, kao i luksacije zglobova udružene sa supra i intrakondilarnim frakturama. Karakter povrede direktno zavisi od uzroka i jačine sila traume. Stanje se dodatno komplikuje vremenskim periodom koji protekne od nastanka povrede do početka obrade rane (povrede) i lečenja pacijenta.

Klinički i radiološki pregledi su neophodni za pouzdano postavljanje dijagnoze, a imaju značaj i za određivanje vrste operativnog zahvata, kao i izbor anestezije koja će se prilikom njega koristiti.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Sova ušara pronađena je u okolini Beograda sa povređenim desnim krilom. Kliničkim pregledom konstatovan je otvoren prelom ramene kosti, pri čemu je rana bila lokalizovana na unutrašnjoj strani krila. Povreda je imala karakter stare, kontaminirane rane, najverovatnije nastale ispaljivanjem dijabole iz vazdušne puške (*vulnus sclopetarium*).

Nakon detaljnog kliničkog pregleda ptica je upućena na rendgensko snimanje ozleđene regije. Na nativnom rendgenogramu ML projekcije desnog krila uočen je kosi prelom ramene kosti u regiji središnje dijafize, bez značajne dislokacije koštanih fragmenata.



Slika 1. *Fractura obliqua humeri dexter in regione diaphysis medialis et dislocatio fragmentorum minima*

Na osnovu rezultata rendgenskog pregleda i postavljene rendgenske dijagnoze, određena je vrsta operativnog zahvata koja je podrazumevala intramedularnu transartikularnu osteofiksaciju ramene kosti upotrebom Kišnerovog klina.

Operativni zahvat je izveden u opštoj injekcionoj anesteziji, intramuskularnom aplikacijom ketamina (ketamin-hidro-hlorid) u dozi od 40 mg/kg telesne mase i diazepamom u dozi od 1,5 mg/kg telesne mase u cilju obezbeđivanja bolje mišićne relaksacije. Oba preparata su aplikovana u pektoralnu muskulaturu.



Slika 2. Efekat ketamina 5 minuta nakon aplikacije, ptica u opštoj anesteziji
Figure 2. Effect of ketamine 5 minutes after application, bird in general anaesthesia



Slika 3. Obrada rubova rane i odstranjivanje odlomnih fragmenata
Figure 3. Dressing of wound edges and removal of chipped fragments



Neposredno po završetku hirurške intervencije obavljen je kontrolni radiološki pregled. Na profilnom rendgenogramu desnog krila (ML projekcija) potvrđena je korektno izvedena repozicija i kontencija koštanih fragmenata. U medularnom kanalu se jasno vizuelizuje metalna senka Kišnerovog klina.

Slika 4. Intramedularno plasiran Kišnerov klin kroz distalni fragment humerusa i lakatni zglob. Krilo se u lakatnom zglobo postavlja u položaj maksimalne fleksije, što omogućava prolazak klina napolje, sa minimalnim oštećenjem integriteta lakatnog zgloba. Dovođenje fragmenta u kontenciju i vraćanje Kišnerovog klina u proksimalni fragment humerusa

Figure 4. Intra medullary fixation - Kirschner pin placed through the distal fragment of the humerus and elbow joint. The elbow joint of the wing is placed into the position of maximum flexion, which enables the through passage of the pin with minimal damage to the integrity of the elbow joint. Bringing fragments into contention and returning of Kirschner pin into the proximal fragment of the humerus



Slika 5. Maksimalna kontencija nakon završene repozicije fragmenata. Kišnerov klin je vraćen u proksimalni fragment do kompakte, čime je uspostavljena druga fiksaciona tačka neophodna za uspešnu osteofiksaciju

Figure 5. Maximum contention after completed repositioning of the fragments. The Kirschner pin is returned to the proximal fragment up to the compact, which establishes the second point of fixation necessary for successful bone fixation



Slika 6. *Fractura obliqua humeri dexter in stadio post fixationem*



Slika 7. Buđenje ptice iz anestezije, fiksiranje krila zavojnim materijalom za grudni koš, previjanje svakih 48 čas. u narednih 14 dana

