

UDK 619(05);

ISSN 1840-2887



# ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Veterinary Journal of Republic of Srpska

Volumen X, бр./No 1, стр./page 01-130, Бања Лука/Ванја Лука, 2010



**10. ГОДИНА ВЕТЕРИНАРСКОГ ЖУРНАЛА  
РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ!  
Xth YEARS VETERINARY JOURNAL  
OF REPUBLIC OF SRPSKA!**

UDK 619 (05)

ISSN 1840-2887

## ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

### VETERINARY JOURNAL OF REPUBLIC OF SRPSKA

**Научно стручни часопис - Scientific and professional journal**

Ветеринарски журнал Републике Српске, Вол. 10, број 2, стр. 131-182, Бања Лука, 2010  
Veterinary Journal of Republic of Srpska, Vol. X, No 2, page 131-182, Banja Luka, 2010

**ОСНИВАЧ – FOUNDER:**

ДРУШТВО ВЕТЕРИНАРА РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ  
VETERINARY ASSOCIATION OF REPUBLIC OF SRPSKA

**ИЗДАВАЧ – PUBLISHER:**

ВЕТЕРИНАРСКИ ИНСТИТУТ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ «Др Васо Бутозан» БАЊА ЛУКА  
VETERINARY INSTITUTE REPUBLIC OF SRPSKA «Dr Vaso Butozan» BANJA LUKA

**ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК – EDITOR IN CHIEF:**

Доц.др Драго Н. Недић  
Doc.dr Drago N. Nedic

**МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР – INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD:**

Балтић др Милан, Голубовић др Србољуб, Туричић др Босиљка, Иветић др Војин, Калаба др Весна, Кубелка др Драго, Латиновић др Рајко, Матаругић др Драгутин, Мијачевић др Зора, Надаждић др Миливоје, Тркуља др Родољуб, Шарић др Миленко.  
Baltić dr Milan, Golubović dr Srboljub, Đuričić dr Bosiljka, Ivetić dr Vojin, Kalaba dr Vesna, Kubelka dr Drago, Latinović dr Rajko, Matarugić dr Dragutin, Mijačević dr Zora, Nadaždin dr Milivoje, Trkulja dr Rodoljub, Šarić dr Milenko.

**ЛЕКТОР - LECTOR:**

Сандра Лучић / Sandra Lučić

**РЕЦЕНЗИЈА:**

Часопис се упућује на рецензију еминентним стручњацима оvisно о тематици рада

**ГОДИШЊЕ СЕ ОБЈАВЉУЈЕ 2 БРОЈА ЧАСОПИСА**

Часопис је бесплатан и штампа се у 300 примјерака.

На основу Мишљења Министарства науке и културе Републике Српске часопис је ослобођен пореза на промет.

**Штампа:** “Атлантик бб”, Бања Лука

Ветеринарски журнал Републике Српске, 78000 Бања Лука, Бранка Радичевића 18,  
Тел/факс: 051/229-211, Е-mail: [drago.nedic@gmail.com](mailto:drago.nedic@gmail.com), Web Page:  
<http://www.veterinarskiinstitutr.com>

## ***Предговор о овом броју***

*Поштовани читаоци,*

*Десета је година излажења вашег и нашег научно-стручног часописа Ветеринарски журнал Републике Српске, а пред вама је нови број, 1/2010.*

*У овом броју налази се седамнаест радова који су благовремено достављени у редакцију, али, нажалост, дио радова нисмо могли објавити у овом броју јер не испуњавају одређене услове за објављивање. Позивамо ауторе необјављених радова да своје радове поново прегледају и прилагоде садржај и форму како би могли бити објављени. Ово још једном показује да је наш и ваш часопис мјесто гдје радо објављујете ваше радове, а ми ћемо се потрудити да овај часопис стигне до свих вас.*

*Пошто је ово водећи национални часопис у области ветеринарске медицине у Републици Српској, ред је да наведемо и неколико актуелних догађаја из ове области. Прије свега, можемо да истакнемо да су неке лабораторије предале апликацију за акредитацију, што је од изузетног значаја за здравље и безбједност потрошача, као и за јачање извоза. Настављена је активност на сузбијању бруцелозе вакцинацијом младих животиња.*

*Ове године (у септембру) очекујемо и инспекцију из Даблина која се тиче резидуа ветеринарских лијекова у животињским производима, што ће бити од изузетног значаја за даљи статус Босне и Херцеговине у вези са питањем извоза.*

*Ветеринарска служба Републике Српске, у сарадњи са ветеринарском службом Федерације БиХ и Брчко дистрикта БиХ чини максималне напоре да се сузбију и спријече појаве многих заразних болести, да се заштити здравље животиња и људи и да се испуне међународни и европски стандарди.*

*Ове године ће се одржати 15. савјетовање ветеринара Републике Српске, у Теслићу, од 9. до 12. јуна 2010. године. Уредништво часописа је оцијенило да овај водећи научно-стручни часопис у овој области у Републици Српској подржи ово савјетовање тиме што ће дио радова штампати и часопис приредити управо учесницима овог савјетовања.*

*Сви радови су лекторисани и индексирани. Радови који нису објављени у овом броју, а буду презентовани на Савјетовању, моћи ће се објавити у наредном броју Ветеринарског журнала Републике Српске, по жељи аутора.*

*Уредништво се захваљује ауторима реферата за одабир овог часописа за објаву њихових радова и позивамо их на даљу сарадњу.*

**ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК**

**Доц. др Драго Н. Недић**

## САДРЖАЈ/CONTENTS

|                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| М. Ж. Балтић, Д. Недић, Ј. Ђурић, М. Димитријевић, Н. Карабасил, Н. Килибарда                                                                                   |    |
| 1. ХРАНА И ВЕЧНА БРИГА ЗА ЗДРАВЉЕ                                                                                                                               |    |
| М. Ž. Baltić, D. Nedić, J. Đurić, M. Dimitrijević, N. Karabasil, N. Kilibarda                                                                                   |    |
| FOOD AND EVERLASTING CONCERN ABOUT HEALTH.....                                                                                                                  | 5  |
| Р. Марковић, М. Ж. Балтић, Д. Шефер, А. Дрљачић, Б. Петрујкић, С. Радловић                                                                                      |    |
| 2. УПОТРЕБА ПОВЕЋАНИХ КОЛИЧИНА ОРГАНСКОГ ОБЛИКА СЕЛЕНА У ИСХРАНИ БРОЈЛЕРА                                                                                       |    |
| R. Marković, Ž. M. Baltić, D. Šefer, A. Drljačić, B. Petrujkić, S. Radulović                                                                                    |    |
| USE OF INCREASED AMOUNTS ORGANIC BOUNDED SELENIUM IN THE BROILERS DIET.....                                                                                     | 10 |
| Miroslav Marković, Zoran Tambur                                                                                                                                 |    |
| 3. AFLATOKSIN M <sub>1</sub> I KONTAMINACIJA PASTERIZOVANOG MLEKA                                                                                               |    |
| Miroslav Markovic, Zoran Tambur                                                                                                                                 |    |
| AFLATOXIN M1 AND CONTAMINATION OF PASTEURIZED MILK.....                                                                                                         | 19 |
| М. Стеванчевић, Б. Тохолј, В. Кујаџа, Д. Кошарчић, В. Иветић, З. Алексић                                                                                        |    |
| 4. UTICAJ HROMOSTI NA DUŽINU SERVIS PERIODA KOD HOLŠTAJNSKO-FRIZIJSKIH KRAVA                                                                                    |    |
| М. Стеванчевић, Б. Тохолј, В. Кујаџа, Д. Кошарчић, В. Иветић, З. Алексић                                                                                        |    |
| THE INFLUENCE OF LAMENESS ON CALVING TO CONCEPTION INTERVAL AT HOLSTEIN-FREISIAN DAIRY COWS .....                                                               | 31 |
| Н. Савић, Д. Микавица, З. Марковић, Д. Матаругић                                                                                                                |    |
| 5. УТИЦАЈ ХРАНИВА РАЗЛИЧИТЕ ЕНЕРГЕТСКЕ ВРИЈЕДНОСТИ НА ХЕМИЈСКИ САСТАВ МЕСА ДУЖИЧАСТЕ ПАСТРМКЕ ( <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> , WALBAUM, 1792) ГАЈЕНЕ У КАВЕЗИМА   |    |
| N. Savić, D. Mikavica, Z. Marković, D. Matarugić                                                                                                                |    |
| NUTRIENTS EFFECT OF DIFFERENT ENERGY VALUE OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF MEAT RAINBOW TROUT ( <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> , WALBAUM, 1792) GROWN IN A CAGE..... | 35 |
| Miroslav Marković, Dubravko Bokonjić, Slavica Vučinić, Bogdan Bošković, Томислав Режић                                                                          |    |
| 6. UTICAJ NATRIJUM BIKARBONATA I STANDARDNIH ANTIDOTA NA ACIDO-BAZNI STATUS PACOVA TROVANIH MALATIONOM                                                          |    |

- Miroslav Marković, Dubravko Bokonjić, Bogdan Bošković, Slavica Vučinić, Tomislav Režić  
 THE EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF THE SUBSTITUTE OF  
 THE INFUSION TREATMENT BY SODIUM BICARBONATE  
 IN ACUTE RAT POISONING BY SOY WISTAR MALATION ..... 42
- H. Савић, Д. Микавица, З. Марковић, Д. Матаругић  
 7. УТИЦАЈ TEMПЕРАТУРЕ ВОДЕ И ХРАНИВА *РАЗЛИЧИТЕ* ЕНЕРГЕТСКЕ  
 ВРИЈЕДНОСТИ НА МОРТАЛИТЕТ ДУЖИЧАСТЕ ПАСТРМКЕ  
 (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) ГАЈЕНЕ У КАВЕЗИМА  
 N. Savić, D. Mikavica, Z. Marković, D. Matarugić  
 INFLUENCE OF WATER TEMPERATURE AND NUTRIENT VALUES  
 OF VARIOUS ENERGY ON MORTALITY RAINBOW TROUT  
 (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) GROWN IN CAGES ..... 55
- M. Urošević, D. Matarugić, D. Drobnjak, B. Živković  
 8. UTICAJ RODA ŽIRA NA ŠTETE OD DIVLJE SVINJE (*Sus scrofa*)  
 NA POLJOPRIVREDNIM KULTURAMA U HOMOLJU  
 M. Urošević, D. Matarugić, D. Drobnjak, B. Živković  
 INFLUENCE OF ACORN YIELD ON WILD BOAR (*Sus scrofa*)  
 DAMAGES TO AGRICULTURAL CROPS IN HOMOLJE REGION ..... 65
- Мирјана Бојанић Рашовић, Александра Стјепановић, Вера Катић, Јелена Куч  
 9. НЕКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ СОЈЕВА *LACTOCOCCUS GARVIEAE*  
 ИЗОЛОВАНИХ ИЗ ПРИРОДНО КОАГУЛИСАНОГ СИРОВОГ МЛИЈЕКА  
 СА ПОДРУЧЈА ЦРНЕ ГОРЕ  
 Mirjana Bojanić Rašović, Aleksandra Stjepanović, Vera Katić, Jelena Kuč  
 SOME FEATURES OF *LACTOCOCCUS GARVIEAE* ISOLATED FROM NATURAL  
 COAGULATED RAW MILK ON THE TERRITORY OF MONTENEGRO ..... 69
- J. Vasić, D. Urošević, S. Gatarić  
 10. OSTEOFIKSACIJA PRELOMA DUGIH KOSTIJU ..... 78
- C. Гатарих, Д. Урошевић, Ј. Васић  
 11. ЕНУКЛЕАЦИЈА БУЛБУСА КОД ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА ..... 84
- J. Bojkovski, B. Stanković, M. Mirilović, T. Petrujkić, B. Petrujkić, B. Savić  
 12. DA LI CITOGENETIČKE METODE MOGU DA POSLUŽE KAO DEO  
 BIOSIGURNOSNIH PLANOVA NA FARMAMA VISOKOMLEČNIH KRAVA?  
 J. Bojkovski, B. Stanković, M. Mirilović, T. Petrujkić, B. Petrujkić, B. Savić  
 CAN CYTOGENETIC METHODS BE USED AS A PART OF  
 BIOSECURITY PLANS ON DAIRY FARM? ..... 90

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Весна Калаба, Драгица Ђурђевић Милошевић, Драгана Калаба                                                           |     |
| 13. КОНТРОЛА ХИГИЈЕНСКЕ ИСПРАВНОСТИ У ПОГОНИМА ПРЕХРАМБЕНЕ<br>ИНДУСТРИЈЕ ПО ПРЕПОРУЧЕНОМ КРИТЕРИЈУМУ HRN ISO 18593 |     |
| Vesna Kalaba, Dragica Đurđević Milošević, Dragana Kalaba                                                           |     |
| CONTROL OF HIGIENE IN FOOD INDUSTRY BY ARECOMMENDED<br>CRITERION HRN ISO 18593 .....                               | 97  |
| Весна Калаба, Драгица Ђурђевић Милошевић, Драгана Калаба                                                           |     |
| 14. КОНТАМИНИРАНЕ НАМИРНИЦЕ И РИЗИК ОД ЛИСТЕРИОЗЕ                                                                  |     |
| V. Kalaba, D. Đurđević Milošević, D. Kalaba                                                                        |     |
| CONTAMINATED FOODSTUFFS AND RISKS OF LISTERIOSIS.....                                                              | 103 |
| Г. Параш, О. Вујиновић, О. Витковић, Смиљана Параш, Д. Ђурђевић                                                    |     |
| 15. ХИРУРШКИ ТРЕТМАН ФРАКТУРЕ ФРОНТАЛНЕ КОСТИ ДОБЕРМАНА –<br>ПРИКАЗ СЛУЧАЈА                                        |     |
| Goran Paraš, Ognjen Vujinović, Ognjen Vitković, Smiljana Paraš, Dejan Đurđević                                     |     |
| SURGICAL TREATMENT OF FRACTURES OF THE FRONTAL<br>BONE DOBERMANS .....                                             | 108 |
| Д. Брењо, З. Ђерић, Д. Сандо                                                                                       |     |
| 16. ЕФЕКТИ УПОТРЕБЕ МЈЕШАВИНА НЕКИХ АДТИВА НА<br>ПОНАШАЊЕ ДЈЕЦЕ .....                                              | 112 |
| Б. Новаковић, Д. Матаругић, М. Урошевић, Д. Дробњак                                                                |     |
| 17. ОСНОВНИ БИОХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ У КРВНОМ СЕРУМУ ДОЈНИХ<br>КУЈА ПАСТИРСКОГ ПСА ТОРЊАКА .....                      | 124 |

## ХРАНА И ВЕЧНА БРИГА ЗА ЗДРАВЉЕ

### Кратак садржај

Веза између исхране и здравља била је позната човеку још из времена док је био само ловац и сакупљач плодова и док је то био једини начин задовољавања његових потреба за храном. Још у доба Старе Грчке, односно времена Хипократа, исхрана је представљала начин превенирања и лечења болести људи. У најзначајнијим религијским књигама (Библија) говори се о исхрани људи. Савремена медицинска истраживања и научно су доказала да постоји веза између исхране и здравља. Истраживања у овој области и даље су веома обимна. Резултати ових истраживања су неретко веома различити, а понекад и потпуно контрадикторни, а имају за резултат и поделу хране на корисну и штетну, па би се отуда могло рећи да храна има своју „светлу“ и „тамну“ страну.

**Кључне речи:** храна, здравље.

М. Ж. Baltić, D. Nedić, J. Đurić, M. Dimitrijević, N. Karabasil, N. Kilibarda

## FOOD AND EVERLASTING CONCERN ABOUT HEALTH

### Abstract

The relationship between food and health was already known by the time when man was just a hunter and a collector of fruits and that was the only way getting food. Even in the era of ancient Greece or the time of Hippocrates diet was the way to prevent and treat diseases. The most important religious books (Bible) speak about human nutrition. Recent medical and scientific researches have shown that there is a connection between diet and health. Researches in this area are still very extensive and their results are often very different and sometimes completely contradictory. Nowadays food is divided into beneficial and harmful.

**Key words:** food, health.

---

<sup>1</sup> Проф. др Милан Ж. Балтић; Јелена Ђурић, др ветеринарске медицине; доц. др Мирјана Димитријевић; доц. др Неђељко Карабасил; Факултет ветеринарске медицине, Београд, Булевар ослобођења 18.

<sup>2</sup> Доц. др Драго Недић, Канцеларија за ветеринарство БиХ, Сарајево.

<sup>3</sup> Мр Наташа Килибарда, Ветеринарски специјалистички институт Суботица, Суботица.

## УВОД

Од постанка људског рода, човеков опстанак зависио је од дарова природе. У почетку, човек као сакупљач плодова и ловац није имао друге бригае осим бригае да буде сит. А то и није била нека брига. Природа је нудила широку лепезу биљних плодова, а за вештог ловца ни месо није било недоступно. Живело се сасвим у складу са природом, без жеље да се са њом господари, да се на њу утиче, да се она мења. Равнотежа у природи је била потпуна и неокрњена. Већ у то време човек је искуствено упознао везу између исхране и здравља. Временом и са настанком првих цивилизација човек је све више бринуо о томе да има довољно хране. Почео је да сеје и жање, тови и коље, унапређује производњу. Тако је стигао и до генетски модификоване хране, до клонираних животиња. Шта чека човечанство у будућности – синтетисана храна, јабука без стабла, месо без животиња? Да ли ће се човек променити, па ће му се променити и потребе? Како ће изгледати свет за 1.000 година, 10.000 година? „Несхватљиво је то људском уму“, како каже Црњански у „Сеобама“ кад се пита: „Ко би могао набројати тице, које се селе, које Сунце сели, са Истока на Запад и са Севера на Југ.... Ко би могао набројати зрна, која ће идућег пролећа, ницати на свету, у Европи, Азији, Америци, Африци?“

Само човек свесно, неинстинктивно брине о томе да има довољно хране. У Јеванђељу по Матеју (гл. 6, 25, 26), међутим, стоји „Зато вам кажем: не брините се за живот свој, шта ћете јести или шта ћете пити; ни за тијело своје, у што ћете се обући. Није ли живот претежнији од хране, а тијело од одијела? Погледајте на птице небеске како не сију, нити жњу, ни сабирају у житнице; па Отац наш небески храни их. Нијесте ли ви много претежнији од њих?“ И данас човечанство брине све више о довољној количини хране јер потребе за њом расту са порастом броја становништва. За само сто година 20. века, и поред два светска рата и бројних локалних ратова, број становника у свету се утростручио (са две на шест милијарди). Брига за здравље је, са друге стране, стално присутна, вечна, откако је човек постао човеком, до данас. Она је увек актуелна и најчешће се доводи у везу са храном.

## ХРАНА И ЗДРАВЉЕ

Сви знамо да се јести мора. Разумљиво је данас и зашто људи воде бригу о томе шта једу и шта пију. То што бирамо шта једемо почива на различитим, понекад и опречним укусима, мирисима, олфактивним и визуелним задовољствима. То све више зависи од бригае за здравље, тако да хедонски приступ исхрани има све мањи значај. Исхрани се приступа не само са становишта тога шта једемо, него се води рачуна о начину на који се једе и пије. За трпезом се прослављају свадбе, испраћају мртви, славе победе, рођења, рођендани, зрелост, празници, почеци. Не једемо ми било шта и било с ким, ни свакодневно, а камоли у значајнијим тренуцима живота. Кухиња је део укупне културе једног народа, цивилизацијска вредност, њена тековина. Човек једе, животиња се храни, а једино човек од духа уме да једе. Једење је друштвени ритуал који обезбеђује везе међу људима, пијење је прворазредни ритуал заједничког живљења. Пријатељ је неко са ким смо спремни да поделимо хлеб. Сапутник је неко са ким делите нешто више и лепше него што је хлеб.

Од свих ствари које радимо у самоћи, најтужније је пити и јести сам. Није ли владика Данило „у глухо доба ноћи“, док „свак спава“, оставши „сам собом“ рекао:

*„А ја што ћу, али са киме ћу?”*

*Мало рукама, малена и снага,*

*Једна сламка међу вихорове,  
Сирак тужни без нигђе никога!“*

Толико о самоћи, делу живота који ретко коме прија, осим у неким посебним приликама.

Здрав живот је термин који се јавља средином 20. века и као термин се не помиње у Ларусовој енциклопедији, а означава настајање да се према себи и своме телу, начину исхране и животу уопште, односимо максимално хигијенски, у складу са знањима једног времена, обичајима који важе у датом друштву и у датом времену. Однос према начину исхране данас се најчешће испољава кроз различите врсте дијета, које су понекад и претеране, опсесивне и опасне. Дијете су стање духа и разлога за ово стање има много (здравље, „линија“, мода, немирење са стањем и оронулошћу). И они који не робују овим

феноменима чине то због тога што су свесни да живе у веома урбанизованом друштву и да због тога морају да прихватају и непогодности које оно носи са собом, што не желе оптерећење и напетост које често иду са дијетама, што сматрају да разноврсност оног што пружа природа треба са мером искористити. Не пише ли у Библији: „Што се год миче и живи нека вам буде за јело“. Ако одустанемо од густаторних и олфакторних особености и задовољства, да ли ћемо бити то што јесмо? Храна и исхрана су питања културе својствена свим народима. Они су подручје задовољства и уживања, дакле чулности, и то свакодневно. Не можемо себи покварити уживање претераном бригом (брига је стрес) за нешто што се назива здрав живот. Љубав према животу, снови чије остварење планирамо за будућност и ритуали неговања пријатељства најбољи су за здрав живот данашњег човека.