Figure 7. Bird coming out of anaesthesia, fixation of wing to the chest using bandage material, the dressing is changed every 48 hours over the next 14 days



Slika 8. Potpuno oporavljena ptica šest nedelja nakon uspešne osteofiksacije, sposobna za letenje. Fotografija je napravljena neposredno pred puštanje sove u svoju prirodnu sredinu

Figure 8. Fully recovered bird six weeks after successful bone fixation, capable of flying. The photograph was taken just before the owl was released back into its natural environment

Rezultati / Results

U slučaju sanacije otvorenog preloma ramene kosti sove ušare, opšta injekciona anestezija je postignuta kombinovanom primenom dijazepamata i ketamina i to već nakon 5 minuta po njihovoj intramuskularnoj aplikaciji. Upotrebom pomenutih anestetika u navedenoj dozi obezbeđena je opšta anestezija uz kvalitetnu miorelaksaciju u trajanju od 30 minuta, što je u našem slučaju bilo dovoljno da se operativni zahvat – intramedularne transartikularne osteofiksacije Kišnerovim klinom, završi bez dodavanja anestetika.

Analizom rendgenskog snimka stiće se uvid u složenost oštećenja koštanog tkiva (oblik i lokalizacija linije prekida kontinuiteta i stepen dislokacije koštanih fragmenata) što ima presudan značaj pri izboru veličine (dužine i preseka) Kišnerovog klina.

Tokom samog operativnog zahvata bilo je neophodno postići dobru kontenciju fragmenata i omogućiti stabilne fiksacione tačke (proksimalna i distalna) nakon plasiranja Kišnerovog klina. Postoperativni tok je podrazumevao antibiotsku parenteralnu terapiju i previjanje svaka 24 časa u toku prvih sedam dana, nakon čega je usledilo i skidanje šavova. Krilo je bilo fiksirano za grudni koš tokom 5 nedelja, a jednom nedeljno je vršena kontrola njegove stabilnosti. Neposredno pre vađenja Kišnerovog klina životinji su aplikovani diazepam i ketamin u dozi dvostruko manjoj od one upotrebene za opštu anesteziju. Postupak vađenja Kišnerovog klina je izvršen postavljanjem male incizije na koži u predelu lakatnog

zgloba (položaj maksimalne fleksije) na mestu palpacije njegovog distalnog kraja. Klin je zatim fiksiran klješćima i odlučnim povlačenjem u pravcu ose kosti izvađen, a krilo je tokom narednih 7 dana fiksirano za grudni koš. Nakon šest nedelja po izvršenoj osteofiksaciji, skinut je zavojni materijal. Funkcija krila je u potpunosti uspostavljena, a ptici omogućeno vraćanje u prirodno stanište.

Diskusija / Discussion

Kada je reč o pticama prilikom sanacije i terapije akcidentalnih povreda koje imaju karakter složenih, starih i kontaminiranih rana, treba biti vrlo obazriv. Ptice, posebno divlje, osetljive su na manipulaciju prilikom pregleda i dijagnostikovanja povreda. Procena složenosti povrede i opšteg stanja pacijenta su od ključnog značaja za pravilan izbor dijagnostičkih postupaka, anestezije i operativnog zahvata, ali i planiranje postoperativnog toka.

Literatura / References

1. Altman RB: Avian anesthesia. *Comp Cont Ed* 1980; 2(1): 39-43.
2. Bennet RA. *Orthopedic surgery, Avian Medicine and surgery*. Philadelphia: Wb Saunders 733-766, 2007.
3. Charles E.Short. *Veterinary anesthesia*, Williams & Wilkins, Baltimore, USA 1987
4. Levitt L. *Avian orthopedics*. *Comp Cont Edu Pract Vet* 1989; 11(8): 899-907.
5. Redig P. *Fractures In: Samour J, ed. Avian Medicine*. London, Mosby; 131-65, 2000.

ENGLISH

HEALING OF OPEN FRACTURE OF SHOULDER BONE IN OWL

B. Prokic, Mirjana Lazarevic-Macanovic, B. B. Prokic

Curing and treatment of accidental injuries in birds that have the nature of complex, old and contaminated wounds demand maximum caution from the surgeon. Birds, in particular wild fowl, are sensitive to manipulation during examinations and the diagnosis of the injuries. The estimate of the complexity of an injury and the general condition of the patient are of key importance for the correct choice of diagnostic procedures, anaesthesia, and the operative procedure. The implementation of ketamine and diazepam for general injection anaesthesia provides possibilities for the unhindered executing of the surgical procedure. The implementation of Kischner needles and pins is a good choice for the fixation of long bones in birds. The postoperative course in the patient requires constant medical and professional supervision which must be followed to the letter.

Key words: bird, fracture, anaesthesia, bone fixation

САНАЦИЯ ОТКРЫТОГО ПЕРЕЛОМА ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ СОВЫ

Б. Прокич, Миряна Лазаревич-Мацанович, Б. Б. Прокич

Санация и терапия акцидентальных повреждений птиц, имеющих характер сложных, старых и контаминационных ран, требует от хирурга максимальную осторожность. Птицы, отдельно дикие, чувствительные на манипуляцию при осмотре и диагностировании повреждений. Оценка сложности повреждения и общего состояния пациента, ключевое важно для правильного выбора диагностических поступков, анестезии и оперативного вмешательства. Применение кетамин хлорида и диазепама для общей инъекционной анестезии, даёт возможность для беспрепятственного выведения оперативного вмешательства. Применение игол и клинов Кишнера хороший выбор для остеофиксации длинных трубчатых костей у птиц. Постоперативное течение пациента требует постоянный медицинский и специальный надзор, который должен полностью соблюдаться.

Ключевые слова: птица, перелом, анестезия, остеофиксация

**Jovanović Larisa, Pešić-Mikulec Dragana, Pavlović Ivan:
„PRIMENA HACCP U PROIZVODNJI I DISTRIBUCIJI HRANE”
- monografija nacionalnog značaja -**

Izdavač: Naučno-stručno društvo za zaštitu životne sredine Srbije "ECOLOGICA", Beograd, 2007

Proizvodnja hrane je kompleksan proces koji uključuje niz faktora. Cilj je da se dobiju zdravstveno bezbedni, kvalitetni i higijenski ispravni prehrambeni proizvodi. Karakteristike kontrolisane proizvodnje namirnica su: dobra higijena u mikrobiološkom pogledu, ograničeno prisustvo zagađivača, pre svega pesticida, teških metala, antibiotika, aditiva (aroma, zaslađivača, konzervanasa) i drugih supstanci koje se koriste u proizvodnji namirnica. Primena HACCP metodologije zahteva integraciju i koordinaciju kontrole, zakona i nauke koji treba da budu u skladu, razumljivi i dostupni potrošačima. Politika zdravstveno bezbedne hrane treba da bude politika dijaloga svih učesnika u procesu (naučnika, zakonodavca, proizvođača itd).

Autori monografije su imali nameru da pomognu da svi koji se bave na prvom mestu proizvodnjom namirnica shvate principe HACCP koncepta, ukazavši da je neophodno uvođenje HACCP metodologije i serije standarda ISO 22000, kao integralnog sistema kontrole kvaliteta i zdravstvene bezbednosti hrane.

Larisa Jovanović, Dragana Pešić-Mikulec i Ivan Pavlović su monografiju "**Primena HACCP u proizvodnji i distribuciji hrane**" obradili na 231. strani, u devet poglavlja sa 46 tabela, 33 crno-bele fotografije i šeme, referencom od 175 naslova od čega je 46 autocitata.

U **prvom poglavlju** autori su kroz istorijat prikazali faze razvoja i primene HACCP u svetu. Kroz faktore rizika u poljoprivredi i primeni HACCP (**drugo poglavlje**) vidi se da primarnu proizvodnju treba obavljati tako da hrana bude bezbedna za planiranu namenu što uključuje – izbegavanje korišćenja zemljišta čije ekološke karakteristike ugrožavaju zdravstvenu bezbednost hrane, kontrolu organskih i neorganskih polutanata, menadžment štetočina i bolest životinja i biljaka, pomoću metoda koje obezbeđuju zdravstvenu bezbednost, uz odgovarajuće higijenske uslove.