Верујемо да човек колико-толико може да се одбрани од болести, старости, малодушности, да „сачува линију“ без прибегавања средствима која доводе људе у неприлику, нарочито људе за које је једење време за радовање, дружење и угађање чулима. Постоје, наиме, и други начини да се постигну циљеви као што су „линија“ или здравље, а најбољи лек за то је имати поверења у живот, неким данима добро појести, у другима постити и апстинирати, радити и бавити се спортом и да нема боље хигијене живљења него што је то одустати од чамотиње хигијене.

У нашем свету се превише једе и превише гладује и умире од глади. Пост препоручују лекари и стручњаци за лепоту због здравља и форме. Пост је и део религијског односа према животу и храни у неким вероисповестима. У Новом завету стоји: „Нема ничег изван човека што кад унесе у себе може да га испрља, али зато оно што из човека излази може да га испрља... јер изнутра, из срца људи излазе опакe намере“ (Јев. по Марку VII 15, 21). И свети Павле каже: „Све што се на пијаци продаје једите и нека вас савест не гризе; јер Земљу је створио Господ, као и све што је на њој. Ако вас неверник позове у кућу и прихватите позив, поједите све чиме вас послужи. Јер све што је Бог створио је добро и ниједну храну не треба забрањивати, ако је примамо као дар од Бога“.

Хришћанској цркви је требало времена да укине разлике између чисте и нечисте хране. Постоји експлицитна веза између ширења вере и одступања од забрана у исхрани утемељених на хришћанској традицији. Хришћанин се на сваком месту може осећати као хришћанин јер се, између осталог, прилагођава било ком начину исхране и јер је одбацио концепт упрљаности материјалним стварима. У хришћанској култури нечисте могу да буду само намере и мисли (хришћани само у време поста не једу месо, изузев рибе) са којима нормалан човек живи, и од њега се очекује да их победи. Муслиманима и Јеврејима, насупрот хришћанима, није увек једноставно да на „неверничком“ терену нађу неупрљану храну. Правила јеврејске исхране су бројна и сложена, па се тако животиње деле на оне које није дозвољено и на оне које је дозвољено јести. Крв животиња се не сме јести, као ни месо болесних животиња и животиња са физичком маном. Забрањено је јести масне делове и исхијадични нерв. При јелу се не смеју мешати месо и млечни производи. Забрана једења свињетине коју муслиманско учење налаже потиче из Мухамедовог односа према Јеврејима из Медине у првим данима његовог проповедања ислама. Ова забрана постала је један од знакова по којима су се Арапи који су примили ислам разликовали од Арапа који су остали присталице локалних религија. Одлука да се свињетина искључи из исхране настала је у тренутку постављања границе у односу на арапске традиције, чиме је потврђена приврженост исламу.

Ако прихватимо правило да конзумирање хране која је означена као „здрава“, „корисна“, „благотворна“ отвара врата бесмртности, боље рећи „квазибесмртности“, а у складу са идејом „храни се да би живео“, једнако је непобитно да постоји и обрнути принцип „живи да би се хранио“. Човек треба да се суочи са реалношћу, да радосно искористи све дане живота који су му судбином предодређени. То значи, између осталог, како стоји у Епу о Гилгамешу, да „човек треба да дозволи да му стомак буде пун ноћу и дању и да буде срећан“. Старогрчко, боље рећи Хипократово медицинско учење углавном се везује за дијететску медицинску исхрану. Реч „diás“ на грчком значи „начин живота“, што би се сада могло означити као „стил живота“. Више од два миленијума дијета је и даље актуелна.

Дијету препоручују и свештеници, проповедајући уздржавање од гурманлука и од меса и редовно придржавање поста. И медицински радници сматрају да се болести модерне цивилизације могу спречити ако се не пуши, не пије, ако се у исхрани не користи црвено месо, маслац, со, шећер, јаја. „Дијетизам“ је озбиљно узео маха у 19. веку у САД-у и он и данас има своје следбенике на свим континентима. Већ почетком 20. века говорило се да човечанство мора да се одрекне „супстанци које узнемиравају божанске сфере“ ако жели да избегне нови Потоп и да према исхрани не сме да се односи као према активности за разбигригу, забаву и задовољство. Знамо да је пре Потопа за људску исхрану било дозвољено само воће и коштунице. Питамо се онда зашто је Ноје у својој барци спасао све биљне и животињске врсте. И делови Библије у којима пише да је исхрана животињским месом дозвољена сматрани су као навођење на погрешан пут. Из перспективе најококорелијих вегетеријанаца, месо садржи само „затровану крв и токсичне сокове“. Међутим, морали су да учине уступак схвативши да је месо незамењив извор гвожђа у исхрани деце. И не само гвожђа, чак и животињска маст, пре свега свињска маст, неопходна је деци до пете године живота, у време када им се развија мозак и расте мождана маса. Последњих година све је више мишљења да је употреба животињских маси у исхрани људи ненаучно и неосновано демонизована.

Бројна су истраживања у свету која говоре о вези између исхране и здравља. Она би укупно чинила једну замашну енциклопедију. У највећем броју случајева, они који се баве исхраном и здрављем људи деле храну на „чедну“ и „грешну“, односно здраву и штетну. Најчешће се у групу штетних сврставају оне беле (мада се бела боја традиционално везује за чистоту), као што су шећер, бели хлеб, свињска маст, со, понекад и јаја са белом љуском, па чак и обично млеко. Бела боја симболизује у модерној демонологији нутрициониста смрт (арсеник и већина отрова су бели). Данас практично нема хране која није изучавана као „могући фактор ризика“ од обољења људи. Најчешће се веза између исхране и здравља односи на учесталост појављивања кардиоваскуларних обољења и тумора, што је и разумљиво с обзиром на чињеницу да је смртност од ових обољења и најучесталија. Има мишљења да је између 60 и 85% канцерогених обољења „веза-

но за исхрану“. Има, међутим, тврдњи да је ово мишљење засновано на погрешним претпоставкама. Наиме, како то да један одређени тип рака има исте симптоме код оболелих који нису бринули о исхрани и оболелих који су водили бригу о начину своје исхране? Или, како то да је укупан број пропратних симптома канцера истоветан у различитим деловима света у којима су стилови живота, а међу њима и начин исхране, дијаметрално различити један од другог? Колико је број узročника рака у храни немерљив, ако се то прихвати као тачна претпоставка, толико је истина да се само једном молекулу приписује најзначајнија улога као узročнику обољења кардиоваскуларног система. Узročник за који се сматра да је најодговорнији за наведена обољења свима је добро познат стероид – холестерол. Према свим сазнањима, он је веома опасан, али је и чињеница да је садржај холестерола у крви веома мало осетљив на варијације у режимима исхране (изузев ако није реч о драстичним дијетама). Кад је у питању холестерол, још увек се поставља питање шта је то „нормалан“ и „повишен“ ниво холестерола у крви. Има мишљења да је у истраживањима везаним за холестерол и фаталне липиде жртвована истина. У свему овоме не треба заборавити ни мишљење да су кардиоваскуларна обољења узрокована лошим животним навикама западне цивилизације. Још пре 20 година најављено је да ће у земљама Источне Европе настојања да се имитира западњачки начин живота за само две године резултирати највећим степеном смртности од кардиоваскуларних обољења. Сведоци смо да се, према статистичким подацима, то ових година и обистинило.

## ИЗБОР ХРАНЕ – КУЛТУРА, ОБРАЗОВАЊЕ, ТРАДИЦИЈА

Навике у исхрани људи су веома различите. Задовољство за једног – потпуно неприхватање за другог. Истина је само да је храна више од примарног инстинкта за самоодржањем.

Зашто људи у појединим земљама и деловима света који иначе воле да једу, и којима је храна задовољство не могу да поједу нешто у чему људи у некој другој земљи или деловима света људи уживају? Зашто су неки делови животињског трупа или органи за неке народе, или

чак у истом народу у различитим крајевима, јестиви, а за неке нејестиви?

Не може се рећи да су људске папиле карактеристичне за поједине народе, па је очигледно да је при избору хране у питању култура, образовање, традиција. Наши укуси, одбојност према неким врстама јела, способност да у некимa уживамо, производ су спорог и сталног стицања навика које почињу од рођења, а које се најлакше „утискују“ у свест у детињству. Није ли истина да се најдуже памте мириси из детињства? Да ли је љубав према заслаћеном, својствена већини људи, стечена мајчиним млеком које је слаткастог укуса? Укуси се, у ствари, стичу односно везују за одређене културе.

Ако су наши укуси урођени, како објаснити промене које настају током векова у оквиру истог друштва и истог народа. Ми данас не једемо оно што се јело у средњем веку (са изузетком неколико јела која су преживела). Не једемо ни као што су наши очеви јели, а они су нам много ближи. Где су данас оне масне кокошије или гушчије супе по којима пливају сјајна жута окца масти, или говеђе супе по којима пливају бела окца масти која очврсну чим се мало охладе?

Како то да се укуси разликују од једне до друге друштвене класе, да зависе од животног доба и пола особе? То се може објаснити само тиме што се укуси стичу у друштву упражњавањем одређене кухиње и њеним развијањем у складу са правилима одређене културе у којој је особа одрасла.

У филму „Три карте за Холивуд“ један од јунака по повратку из Америкe са породицом и пријатељима једе (сви присутни једу, изузев његове супруге, Американке) кувану јагњећу главу на којој се виде упадљиво исколачене очи. И док рукама одваја горњу од доње вилице, коју затим „глође“, а беличасти бујон му се цеди низ браду, каже: „На ово сам чекао 14 година“. Чекао је кувану јагњећу главу. Чекао је нешто што му је чинило задовољство, због чега је после толико година био срећан.

Свима нама, ма колико се понеки и борили против тога, храна чини задовољство. Сетимо се само колико често говоримо о томе шта смо јели, колико смо јели, како смо уживали, како неки догађај и неко време везујемо за храну.

## ЗАКЉУЧАК

Брига за здравље прати човека од његовог постанка. До данас свима познате и научно доказане везе између исхране и здравља човек је искуствено дошао још док је био ловац и сакупљач плодова природе. Ова веза је и даље предмет бојних истраживања која дају, не тако ретко, опречне резултате и закључке. Резултати ових истраживања реализују се различитим препорукама у исхрани, односно дијетама. Неспорно је да су дијете делотворне у бројним случајевима, али и ту има погрешних корака. Када се говори о храни, треба знати да је храна, поред оног најважнијег, нутритивног аспекта, човеку и задовољство. Хедонски приступ исхрани води ка њеној једноличности, неизбалансираниости и, неминовно, до нарушавања здравља. Основ правилне исхране је у разноврсности хране и умерености када је у питању количина хране.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Biblija* (1973), Sveto jevanđelje po Mateju (prevod Vuka Stef. Karadžića), izdanje Biblijskog društva Beograd, 7.
2. *Biblija* (1973), Sveto jevanđelje po Marku (prevod Vuka Stef. Karadžića), izdanje Biblijskog društva Beograd, 25.
3. Crnjanski, M. (1929), *Seobe*, Izdavačka knjižara Gece Kona, 794.
4. Mullen, L. (2004), *Pravo uživanje*, Kultura, Beograd, br. 109/112, 265–274.
5. Petrović Njegoš, P. (1967), *Gorski vijenac*, Prosveta, Beograd, 14.
6. Robin E. D., McCauley R. F. (1993), *Risk benefit analysis in cardiovascular disease*, Kapoor & Singh, New York 3–48.
7. Skarafića, L. (2004), *U početku bijaše riječ*, Kultura, Beograd, br. 109/112, 62–68.
8. Skrabanek, P. (2004), *Ishrana: Između pakla i spasenja*, Kultura, Beograd, br. 109/112, 234–244.

## УПОТРЕБА ПОВЕЋАНИХ КОЛИЧИНА ОРГАНСКОГ ОБЛИКА СЕЛЕНА У ИСХРАНИ БРОЈЛЕРА

### Кратак садржај

У раду су испитивани ефекти додавања органског облика селена оброку бројлера на производне резултате и квалитет меса бројлера. Оглед је изведен на укупно 150 пилади Hubbard провенијенције, подељених у три групе.

Бројлери су храњени потпуним смешама за исхрану бројлера у тову стандардног сировинског и хемијског састава. Током огледа, прва (О-I) група бројлера храњена је смешама са додатим органским селеном у количини од 0,3 ppm, друга (О-II) група добијала је храну са додатком 0,6 ppm, и трећа огледна (О-III) са додатком 0,9 ppm органског селена. Све групе су у храни добијале 100 ИЈ витамина Е.

На крају сваке фазе огледа извршено је мерење телесне масе бројлера, а затим клање бројлера, обрада и хлађење трупа и узимање узорака од по шест трупова из сваке групе, и то белог и тамног меса, и јетре за хемијске анализе (садржај селена).

На крају огледа, највишу телесну масу (2226,50 г), најбољи прираст (52,26 г, 1–42. дан) и најбољу конверзију (2,14) имали су бројлери прве огледне групе. Значајно већи ( $p < 0,01$ ) садржај селена, на крају огледа, у односу на остале групе, био је у О-III групи у месу груди (0,61 мг/кг), у батаку са карабатаком (0,54 мг/кг), и у јетри (0,96 мг/кг).

Додавање повећаних количина органског облика селена у смеше бројлера пружа могућности производње меса одређеног квалитета, односно са повећаним садржајем селена у производњи функционалне хране.

**Кључне речи:** бројлери, органски селен, функционална храна.

R. Marković, Ž. M. Baltić, D. Šefer, A. Drljačić, B. Petrujkić, S. Radulović

## USE OF INCREASED AMOUNTS ORGANIC BOUNDED SELENIUM IN THE BROILERS DIET

### Abstract

In this paper effects of broiler meal supplementation with increased organic selenium on productive results and meat quality were investigated. Experiment was made on total number of 150 broilers, divided into 3 groups.

<sup>1</sup> Др Радмила Марковић, доцент, Катедра за исхрану и ботанику; др Милан Ж. Балтић, редовни професор, Катедра за хигијену намирница; др Драган Шефер, ванредни професор, Катедра за исхрану и ботанику, Факултет ветеринарске медицине Београд; мр Бранко Петрујкић, стручни сарадник, Катедра за исхрану и ботанику; Стамен Радуловић, дипл. вет., стручни сарадник, Катедра за исхрану и ботанику; вет. спец. Александар Дрљачић, Holding A. D. Magnavita, Нови Сад.

Broilers were fed the complete feed mixtures for growth; mixtures of standard feedstock and were completely adequate to broiler needs in different stages of growth. During the experiment, first experimental group (O-I) of broilers fed the mixture with added organic selenium in the amount of 0,3 ppm, the second O-II group, received the feed with the addition of 0,6 ppm organic selenium, and the third experimental group O-III with the addition of 0,9 ppm organic selenium. All groups were given mixture 100 IU of vitamin E.

At the end of each experimental phase, measuring the body weight of broilers was performed. At the end of the experiment, broilers were slaughtered and samples were taken from six carcasses from each group as follows: white and dark meat and liver for chemical analysis (content of selenium).

At the end of the experiment, highest body mass was measured in the first experimental group of broilers (2226,50 g), the higher daily gain 52,26 g (1–42. day) and the best conversion (2,14 kg). At the end of the experiment, significantly higher ( $p < 0.01$ ) selenium content in relation to other groups, was in measured in the O-III group in the breast meat (0,61 mg/kg), in the drumstick (0,54 mg/kg) and in the liver (0,96 mg/kg).

Adding increased amounts of organic forms of selenium in a mixture of broiler feed, besides providing possibilities of a certain quality food, gives possibility to provide meat with increased content of selenium, the production of functional foods.

**Key words:** broilers, organic selenium, functional food.

## УВОД

Функционална храна први пут је дефинисана у Јапану средином 1980-их година, а односи се на храну која, осим што има нутритивну вредност, садржи и физиолошки активне састојке који помажу специфичне физиолошке функције у организму (Кралик и сар., 2008). У Јапану је регулисана производња такве хране под називом „Food for specified health use“ (FOSHU) и регистровано је преко 100 ових производа. У многим земљама покушава се донети легислатива за ову врсту хране. Данас постоји велико занимање потрошача за функционалне производе, а прихваћена је дефиниција да је функционална храна она храна или хранљиви састојак који додатно делују на здравље људи, поред тога што се одликују традиционалним нутритивним саставом. Мандић (2003) наводи да функционална храна на задовољавајући начин утиче на једну или више циљних функција организма изнад одговарајућих прехранбених учинака на начин који одговара добром здрављу или смањењу ризика од болести.

Значај меса живине у исхрани људи огледа се у уносу протеина високе биолошке вредности и есенцијалних аминокиселина, масти и есенцијалних масних киселина, витамина и минералних

материја. Међутим, најновијим истраживањима откривена је способност живине да складишти виталне хранљиве материје, што живинском месоу и јајима даје посебан значај са нутритивног аспекта.

Данас је познато да се у производњи живинског меса посебна пажња поклања програмима производње меса „посебног“ квалитета. Бројни истраживачи у својим радовима указују на значај селена у људској исхрани, као и у производњи „дизајниране хране“ (намирнице анималног порекла). Повећање садржаја селена и витамина Е у месоу живине, поред утицаја на параметре квалитета меса (оксидативна стабилност, боја, способност везивања воде, учесталост појаве белог, меког и водњикавог меса, кало и др.), има и нутритивни значај за људе. Тако се, наиме, може подмирити део потреба људи за селеном и витамином Е. Установљено је да месо свих фармских врста, укључујући и свиње и говеда, може бити ефикасан извор селена (Choct и сар., 2004), који се постиже повећањем селена у храни. Селен се складишти у ткивима у облику селенопротеина тако да су јетра, мишићи и срце богати у селену. Поред тога, поједине врсте поврћа са додатим селеном путем ђубрива такође могу бити вредан извор овог минерала.

Своју биолошку улогу селен обавља преко ензима глутатион пероксидазе (GSHPx). Овај ензим, који у свом активном центру садржи селен, заједно са каталазом, супероксид дисмутазом и витамином Е учествује у механизму одбране ћелијских мембрана од пероксидативних оштећења тако што учествује у претварању насталих слободних радикала у неактивна и мање токсична једињења. Слободни радикали делују на двогубе везе првенствено незасићених масних киселина фосфолипида који улазе у састав ћелијских мембрана, што доводи до оштећења структуре, па и потпуног разарања ћелијских мембрана. Витамин Е спречава настанак слободних пероксида редукцијом пероксил радикала у оксидисане масне киселине. Селеноензим глутатион пероксидаза (GSH-Px) редукује претходно настале пероксиде до одговарајућих алкохола. На тај начин, синергистичним деловањем, витамин Е и селен спречавају ширење ланчане реакције пероксидације масних киселина. Утврђено је да активност глутатион пероксидазе у крвној плазми живине директно зависи од садржаја селена у храни (Kuricova et al., 2003).

Потребе за селеном код бројлера у периоду раста често могу да се подмире из природних хранива. Међутим, како постоје значајне регионалне варијације садржаја селена у земљишту, а самим тим и у биљкама, препоручује се да се селен додаје у хранива. Два су облика селена који се додају у храну за животиње: органски и неоргански. Хранива садрже само органске форме селена, углавном у форми селенометионина. Селенометионин се активно ресорбује у цреву на сличан начин као метионин. Насупрот томе, неоргански селен се ресорбује пасивно. Хемијска сличност између селенометионина и метионина допушта организму да селенометионин користи као замену за метионин у синтези протеина (Mahan, 2004).

Неоргански облик селена (селенит, селенат) има дужу употребу у исхрани животиња. Интерес за селен органског порекла јавио се касније, тако да се почело са употребом селеноцистеина, селенометионина или селеном обогаћеног квасца у исхрани бројлера.

Када се говори о значају селена у исхрани животиња, истовремено се говори и о витамину Е. Утврђено је да додавање селена и витамина Е

има утицаја на повећање телесне масе бројлера у тову, већи дневни прираст и бољу конверзију хране (Surai и Dvorska, 2002).

Значај селена је данас све више предмет истраживања пошто се показало да је селен веома значајан у исхрани људи. И поред тога, унос селена храном у многим земљама је мањи од препорученог дневног уноса (50  $\mu\text{g}$ /дан). Због тога постоји потреба да се код људи повећа унос селена на различите начине. Једна од њих је употреба селеном обогаћених производа, што се сматра најприхватљивијом опцијом (Finley, 2006).

Велики број истраживања је посвећен испитивању везе између количине селена у obroку и смрти услед болести срца (Reilly, 2006; Brown, 1993; Rayman, 2008; Shamberger et al., 1977). Сличне корелације установљене су и за друге болести повезане са оксидативним стресом, као што је, на пример, артритис. Такође је установљена веза између статуса селена и преживљавања после инфекције HIV и репродуктивних обољења, како мушкараца тако и жена. Међутим, у далеко највећем броју објављених међузависности јесте она између селена и канцера. У испитивањима изведеним на животињама, додавање селена смањило је појаву тумора изазваних канцерогеним хемикалијама или вирусима у две трећине свих огледа, што је и потврдило везу између селена у obroку и смртности од канцера (Reilly, 2006; Rayman, 2008).

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Испитивање утицаја коришћења различитих количина органског облика селена на нутритивну вредност меса и органа извршено је огледом исхране (бројлера). Приликом постављања плана огледа и избора метода узети су у обзир циљ и задаци рада, као и познати подаци из литературе о примени различитих количина органског облика селена и повећане количине витамина Е.

У циљу испитивања утицаја различитих количина органског селена и повећане количине витамина Е у исхрани бројлера на одабране параметре квалитета меса организован је оглед по групно-контролном систему. За оглед су кориштена једнодневна пилад Hubbard провенијенције. Испитивања су изведена на пилаци оба пола просечне почетне телесне масе 43,69 г  $\pm 3,53$ .