Kroz **treće poglavlje** autori ukazuju na to da se mora izvršiti identifikacija rizika od hemijskih agenasa i toksina. U skladu sa uredbama Evropske unije ekološki ispravna zdrava hrana sa karakterističnom oznakom zemlje porekla mora dobiti atest o kvalitetu sa naznakom da je hrana proizvedena po načelima HACCP sistema. Cilj primene ovog sistema je da utvrdi potencijalne uzročnike rizika u toku procesa proizvodnje hrane radi očuvanja kvaliteta namirnica. Nove

tehnike za utvrđivanje rizika sagledane su od strane FAO kao prioritetni zadatak u oblasti kvaliteta i bezbednosti hrane.

U **četvrtom poglavlju** monografije, autori ukazuju na to da su kao kontaminanti namirnica animalnog porekla veoma važni parazitski kontaminanti. Navode da se kontaminacija namirnica animalnog porekla parazitima mora prihvatiti kao neminovnost. Broj kontaminenata je veliki i mada oni nemaju podjednak epidemiološki značaj, svi dovode do promene organoleptičkih osobina namirnica i higijenske neispravnosti što uzrokuje njihovu eliminaciju iz prometa, a samim tim nastaju veliki ekonomski gubici.

Pored parazita za epidemiologiju su važne i bolesti koje se prenose hranom a čiji su uzročnici bakterije – mikrobiološki rizik (**peto poglavlje**). U najboljim uslovima proizvodnje opasnost od nalaza patogenih mikroorganizama u namirnicama ne može se u potpunosti eliminisati. Mora se uzeti u obzir ponašanje mikroorganizama u kombinaciji sa različitim faktorima sredine. Za razmnožavanje i aktivnost mikroorganizama potrebna je odgovarajuća kombinacija faktora: sastav vode, hranljive materije, opseg temperaturnih i pH vrednosti. Od kombinacije tih faktora zavisi koji će se od prisutnih mikroorganizama razmnožavati i dovesti do kvara hrane. Najčešće korišćeni tehnološki postupci radi uništavanja patogenih mikroorganizama su dehidracija sušenjem, usoljavanjem, snižavanjem temperature skladištenja ili smrzavanjem, redukcijom pH dodavanjem kiseline ili fermentacijom, pasterizacijom, zaslađivanjem i upotrebom hemijskih konzervanasa.

Imajući u vidu ove kontaminante, autori ukazuju na to da je za bezbednost hrane neophodan HACCP sistem (**poglavlje šest**). On je zasnovan na sedam principa kojima se na efikasan način osigurava potpuna zdravstvena bezbednost prehrambenih proizvoda u svim segmentima proizvodnje i prerade, po principu "od njive do trpeze". Za razliku od pregleda gotovih proizvoda na kraju proizvodnog procesa, HACCP predstavlja preventivni sistem koji osigurava bezbednost hrane u svakom koraku procesa proizvodnje.

Da bi se ostvario u potpunosti HACCP sistem neophodno je da ga prati dobra higijenska praksa, koja može da se pokaže i kao dobra proizvođačka praksa (**poglavlje sedam**). Dobra proizvođačka praksa se odražava na sve mere koje imaju za cilj proizvodnju hrane koja je bezbedna za potrošače i dobrog kvaliteta. U mnogim odrednicama HACCP sistem se zasniva na opštim principima higijene hrane usvojenim od strane komisije Codex Alimentarius 1997. godine i revidirane 2003. godine.