Поступак са бројлерима током огледа у погледу примене превентивних мера, смештаја, неге и начина храњења и појења био је прилагођен подном начину узгоја. У току огледа зоохигијенски и микроклиматски услови су у потпуности одговарали технолошким нормативима за ову провенијенцију (Hubbard Isa Broiler Management guide, 2002). Приликом формирања огледа извршен је појединачан клинички преглед, а све одабране јединке биле су здраве, виталне и у доброј кондицији. Пилад су била уједначена у односу на телесну масу. Током огледа свакодневно је праћено здравствено стање огледних јединки.

Оглед је изведен на укупно 150 бројлера подељених у једнаке групе (50, 50 и 50). Оглед је трајао 42 дана, а подељен је у три фазе. Прва фаза трајала је 1–21, друга 22–35. и трећа 36–42. дана огледа.

Бројлери су храњени потпуним смешама за исхрану пилади у тову (производња ФСХ „Протеинка“ Шабац) стандардног сировинског и хемијског састава. Коришћене су три смеше (табела 1) које су у потпуности задовољавале потребе бројлера у различитим фазама това (АЕС, 1993; NRC, 1994). Потпуна смеша за почетни тов бројлера коришћена је од 1. до 21. дана (стартер), затим од 22. до 35. дана (гровер), и потпуна смеша за завршни тов од 36. до 42. дана (финишер).

**Табела. 1.** Сировински и хемијски састав смеша за исхрану бројлера, %

|                        | у % с м е ш е |               |               |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Фазе огледа            | 1.<br>(1–21)  | 2.<br>(22–35) | 3.<br>(36–42) |
| <b>Хранива</b>         |               |               |               |
| Кукуруз                | 56,80         | 60,60         | 63,55         |
| Сојино уље             | 1,30          | 2,70          | 2,35          |
| Сојина сачма 44%       | 29,35         | 22,10         | 14,50         |
| Сунц. сачма 40%        | 8,00          | 10,00         | 15,00         |
| Метионин               | 0,20          | 0,20          | 0,18          |
| Треонин-Л              | 0,02          | 0,05          | 0,07          |
| Лизин-Л                | 0,18          | 0,30          | 0,35          |
| МКФ                    | 1,15          | 1,10          | 1,10          |
| Креда                  | 1,70          | 1,60          | 1,65          |
| Сточна со              | 0,40          | 0,35          | 0,30          |
| ВМБ                    | 1,00          | 1,00          | 1,00          |
| <b>Хемијски састав</b> |               |               |               |
| влага                  | 11,53         | 10,39         | 11,48         |
| пепео                  | 6,48          | 6,03          | 5,95          |
| протеини               | 21,00         | 19,07         | 18,00         |
| маст                   | 4,10          | 5,53          | 5,34          |
| целулоза               | 4,89          | 4,82          | 5,06          |
| БЕМ                    | 52,85         | 53,97         | 54,98         |
| МЕ                     | 12,12         | 12,71         | 12,76         |
| Лизин                  | 1,20          | 1,14          | 1,05          |
| Метионин + цистин      | 0,90          | 0,86          | 0,83          |
| Са                     | 0,95          | 0,89          | 0,91          |
| Р                      | 0,69          | 0,67          | 0,68          |
| Se                     | 0,104         | 0,105         | 0,105         |

Основни задатак испитивања био је да се утврди утицај исхране бројлера смешама којима је додата повећана количина органског облика селена и 100 ИЈ витамина Е на производне резултате и квалитет

меса (садржај селена). Због тога су у предсмешама извршене корекције како би се постигао жељени циљ, па је О-I групи додато 0,3 мг/кг, О-II групи 0,6 мг/кг и О-III групи 0,9 мг/кг органског облика селена.

**Табела 2.** Садржај селена и витамина Е у смешама (мг/кг ВСМ хране)

| Групе | Органски облик селена<br>(Alkosel), ppm | Витамин Е, ИЈ |
|-------|-----------------------------------------|---------------|
| О-I   | 0,3                                     | 100           |
| О-II  | 0,6                                     | 100           |
| О-III | 0,9                                     | 100           |

**Органски селен** (органски селено-квасац) Alkosel (Lallemand, Francuska) дат је у облику препарата који садржи 2000–2400 ppm селена. Alkosel се добија ферментацијом специфичног соја *Saccharomyces erevisiae* (NCYC P397), узгојеног на медијуму богатом селеном.

**Витамин Е** дат је у облику препарата д-л- $\alpha$ -токоферол ацетата (Rovimix® Е-50 Adso-rbate, DSM Nutritional Products, Швајцарска), који садржи 500 ИЈ витамина Е/г.

На крају огледа (42. дан), бројлери су измерени и транспортовани у клинику. Клање, обрада трупова и њихово хлађење извршени су у локалној индустријској клиници. После 24 сата узето је из сваке групе по шест узорака јетре, груди и бат-ака са карабатаком за хемијска испитивања (одређивање садржаја селена).

Хемијске анализе узорака меса и органа ради утврђивања садржаја селена обављене су на ICP/MS ELAN DRC (PERKIN ELMER) према одговарајућој калибрационој кривој (EPA 846 3015/1994).

Добијени резултати огледа груписани су у одговарајуће статистичке серије и обрађени уз примену неколико математичко-статистичких метода коришћењем програма GraphPad Prism 5.0 и MS Excel 2003, како би било омогућено објективније и егзактније закључивање.

Накнадне анализе значајности статистичких разлика између појединих третмана извршене су анализом варијансе. Добијени и обрађени резултати приказани су нумерички у виду табела.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Дневне потребе за селеном током интензивног узгоја износе 0,15 мг/кг (National Research Council NRC, 1994). Како су варијације у садржају селена у хранивима високе, са честом појавом изразито ниских вредности, прописана је суплементација смеша овим микроелементом и уобичајена количина додатог селена у смеше износи 0,3 мг/кг (Food and Drug Administration FDA, 2003). Код суплементације за храну живине неорганским селеном (најчешће се користи натријум селенит) постоји могућност тровања, зато што је неоргански селен токсичнији од органски везаног селена (Михаиловић и сар., 1996). Због тога, горња граница безбедног уноса селена из селениферних намирница или одређених органских једињења селена може да буде виша од препоручених 500  $\mu$ г/дан (Combs и Combs, 1986) јер је селен у селениферним намирницама и селено аминокиселинама мање токсичан од неорганских соли селена када се уносе орално. Зато исти аутори предлажу 775  $\mu$ г селена/дан као горњу безбедну количину селена за дуготрајни унос селена из органских једињења. Као извор органски везаног селена најчешће се спомињу С-аминокиселине и селенизирани квасац.

Поред лабораторијског испитивања хранљиве вредности и хигијенске исправности, један од најбољих показатеља квалитета употребљених хранива јесу и производни резултати који указују на биолошку вредност хране. У изведеном огледу постигнути су производни резултати уобичајени за провенијенцу као и начин и услове држања у практичним условима това бројлера.

**Табела 3.** Телесне масе бројлера (г), 21, 35. и 42. дан

| Група   | н  | ТМ<br>М ± СД                    |
|---------|----|---------------------------------|
| 21. дан |    |                                 |
| О-I     | 50 | 737.56 ± 124.67                 |
| О-II    | 50 | 754.94 ± 120.53                 |
| О-III   | 50 | 712.51 ± 121.29                 |
| 35. дан |    |                                 |
| О-I     | 44 | 1848.13 ± 287.04 <sup>A</sup>   |
| О-II    | 44 | 1743.17 ± 220.58 <sup>a</sup>   |
| О-III   | 44 | 1652.83 ± 207.71 <sup>a,A</sup> |
| 42. дан |    |                                 |
| О-I     | 44 | 2226.50 ± 310.30 <sup>A</sup>   |
| О-II    | 44 | 2031.83 ± 217.12 <sup>A,B</sup> |
| О-III   | 44 | 1940.16 ± 224.90 <sup>B</sup>   |

Иста слова <sup>a,b</sup> за  $p < 0.05$ Иста слова <sup>A,B,C</sup> за  $p < 0.01$ 

Телесна маса бројлера свих експерименталних група била је веома уједињена ( $43,41 \pm 3,08$ ) на почетку огледа, а разлике између група нису биле статистички значајне. На крају тога било је статистички значајних разлика ( $p < 0,01$ ) између група. Највишу телесну масу имала је О-I група ( $0,3 \text{ ppm Se}$  и  $100 \text{ ИЈ}$  витамина Е).

У истраживањима Јокић и сар. (2009), при испитивању утицаја различитих нивоа органског селена на кланичне особине бројлера, и код коришћења количина 0; 0,3; 0,6 и 0,9 мг/кг органског селена највећу ТМ имала је група са 0,6 мг/кг селена. У истом огледу, најмања маса груди је била у групи без додатог органског селена, а највећа у групи са 0,6

мг/кг додатог селена; удео груди у маси очишћеног трупа је био највећи у групи са 0,6 и 0,9 мг/кг селена, удео батака је био највећи у групи са 0,3 мг/кг додатог селена.

Мирјана Тодоровић (1997) у свом експерименту је испитивала утицај повећаних количина (0, 2, 5, 10, 15, 20 и 30 мг/кг) органског и неорганског селена у исхрани бројлера на телесну масу и закључила да ни највиша концентрација органског селена у храни није довела до застоја у порасту. Код пилаци која су уносила 2, 5, 10 и 15 мг/кг органског селена храном нису установљене никакве патохистолошке промене на испитиваним органима.

**Табела 4.** Прираст бројлера у току това, (г)

| Група      | Мере варијације      |       |       |      |       |
|------------|----------------------|-------|-------|------|-------|
|            | $\bar{X}$            | $\pm$ | СД    | Sx   | Цв    |
| 1–21. дан  |                      |       |       |      |       |
| О-I        | 35,33                |       | 5,27  | 0,76 | 0,76  |
| О-II       | 36,52 <sup>a</sup>   |       | 4,43  | 0,64 | 0,64  |
| О-III      | 34,10 <sup>a</sup>   |       | 5,10  | 0,74 | 0,74  |
| 21–42. дан |                      |       |       |      |       |
| О-I        | 67,67 <sup>A,B</sup> |       | 14,10 | 2,18 | 20,81 |
| О-II       | 59,94 <sup>A</sup>   |       | 11,01 | 1,70 | 18,37 |
| О-III      | 58,60 <sup>B</sup>   |       | 11,61 | 1,79 | 19,82 |
| 1–42. дан  |                      |       |       |      |       |
| О-I        | 52,26 <sup>A,B</sup> |       | 6,45  | 0,99 | 12,09 |
| О-II       | 48,54 <sup>A</sup>   |       | 5,12  | 0,79 | 10,54 |
| О-III      | 46,81 <sup>B</sup>   |       | 5,26  | 0,81 | 11,23 |

Иста слова <sup>a,b</sup> за  $p < 0.05$ Иста слова <sup>A,B,C</sup> за  $p < 0.01$

Најбољи прираст ( $52,26 \pm 6,45$ ), посматрано за цео тов (1–42. дана), као и најбољу конверзију (2,14) имала је, такође, прва огледна група (0,3 ppm Se и 100 ИЈ витамина Е).

Конверзија хране као резултанта дневног прираста и дневне конзумације хране приказана је у појединим фазама това, као и за цео оглед збирно у табели, а из података се уочава утицај различитих третмана. Посматрано збирно за цео оглед, огледна I група је остварила значајно бољу конверзију хране у односу на огледне II и III

групу, док су разлике између ових огледних група (II и III) биле релативно мале.

Бољу конверзију код бројлера додавањем органског облика селена добили су многи истраживачи (Neylor и сар., 2000; Edens, 2001; Edens и Gowdy, 2004). Сао и сар. (2001) су у огледима испитивали утицај различитих извора селена на производне резултате, имуну функцију и квалитет меса бројлера и добили веома сличне вредности за конверзију код коришћења 0,3 мг/кг органског облика селена у храни бројлера.

**Табела 5.** Конверзија хране у току това, кг

| Период огледа | О-I   | О-II  | О-III |
|---------------|-------|-------|-------|
| 1–21.         | 1,378 | 1,469 | 1,406 |
| 21–42.        | 2,431 | 2,626 | 2,656 |
| 1–42.         | 2,143 | 2,278 | 2,291 |

**Табела 6.** Садржај селена у месу и органима бројлера (мг/кг)

| Групе            | n | груди                 | батак са карабатаком  | јетра                 |
|------------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                  |   | М ± СД                | М ± СД                | М ± СД                |
| I (0,3 ppm Se)   | 6 | $0,31 \pm 0,02^{A,C}$ | $0,29 \pm 0,03^{A,C}$ | $0,55 \pm 0,01^{A,C}$ |
| II (0,6 ppm Se)  | 6 | $0,45 \pm 0,06^{A,B}$ | $0,43 \pm 0,02^{A,B}$ | $0,78 \pm 0,02^{A,B}$ |
| III (0,9 ppm Se) | 6 | $0,61 \pm 0,06^{B,C}$ | $0,54 \pm 0,01^{B,C}$ | $0,96 \pm 0,02^{B,C}$ |

Иста слова <sup>a,b</sup> за  $p < 0,05$

Иста слова <sup>A,B,C</sup> за  $p < 0,01$

Из добијених резултата се може закључити да се повећавањем садржаја селена у смешама за исхрану повећавао и садржај селена у месу и органима. Разлике у садржају селена у месу, односно органима испитиваних група бројлера биле су статистички веома значајне ( $p < 0,01$ ). Највећи садржај селена био је у јетри (табела 6).

Испитивање утицаја додавања 0,9 ppm органског облика селена и 100 ИЈ витамина Е у исхрану бројлера резултирало је повећаним садржајем селена у месу груди (0,61 мг/кг), батаку са карабатаком (0,54 мг/кг селена) и јетри (0,96 мг/кг селена).

Kuricova и сар. (2003) испитивали су ефекат додавања неорганског (0,2 ppm) и органског (0,2 и 0,7 ppm) облика селена у храну пилаци, и добили сличне резултате као у нашем огледу. Садржај селена у групи која је добијала 0,7 ppm Se био је

већи у односу на остале групе и износио је за срце 0,36 мг/кг, а бубрег 0,61 мг/кг Se.

Karadas и сар. (2004) у својим огледима на препелицама утврдили су да додавање 0,3 и 0,6 ppm у храну утиче на то да се садржај Se у батаку повећа са 130 нг/г (код 0,3 ppm Se) на 357,4 нг/г (код 0,6 ppm Se), у месу груди са 133 нг/г (код 0,3 ppm Se) на 438,3 нг/г (код 0,6 ppm Se), а у јетри са 326 нг/г (код 0,3 ppm Se) на 821 нг/г (код 0,6 ppm Se).

Препоручена концентрација витамина Е у смешама за тов бројлера креће се од 25 до 30 мг/кг хране. Бројне студије су показале да коришћење знатно виших количина витамина Е представља ефикасан начин да се побољша квалитет и одрживост живинског меса (Dal Bosco и сар., 2004). Витамин Е, уграђен у хелијске мембране, одржава своја антиоксидативна својства

како након топлотне обраде, тако и током дужег складиштења меса (Grau и сар., 2001).

Surai и Dvorska (2002; 2002a) у својим експериментима су утврдили да додавање органског селена у количини од 0,4 ppm значајно повећава концентрацију витамина Е у месу груди, односно комбинација витамина Е и органског селена у храни ефикасније помаже акумулацију витамина Е у месу груди у односу на додавање самог витамина Е (Марковић, 2007).

## ЗАКЉУЧЦИ

Повећањем садржаја селена у храни за бројере добија се пилеће месо бољег квалитета, са већим садржајем селена у месу груди и батака са карбатаком, али нешто слабијих производних резултата (телесна маса, конверзија) и приноса меса, у односу на уобичајену количину селена која се додаје у потпуне крмне смеше (0,3 ppm).

Овакви резултати утиру пут развоју програма „функционалне хране“. Живински производи, у начелу, дају људском здрављу додатну подршку путем своје способности да складиште виталне антиоксидативне супстанце у облику који је врло доступан нашем метаболизму. На тај начин се постиже „нови квалитет“ живинског меса и јаја, чије конзумирање резултира позитивним утицајима на здравље самих потрошача, односно људи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. AEC Tables (1993): Recommendation for animal nutrition. Rhone-Poulenc, *Animal Nutrition*, France.
2. Brown, A. J. (1993): Regional differences in coronary heart disease in Britain: do antioxidant nutrients provide the key? *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 2, Suppl.1, 33–36.
3. Cao, X., Zhang, W. and Wang, R. (2001): *Effects of selenium source and level on performance, immune function and meat quality in AA broilers*. Poster presented on Alltech's Annual Science and Technology in the Feed Industry Symposium. Lexington, KY.
4. Choct, M., A. J. Naylor, N. Rainke (2004): Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. *Brit. Poult. Sci.*, 45, 677–683.
5. Combs, G. F. Jr. and S. B. Combs (1986): *The role of selenium in nutrition*, Academic Press, Orlando F. L.
6. Dal Bosco, A., C. Castellini, L. Bianchi, C. Mugnai (2004): Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Science*, Vol. 66, Issue 2, p. 407–413.
7. EPA 846 3015/1994. *Priprema uzoraka za AAS digestijom u mikrotalasnoj pecnici. Prilog uz Sertifikat o akreditaciji*, 01-018. (2009). ATS.
8. Edens, F. W. (2001): Involvement of Sel-Plex in physiological stability and performance of broiler chickens. In: *Biotechnology in the Feed industry*. Proceedings of 17th Alltech's Annual Symposium, Edited by Lyons, T.P and Jacques, K. A., Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 349–376.
9. Edens, F. W. and Gowdy, K. M. (2004): Field results with broilers fed selenium yeast. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry*. Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1), May 22–26, 2004, Lexington, Kentucky, USA, p. 32.
10. Finley, J. (2006): Bioavailability of selenium from foods. *Nutrition Reviews*. ProQuest Nursing & Allied Health Source, p. 146.
11. Food and Drug Administration. 21 CFR Part 573. (2003) *Food Additives Permitted in Feed and Drinking Water of Animals*; Department of Health and Human services.
12. Grau, A., F. Guardiola, S. Grimpa, A. C. Barroeta, R. Codony (2001): Oxidative stability of dark chicken meat through frozen storage: influence of dietary fat and alpha-tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Poultry Science*, Vol 80, Issue 11, 1630–1642.
13. Hubbard Isa, (2002): *Broilers Management guide*.
14. Jokić, Ž., Zlatica Pavlovski, Mitrović, S., Đermanović, V. (2009): The effect of different levels of organic selenium on broiler slaughter traits. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (1–2), p. 23–24.
15. Karadas, F., P. F. Surai, F. O. Yaroshenko, C. Villaverde, E. Bosica, and N. H. C. Sparks (2004): Effect of long-term consumption of organic selenium

- by quail on selenium concentration in egg yolk and quail tissues. *Book of Abstracts XXII World's Poultry Congress*, 8-132004, p. 65–72, Istanbul, Turkey, p. 65–72.
16. Kralik, G., E. Has-Schon, D. Kralik, M. Šperanda (2008): *Peradarstvo*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
17. Kuricova, S., K. Boldižarova, L. Grešakova, R. Bobček, M. Levkut, L. Leng (2003): Chicken Selenium Status When Fed a Diet Supplemented with Se-Yeast. *Acta Vet. Brno*, 72: 339–346.
18. Mahan, D. (2004): *The role selenium and Sel-Plex in sow reproduction. Nutritional Biotechnology in Feed and Food Industries* Proceedings of Alltechs 20th International Feed Industry Symposium. Edited by K. A. Jacques and T. P. Lyons., 131–141.
19. Mandić, M. (2003): *Znanost o prehrani; Funkcionalna hrana*. p.132–141. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek.
20. Marković, Radmila (2007): *Uticaj selena organskog i neorganskog porekla i različite količine vitamina E na proizvodne rezultate i kvalitet mesa brojlera*. Doktorska disertacija. Fakultet veterinarske medicine. Beograd.
21. Mihailović, M., Todorović Mirjana, M. Jovanović, T. Palić, I. Jovanović, Pešut Olivera and Kosanović Melita (1996): *Toxicity of inorganic and organic selenium to chicken*. Proceedings of the Ninth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, May 19–24, Banff, Canada, Abstracts, p. 69.
22. National Research Council (1994): *Nutritient requirements for poultry* 9<sup>th</sup> rev. ed., Nacional Academy of Sciences, Washington, DC.
23. Neylor, A. J., Choct, M. And Jacques, K.A. (2000): Effects of selenium source and level on performance and meat quality in male broilers. *Poultry Science* 79 (Suppl) 117.
24. Rayman, Margaret (2008): Food chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition*, Cambridge University Press., 100, p. 254–268;
25. Reilly, C. (2006): *Selenium in Food and Health*. Springer US.
26. Shamberger, R. J., S. Tytko, C. E. Willis (1977): Selenium in the Environment. In Trace Substances in Environment. *Science* 11, Vol.195, Feb. 1977.
27. Surai, P. F. and J. E. Dvorska (2002): *Effect of selenium and vitamin E content of the diet on lipid peroxidation in breast muscle tissue of broiler breeder hens during storage*. Proceedings of Australian Poultry Science Symposium 14, 187–192.
28. Surai, P.F. and J. E. Dvorska (2002a): Effect of selenium and vitamin E on lipid peroxidation in thigh muscle tissue of broiler breeder hens during storage. *Archive Geflugelk* 66: 120.
29. Todorović Mirjana (1997): *Toksičnost selena kod pilića u tovu*. Doktorska disertacija. Fakultet veterinarske medicine. Beograd.

Miroslav Marković<sup>1</sup>, Zoran Tambur<sup>2</sup>

## AFLATOKSIN M<sub>1</sub> I KONTAMINACIJA PASTERIZOVANOG MLEKA

### Kratak sadržaj

Smatra se da aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) u mleku i mlečnim proizvodima nosi određene zdravstveno-higijenske rizike po ljudsko zdravlje. Ovi metaboliti se ne uništavaju tokom pasterizacije i procesa zagrevanja mleka. U ovom naučnom radu definiše se nivo kontaminacije AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku koje konzumiraju sve starosne grupe širom sveta, pa i kod nas, uključujući i decu. ELISA tehnikom analizirano je ukupno 85 uzoraka pasterizovanog mleka po principu slučajnog uzorka, a u potrazi za kontaminacijom AFM<sub>1</sub>. Sedamdeset uzoraka (88,23 %) kontaminirano je AFM<sub>1</sub>, a od tog broja 48 uzoraka (64,00%) prelazilo je zakonski dozvoljene koncentracije AFM<sub>1</sub> u ispitivanom pasterizovanom mleku. U mleku, prema Evropskom kodeksu o hrani i Kodeksu alimentarijusu, dozvoljena je količina AFM<sub>1</sub> od 50ng/kg –l. Usled konzumiranja tako kontaminiranog pasterizovanog mleka javljaju se ozbiljni rizici po zdravlje konzumenata i zato se pasterizovano mleko i mlečni proizvodi moraju kontrolisati periodično na prisustvo i AFM<sub>1</sub> u njihovom sadržaju. Takođe, hrana za krave muzare treba se odlagati na način koji nije podložan kontaminaciji mikotoksima i obavezno kontinuirano kontrolisati na prisustvo mikotoksina i matičnih gljivičnih kultura koje proizvode mikotoksine u sklopu redovnog laboratorijskog monitoringa.

**Ključne reči:** pasterizovano mleko, aflatoksin M<sub>1</sub>, ELISA test, monitoring.

Miroslav Marković<sup>1</sup>, Zoran Tambur<sup>2</sup>

## AFLATOXIN M1 AND CONTAMINATION OF PASTEURIZED MILK

### Abstract

It is considered that aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) in milk and dairy products carries certain health-hygienic differences concerning human health. These metabolites are not destroyed during the process of pasteurization and heating of milk. In this scientific study the level of AFM<sub>1</sub> contamination in pasteurized milk which is consumed by all age groups world wide including children is defined. 85 samples of pasteurized milk have been analyzed in search of AFM<sub>1</sub>, using ELISA technique. Seven samples (88,23%) are contaminated by AFM<sub>1</sub>, and 48 samples (64%) has exceeded the legal limit concerning the quantity of AFM<sub>1</sub>. when it comes to European food code and alimentarius code, the quantity of milk which is allowed is 50ng/kg-l. There are serious human health risks which occur due to consummation of contaminated pasteurized milk. Therefore, milk and dairy products must be controlled to AFM<sub>1</sub> presence periodically.

<sup>1</sup> Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Institut za toksikologiju i farmakologiju, Vojnomedicinska akademija

<sup>2</sup> Sektor za preventivnu medicinu, Insitut za higijenu, Vojnomedicinska akademija

<sup>1</sup> National poison control center, Department of experimental toxicology and pharmacology; Military Medical Academy Belgrade;

<sup>2</sup> Institute of hygiene , department of sanitary microbiology , Military Medical Academy Belgrade

Likewise, food for milking cows should be stored in a way that is not subject to mycotoxin contamination and it is necessary to complete lab monitoring to the presence of mycotoxins in fodder.

Key words: **milk, aflatoxin M<sub>1</sub>, ELISA test.**

---

## UVOD

Mikotoksini su sekundarni metaboliti gljivica koji se povezuju sa određenim zdravstvenim poremećajima kod životinja i ljudi. Manifestacija toksičnosti kod životinja je toliko raznovrsna koliko i vrste gljivica koje proizvode ove komponente. Osim što su akutno toksične supstance, neki mikotoksini su etiološki povezani sa nastankom pojedinih vrsta kancera, što je i prouzrokovalo globalnu zabrinutost za stočnu hranu i bezbednost hrane koja se koristi u primarnoj i sekundarnoj ljudskoj upotrebi, a pogotovu mleka i mlečnih proizvoda kao ciljane grupe animalnih proizvoda koja je pod udarom kontaminacije mikotoksina (Castegnaro i McGregor, 1998; D'Mello i MacDonald, 1977; Egmond i Paulsh, 1986).

Definisano je da postoje mnoge vrste saprofitnih gljivica koje proizvode mikotoksine i da ove saprofitne gljivice pripadaju mikotoksičnim vrstama koje hranu (stočnu ili ljudsku) kontaminiraju kao prirodni zagađivači, te stoga posledično prouzrokuju i akutne i hronične intoksikacije i kod ljudi i kod životinja (Pittet, 1998; Galvano, 2001).

Aflatoksikoza je trovanje ljudi i stoke koje je posledica alimentarnog unošenja mikotoksina putem hrane ili stočne hrane. Aflatoksini su grupa strukturalno povezanih jedinjenja koje proizvodi određeni lanac gljivica *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*. U povoljnim temperaturnim uslovima i uslovima povoljne vlažnosti, ove gljivice rastu na određenoj hrani ili stočnoj hrani, što posledično rezultira proizvodnjom aflatoksina (Anon, 1979; Concon, 1988; Creppy, 2002; D'Mello i Macdonald, 1997; Veldman, 1992). Kontaminacija aflatoksinom u sirovom mleku i proizvodima od sirovog mleka dešava se najpre na dva načina: ili se toksini prenose na mleko alimentarnim putem preko kontaminirane stočne hrane već stvorenim aflatoksinom, ili je to

rezultat postepene in vitro kontaminacije mleka i mlečnih proizvoda sa gljivicama i posledično i mikotoksina, konkretno aflatoksinom M<sub>1</sub>. (Applebaum, 1982; Blanche, 1993; Barrios, 1997; Sarinemetoglu, 2003). Glavni problematični aflatoksini označeni su kao B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, takođe i M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>, kao metabolički produkti aflatoksina B. Aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> pripadaju nomenklaturnoj ATC grupi I, a aflatoksin M<sub>1</sub> pripada nomenklaturnoj ATC grupi II, prema IARC (Castegnaro i McGregor, 1998). Ukupan broj klasifikovanih jedinjenja, produkata biohemijske akcije *Aspergillus sp.* je oko 17 jedinjenja, koji su dobijeni ili iz kulture gljivica ili sa tela životinja (AfB<sub>2</sub>a, G<sub>2</sub>a, P, Q i aflatoksikol) (Conon, 1988; Pittet, 1998).

Izražena je činjenica da kontaminacija mleka i mlečnih proizvoda sa AFM<sub>1</sub> zapravo odražava varijacije u skladu sa geografijom, zemljom i godišnjim dobom. Nivo zagađenosti sa AFM<sub>1</sub> je uslovljeno i hladnim i toplim godišnjim dobima, usled toga što se trava, pašnjaci, korov i čvrsta stočna hrana mogu češće konzumirati u proleće i leto, nego u zimsko vreme. Na kraju leta, zelena stočna hrana je češće konzumirana nego koncentrovana stočna hrana, prouzrokujući povećanu koncentraciju AFM<sub>1</sub> u mleku krava muzara (Gaslvano, 1996; Pittet, 1998; Sarinemetoglu, 2003). Utvrđeni su slučajevi gde AFM<sub>1</sub> prouzrokuje određene poteškoće u higijeni i preradi sirovog mleka i mlečnih proizvoda koji se koriste kao namirnice za ljudsku upotrebu. Tokom dobijanja maslaca, AFM<sub>1</sub> se raspršuje heterogeno u pasterizovanom mleku. AFM<sub>1</sub> nije uništen ni tokom procesa pasterizacije sirovog mleka za proizvodnju jogurta i sira (Barbieri, 1994; Creppy, 2002; Galvano, 1996; Pittet, 1998). Pošto kontaminacija AFM<sub>1</sub> predstavlja ozbiljan rizik po zdravlje konzumenata, propisane su dozvoljene koncentracije AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku i mlečnim proizvodima i predstavljene su u tabeli 1.

**Tabela 1.** Maksimalne dozvoljene koncentracije AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku i mlečnim proizvodima u različitim zemljama Evrope

| Mikotoksin    | Zemlja     | Maksimalna dozvoljena koncentracija AFM <sub>1</sub> (ng/kg, ng/l) | Namirnice                              |
|---------------|------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Aflatoksin M1 | Švedska    | 0,050                                                              | tečni mlečni proizvodi                 |
|               | Austrija   | 0,050                                                              | pasterizovano mleko                    |
|               | Nemačka    | 0,050                                                              | pasterizovano mleko                    |
|               | Holandija  | 0,020                                                              | puter                                  |
|               | Holandija  | 0,200                                                              | sir                                    |
|               | Švajcarska | 0,050                                                              | pasterizovano mleko i mlečni proizvodi |
|               | Švajcarska | 0,250                                                              | sir                                    |
|               | Belgija    | 0,050                                                              | pasterizovano mleko                    |
|               | USA        | 0,50                                                               | pasterizovano mleko                    |
|               | Češka      | 0,10                                                               | mleko za decu                          |
|               | Češka      | 0,50                                                               | pasterizovano mleko                    |
|               | Francuska  | 0,030                                                              | mleko za decu                          |
|               | Francuska  | 0,050                                                              | pasterizovano mleko                    |
|               | Srbija     | 0,050                                                              | pasterizovano mleko i mlečni proizvodi |
|               | Srbija     | 0,25                                                               | sir                                    |

## MATERIJAL I METODE

**Uzorci:** Ukupno 85 uzoraka pasterizovanog mleka uzeti su sa tržišta iz različitih delova Srbije. Ovi uzorci su doneseni u laboratoriju Instituta za higijenu VMA u prenosnom frižideru zajedno sa originalnim pakovanjem. Uzorci su pripremljeni za analizu ELISA metodom, koju je opisao GmBH, Dermastadt, Nemačka.

**Elisa procedura testiranja:** Kvantitativna analiza prisustva AFM<sub>1</sub> u uzorcima pasterizovanog mleka izvedena je od strane ELISA pribora za testiranje na prisustvo AFM<sub>1</sub> (Anon, 1999). Uzorci pasterizovanog mleka su centrifugirani na 3500 obrtaja /min. u vremenskom intervalu od 10 minuta na temperaturi od 10 °C. Gornji kremasti sloj je otklonjen i sa donje faze koju je predstavljao adekvatni supernatant bez mlečne masti, uzeta je pažljivo određena količina i sipana paster pipetom. Obrano mleko kori-

šćeno u testiranju je količine od 100 nl do 180 nl standardnog rastvora kao etalona i pripremljeni ispitivani uzorci su inkubirani na sobnoj temperaturi u vremenskom trajanju od 60 minuta, u potpunom mraku. Posle I faze ispiranja, 100 nl enzima dodato je i inkubirano na sobnoj temperaturi u mraku još 60 minuta. Faza ispiranja ponavljana je tri puta. Pedeset nl substrata i 50 nl hromagena dodati su u svaki kanister i podrobno izmešani i inkubirani na sobnoj temperaturi u mraku u vremenskom intervalu od 30 minuta. U svaki kanister je dodato 100 nl stop reagensa, pomešano i izmereno u ukupnoj količini.

**Procena:** Glavne vrednosti za standarde i uzorke procenjene su u skladu sa Rivadin. exe za Windows opciju (verzija 1.2) softverskog programa koji je pripremio R-biopharm GmbH Dermstadt, Nemačka. Standardizacija i kalibracija po koncentracijama prikazana je u tabeli 2.

**Tabela 2.** Standardizacija i kalibracija po konstantnim koncentracijama standarda AFM<sub>1</sub>

| Standard      | Std 1. | Std 2. | Std 3. | Std 4. | Std 5. | Std 6. |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Conct. (ng/l) | 0,00   | 5,00   | 10,00  | 20,00  | 40,00  | 80,00  |
| Procenat      | 100,00 | 87,40  | 77,00  | 60,10  | 41,50  | 31,70  |

## REZULTATI

Analizirano je ukupno 85 uzoraka pasterizovanog mleka Elisa testom. Pojava AFM<sub>1</sub> prikazana je u Tabeli 3. Od 85 uzoraka, 75 uzoraka (88,23%) kontaminirano je AFM<sub>1</sub>. Od tog broja kontaminira-

nih uzoraka, 27 (36,00%) uzoraka je ispod dozvoljenih granica po Evropskom kodeksu o hrani, koji je 50 ng/l. Uprkos ovome, 48 uzoraka (64,00%) prešlo je dozvoljene zakonske granice za AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku, što je predstavljeno u tabeli 3.

**Tabela 3.** Komparacija pronađene koncentracije AFM<sub>1</sub> u ispitivanim uzorcima i zakonske granice koncentracije po Evropskom kodeksu o hrani

| Uzorak         | Broj | Granica po Kodeksu (0,050 ng/l) | Prekoračenje granice (0,050 ng/l) | Vrednost u procentima % |
|----------------|------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Kontaminiranih | 75   | 27                              | 48                                | 88,23                   |
| Negativnih     | 10   | -                               | -                                 | 11,27                   |
| UKUPNO         | 85   | 27                              | 48                                | 100,00                  |

**Tabela 4.** AFM<sub>1</sub> koncentracije ispitanih uzoraka pasterizovanog mleka

| AFM <sub>1</sub> (pronađene koncentracije u pozitivnim i negativnim uzorcima) ng/l |      |       |       |       |       |      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|------|
| ng/l                                                                               | <10  | 11-30 | 31-50 | 51-70 | 71-90 | 91>* |
| Broj uzoraka                                                                       | 11   | 3     | 13    | 29    | 12    | 7    |
| Procenat                                                                           | 8,25 | 2,25  | 9,75  | 21,25 | 9,00  | 5,25 |

- - 127,6 ng/l u dva uzorka

AFM<sub>1</sub> pronađen je u maksimalnom iznosu u jednom uzorku pasterizovanog mleka u vrednosti 127,6 ng/l, i u minimalnom iznosu u dva ispitivana uzorka pasterizovanog mleka u vrednosti od 5,2 ng/l. Koncentracija AFM<sub>1</sub> ispod 5,2 ng/l nije utvrđena u 10 ispitivanih uzoraka pasterizovanog mleka. U našoj studiji, od 75 ispitivanih uzoraka 88,23% bilo je pozitivno na prisustvo AFM<sub>1</sub> u svome sadržaju i to potvrđuje slične rezultate kao kod autora Ahmad, Bakirci i Rastogi. Ova studija pokazuje i da koncentracije AFM<sub>1</sub> variraju od uzorka do uzorka, i to sledećim nizom: od 0,03 do 0,98 ng/l; od 27,7 do 53,4 ng/l; od 28,00 do 164,00 ng/l (Ahmad, 1996; Bakirci, 1995; Rastogi, 2004). Takođe, Kim (2000) utvrđuje pojavu AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku, i to 76% u Koreji, sa koncentracijom od 18 pg/g, Lopez (2003) nagovestio je da su nivoi AFM<sub>1</sub> u uzorcima pasterizovanog mleka proizvedenim u Argentini bili vrlo niski i ni u kom slučaju isti nisu prelazili preporučene granice za mlečne proizvode (0,05 ng/l).

## DISKUSIJA

Autori su izjavili da su nivoi AFM<sub>1</sub> varirali od 0,013 do 0,017 ng/l u osam pozitivnih uzoraka tečnog pasterizovanog mleka. Najniži nivoi AFM<sub>1</sub> su verovatno posledica detoksikacije u samoj stočnoj hrani, korišćenja manjih količina potencijalno kontaminirane stočne hrane ili pak nedovoljnog broja ispitivanih uzoraka, te time neadekvatnog pregleda stanja na tržištu mleka i mlečnih proizvoda. Roussi (2002) takođe je pregledao sirovo i pasterizovano mleko na tržištu u potrazi za AFM<sub>1</sub> i kontaminacijom, u dva vremenska navrata. U prvom uzimanju uzoraka, stopa pojavljivanja kontaminacije AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku bila je procentualno 85,40 %. U drugom navratu, stopa pojavljivanja AFM<sub>1</sub> bila je procentualno 79,60 %. Oni su pronašli da nijedan od uzoraka pasterizovanog mleka nije prešao dozvoljenu granicu od 50ng/l. Njihovi nalazi utvrdili su da je trenutni regulativni status u vezi sa pitanjem praćenja kontaminacije sa AFM<sub>1</sub> u Grčkoj validan. U ovoj studiji, nivo kontaminacije sa AFM<sub>1</sub> bio je veoma sličan načelno, ali broj uzoraka koji su prešli dozvoljeni limit od 50ng/l bio je oko procentualnih 64%.

Evropska komisija (European communities alimentarius) fiksirala je dozvoljenu granicu na maksimalnih 50 ng/l AFM<sub>1</sub>. Po ovoj studiji, navedenih 48 uzoraka (64%) prešlo je regulatorne granice, varirajući od 50 do 127,6 ng/l. Rastogi (2003) takođe je izvestio javnost da 75% uzoraka pasterizovanog mleka prelazi ECI kodeks regulative. Takođe, veoma veliki broj drugih studija pokazuje da je kontaminacija sa AFM<sub>1</sub> relativno mnogo veća, i varira od 28,00 do 1012 ng/l u nekim evropskim zemljama (Galvano, 1998; Markaki i Melissari, 1997; Martin i Martin 2000). Po Turskom kodeksu o hrani (Anon, 1997), nivoi AFM<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku su ograničeni na 50 ng/l, što je indentično sa evropskim propisima.

## ZAKLJUČAK

Ova studija pokazala je ozbiljan rizik po zdravlje šire javnosti, pošto su starosne kategorije konzumenata veoma velike i raznovrsne. Iz ovog razloga, pasterizovano mleko i mlečni proizvodi treba da se kontrolišu kontinuirano na prisustvo dozvoljenih koncentracija AFM<sub>1</sub> u njihovom sastavu. Vrlo je važno preventivno kontrolisati, kontinuiranim monitoringom, i stočnu hranu koja se koristi za ishranu mlečnih grla na prisustvo koncentracija AFM<sub>1</sub>. Da bi se ovo postiglo, moraju se strogo kontrolisati uslovi za proizvodnju, promet i skladištenje stočne hrane, kao i svi drugi parametri u vezi sa proizvodnim ciklusom dobijanja bezbedne i zdrave namirnice životinjskog porekla, konkretno – mleka i mlečnih proizvoda.

## LITERATURA

- Ahmad, M. A., B. A. Khan, Z. A. Shamsuddin, M. A. Khan (1996): Prenosnje aflatoksina u mleko i mlečne proizvode u Pakistanu i njihovo moguće kontrolisanje, *Toxicon* 34, 324–328.
- Anonymous (1979): Prevencija mikotoksina. UN za hranu i poljoprivredu. *Rad o hrani i ishrani*, No.10, Rome.
- Applebaum, R. R. E. Brackett, D. W. Wiseman, E. H. Marth (1982): Aflatoxin: toksičnost u krava muzara i pojava u mleku i mlečnim proizvodima, *J. Food Protect.* 45, 752–777.
- Bakirci, I. (1995): Sutlerde aflatoxin M<sub>1</sub> olusumu ve urunlere gecisi uzerine bir arastrima. Doctora tezi, Yuzuncu Yil Univ. Fen Bil Enst., Van.
- Bakirci, I. (2001): Studija o pojavi aflatoksina M<sub>1</sub> u mleku i mlečnim proizvodima proizvedenim u Van provinciji u Turskoj. *Kontrola hrane*. 12, 47–51.
- Barbieri, G., C. Bergamini, E. Ori, P. Resca (1994): Aflatoxin M<sub>1</sub> u parmezan siru: HPLC determenation. *J. Food Sci.* 59, 1313–1331.
- Barrios, M. J., L. M. Medina, M. G. Cordoba, R. Jordano (1997): Aflatoxin – lanci *Aspergillus flavus* izolovani iz sira. *J. Food protect.* 60, 192–194.
- Bento, H., A. M. Fernandez, M Barboa (1989): Utvrđivanje aflatoksina M<sub>1</sub> u pasterizovanom mleku i mleku u prahu. *Rev. Port. Cienc. Vet.* 84, 161–171.
- Blanco, J. L., B.A. Carrion, N. Liria, S. Diaz, M. E. Garcia, L. Dominguez, G. Suarez (1993): Ponašanje aflatoksina tokom proizvodnje i skladištenja jogurta. *Milchwiss.* 48, 385–387.
- Castegnaro, M., D. McGregor (1998): Procena rizika kancerogenosti mikotoksina. *Rev. Med. Vet.* 149, 671–678.
- Concon, J. M. (1988): Zagađivači i aditivi. Toksikologija hrane. Part B, Marcel Dekker, Inc., New York, 667–743.
- Creppy, E. E. (2002): Novosti u istraživanjima, regulativama i toksičnim efektima mikotoksina u Evropi. *Toxicol. letters* 127, 19–28.
- D'Mello, J. P. E., A.M.C. Macdonald (1997): Mycotoxins. Životinjska hrana. *Sci Technol.* 69, 155–166
- Domagala, B. J., J. Kisz, A. Bluthgen, W. Heeschen (1997): Kontaminacija mleka aflatoksinom M<sub>1</sub> u Poljskoj. *Milchwiss.* 52, 631–633.
- Egmond, H. P., W. E. Paulsch (1986): Mikotoksini u mleku i mlečnim proizvodima. *J. Neth. Milk Dairy* 40, 175–188.
- Galvano, F., V. Galofaro, G. Galvano (1996): Pojava i stabilnost aflatoksina M<sub>1</sub> u mleku i

- mlečnim proizvodima. Svetski pregled. *J. Food Protect* 59, 1079–1090.
17. Galvano, F., V. Galafaro, A. De Angelis, M. Galvano, M. Bognanno, G. Galvano (1998): Istraživanje o pitanju pojave aflatoksina  $M_1$  u mlečnim proizvodima na tržištu Italije. *J. Food Protect* 61, 738–741.
18. Galvano, F., V. Galafaro, A. De Angelis, A. Ritieni, M. Bognanno, G. Galvano (2001): Istraživanje o pitanju pojave aflatoksina  $M_1$  u mlečnim proizvodima na tržištu Italije – druga godina istraživanja. *Food Addit. Contam.* 18, 644–646.
19. Kim, E., D. Y. Shon, D. Ryu, J. W. Park, H. J. Hwang, Y. B. Kim (2000): Pojava aflatoksina  $M_1$  u mlečnim proizvodima u Koreji koje su otkrivene Elisa i HPLC metodama. *Food Addit. Contam.* 17, 59–64.
20. Markaki, P., E. Melissari (1997): Pojava aflatoksina  $M_1$  u komercijalnom pasterizovanom mleku otkrivena Elisa i HPLC metodom. *Food Addit. Contam.* 14, 451–456.
21. Martin, M. L., H. M. Martin (2000): Aflatoksin  $M_1$  u sirovom mleku i mleku tretiranom na visokim temperaturama u Portugalu. *Food Addit. Contam.* 17, 871–874.
22. Pittet, A. (1998): Prirodna pojava mikotoksina u hrani i stočnoj hrani. *Rev. Med. Vet.* 149, 479–492.
23. Roussi, V., A. Govaris, A. Varagouili, N. A. Botsoglou (2002): Pojava aflatoksina  $M_1$  u sirovom mleku i komercijalnom mleku za tržište u Grčkoj. *Food Addit. Contam.* 19, 863–868.
24. Veldman, A., J. A. C. Meijst, G. J. Borgreve, J. J. Heeres-Van Der Tol (1992): Prenosjenje aflatoksina sa kravlje hrane na mleko. *Anim. Prod.* 55, 163–168.