Proizvodnju zdravstveno bezbednih namirnica regulišu međunarodni propisi, standardi i procedure (**poglavlje osam**). Posebno valja istaći one koje su usvojili: Evropska unija, Međunarodna organizacija za hranu i ishranu (Food Agricultural Organization of the United Nations – FAO), Međunarodni biro za epizootije (Office International des Epizooties – OIE), Komisija kodeksa alimentarijusa (Codex Alimentarius Commission – CAC), Svetska trgovinska organizacija (World

Trade Organization – WTO), Međunarodna organizacija za standardizaciju (International Organization for Standardization – ISO)

I na kraju, u **poglavlju devet**, autori su dali prikaz kako se primenjuje HACCP u mlekarskoj i klaničnoj, odnosno, u industriji proizvodnje ribe.

Nakon opisanih poglavlja slede **Zaključak** i **Literatura**, čime je ova monografija u potpunosti zaokružena. Gledana u celini, monografija "**Primena HACCP u proizvodnji i distribuciji hrane**" predstavlja jedno sveobuhvatno delo u kome se na razumljiv i pristupačan način ukazuje na važnost i značaj primene HACCP sistema u proizvodnji i distribuciji hrane. Zbog toga je sa zadovoljstvom preporučujem proizvođačima hrane i stručnim licima koja vrše kontrolu proizvodnje.

Dr sci. med. vet. Snežana Ivanović, viši naučni saradnik
Naučni institut za veterinarstvo Srbije

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE U BEOGRADU 2007. GODINE

Jevtić D. Dragana

Rođena 01. 03. 1969. u Loznici
Diplomirala 27. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Loznica
Miloša Pocerca 38

Gorgi S. Anita

Rođena 05. 02. 1969. u Banja Luci
Diplomirala 25. 09. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Trnska 20

Spasojević P. Milutin

Rođen 07. 03. 1982. u Čačku
Diplomirao 21. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Viljuša
Viljuša bb

Vučković M. Miloš

Rođen 19. 11. 1978. u Aleksincu
Diplomirao 20. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Aleksinac
Lole Ribara bb

Gajić Č. Mijodrag

Rođen 04. 02. 1981. u Bijeljini
Diplomirao 24. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Srednja Čađavica

Atanacković S. Vladimir

Rođen 12. 09. 1980. u Beogradu
Diplomirao 24. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Radovana Simića Cige 14/37

Manić Đ. Višnja

Rođena 20. 06. 1978. u Nišu
Diplomirala 21. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Niš
V. Tankosića II prilaz br. 11

Pilipović M. Vladimir

Rođen 10. 04. 1981. u Prijedoru
Diplomirao 18. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Surčin
Anđelka Čobanovića

Medić M. Nikola

Rođen 22. 10. 1978. u Beogradu
Diplomirao 28. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Lazarevački drum 5

Tošić S. Nemanja

Rođen 24. 10. 1977. u Nišu
Diplomirao 30. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Pabla Nerude 8/11

Čop D. Bojana

Rođena 06. 10. 1976. u Vukovaru
Diplomirala 16. 05. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
M. Jevrosime 42

Veslemović B. Tatjana

Rođena 23. 10. 1979. u Beogradu
Diplomirala 29. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Meštrovićeva 10

Milovanović R. Saša

Rođen 26. 08. 1975. u Ražnju
Diplomirao 30. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Ražanj
Selo Šetka

Milošević Ž. Milorad

Rođen 23. 09. 1973. u Banja Luci
Diplomirao 19. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Banja Luka, BiH
Relje Krilatice 5

Resanović D. Miloš

Rođen 24. 11. 1978. u Pančevu
Diplomirao 29. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Pančevo
Kikindska 15/26

Jovanović B. Ana

Rođena 09. 01. 1981. u Beogradu
Diplomirala 26. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Isaka Njutnja 30

Dimitrijević D. Aleksandar

Rođen 22. 03. 1978. u Kraljevu
Diplomirao 29. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Kraljevo
Dragoslava Bogdana 13/13

Janković T. Katarina

Rođena 23. 06. 1977. u S. Palanci
Diplomirala 28. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Lazarevac
D. Petrovića 20/12

Milanović S. Bojan

Rođen 07. 07. 1981. u Branju
Diplomirao 06. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bujanovac
Selo Karadnik bb

Petrović D. Boban

Rođen 22. 02. 1975. u Ćupriji
Diplomirao 28. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Vitoševac
Pardik