## INTRODUCTION

Mycotoxins are secondary metabolites for fungus which are connected to certain health disturbances in animals and humans as well. Manifestation of toxicity in animals is as diverse as type of fungus, which produce these components. Besides the fact that they are acutely toxic substances, some mycotoxins are connected to some types of cancer which produced the global concern for fodder and globally to the safety of food which is used in primary and secondary human use, and especially dairy products as a target group of animal products which is under mycotoxin contamination.

(CASTEGNARO I MCGREGOR, 1998; D'MELLO I MACDONAQLD, 1997; EGMOND I PAULSCH, 1986)

It is defined that many types of saprophytic fungus produce mycotoxins and that these saprophytic fungus belonged to mycotoxin types, which contaminate the food as natural intoxicants, and therefore produce acute and chronic intoxications in people as well as animals. (PITTET, 1998; GALVANO2001)

Aflatoxicosis is poisoning which result from digestion of aflatoxins fro contaminated food or fodder. Aflatoxins represent the group of structurally connected compound which are produced by specific chain of fungus **Asperigillus flavus and Aspergillus parasiticus**. In appropriate temperature conditions and in condition of appropriate humidity, these fungus grow on specific food and fodder, which results in production of aflatoxins. (ANON, 1979); CONCON, 1988; CREPPY, 2002; D'MELLO) i MACDONALD, 1997; VELDMAN 1992)

Aflatoxin contamination of milk and dairy products happens first in two possible ways: either are toxins transmitted to milk by digestion of fodder contaminated by aflatoxin or it is the result of gradual contamination of milk and dairy products by fungus. (APPLEBAUM) 1982; BLANCXO 1993; BARRIOS 1997; SARIMEHMETOGLU 2003)

The main toxics with problems are designated with B1, B2, G1 I G2 as well as M1 and M2 as metabolic processes AFB. AFB1 to G2 belong to group 1, M1 belongs to group 2B, according to IARC (CASTEGNARO and MCGREGOR, 1998). Total amount came up to 17 compounds, which are taken either from the fungus culture or from body of an animal. (AFB2a, G2a, P, Q i aflatoxicol) (CONCON, 1988; PITTET 1998)

There is the fact that contamination of milk and dairy products by AFM1 actually represents variations concerning geography, country and season. The level of pollution by AFM1 is designated by cold and warm seasons, because of the fact that grass, pastures, weed and harder fodder could easily be found in spring and summer than in winter time. At the end of the summer, green fodder is more consummated than concentrated food, causing bigger level of AFM1 in milk. (GASLVANO 1996; PITTET 1998; SARINEHMETOGLU 2003)

There are cases where AFM1 causes certain difficulties in milk hygiene and dairy products as well which are used as food. During the process of making butter, AFM1 is dispersed heterogeneously in milk. AFM1 is not destroyed during he process of pasteurization or in yogurt and cheese (BARBIERI 1994, CREPPY 2002, GALVANO 1996, PITTET 1998)

While aflatoxins represent serious risk to human health, the limits of aflatoxics in food. The rates of limitations are presented in chart 1.

## MATERIALS AND METHODS

**Samples.** 85 samples of milk altogether are taken from the market from different parts of Serbia. These samples are brought to the laboratory of Institute of Hygiene, MMA, in a box with ice in their original packs. Samples are prepared for analyses AFM1 by Elisa method, which is described by GmBH, Dermstadt, Germany

**Chart 1.** The maximum level of aflatoxin M1 in milk in different countries

| <b>Mycotoxin</b> | <b>Country</b> | <b>Maximum limit<br/>(n/kg ili ng/1)</b> | <b>Food</b>             |
|------------------|----------------|------------------------------------------|-------------------------|
| Aflatoxin        | Sweden         | 0.050                                    | Liquid dairy products   |
|                  | Austria        | 0.050                                    | Milk                    |
|                  | Germany        | 0.050                                    | Milk                    |
|                  | Holand         | 0.020                                    | Butter                  |
|                  |                | 0.200                                    | Cheese                  |
|                  | Switzerland    | 0.050                                    | Milk and dairy products |
|                  |                | 0.250                                    | Cheese                  |
|                  | Belgium        | 0.050                                    | Milk                    |
|                  | USA            | 0.50                                     | Milk                    |
|                  | Check Republic | 0.1                                      | Children's milk         |
|                  |                | 0.5                                      | Adult milk              |
|                  | France         | 0.03                                     | Children's milk         |
|                  |                | 0.05                                     | Adult milk              |
|                  | Serbia         | 0.05                                     | Milk and dairy products |
|                  |                | 0.25                                     | cheese                  |

**ELISA procedure of testing.** Quantative analyses of AFM1 in samples of pasteurized milk is taken out by ELISA, using testing tools for AFM1 testing (ANON 1999)

Milk samples were subject to centrifugal force of 3500 g for 10 min on 10 °C. The upper cream layer is taken off and specific quantity was carefully taken from the lower phase which represented the adequate supernatant without fat, using paster pipette. low fat milk was used directly in test. (10nl)

180 nl of standard solution and prepared samples in divided canisters were added, than incubated to 60 min on room temperature in the dark. After this phase of rinse, 100 nl of enzymes was added and incubated to 60 min, on room temperature in the dark. The rinse phase was repeated three times. 50 nl of substrate and 50 nl of chromate were added to every canister and thoroughly mixed and incubated

to 30 min in the dark. 100 nl stop reagents was added to every canister, mixed and weighed in the total amount.

**Evaluation.** The main values for standards and samples are evaluated according to RIVADIN.EXE for Windows option (version 1.2) of the software programme which was prepared by R-biopharm GmbH Dermstadt, Germany

## RESULTS AND DISCUSSION

The total of 85 samples of pasteurized milk was analyzed by ELISA. AFM1 Was shown in chart 2. From 85 samples, 75 samples (88.23%) were contaminated by AFM1. 27 samples (36%) didn't reach the level of the European Food code, which designates it to 50 ng/1. despite this, 48 samples (64%) has overcome the legal limit of AFM1 in milk (chart 3)

**Chart 2 Aflatoxin M1:** distribution and percentage of samples of pasteurized milk

| AFM1 level ng/l in positive samples |       |       |       |       |       |      |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
|                                     | <10   | 11-30 | 31-50 | 51-70 | 71-90 | 91>* |
| N1                                  | 11    | 3     | 13    | 29    | 12    | 7    |
| %2                                  | 14.66 | 4     | 17.33 | 38.66 | 16    | 9.33 |

1 number of analyzed samples

2 percentage of AFM1 positive samples

\* 127.6 ng/l in two samples

**Chart 3 AFM1 level comparison according to European food code**

| Sample                     | Limit by the code (0.05 ng/l) | Exceeding Code (0.05 ng/l) | Value in percentage (%) |
|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| Positive 75                | 27                            | 48                         | 88.23                   |
| Negative 10                | -                             | -                          | 11.77                   |
| <b>Total 85</b>            | 27                            | 48                         |                         |
| <b>Value in percentage</b> | 36                            | 64                         | 100                     |

AFM1 was found on 127.6 ng/l in maximum of one sample, although the minimum level in two samples – 5.2 ng/l AFM1 wasn't designated in ten samples. Results and calibration curve in the testing kit is shown in picture 1.

Although some studies didn't show the presence of AFM1 in milk samples checked in different countries, such as Portugal, Japan and Turkey (BENTO 1989, TABATA 1993, DEMIRER 1973), many studies showed that the milk contamination by AFM1 is significant risk to human health ((BAKIRCI, 1995; DOMAGALA et al., 1997; GALVANO et al., 1998; GALVANO et al., 2001a; MEERARANI et al., 1997; SAITANU, 1997).

#### **Picture 1: Calibration curve of the kit RIDASCREEN AFM1 and values**

In this study, 75 samples taken from the samples that have been checked (88.23%) were positive to AFM1 and it had the similar results to those of Ahmad, Bakirci and Rastogi. These studies showed that levels of AFM1 in different types of milk vary from 0.03 to 0.98 ng/kg,

27.7-53.4 ng/kg and 28 to 164 ng/kg. (AHMAD 1996; BAKIRCI 1995; RASTOGI 2004). KIM confirmed the level of AFM1 in pasteurized milk – 76% in Korea, 18-pg/g concentrations, in 2000. Lopez hinted that the level of AFM1 in samples of milk manufactured in Argentina in 2003. Didn't exceed those recommended limits for any dairy product.(0.05% ng l-1) The authors claimed that the level of AFM1 Varied from 0.013 to 0.017 ng l-1 in 8 positive samples of liquid milk. The lowest level of AFM1 was probably caused by detoxification treatment in fodder, using small quantities of fodder compounds, and smaller quantities of analyzed samples.

ROUSSI 2002. Examined raw and market milk in search of AFM1 contamination, couple of times. In the first sample taking, the level of AFM1 contamination in pasteurized milk was 85.4% in second turn, the level was 79.6 %. They found out that neither of the samples of pasteurized milk exceed the limit of 50 ng/l. Their finds proved the regulative status in Greece to be right. In our study, the level of AFM contamination was similar, but the level of exceeding the legal limit was 64% of all checked samples.

| Standard     | Std1  | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 | Std6 |
|--------------|-------|------|------|------|------|------|
| Conct (ng/l) | 0.0   | 5.0  | 10.0 | 20.0 | 40.0 | 80.0 |
| B/Bo(%)      | 100.0 | 87.4 | 77.0 | 60.1 | 41.5 | 31.7 |

EUROPEAN COMMUNITIES ALIMENTARIUS made the limit to the maximum of 50ng/l AFM1/kg (ANON 2001), according to our study, 48 samples (64%) exceeded regulative limits, being variable from 50 to 127.6 ng/kg. RASTOGI 2003 claimed that 75% of samples of liquid milk exceeded ECI code. Likewise, some studies designated that the AFM1 contamination is a lot higher, and it varies from 28 to 1012 ng/kg in some European countries (GALVANO 1998; MARKAKI I MELISSARI 1997; MARTIN I MARTIN 2000)

According to Turkish food code (ANON 1997) the level of AFM1 in milk are limited to 50 ng/kg, which is similar to EC/ Code book. Therefore, the samples of pasteurized milk, which were analyzed in this study, exceed the regulative limit from 50 to 127.6 ng/kg in 48 samples (64%).

As a conclusion: this study has shown that there is a serious risk to human health and to all age groups including newborns and children who consume milk world wide. Due to this fact, milk and dairy products should be controlled on regular basis in search of AFM1 contamination. It is very important to keep the lowest possible level of AFM1 in fodder of milking animals. In order to achieve this, milking cows' food should be kept as far as possible from the source of contamination. Therefore, animal food should be checked regularly in search of aflatoxins and it is especially important to control the conditions of storage.

## BIBLIOGRAPHY

1. AHMAD, M. A., B. A. KHAN, Z. A. SHAMSUDDIN, M. A. KHAN (1996): Transmission of aflatoxins to milk and dairy products in Pakistan and their possible control. *Toxicon*. 34, 327-328
2. NONYMOUS (1979): Prevention of mycotoxins. UN –food and agriculture. Study on food and nurturing No:10, Rome.
3. ANONYMOUS (1997): Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Resmi Gazete, 16 Kasım 1997. Sayı:23172, Başbakanlık Basımevi, Ankara.
4. ANONYMOUS (1999): Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M1. Art. No.: R 1101, R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.
5. ANONYMOUS (2001): Recommended comments on the level of aflatoxins M1 in milk. Committee code on food additives and pollutants . 33rd session, Hague, Netherlands.
6. APPLEBAUM, R., R. E. BRACKETT, D. W. WISEMAN, E. H. MARTH (1982): Aflatoxin: toxicity in milking cows and occurrence in milk and dairy products. *J. Food Protect.* 45, 752-777.
7. BAKIRCI, I. (1995): Sütlerde aflatoksin M1 oluşumu ve ürünlere geçişi üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enst., Van.
8. BAKIRCI, I. (2001): Study on occurrence of aflatoxins M1 in milk and dairy products manufactured in Van province in Turkey. *Food control* .12, 47-51.
9. BARBIERI, G., C. BERGAMINI, E. ORI, P. RESCA (1994): Aflatoxin M1 in parmesan cheese: HPLC determination. *J. Food Sci.* 59, 1313-1331.
10. BARRIOS, M. J., L. M. MEDINA, M. G. CORDOBA, R. JORDANO (1997): Aflatoxin-chains of *Aspergillus flavus* isolates from cheese *J. Food Protect.* 60, 192-194.
11. BENTO, H., A. M. FERNANDEZ, M. BARBOA (1989): Confirmation of aflatoxin M1 in pasteurized milk an powder milk .*Rev. Port. Cienc. Vet.* 84, 161-171.

12. BLANCO, J. L., B. A. CARRION, N. LIRIA, S. DIAZ, M. E. GARCIA, L. DOMINGUEZ, G. SUAREZ (1993): aflatoxin during the process of manufacturing and storing of yogurt *Milchwiss.* 48, 385-387.
13. CASTEGNARO, M., D. MCGREGOR (1998): evaluation of cancer risks of mycotoxins *Rev. Med. Vet.* 149, 671-678.
14. CONCON, J. M. (1988): Polluters and additives. *Toxicology of food.* Part B, Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 667-743.
15. CREPPY, E. E. (2002): the news on research, regulations, and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Letters* 127, 19-28.
16. DEMIRER, M. A. (1973): Süt ve süt mamüllerinde aflatoksin M1 ve B1 aranması üzerine araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 20, 421-443.
17. D'MELLO, J. P. E., A. M. C. MACDONALD (1997): Mycotoxins. *Animal food Sci. Technol.* 69, 155-166.
18. DOMAGALA, B. J., J. KISZA, A. BLUTHGEN, W. HEESCHEN (1997): aflatoxin M1 milk contamination in Poland. *Milchwiss.* 52, 631-633.
19. EGMOND, H. P., W. E. PAULSCH (1986): Mycotoxins in milk and dairy products. *J. Neth. Milk Dairy* 40, 175-188.
20. GALVANO, F., V. GALOFARO, G. GALVANO (1996): Occurrence and stability of aflatoxins M1 in milk and dairy products. *World journal. J. Food Protect.* 59, 1079-1090.
21. GALVANO, F., V. GALOFARO, A. DE ANGELIS, M. GALVANO, M. BOGNANNO, G. GALVANO (1998): The study on occurrence of aflatoxins M1 in dairy products on the markets of Italy-the second year of research. *J. Food Protect.* 61, 738-741.
22. GALVANO, F., V. GALOFARO, A. RITIENI, M. BOGNANNO, A. DE ANGELIS, G. GALVANO (2001a): The study on occurrence of aflatoxins M1 in dairy products on the markets of Italy -the second year of research. *Food Addit. Contam.* 18, 644-646.
23. GALVANO, F., A. PIVA, A. RITIENI, G. GALVANO (2001b): dieting strategies as a fighting method against mycotoxins
24. KIM, E. K., D. Y. SHON, D. RYU, J.W. PARK, H. J. HWANG, Y. B. KIM (2000): Occurrence of aflatoxins M1 in dairy products in Korea which was decided by ELISA and HPLC. *Food Addit. Contam.* 17, 59-64.
25. LÓPEZ, C. E., L. L. RAMOS, S. S. RAMADÁN, L. C. BULACIO (2003): The presence of aflatoxins M1 in milk used by man. 14, 31-34.
26. MARKAKI, P., E. MELISSARI (1997): Occurrence of aflatoxins M1 in commercial pasteurized milk determined by ELISA and HPLC. *Food Addit. Contam.* 14, 451-456.
27. MARTIN, M. L., H. M. MARTIN (2000): Aflatoxin M1 in raw milk and milk treated by high temperatures in Portugal. *Food Addit. Contam.* 17, 871-874.
28. MEERARANI, S., P. RAMADASS, V. D. PADMANABAN, K. NACHIMUTHU (1997): Occurrence of aflatoxin M1 in the area of Chennai (Madras). *J. Food Sci. Technol.* 34, 506-508.
29. ORUC, H. H., S. SONAL (2001): Establishing the level of aflatoxin M1 in cheese and milk consummated in Bursa, Turkey u Bursi, Turkey. *Vet. Hum. Toxicol.* 43, 292-293.
30. PITTET, A. (1998): Natural occurrence of aflatoxins M1 in food and fodder *Rev. Med. Vet.* 149, 479-492.
31. RASTOGI, S., P. D. DWIVEDI, S. K. KHANNA, M. DAS (2004): Reveling aflatoxin M1 contamination of milk and newborn milk taken from Indian markets . 15, 287-290.
32. ROUSSI, V., A. GOVARIS, A. VARAGOUILI, N. A. BOTSOGLOU (2002): Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk and commercialized milk for Greek markets. *Food Addit. Contam.* 19, 863-868.
33. SAITANU, K. (1997): Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in Thailand. *J. Food. Protect.* 60, 1010-1012.

34. SARIMEHMETOĞLU, B., O. KÜPLÜLÜ, T. H. ÇELİK (2003):revealing of aflatoxin M1 in cheese samples. ELISA. Food Control 15, 45-49.
35. TABATA, S., H. KAMIMURA, A. IBE, H. HASHIMOTO, M. İİDİA, Y. TAMURA, T. NISHIMA (1993):Aflatoxin contamination of food in Tokyo. 1986-1990. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. 76, 32-35.
36. VELDMAN, A., J. A. C. MEIJST, G. J. BORGREVE, J. J. HEERES-VAN DER TOL (1992):Transmitting aflatoxin from cow fodder to milk . Anim. Prod. 55, 163-168.



UDK 636.234.082:616-077.1

M. Stevančević<sup>1</sup>, B. Toholj<sup>1</sup>, V. Kujača<sup>2</sup>, D. Košarčić<sup>1</sup>, V. Ivetić<sup>3</sup>, Z. Aleksić<sup>4</sup>

## UTICAJ HROMOSTI NA DUŽINU SERVIS PERIODA KOD HOLŠTAJNSKO-FRIZIJSKIH KRAVA

### Kratak sadržaj

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj hromosti na dužinu servis perioda i vrednost indeksa veštačkog osemenjavanja kod holštajnsko-frizijjskih krava. Istraživanjem je obuhvaćeno 78 krava. Krave su podeljene u dve grupe, i to na one sa klinički izraženom hromošću i one bez klinički izražene hromosti. U postpartalnom periodu krave su redovno opservirane na prisustvo kliničkih znakova estrusa, a vršeni su i redovni rektalni pregledi po protokolu na farmi. Iz istraživanja su isključene krave sa prisutnim drugim oboljenjima. Dužina servis perioda kod hromih krava je bila značajno veća i iznosila je  $212 \pm 42$  dana, dok je kod krava bez prisutne hromosti dužina servis perioda iznosila  $102 \pm 13$  dana. Indeks veštačkog osemenjavanja je, takođe, bio znatno veći kod hromih krava i iznosio je  $2,23 \pm 0,42$ , dok je kod krava bez hromosti iznosio  $1,39 \pm 0,53$ .

**Ključne reči:** krave, dijagnostika hromosti, oboljenja papaka.

## THE INFLUENCE OF LAMENESS ON CALVING TO CONCEPTION INTERVAL AT HOLSTEIN-FRIESIAN DAIRY COWS

### Abstract

The aim of this study was to examine the impact of lameness on the length of service period and the index value of artificial insemination in Holstein Friesian cows. Seventy eight cows have participated in the study. Cows were divided into two groups. First group with clinically expressed lameness and second group without clinically expressed lameness. In postpartal period cows are regularly observed for the presence of clinical signs of estrus, and were examined regularly by rectal examinations according to on farm protocol. Cows with other diseases present are excluded from the study. Length of service period at the group of cows with lameness was significantly higher and amounted  $212 \pm 42$  days, while in cows with no lameness present length of service period amounted to  $102 \pm 13$  days. Index of artificial insemination was also significantly higher in group of lame cows and was  $2.23 \pm 0.42$ , while in cows without lameness amounted to  $1.39 \pm 0.53$ .

**Key words:** cows, lameness, calving to conception interval.

---

Prikazani rezultati su deo naučno-istraživačkog projekta ev. br. BT20091, koji finansira Ministarstvo nauke Republike Srbije.

<sup>1</sup> Dr sc. vet. med. Milenko Stevančević, redovni profesor; mr sc. vet. med. Bojan Toholj; Dušan Košarčić, docent, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad, Trg D. Obradovića 8, bojantoh@polj.ns.ac.yu, +381214853481.

<sup>2</sup> Velibor Kujača, dr vet. med., PIK „Bečej“.

<sup>3</sup> Vojin Ivetić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd.

<sup>4</sup> Dr Zoran Aleksić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

## UVOD

Stepen reproduktivnog iskorišćavanja krava i, s tim u vezi, nivo proizvodnje mleka i teladi, direktno je određen trajanjem jednog reproduktivnog ciklusa, koji obuhvata period između dva uzastopna teljenja (Stančić, 2002). Jedan reproduktivni ciklus se sastoji od perioda od momenta teljenja do uspostavljanja sledeće uspešne koncepcije (tzv. servis period) i od perioda gestacije. Kako je trajanje gestacije biološki određeno, to se na dužinu reproduktivnog ciklusa može uticati jedino skraćivanjem servis perioda do fizioloških i ekonomski prihvatljivih granica. Da bi se ostvarilo maksimalno reproduktivno iskorišćavanje krava, potrebno je da trajanje servis perioda iznosi 80–90 dana (Stančić, 2002). Postpartalni period u kome se muzne krave ne osemenjavaju traje većinom 40–45 dana. Koncepcija u prvom estrusu iznosi 30–35%. Do 60. dana nakon teljenja, više od 85% krava treba da uđe u estrus i da do 70. dana budu osemenjene. Za osemenjavanje se najčešće koristi treći estrus postpartum, najkasnije od 75. do 90. dana, kako bi se krave telile svake godine (Jovičin, 2003). Esslemont (1974) navodi da svaki dan produženja servis perioda preko optimalnog trajanja rezultira smanjenjem dnevne produkcije mleka za od 4,5 do 6,75 litara u tekućoj laktaciji. Iz ovih razloga sasvim je jasno da trajanje servis perioda značajno utiče na nivo reproduktivnog i produktivnog iskorišćavanja krava. Veliki broj faktora utiče na dužinu servis perioda. Tako Stančić (2002) navodi da na dužinu servis perioda utiču: sisanje, nivo mlečnosti, zdravstveno stanje, ishrana, telesna masa i kondicija, godišnja sezona, involucija uterusu i paritet teljenja. Hromost na više načina može kompromitovati reproduktivnu efikasnost. Hromost izaziva bol, a samim tim i stres. Stres predstavlja reakciju organizma kojom se on prilagođava novonastaloj situaciji (Dobson, 2000). Delovanje stresa na reproduktivni ciklus se može objasniti uzajamnim delovanjem hormona. U folikularnoj fazi normalnog estrusnog ciklusa, određen nivo gonadotropin-rizling hormona

(GnRH), koji se luči iz hipotalamusa, dovodi do pulsativnog oslobađanja luteinizirajućeg hormona iz hipofize (Moenter, 1990), što, u sadejstvu sa folikulo-stimulirajućim hormonom (FSH), diktira intenzitet folikularnog rasta i produkcije estradiola. U daljem toku, pojava preovulatornog talasa luteinizirajućeg hormona (LH) dovodi do ovulacije (McNeily, 1991). U cilju postizanja tačno tempiranog talasa LH, dešava se serija blisko kontrolisanih događaja između hipotalamusa i hipofize. Nakon prestanka supresivnog efekta progesterona, tokom lutealne faze ovarijalnog ciklusa, GnRH, a zatim i LH se pulsno sekretuju sa povećanjem frekvencije, što kulminira kontinuiranom sekrecijom ovih hormona, a zatim i oslobađanjem predovulatornog talasa LH, kao odgovora na pozitivnu povratnu spregu sa estradiolom (Evans, 1995). Hromost je jedan od glavnih uzročnika stresa kod goveda, a podrazumeva povećanje nivoa ACTH (Greenough, 2007). Povećani nivo ACTH i/ili kortizola i progesterona izaziva odlaganje ili inhibiciju sekrecije GnRH, čime se kompromituje i normalna ovarijalna aktivnost (Hamilton, 1995).

## MATERIJAL I METOD

Istraživanje je obavljeno na farmi muznih krava sa slobodnim sistemom uzgoja. Nakon teljenja i boravka u porodilištu, krave su vraćane u proizvodne štale, gde su redovno pregledane i opservirane na pojavu estrusa, prema protokolu na farmi. Krave su podeljene u dve grupe. U prvoj grupi krava su bile krave sa klinički izraženom hromošću. U drugoj grupi su bile krave bez kliničkih znakova hromosti. Dijagnostika hromosti je vršena prema bodovnom sistemu dijagnostike (Sprecher, 1997). Iz istraživanja su isključene krave kod kojih je dijagnostikovano neko drugo oboljenje (indigestija, ketoza, dislokacija sirišta, retencija posteljice, endometritisi). Po utvrđivanju optimalnog vremena za izvođenje veštačkog osemenjavanja, isto je izvedeno spermom provereng kvaliteta, dvokratno, u dvanaestočasovnom razmaku. Dijagnostika graviditeta je vršena rektalnim pregledom.

**Tabela 1.** Podela eksperimentalnih grla po grupama, starost i količina mleka u prethodnoj laktaciji.

| Ocena hromosti                  | Grupa 1 – hrome krave | Grupa 2 – krave bez hromosti |
|---------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Broj grla (n)                   | 37                    | 41                           |
| Starost                         | 5,2 ± 1,2             | 4,6 ± 1,7                    |
| Mlečnost u prethodnoj laktaciji | 7059 ± 221            | 7982 ± 319                   |

## РЕЗУЛТАТИ

U tabeli 2. su dati rezultati upoređivanja dužine servis perioda između dve grupe krava. Kao što se vidi iz podataka u tabeli, prosečna dužina servis

perioda u grupi krava bez klinički ispoljene hromosti je iznosila  $102 \pm 13$ . U isto vreme dužina servis perioda u grupi krava sa klinički izraženom hromošću je iznosila  $212 \pm 42$ .

**Tabela 2.** Dužina servis perioda i indeks veštačkog osemanjavanja u ispitivanim grupama krava

|                      | Grupa 1 – hrome krave | Grupa 2 – krave bez hromosti | Razlika $\Delta$ |
|----------------------|-----------------------|------------------------------|------------------|
| Servis period (dani) | 212 $\pm$ 42          | 102 $\pm$ 13                 | 73 **            |
| Indeks VO            | 2,23 $\pm$ 0,42       | 1,39 $\pm$ 0,53              | 0,84**           |

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; ns  $p > 0.05$

## DISKUSIJA

Uzgoj mlečnih krava predstavlja jednu od najznačajnijih grana stočarstva u našoj zemlji. Ekonomičnost proizvodnje u ovoj grani stočarstva zavisi od velikog broja faktora, od kojih je zdravstveno stanje životinja često presudan faktor i faktor na koji se često svode svi ostali činioci koji ugrožavaju ekonomičnost ove proizvodnje. Među brojnim faktorima koji negativno utiču na reproduktivnost mlečnih grla, hromost se po svojoj važnosti u ukupnoj patologiji goveda obično svrstava na treće mesto, odmah iza reproduktivnih poremećaja i poremećaja u sekreciji mleka.

Oboljenja akropodijuma, kao i mnoga druga oboljenja, izazivaju stres kod životinje, što podrazumeva i povećanu koncentraciju adrenokortikotropnog hormona (ACTH), kateholamina i glukokortikoida, kao stres-indukovanih hormona (Watson, 1984). Povećani nivo ACTH i/ili kortizola i progesterona izaziva odgađanje ili inhibiciju sekrecije GnRH, čime se kompromituje i normalna ovarijalna aktivnost (Hamilton, 1995). Uticaj stresa na reproduktivni ciklus može se sagledati (tabela 2) upoređujući servis period kod obolelih i zdravih krava (Dobson, 2000).

**Tabela 3.** Efekat nekih klinički dijagnostikovanih i lečenih oboljenja u postpartalnom periodu na dužinu servis perioda (modifikovano po Dobson, 2000)

|                  | Servis period (dani) |  | Servis period (dani)              |
|------------------|----------------------|--|-----------------------------------|
|                  | obolele krave        |  | zdrave krave u istom istraživanju |
| Mlečna groznica  | 88*                  |  | 75                                |
| Ovarijalne ciste | 142**                |  | 77                                |
| Hromost          | 100**                |  | 86                                |

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ , n.s.  $> 0.05$

Hromost podrazumeva i više vremena provedenog u ležećem položaju, što ometa normalni ciklus uzimanja hrane i preživljanja, a u daljem toku dovodi do negativnog energetskog balansa, što negativno utiče na ovarijalnu aktivnost (Melendez, 2002). Margerison (2004) nalazi da grupa hromih krava pojede

u proseku 23 kg hrane dnevno, dok u grupi zdravih krava količina iznosi 25,5 kg. Negativan energetski balans dovodi do pada koncentracije glukoze u krvi, što aktivira oslobađanje kortizola iz kore nadbubrežne žlezde (Bruno, 2009), pa se time krug zatvara (*circulus vitiosus*).

## ZAKLJUČCI

Hromost kod krava je značajan faktor koji može ugroziti, pa i dovesti u pitanje rentabilnost uzgoja muznih krava. Hromost utiče na značajno produženje servis perioda, a samim tim i na slabljenje reproduktivnih performansi zapata.

## LITERATURA

1. Bruno, R. G. S., Rutigliano, H., Cerri, R. L., Robinson, P. H., Santos, J. E. P.: Effect of feeding yeast culture on reproduction and lameness in dairy cows under heat stress, *Animal reproduction science*, 113, 1–4, 11–21, 2009.
2. Dobson H., Smith R. F.: What is stress, and how does it affect reproduction? *Animal Reproduction Science*, 60–61, 743–752, 2000.
3. Esslemont R.: Economic and Husbandry aspects of the manifestation and detection of oestrus in cows (part I – economic aspects). *ADSA Q Rew.*, 12: 175, 1974., In: Stančić, B.: *Reprodukcija domaćih životinja*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2002.
4. Evans P., Dahl E., Mauger D., Karsch J.: Estradiol induces both qualitative and quantitative changes in the pattern of gonadotropin-releasing hormone secretion during the presurge period in the ewe. *Endocrinology*, 136, 1603–1609, 1995.
5. Forenbacher S.: *Klinička patologija probave i mijene tvari*, Zagreb, 1975.
6. Greenough P.: *Laminitis and lameness*, Saunders, 2007.
7. Hamilton A., Graverick A.: Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in a dairy cows. *Biology of Reproduction* 43, 890–898, 1995.
8. Jovičin M., Petrujkić T., Milovanović A., Dužaković M., Žikić D.: Analiza faktora koji utiču na tok estralnog ciklusa visokomlečnih krava. *Vet. glasnik*, 57 (3–4), 209–223, 2003.
9. Margerison J., Hollis J., Andrew S., Georgina S., Winkler B.: *The effect of lameness on feed intake, feeding behaviour, liveweight change, milk yield, and milk let down and milk duration of Holstein-Friesian dairy cattle*. Proceedings of the 13th International Symposium and 5th Conference on Lameness in Ruminants, Maribor, Slovenija, 2004.
10. McNeilly S., Picton M., Campbell K., Baird T.: Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J. Reprod. Fertil.*, 92, 177–186, 1991.
11. Melendez P., Bartolome J.: *Relationship between lameness, ovarian cysts and fertility in Holsteins cows*. Proceedings of the 12th International Symposium on Lameness in Ruminants, Orlando, USA, 2002.
12. Moenter M., Caraty A., Karsch J.: The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Endocrinology*, 127, 1375–1384, 1990.
13. Sprecher, D. J., Hostetler, D. E., Kaneene, J. B.: A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance, *Theriogenology*, Vol. 47, Issue 6, 1179–1187, 1997.
14. Stančić B.: *Reprodukcija domaćih životinja*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2002.
15. Watson D.: Lameness and humoral response. *British veterinary journal*, 140, 300–306, 1984. In: cit. Melendez, P., Bartolome, J.: *Relationship between lameness, ovarian cysts and fertility in Holsteins cows*. Proceedings of the 12th International Symposium on Lameness in Ruminants, Orlando, USA, 2002.

UDK 639.3.043:637.56'811

Н. Савић<sup>1</sup>, Д. Микавица<sup>1</sup>, З. Марковић<sup>2</sup>, Д. Матаругић<sup>1</sup>

## УТИЦАЈ ХРАНИВА РАЗЛИЧИТЕ ЕНЕРГЕТСКЕ ВРИЈЕДНОСТИ НА ХЕМИЈСКИ САСТАВ МЕСА ДУЖИЧАСТЕ ПАСТРМКЕ (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) ГАЈЕНЕ У КАВЕЗИМА

### Кратак садржај

Експеримент проведен у кавезном систему гајења дужичасте пастрмке „Тропик рибарства“ (водена акумулација Бочац), у различитим периодима (октобар–јануар и април–јул) у шест третмана, имао је за циљ анализу утицаја хранива различите енергетске вриједности на хемијски састав меса дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss* Wal.). Густина насада рибе износила је 400 kg по третману, а почетна просјечна маса јединки износила је 95,3 g (октобар–јануар) и 96,1 g (април–јул).

Вертикална термичка стратификација воде ВА Бочац изражена је од маја до септембра, док у хоризонталном правцу нема разлика. Температура воде на 1 m дубине кретала се од 2,8 °C зими до 26,9 °C љети. Значајно колебање температуре воде утиче на брзину метаболичких процеса и раст масе дужичасте пастрмке, без обзира на енергетску вриједност коришћених хранива. Нема значајнијег одступања садржаја влаге, протеина и пепела у месу дужичасте пастрмке просјечне индивидуалне масе 76–241 грама (октобар–јануар; прољеће–љето) исхраном хранивима различитог садржаја масти. Исхраном хранивима различитог учешћа енергетске компоненте садржај масти и протеина у месу дужичасте пастрмке има уједначен тренд раста, а садржај влаге тренд пада у свим третманима.

**Кључне ријечи:** хранива, дужичаста пастрмка, хемијски састав меса, кавези.

N. Savić, D. Mikavica, Z. Marković, D. Matarugić

## NUTRIENTS EFFECT OF DIFFERENT ENERGY VALUE OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF MEAT RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) GROWN IN A CAGE

### Summary

Cage experiment conducted in a system of growing rainbow trout of “Tropik Fishery” (water accumulation Bočac) in different periods (October to January and April–July) in 6 treatments, had a goal analysis of the impact energy values of different nutrients on the chemical composition of meat rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Wal.). Plantation density of fish was 400 kg/treatment and the average initial weight of individuals was 95,3 g (October–January) and 96,1 g (April–July). The vertical thermal stratification of water expressed Bočac VA from May to September, while in the horizontal direction there are no differences. Water temperature at 1 m depth ranged from 2,8 °C in winter to 26,9 °C in summer. Significantly, wavering

<sup>1</sup> Пољопривредни факултет Универзитета у Бањој Луци.

<sup>2</sup> Пољопривредни факултет Универзитета у Београду.

temperature affects the rate of metabolic processes and growth of the mass of rainbow trout, regardless of the energy value of feed used. No significant deviations moisture, protein and ash in meat rainbow trout average individual weight 76–241 grams (October–January; spring–summer) eating nutrients of different fat content. Eating nutrients of different energy components share the contents of fat and protein in meat rainbow trout is consistent upward trend, and the moisture content falling trend in all treatments.

**Key words:** nutrients, rainbow trout, chemical composition of meat, cages.

## УВОД

Нутритивна и биолошка ефикасност хранива за салмониде стално се побољшава, а главни удио чини рибље брашно те квалитетне енергетске компоненте које садрже високу количину искористиве енергије (Bugeau, 2003; Адамек, 2006). Hardy (2002) и Storebakken (2002) указују на значајне промјене састава рибље хране за салмониде у узгоју, повећање масти са 8% на 30–40%, садржаја енергије >20 MJ/kg и смањење угљених хидрата са 40% на 10–15%. Larrain и сар. (2005) износе податке о измјени учешћа рибљег брашна и рибљег уља у храни за салмониде, смањење садржаја рибљег брашна од 60% у 1985. до 35% у 2005, што је праћено еквивалентним повећањем садржаја масти од 10% у 1985. до 35–40% у 2005.

Прираст масе тијела резултат је одлагања воде, протеина, масти и минерала. Износи депонованих компоненти по јединици добијене живе масе нису константни, боље речено – промјене долазе са врстом и величином рибе, кориштеним хранивом итд. Из тих разлога, познавање састава мяса рибе представља један од кључних фактора за тачно препознавање захтјева за храном. Хемијски састав мяса дужичасте пастрмке зависи од узраста јединки, начина исхране, врсте хране којом се риба храни и осталих специфичности подручја гдје се гаји (Плавша и сар., 2000; Rasmussen и сар., 2000). Повећање стопе раста има мале ефекте на хемијски састав мяса риба (Storebakken и сар., 1991). Са порастом се мијења структура

прираста, код младих риба у прирасту доминирају протеини и вода, а код старијих маст и протеини, док се удио воде смањује (Shearer, 1994). Садржај воде и протеина у месу дужичасте пастрмке има опадајући тренд са смањивањем садржаја сварљивих протеина у хранивима, а садржај масти у месу дужичасте пастрмке са смањивањем протеина и повећањем масти и угљених хидрата у хранивима има тренд раста, док садржај пепела има исте/сличне вриједности (Azevedo и сар., 2004, Савић и сар., 2004).

Циљ рада био је анализа утицаја хранива различитог садржаја масти на хемијски састав мяса дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss* Wal.) у варијабилним условима кавезног гајења.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Експеримент је реализован у кавезном рибогојилишту „Тропик рибарство“ у воденој акумулацији Бочац, у два циклуса са истим временским трајањем (90 дана/циклус) и истом узрачном категоријом дужичасте пастрмке (почетне масе  $\bar{x} = 95,3 \text{ g}$  – I циклус и  $\bar{x} = 96,1 \text{ g}$  – II циклус). Први циклус реализован је у јесен–зиму (октобар–јануар), а други у прољеће–љето (април–јул), примјеном исте методологије и типа хранива.

Коришћено је шест типова екструдираних рибље хране (табела 1) са различитим квантитативним учешћем компоненти и истом гранулацијом од 3 mm.

**Табела 1:** Састав хранива коришћених у експерименту

| Састав хранива                    | Храниво | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|-----------------------------------|---------|------|------|------|------|------|------|
| Сирови протеини, %                |         | 44,0 | 48,0 | 42,0 | 42,0 | 44,0 | 42,0 |
| Сирове масноће, %                 |         | 14,0 | 26,0 | 22,0 | 23,0 | 26,0 | 18,0 |
| Укупна енергија (MJ)              |         | 20,4 | 23,8 | 21,8 | 22,3 | 23,2 | 21,0 |
| Сварљива енергија (MJ)            |         | 17,7 | 21,9 | 19,3 | 20,3 | 20,9 | 19,1 |
| Метаболичка енергија (MJ)         |         | 15,7 | 19,6 | 17,4 | 18,3 | 18,9 | 17,2 |
| Слободни азотни екстракт – NFE, % |         | 21,0 | 17,0 | 15,0 | 17,2 | 13,0 | 21,5 |

Дневне потребе за храном одређиване су на основу укупне масе рибе у кавезима и препоруке произвођача кориштене рибље хране изражене у процентима на датој температури воде. Норме исхране кориговане су сваких 15 дана. Четири типа хранива имала су исте дневне норме исхране (1, 3, 4, 6), а остала два типа хранива (2 и 5) имала су ниже, исте дневне норме исхране. Дневна количина потребне хране за сваки третман појединачно је вагана на ваги Cosmos, носивости 2 kg. Риба је храњена двократно, ујутро ( $8^{30}-9^{00}$ ) и поподне ( $15^{30}-16^{00}$ ).

Температура воде ( $^{\circ}\text{C}$ ) мјерена је свакодневно термо-оксиметром са сондом на продужном каблу (Оху Guard, Данска) на 1, 2 и 3 m дубине.

На почетку сваког циклуса и у интервалима од једног мјесеца, до краја експеримента из сваког кавеза узимане су по три јединке (случајни узорак) за анализе на хемијски састав меса рибе у циљу праћења промјена које се јављају при исхрани различитим типовима хранива коришћених у експерименту. Анализа хемијског састава меса рибе обухватила је садржај влаге, протеина, масти и пепела. За хемијску анализу коришћено је ткиво рибе без главе, репа, пераја, коже и костију. Ради репрезентативног узорка месо од три рибе из сваког кавеза помијешано је заједно, самљевено и одваган је узорак од 5 грама ( $\pm 0,5$  g) за анализу хемијског састава (влага, протеини, масти и пепео). У лабораторијским анализама тјелесних компоненти рибе коришћене су стандардне методе за утврђивања садржаја *влаге* сушењем узорка на  $105^{\circ}\text{C}$  до константне масе,

*пепела* – спаљивањем и жарењем узорка на  $550^{\circ}\text{C}$ , *протеина* – методом по Kjeldahl-у на основу садржаја азота и *масти* – екстракцијом органским растварачима по Soxhlet-у уз претходно сушење узорка.