Đurić M. Vuk

Rođen 30. 08. 1981. u S. Palanci
Diplomirao 26. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Velika Plana
Bul. Despota Stefana 50

Mitrović R. Mišo

Rođen 28. 10. 1979. u Loznici
Diplomirao 26. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Loznica
Donji Dobrić bb

Radojković Ž. Ana

Rođena 21. 06. 1979. u S. Palanci
Diplomirala 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Zemunski 267A

Popović R. Andrijana

Rođena 14. 03. 1980. u Beogradu
Diplomirala 19. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Milana Rakića 50

Avramović N. Dragan

Rođen 07. 05. 1979. u S. Palanci
Diplomirao 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Topola
Zorana Tomića 6

Čumić J. Vladimir

Rođen 16. 12. 1977. u Beogradu
Diplomirao 29. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Novi Beograd
Pante Tutundžića 3/6

Knežević D. Marko

Rođen 22. 11. 1978. u Beogradu
Diplomirao 12. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Vršac
Mihajla Pupina 16

Beljanski P. Nikola

Rođen 04. 04. 1977. u Beogradu
Diplomirao 28. 05. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Bojvode Micka 36

Dorđević D. Zoran

Rođen 14. 07. 1976. u Užicu
Diplomirao 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Zaplanjska 88/18

Kostadinov J. Tanja

Rođena 30. 12. 1979. u Beogradu
Diplomirala 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Kaludžerica, 20. oktobra 22A

Milošević J. Dušanka

Rođena 08. 06. 1982. u Kotoru
Diplomirala 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Herceg Novi,
Crna Gora
Novo Mesto 35/2

Vračar Č. Jelena

Rođena 19. 02. 1982. u Nikšiću
Diplomirala 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Nikšić
Alekse Backovića 115

Prodanović Ž. Radiša

Rođen 01. 02. 1981. u Ljuboviji
Diplomirao 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bratunac
Žljevice bb

Kosijer J. Saša

Rođen 24. 10. 1977. u Zagrebu
Diplomirao 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Ilije Stojadinovića 22/22

Kojić D. Milovan

Rođen 16. 10. 1975. u Obrenovcu
Diplomirao 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Selo Dren,
Obrenovac, Gornja kraj 20

Balaban S. Nemanja

Rođen 30. 10. 1979. u Beogradu
Diplomirao 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Mala Moštanica
Lipik 4

Ivković M. Marija

Rođena 18. 12. 1970. u Jagodini
Diplomirala 30. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Jagodina
Kralja Petra I 2A

Puzavac M. Srđan

Rođen 30. 07. 1978. u Osijeku
Diplomirao 29. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Sombor
Gruje Dedića 14/18

Vujnović M. Igor

Rođen 28. 09. 1978. u Bijeljini
Diplomirao 24. 10. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bijeljina
Filipa Višnjića 67

Salai Đ. Romina

Rođena 23. 03. 1976. u Subotici
Diplomirala 24. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Subotica
Zorkina 103/B

Ignjatović M. Marija

Rođena 18. 03. 1981. u Zemunu
Diplomirala 27. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
Lješka 4/17

Drakulić B. Danica

Rođena 05. 04. 1982. u Somboru
Diplomirala 27. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bački Brestovac
Marka Oreškovića 24

Marinkov Ž. Darko

Rođen 25. 08. 1980. u Zrenjaninu
Diplomirao 21. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Zrenjanin
Karađorđevačko-Aleksandrovačkog
odreda 5

Nikolić N. Aleksandra

Rođena 13. 06. 1978. u Beogradu
Diplomirala 20. 12. 2007. godine
Stalno mesto boravka Beograd
II Grge Andrijanovića 18đ

Zejak Lj. Božana

Rođena 21. 09. 1981. u Prijepolju
Diplomirala 26. 09. 2006. godine
Stalno mesto boravka Brodarevo
Bratstva i jedinstva 36

Milanović S. Bojan

Rođen 07. 07. 1981. u Vranju
Diplomirao 30. 11. 2007. godine
Stalno mesto boravka Bujanovac
Selo Karadnik bb