Укупна маса јединки по третманима I и II циклуса износила је 400 kg рибе по третману, укупно 2.400 kg рибе по третману.

## РЕЗУЛТАТИ РАДА И ДИСКУСИЈА

Хемијска анализа меса дужичасте пастрмке проведена је четири пута у сваком третману током експеримента. Први циклус (јесен–зима) карактерише слабији интензитет масеног раста, што је директна посљедица сезоне исхране, али су ипак констатоване разлике у садржају градивних компоненти меса рибе. Утврђене разлике садржаја влаге, протеина, масти и пепела у месу рибе, код јединки сличне просјечне масе резултат су дијелом у различитим индивидуалним масама јединки у узорку (три рибе по узорку), а дијелом ради услова средине који су условили спорије метаболичке процесе у организму јединки, ради чега је изражена тенденција депоновања дијела масти које нису искоришћене у енергетском погледу због мање изражених захтјева организма за енергијом.

Резултати хемијских анализа меса рибе током I циклуса (табела 2) указују на јасну тенденцију повећаног депоновања масти у четвртом узорку (у свим третманима).

**Табела 2:** Просјечна маса дужичасте пастрмке од три рибе по узорку и хемијски састав меса дужичасте пастрмке у мјесечним интервалима (I циклус)

| Третман | Узорак | $\bar{x}$ маса, g | SD    | CV    | Влага, % | Протеини, % | Маси, % | Пепео, % |
|---------|--------|-------------------|-------|-------|----------|-------------|---------|----------|
| 1       | 1      | 97,00             | 2,65  | 2,73  | 78,14    | 19,20       | 1,61    | 1,44     |
|         | 2      | 128,00            | 18,52 | 14,47 | 77,95    | 20,37       | 1,34    | 1,54     |
|         | 3      | 127,67            | 33,17 | 25,98 | 78,39    | 18,78       | 1,83    | 1,33     |
|         | 4      | 126,33            | 21,36 | 16,91 | 78,47    | 19,44       | 2,64    | 1,29     |
| 2       | 1      | 94,00             | 37,64 | 40,05 | 79,02    | 19,37       | 1,38    | 1,45     |
|         | 2      | 129,67            | 27,61 | 21,29 | 77,21    | 20,19       | 1,62    | 1,34     |
|         | 3      | 133,67            | 33,84 | 25,32 | 78,53    | 19,33       | 2,88    | 1,34     |
|         | 4      | 173,00            | 11,14 | 6,44  | 76,86    | 19,56       | 3,56    | 1,47     |
| 3       | 1      | 100,67            | 24,09 | 23,93 | 78,08    | 19,62       | 1,54    | 1,53     |
|         | 2      | 152,67            | 12,42 | 8,14  | 77,70    | 20,00       | 1,55    | 1,27     |
|         | 3      | 144,00            | 14,18 | 9,85  | 78,17    | 18,37       | 2,04    | 1,11     |
|         | 4      | 159,33            | 7,37  | 4,63  | 76,33    | 19,50       | 3,94    | 1,52     |
| 4       | 1      | 84,33             | 10,12 | 12,00 | 78,51    | 18,87       | 1,42    | 1,37     |
|         | 2      | 100,33            | 12,50 | 12,46 | 78,27    | 19,87       | 1,54    | 1,40     |
|         | 3      | 142,00            | 18,68 | 13,16 | 78,55    | 19,56       | 1,91    | 1,22     |
|         | 4      | 140,00            | 20,81 | 14,86 | 76,24    | 19,37       | 3,45    | 1,40     |
| 5       | 1      | 84,33             | 5,51  | 6,53  | 76,94    | 18,56       | 1,58    | 1,44     |
|         | 2      | 152,67            | 18,82 | 12,33 | 77,68    | 19,44       | 1,39    | 1,38     |
|         | 3      | 114,33            | 27,97 | 24,46 | 78,51    | 18,78       | 2,86    | 1,53     |
|         | 4      | 145,67            | 20,31 | 13,94 | 77,60    | 19,00       | 3,10    | 1,30     |
| 6       | 1      | 110,33            | 27,59 | 25,01 | 79,03    | 19,20       | 1,67    | 1,42     |
|         | 2      | 97,67             | 12,01 | 12,30 | 78,49    | 19,94       | 1,83    | 1,35     |
|         | 3      | 140,33            | 35,12 | 25,03 | 78,11    | 19,50       | 2,64    | 1,37     |
|         | 4      | 149,33            | 5,69  | 3,81  | 76,85    | 18,68       | 3,69    | 1,53     |

Варијабилни услови средине у I циклусу условили су стални пад нивоа исхране, што се одразило слабијим растом масе тијела јединки и промјенама у саставу меса рибе. Резултати недвосмислено указују на то да је најзначајнија промјена у погледу садржаја масти изражена тенденција раста у трећем и четвртном узорку свих третмана. С обзиром на то да је присутна значајна варијација индивидуалне масе тијела јединки (3 јединке/узорак меса) у оквиру једног узорка и резултати анализе меса узорка три рибе испољавају сагласне вриједности.

Пад температуре воде (јесен–зима) карактерише слабији интензитет масеног раста и сличне вриједности садржаја влаге, протеина и пепела у месу дужичасте пастрмке по третманима. Садржај пепела у месу рибе у свим анализираним третманима првог циклуса кретао се од 1,11 до 1,54%, садржај влаге (76,24–79,02%) и протеина (18,37–20,37%) исказују знатну варијабилност узроковану просјечном масом анализираних јединки. Учешће масти у месу рибе има тренд раста од 1,34% до 3,94%. Варијабилни услови средине (јесен–зима) условили су пад нивоа исх-

ране, слабији раст масе тијела јединки и мање изражене промјене у саставу меса рибе. Дужичаста пастрмка просјечне индивидуалне масе 84–173 грама гајена у сезони јесен–зима не указује на значајнија одступања садржаја влаге, протеина и пепела у месу рибе без обзира на тип хранива. Пад температуре воде <7°C условљава слабију метаболичку активност у организму дужичасте пастрмке и мање изражене захтјеве организма за енергијом. Исхрана јединки у третманима 2, 3, 4, 5 и 6 не указује на зависност садржаја масти у месу и типа хранива (садржаја масти у храни). Разлог за то је виша укупна потрошња хранива у третманима 3, 4 и 6 (22%, 23% и 18% СМ) у односу на хранива 2 и 5 (26% СМ), чиме је компензован нижи ниво сирове масти у хранивима 3, 4 и 6. Значајно нижи садржај масти у месу рибе је исхраном јединки хранивом 1, са најнижим учешћем сирове масти (14% СМ), а један од разлога је и мања просјечна маса анализираних јединки. Нижа стопа раста и исхрана јединки хранивима различите енергетске вриједности нема значајних ефеката на састав меса риба изузев значајнијег, али ипак равномјерног учешћа масти.

Током другог циклуса остварена је интензивнија динамика раста масе тијела јединки са сличним учешћем влаге, протеина и пепела (таб. 3).

**Табела 3:** Просјечна маса дужичасте пастрмке од три рибе по узорку и хемијски састав меса дужичасте пастрмке у мјесечним интервалима (II циклус)

| Третман | Узорак | $\bar{x}$ маса, g | SD    | CV    | Влага, % | Протеини, % | Маси, % | Пепео, % |
|---------|--------|-------------------|-------|-------|----------|-------------|---------|----------|
| 1       | 1      | 85,00             | 10,44 | 12,28 | 77,07    | 18,69       | 2,66    | 1,23     |
|         | 2      | 109,67            | 28,68 | 26,15 | 78,01    | 18,76       | 2,85    | 1,35     |
|         | 3      | 156,00            | 34,70 | 22,24 | 77,53    | 18,96       | 2,91    | 1,37     |
|         | 4      | 165,67            | 17,62 | 10,63 | 76,71    | 19,25       | 3,28    | 1,33     |
| 2       | 1      | 90,00             | 17,58 | 19,53 | 78,73    | 18,63       | 2,83    | 1,20     |
|         | 2      | 101,67            | 34,43 | 33,86 | 77,72    | 19,33       | 3,04    | 1,42     |
|         | 3      | 182,67            | 55,79 | 30,54 | 76,83    | 19,38       | 3,11    | 0,90     |
|         | 4      | 225,67            | 70,01 | 31,02 | 75,30    | 20,15       | 3,43    | 1,38     |
| 3       | 1      | 76,67             | 4,51  | 5,88  | 77,23    | 18,63       | 2,65    | 1,29     |
|         | 2      | 121,00            | 19,97 | 16,51 | 76,70    | 19,69       | 3,65    | 1,56     |
|         | 3      | 171,33            | 28,01 | 16,35 | 78,05    | 19,85       | 3,58    | 1,14     |
|         | 4      | 206,67            | 14,36 | 6,95  | 76,15    | 20,25       | 3,64    | 1,65     |
| 4       | 1      | 99,33             | 22,48 | 22,63 | 77,62    | 18,63       | 2,71    | 1,36     |
|         | 2      | 125,00            | 6,24  | 5,00  | 76,86    | 20,31       | 3,44    | 1,37     |
|         | 3      | 135,00            | 33,41 | 24,75 | 77,84    | 19,70       | 3,52    | 1,08     |
|         | 4      | 180,67            | 27,32 | 15,12 | 74,98    | 20,18       | 3,78    | 1,50     |
| 5       | 1      | 113,67            | 35,00 | 30,80 | 76,76    | 18,94       | 2,87    | 1,23     |
|         | 2      | 100,33            | 11,59 | 11,55 | 77,32    | 20,37       | 3,46    | 1,36     |
|         | 3      | 169,67            | 16,01 | 9,44  | 77,07    | 19,95       | 3,63    | 1,10     |
|         | 4      | 241,33            | 36,77 | 15,24 | 75,70    | 20,30       | 3,89    | 1,40     |
| 6       | 1      | 76,00             | 13,23 | 17,41 | 76,68    | 18,87       | 2,72    | 1,35     |
|         | 2      | 118,33            | 7,57  | 6,40  | 77,23    | 18,98       | 3,65    | 1,29     |
|         | 3      | 135,00            | 13,89 | 10,29 | 78,04    | 19,47       | 3,85    | 0,99     |
|         | 4      | 190,67            | 36,94 | 19,37 | 75,37    | 19,70       | 4,02    | 1,53     |

Садржај масти у месу анализиране дужичасте пастрмке, за разлику од првог циклуса, имао је уједначен тренд раста. Значајна варијабилност случајног узорка, који се састојао од меса три рибе које је након одвајања костију, коже, главе и пераја заједно помијешано, условила је варирање садржаја влаге, протеина и пепела. Садржај масти је константно растао од првог до задњег узорка свих третмана изузев третмана 3 у узорку 3, гдје је незнатно мање учешће масти у односу на узорак 2.

Садржај протеина у испитиваним периодима указује на стабилне вриједности без већих варијација. Садржај влаге на крају II циклуса нижи је у односу на крај I циклуса, са ширим границама варирања (0,90–1,65%) од констатованих у пр-

вом циклусу. То се може објаснити значајним и константним побољшањем услова средине који су директно утицали на метаболичке процесе, уношење и искориштавање хране у организму јединки, а посљедично томе и вишим нормама исхране.

Сезону прољеће–љето карактерише интензивнији масени раст дужичасте пастрмке и значајније разлике садржаја пепела у месу рибе (0,90–1,65%). Садржај влаге (74,98–78,73%) и протеина (18,63–20,37%) исказују знатну варијабилност, узроковану просјечном масом анализираних јединки. Учешће масти у месу рибе износило је од 2,65% до 4,02%. Анализом хемијског састава меса дужичасте пастрмке просјечне индивидуалне масе 76–241 грама, гајене у сезони

прољеће–љето, нису констатована значајнија одступања садржаја влаге, протеина и пепела, без обзира на тип хранива, у складу са истраживањима Azevedo и сар. (2004), који наводе да исхраном јединки хранивима различитог садржаја протеина и масти не долази до значајне разлике садржаја воде, протеина, масти и пепела у месу рибе. Добијени резултати у сагласности су са наводима Shearer-a (1994) да се са растом риба мијења састав прираста, код младих риба у прирасту доминирају протеини и вода, а код старијих маст и протеини, док се удио воде смањује. Садржај масти у месу дужичасте пастрмке има уједначен тренд раста у свим третманима, а садржај протеина незнатан тренд раста. Повећање стопе раста нема значајнијих ефеката на учешће протеина, масти и пепела у месу рибе, док садржај влаге има тенденцију пада, што је у сагласности са наводима Storebakken-a и сар. (1991) да повећање стопе раста има мале ефекте на састав меса риба. Већи прираст масе рибе хранивене високоенергетском храном није повезан са већим укупним садржајем тјелесних масти у односу на нискоенергетска хранива при израженом колебању температуре воде, што је у супротности са наводима Dias и сар. (1999), Kaushik и Oliva-Teles (1985), Robert и сар. (1993) да је исхрана високоенергетском храном везана за већи укупни садржај тјелесних масти.

Равномјеран раст садржаја масти у месу рибе исхраном хранивима са различитим садржајем сирове масти (18–26%) гајене дужичасте пастрмке у кавезима није у сагласности са истраживањима Савића и сар. (2004), који наводе да је при просјечној температури воде од 8,3°C и исхраном дужичасте пастрмке хранивима са 22% и 28% СМ већи садржај масти у месу риба хранивима са 28% СМ. Констатоване разлике могу се тумачити израженим варирањима температуре воде у кавезном систему гајења (нарочито у љетном периоду), за разлику од константне температуре наведеног цитата, при чему више температуре условљавају интензивније метаболичке процесе у организму рибе и искориштавање масти за подмирење енергетских потреба, услед чега се мањи дио депонује као тјелесна компонента.

Растом дужичасте пастрмке садржај влаге у месу опада, код јединки индивидуалне масе 80–240 грама, износи 74,98–79,02%, садржај масти

расте и креће се 1,34–4,02% и протеина 18,37–20,37%, за разлику од навода Sevgili и сар. (2006) о 69–71% влаге и 9,5–11,6% масти, те Плавше и сар. (2000), који наводе да месо пастрмке садржи значајно већи садржај масти 7,02–8,27%.

## ЗАКЉУЧАК

Дужичаста пастрмка индивидуалне масе 84–173 грама, гајена у јесен–зиму не указује на значајнија одступања садржаја влаге, протеина и пепела у месу рибе, исхраном хранивима различите енергетске вриједности. Исхрана јединки хранивима 2, 3, 4, 5 и 6 не указује на зависност садржаја масти у месу и садржаја масти у храни, док је значајно нижи садржај масти у месу рибе исхраном јединки хранивом са најмањим учешћем сирове масти (14% СМ). Нема значајнијег одступања садржаја влаге, протеина и пепела у месу дужичасте пастрмке просјечне индивидуалне масе 76–241 грама, гајене у сезони прољеће–љето, исхраном хранивима различитог садржаја масти. Исхраном хранивима различитог учешћа енергетске компоненте садржај масти и протеина у месу дужичасте пастрмке има уједначен тренд раста, а садржај влаге тренд пада.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Azevedo, P. A., Leesona, S., Cho, C. Y., Bureau, D. P. (2004): Growth and feed utilization of large size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater: diet and species effects, and responses over time. *Aquaculture Nutrition* 10; 401–411.
2. Богут И., Хорват Л., Адамек З., Катавић И. (2006): *Рибогојство*. Изд. Пољопривредни факултет, Осиек.; Зденек Адамек, *Узгој салмонидних врста риба*, Свеучилиште Ческе Будејовице.
3. Bureau, D. P., Gunther, J. S., Cho, C. Y. (2003): Chemical Composition and Preliminary Theoretical Estimates of Waste Outputs of Rainbow Trout Reared in Commercial Cage Culture Operations in Ontario. *North American Journal of Aquaculture* 65; 33–38
4. Dias, J., Corraze, G., Arzel, J., Alvarez, M. J., Bautista, J. M., Lopez-Bote, C., Kaushik, S. J. (1999): Effet du rapport protéine/énergie des

- régimes alimentaires chez la truite et le bar d'élevage, *Perspectives de contrôle nutritionnel*, *Cybiu* 23 (suppl.) 113–125.
5. Hardy, R. W. (2002): Atlantic salmon, *Salmo salar*. In: Webster, C. D., Lim, C. (Eds.), CABI Publishing: *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CAB International, Wallingford, 184–202.
  6. Kaushik, S. J., Oliva-Teles, A. (1985): Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout, *Aquaculture* 50; 89–101.
  7. Larraín, C., Leyton, P., F. Almendras (2005). Aquafeed country profile – Chile and salmon farming. *International Aquafeed*, 8(1): 22–27.
  8. Плавша Нада, Балтић, М., Синовец, З., Јовановић Бранислава, Кулишић, Б., Петровић Јелена (2000): Утицај исхране оброцима различитог састава на квалитет меса калифорнијске пастрмке (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Савремено рибарство Југославије – монографија, радови саопштени на IV Југословенском симпозијуму „Рибарство Југославије“, Вршац–Београд*.
  9. Rasmussen, R. S., Ostensfeld, T. H., Ronsholdt, B. R., McLean, E. (2000): Manipulation of end-product quality of rainbow trout with finishing diets. *Aquaculture Nutrition*, Vol. 6, Issue 1, 17.
  10. Robert, N., Le Gouvello, R., Mauviot, J. C., Arroyo, F., Aguirre, P., Kaushik, S. (1993): Aliments extrudés en élevage intensif : effet du rapport protéine/énergie sur les performances d'élevage, la qualité de la chair et sur les rejets piscicoles, in: Kaushik S. J., Luquet P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*, INRA Editions, 497–500, Paris, France.
  11. Савић, Н., Микавица, Д., Грујић, Р., Бојанић, В., Вучић, Г., Мандић, С., Ђурица, Р. (2004): Хемијски састав меса дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss* Wal.) из рибањака Горњи Рибник, *Технологија меса*, вол. 45, бр. 1–2: 45–49, Београд.
  12. Sevgili, H., Emre, Y., Kanyilmaz, M., Diler, I., Hossu, B. (2006): Effects of mixed feeding schedules on growth performance, body composition, and nitrogen - and phosphorus balance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 36 (1): 49–55.
  13. Shearer, K. D. (1994): Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 11: 63–88.
  14. Storebakken, T., Hung, S. S. O., Calvert, C. C., Plisetskaya, E. M. (1991): Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. *Aquaculture*, 96(2), 191–203.
  15. Storebakken, T. (2002): Atlantic salmon, *Salmo salar*. In: Webster, C. D., Lim, C. (Eds.), CABI Publishing: *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CAB International, Wallingford, 79–102.

UDK 661.336:599.323.4:616-099

Miroslav Marković<sup>1</sup>, Dubravko Bokonjić<sup>2</sup>, Slavica Vučinić<sup>3</sup>, Bogdan Bošković<sup>4</sup>, Томислав Режић<sup>5</sup>

## UTICAJ NATRIJUM BIKARBONATA I STANDARDNIH ANTIDOTA NA ACIDO-BAZNI STATUS PACOVA TROVANIH MALATIONOM

### Kratak sadržaj

Razvoj efikasnih antidota u trovanju organofosforim jedinjenjima predstavlja konstantan naučnoistraživački izazov već nekoliko decenija. Terapija akutnih trovanja organofosforim insekticidima konvencionalno se bazira na primeni atropina, diazepama i oksima (reaktivatori holinesteraze) kao antidota. Iako je prošlo više od pola veka od uvođenja prvog reaktivatora holinesteraze, oksim koji bi bio jednako efikasan kod trovanja različitim tipovima organofosforim jedinjenja još nije pronađen.

Nijedan od testiranih oksima ne može se smatrati univerzalno pogodnim reaktivatorom. Dostupni oksimi, TBM-4, LUH-6, PAM-2, smatraju se nedovoljno efikasnim u trovanjima različitim nervnim bojnim otrovima, primarno somanom, što je dovelo, u poslednjim decenijama ovog veka, do intenzivne resinteze navedenih oksima u pojedinim zemljama sveta.

Uporedo sa istraživanjima koja imaju za cilj procenu efikasnosti oksima u terapiji akutnih trovanja organofosforim insekticidima, traga se za drugim terapijskim modalitetima. Kao alternativan način lečenja akutnih trovanja organofosforim insekticidima, na eksperimentalnom i humanom (4/5) modelu, premda na relativno malom broju pacijenata, proučavan je i efekat natrijum bikarbonata koji je dat kao infuzija kod trovanja organofosforim jedinjenjima. Rezultati ovih studija govore u prilog navedenoj infuziji natrijum bikarbonata u terapiji akutnog trovanja organofosforim jedinjenjima, uz naučno objašnjenje da se endogeno pojačava hidroliza molekula organofosfata i njegova brža eliminacija urinom.

Predloženi terapijski model primene natrijum bikarbonata u akutnim trovanjima organofosforim insekticidima originalan je i ima za cilj da proveri uticaj primene natrijum bikarbonata i posledične alkalizacije krvi na degradaciju i brzinu eliminacije organofosforim insekticida, te reaktivaciju serumske i eritrocitne holinesteraze.

**Ključne reči:** antidotska zaštita, acidoza, natrijum bikarbonat, malation, serumska i eritrocitna holinesteraza.

<sup>1</sup> Odeljenje za eksperimentalnu toksikologiju i farmakologiju, Institut za toksikologiju i farmakologiju, Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd.

<sup>2</sup> Institut za toksikologiju i farmakologiju, Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd.

<sup>3</sup> Klinika za urgentnu toksikologiju, Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd.

<sup>4</sup> Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd.

<sup>5</sup> Klinika za urgentnu toksikologiju, Nacionalni centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd.

Miroslav Marković<sup>6</sup>, Dubravko Bokonjić<sup>7</sup>, Bogdan Bošković<sup>8</sup>, Slavica Vučinić<sup>9</sup>, Tomislav Režić<sup>10</sup>

## THE EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF THE SUBSTITUTE OF THE INFUSION TREATMENT BY SODIUM BICARBONATE IN ACUTE RAT POISONING BY SOY WISTAR MALATION

### Abstract

Development of the efficient antidotes in organic phosphorus compounds poisoning has represented a constant scientific and research challenge for couple of decades now. The therapy of acute poisonings by organic phosphorus insecticides, are conventionally based on application of atropine, diazepam and oximes, as well as specific and standard antidotes. Although, almost more than half a century has passed since introduction of the first reactivator cholinesterase, the views upon its application haven't been coordinated yet.

None of the tested oximes can be considered as universally suitable reactivator. Available oximes, pralidoxime, and obidoxime are considered insufficiently efficient in poisonings by different nerve war poisons, primarily soman and cycloserine, which led to intensive resynthesis of the given oximes in certain countries of the world, in last decades of this century.

Together with the research which aims to evaluate efficiency of oximes in the therapy of acute poisonings by organic phosphorus insecticides, on experimental (Palaccio, 2000) and humane (Balali-Mood, 2002), model although on relatively small number of patients, a infusion effect of sodium bicarbonate as a supportive factor has been studied. The results of these studies are speaking in favor of the infusion of sodium bicarbonate in the therapy of acute poisoning by organic phosphorus compounds, together with scientific explanation that the hydrolysis of the molecules of organic phosphates is increasing endogenously and its urine elimination. Suggested therapy model of sodium bicarbonate application in cases of acute poisoning by organic phosphates is original and it aims to check the influence of application of sodium bicarbonate and resultant alcalinesation of blood to degradation and velocity of elimination organic phosphorus insecticides, and reactivation of serum and erythrocyte cholinesterase.

**Key words:** antidote protection, acidosis, sodium bicarbonate, malation, serum and erythrocyte cholinesterase.

---

<sup>6</sup> Experimental toxicology and pharmacology department, Toxicology and Pharmacology Institute, Poison Control National centre, Military Medical Academy Belgrade.

<sup>7</sup> Toxicology and Pharmacology Institute, Poison Control National centre, Military Medical Academy Belgrade.

<sup>8</sup> Toxicology and Pharmacology Institute; Poison Control National centre; Military Medical Academy Belgrade.

<sup>9</sup> Emergency Toxicology Clinic, Poison Control National centre, Military Medical Academy Belgrade.

<sup>10</sup> Emergency Toxicology Clinic, Poison Control National centre, Military Medical Academy Belgrade.

## UVOD

Organofosforni insekticidi su savremena sredstva za suzbijanje štetnih nametnika u poljoprivredi i šumarstvu, kao i za suzbijanje insekata i drugih parazita u komunalnoj higijeni, veterinarskoj medicini, zdravstvenim ustanovama i domaćinstvima. Njihova primena u svetu je veoma široka, sa tendencijom stalnog porasta potrošnje u zemljama u razvoju. Razvoj efikasne terapije protiv trovanja organofosfatima (OF) kao što je malation stalan je izazov tokom proteklih decenija. Karakteristični znaci i simptomi akutne OF intoksikacije proizlaze iz reverzibilne ili pak ireverzibilne inhibicije acetilholinesteraze (AChE) i prisustva holinergičkih kriza. U okviru spektra patofizioloških promena koje proističu iz akutne OF intoksikacije, stanje ventilatorne insuficijencije jasno predstavlja po život najopasniji elemenat njegove toksičnosti. OF indukovana ventilatorna insuficijencija manifestuje se: a) povećanim otporom u disajnim putevima i opstrukcijom prouzrokovanom bronhokonstrikcijom, laringospazmom i obilnim sekretom; b) neuromuskulatomnom blokadom muskulature povezane sa disajnim putevima; c) prestankom rada respiratornog centra u mozgu i, u završnoj fazi, smrću otrovanog pacijenta.

Standardna terapija trovanja OF bazirana je na primeni atropina, diazepama i oksima kao specifičnih protivotrova (24). Mehanizmi delovanja ovih lekova su dobro proučeni u terapijama akutnih trovanja OF, ali podaci o obnavljanju respiracije tek treba da budu proučivani. Atropin efikasno antagonizuje muskarinsko delovanje viška acetilholina. Nepoznanica je da li sadrži i neke dodatne efekte na nikotinska mesta, kao što su neuromuskulatorni preseci. Oksimi su dobro biohemijski organizovani kao reaktivatori infibisane AChE. Enzimski efekti reaktivacije slede u određenim vremenskim periodima i utiču na neaktivisanu AChE, bilo u krvi, tkivu ili serumu. Najlakše i najbrže se reaktivira acetilholinesteraza (AChE) crvenih krvnih zrnaca, a zatim u tkivima gde postoje individualne razlike u vremenu reaktivacije (mišići, mozak). Jedan od značajnih efekata OF je i da povećavaju propustljivost krvno-moždane barijere, a samim tim, u akutnim trovanjima OF, i distribuciju i patogene efekte na samom CNS pacijenta. Ova pojava pozitivno omogućava i bolji efekat hemijskih supstanci koje prolaze krvno-moždanu barijeru, a koriste se u akutnim trovanjima OF – bispirimidinijumski oksimi (6,26). Do danas, oksimi ne poseduju karakteristike „univerzalnog“

AChE reaktivatora. Stoga oksimi nisu podjednako efektni u antagonizaciji strukturalno različite toksičnosti OF. Dokazano je da su trenutno korišćeni oksimi, trimedoksim (TMB-4) i pralidoksima (PAM-2) i Luh-6 (Hi-6), vrlo efikasni antidoti u akutnim trovanjima, većinom OF insekticidima.

(12) Navedeni autori su izvestili stručnu javnost da alkalinizacija krvi pacijenta akutno otrovnog OF, i to na pH od 7,50, bitno poboljšava i skraćuje vreme razgradnje OF i povratak pozitivnih acido-baznih parametara otrovanog pacijenta u fiziološke granice. Rana istraživanja na ovu navedenu temu (11) pokazala su da predtretman bikarbonatima, uz standardnu terapiju kod pacova otrovanih diizopropil fosfatom, statistički značajno povećava terapijsku efikasnost pralidoksim hlorida, sa promenom pH krvi od 7,63 do 11,70. Da bi objasnili način delovanja bikarbonata, isti autori istražili su primenu koja vodi do značajnog povećanja distribucije oksima u tkivima pacijenata. Autori su zaključili da se bolja aktivacija infibisanog AChE u ciljanom tkivu dobila uvećavanjem očiglednog obima distribucije oksima u centralnim i perifernim delovima tela pacijenta.

Štaviše, došlo je do većeg stepena hidrolize OF kao estara fosforne kiseline na višim vrednostima pH odnosno na vrednostima alkalizacije krvi natrijum bikarbonatom. Takođe, izvestili su da je primena natrijum bikarbonata potencirala terapijsku aktivnost atropina kod akutnih trovanja (4–5). Prethodno objavljene studije na životinjskom modelu nagoveštavale su da potporna terapija natrijum bikarbonatom znatno smanjuje smrtnost kod trovanja životinja organofosfornim insekticidima (3).

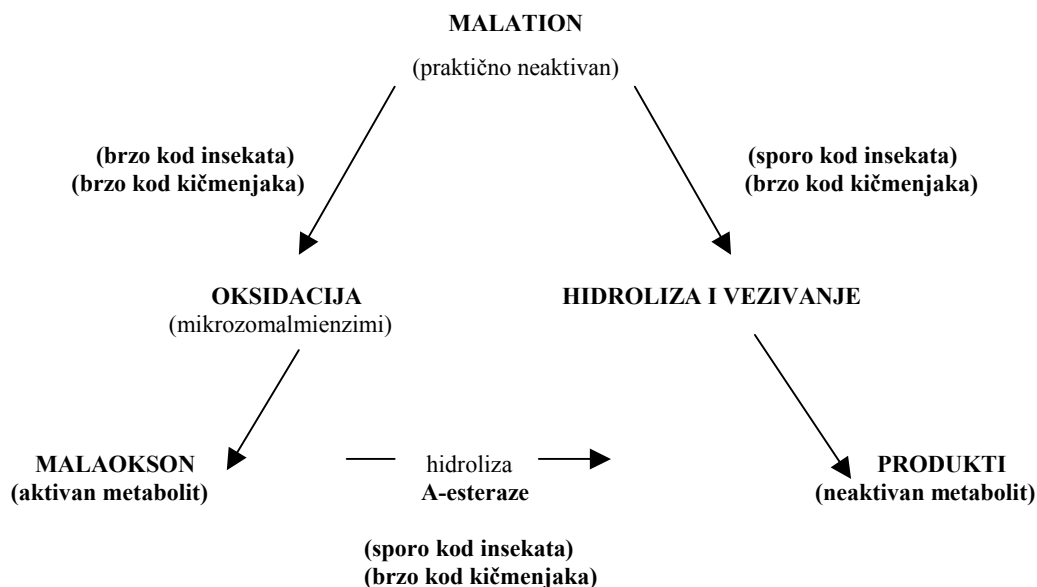
Bajgar je istražio potencijalno korisnu ulogu natrijum bikarbonata (4 mmol/l-ip.) kod eksperimentalnog trovanja pacova sa LD50 sarina (sc.), dihlora i piridostigmina. Utvrđeno je da je natrijum bikarbonat imao još bolji terapijski efekat u kombinaciji sa atropinom (im.).

Kliničari su dokazali uspešnost korišćenja infuzija natrijum bikarbonata u terapijama akutnog trovanja OF (4–5). U studiji koju je objavio Balali-Mood 2000. god., pacijenti sa poznatim OF trovanjima (suicidalna trovanja) tretirani su intravenozno atropinom i natrijum bikarbonatom (3 mEq/kg tokom jednog sata od prijema pacijenta pa po 3 mEq/kg u jednom litru dekstroze u toku celog dana do oporavka ili smrti). Sudeći po kliničkim rezultatima, autori su zaključili da bi infuzija natrijum

bikarbonata bila korisna u terapiji akutnih trovanja OF. Dalja iskustva navedenih autora sugerišu i visoke doze natrijum bikarbonata (5 mEq/kg prvih pet minuta, zatim ista koncentracija do oporavka ili smrti), da bi se brže dobila željena koncentracija i alkalinizacija od pH 7,50 krvi. Autori su preporučili da infuzija natrijum bikarbonata može biti kvalitetna potporna terapija akutnog trovanja OF insekticidima (4–5).

Malation kao organofosforni insekticid spada u grupu organotifosfata ili propesticida, indirektni je

inhibitor acetilholin esteraze i ima osobinu da se, kao svi pripadnici navedene grupe organofosfornih insekticida, prvo metabolizuje u jetri i drugim organima i tkivima u toksične metabolite i tek kao takav toksični metabolit malationa (izomalation, malaokson i dr.) inhibira eritrocitnu i tkivnu acetilholin esterazu u organizmu otrovanog. Bitna karakteristika ovog organotifosfornog insekticida jeste i njegova izvanredna selektivnost koja se zasniva na različitoj brzini njihove enzimatske razgradnje u organizmu insekata i kičmenjaka, što u konkretnom primeru malationa izgleda kao na crtežu 1.



**Crtež 1.** Biotransformacija malationa i relativna brzina enzimskih reakcija kod insekata i kičmenjaka

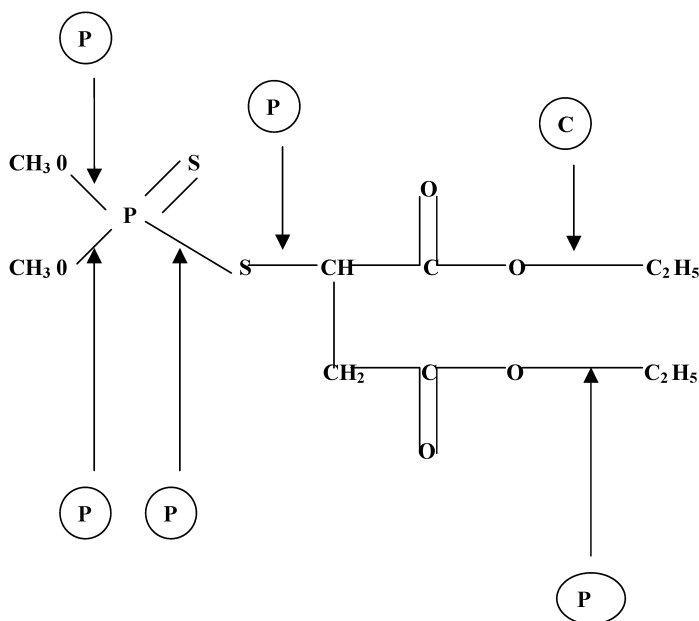
Ustanovljeno je da je toksičnost malationa oko 1000 puta veća za insekte nego za kičmenjake, i to iz dva razloga. Prvo, acetilholin esteraze visoko su aktivne kod kičmenjaka, a slabo aktivne kod insekata, tako da se malaokson akumulira i dugotrajno zadržava u organizmu insekata, a drugo, metabolička razgradnja malationa putem karboksil esteraza, kao i njegovo vezivanje za nespecifične strukture u organizmu (npr. alisteraze) daleko su intenzivnije kod kičmenjaka nego kod insekata.

Imajući u vidu visoku efikasnost za insekte, a relativno nisku toksičnost malationa za čoveka, čija se smrtna doza procenjuje na oko 60 grama po osobi (Arena, 1979), ovaj insekticid mogao bi se smatrati idealnim. Razlog zašto to u praksi nije sasvim tako jesu onečišćenja, i to u prvom redu izomalation.

Tako, na primer, pri primeni preparata malationa u eradikaciji malarije u Pakistanu, preparat je, usled veće koncentracije izomalationa od dozvoljene, izazvao masovno trovanje ljudi, pri čemu je od 7500 radnika bilo 2800 zatrovanih i petoro mrtvih (Baker

i sar., 1978). Naknadnom analizom ustanovljeno je da su upotrebljavani uzorci malationa sadržavali onečišćenje u daleko većim količinama od maksimalno dozvoljenih, i to u prvom redu malaoksena i izomalationa (Aldridge i sar., 1979). Fosfataze i karboksil esteraze, a posebno ovi drugi enzimi (prikazano na crtežu 2), veoma brzo razgrađuju malation u organizmu čoveka na neaktivne komponente. S obzirom na to da oralni LD<sub>50</sub> rekristalizovanog malationa kod pacova iznosi oko 10000 mg/kg, a malaoksena LD<sub>50</sub> 158 mg/kg, to znači da od 65 molekula malationa, samo jedna molekula biva metabolisana u

malaokson, dok 64 molekule bivaju inaktivirane u netoksične produkte. Međutim, u uslovima inhibicije karboksil esteraza 3,2 tolifosfatom, oralni LD<sub>50</sub> malaoksena penje se na čak 23 mg/kg, što, u odnosu na toksičnost malationa, predstavlja porast toksičnosti takvog onečišćenog preparata za 425 puta. Kako je izomalation direktni snažni inhibitor karboksil esteraza, to je onda jasno zašto pri kontaminaciji ljudi onečišćenim preparatima malationa dolazi do trovanja i posledičnog pomeranja enzimskog sistema čoveka ka enzimskom sistemu insekata.



**Crtež 2.** Strukturna formula malationa i moguća mesta njegove enzimske razgradnje u organizmu: C = karboksilesteraze; P = fosforilfosfotaze.

## MATERIJAL I METODE

**Hemikalije:** Malation je nabavljen i dobijen od firme „Galenika – Fitofarmacija“, prečišćavanjem je utvrđena tehnička čistoća od 95,00% aktivne supstance malationa, a 5,00% su predstavljale tehničke nečistoće i nosači nastali u tehnološkom procesu proizvodnje malationa. Pralidoksim je dobijen od Vojnomedicinske akademije, Beograd. Atropin sul-

fat kupljen je od Sigma hemijske kompanije, St. Luis MO, USA. Sve druge hemikalije korišćene u ovoj studiji kupljene su od legalnih komercijalnih izvora. Zalihe rastvora malationa čuvane su u hladnom režimu čuvanja, a oksim, kao čvrsta supstanca, rastvaran je neposredno pre aplikovanja.

**Animalni modeli:** U eksperimentu su korišćeni isključivo pacovi mužjaci, soja Wistar (180–240 g),

dobijeni od strane Farme experimentalnih životinja VMA. Pre upotrebe, svaka grupa ispitivanih pacova je bihejvioralno adaptirana, najmanje nedelju dana pre početka eksperimenta, na hranu, vodu i smeštaj. Protokol studije baziran je na Vodiču za životinjske studije br. 282-12/2002 (Etički komitet Vojnomedicinske akademije, Beograd, Srbija).

**Antidotska zaštita:** Da bi se proverio zaštitni efekat specifičnog protivotrova, otrovano je pet grupa eksperimentalnih životinja ( $n = 6$  po grupi), pa su

pacovi tretirani atropinom 10 mg/kg, im., oksimi 10mg/kg, im., diazepam 10 mg/kg, im. i natrijum bikarbonat 3mmol/l, ip. Ovaj navedeni koktel protivotrova je administriran ili kao samostalni režim (jedan na jednu grupu) ili kao kombinacija radi komparacije. Posle registracije preživljavanja od 24 sata, izračunate su srednje letalne doze (LD 50) prema metodi Litchfield i Wilcoxon sa 95% sigurnosti. Zaštitne indicije (Pis) izračunate su prema sledećoj jednačini:

$$PI \text{ (protivotrov)} = \frac{\text{LD50 (malation + protivotrov)}}{\text{LD50 (malationa)}}$$

**Biohemija:** U biohemijskim setovima eksperimenta utvrđivan je kompletni saturacioni status (ph,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ), oksimetrijski status (ct Hb,  $sO_2$ ,  $fO_2Hb$ , fCOHb, fHHb, FMet. Hb), metabolički status (c Glu, cLac, ct Bil), temperature korekcije prema telesnoj temperaturi pacova ( $pH$ ,  $pCO_2$ ,  $pO_2$ ), oksigeni status (ct Ox,  $p50c$ ) i acido-bazni status (c base (Ecf),  $cHCO_3$ ) – (P<sub>st</sub>)c arterijske krvi pacova. U prvom delu eksperimenta imalo se za cilj utvrđivanje optimalnog vremena koje je relevantno za procenu statističke značajnosti promene biohemijskih parametara arterijske krvi pacova, a drugi, kada se već utvrdilo 10-minutno vreme optimalizacije biohemijskih parametara arterijske krvi pacova, pacovi su ujedno trovani malationom sa 1,3 LD 50 malationa per os i odmah potom tretirani antidotskom terapijom i to atropinom 10 mg/kg im., oksimom 10 mg/kg im., 3 mmol/l natrijum bikarbonatom ip. i kao pojedinačni režim (grupa  $n = 6$ ) ili kao kombinacija jedan + jedan (grupa  $n = 6$ ).

**Analiza podataka:** Statistička vrednost dobijenih eksperimentalnih rezultata određena je statističkim metodama Student t-testa i Mann-Whitney U-testa, a razlike koje su bile značajne imale su korelacije  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ .

## РЕЗУЛТАТИ

**Antidotska zaštita:** Koadministracija natrijum bikarbonata statistički je značajno povećala zaštitne efekte standardne antidotske terapije kod pacova otrovanih sa 2,0 LD50 malationa. Dodatak natrijum bikarbonata statistički značajno je podigao zaštitni efekat (PI) atropina (1,72 puta), pralidoksima (2,27

puta) i diazepama (2,57 puta) i (2,86 puta) u kombinaciji svih antidota sa 3 mmol/l  $NaHCO_3$ .

**Biohemija:** U ovoj studiji, biohemijski eksperiment podeljen je u tri dela. Rezultati u prvom delu biohemijskog ispitivanja parametara u arterijskoj krvi pacova, pokazuju osnovne biohemijske parametre prve kontrolne grupe ( $n = 5$  pacova muž.) i zatim sledeće ispitivane grupe ( $n = 10$  pacova muž.), u kojoj je utvrđena srednja letalna doza malationa (LD<sub>50</sub> malationa) i prikazani biohemijski parametri uzorkovane arterijske krvi navedene ispitivane grupe, zatim prikaz ispitivanih gasnih parametara posle 10-minutne koadministracije natrijum bikarbonata u koncentraciji 3 mmol/l na telesnu masu pacova ( $n = 5$  pacova muž.).

Postavlja se hipotetičko pitanje – zašto baš biohemijski parametri arterijske krvi pacova posle 10-minutne aplikacije 3 mmol/l  $NaHCO_3$ , a ne neko drugo vreme i minutaža? Odgovor smo morali potvrditi i naći višestrukim aplikacijama 1 mmol/l, 2 mmol/l, 3 mmol/l i 4 mmol/l  $NaHCO_3$ . Vrednosti  $pO_2$  i  $pCO_2$  kod pacova tretiranih 3 mmol/l  $NaHCO_3$  u 0 minuta, 10 minuta, 20 minuta i 30 minuta. Koncentracija od 3 mmol/l  $NaHCO_3$  je molarno ekvivalentna i srazmerna puferskom kapacitetu arterijske krvi pacova i može adekvatno korigovati acidozu u alkalozu i u slučaju komparativne aplikacije fiziološkog rastvora. Ispitivanjem različitih molarnih koncentracija  $NaHCO_3$ , odnosno dozne zavisnosti na preživljavanje grupa od po pet ispitivanih pacova pri akutnom peroralnom trovanju sa 1,3 LD<sub>50</sub> malationa (3640 mg/kg) dobili smo sledeće rezultate:

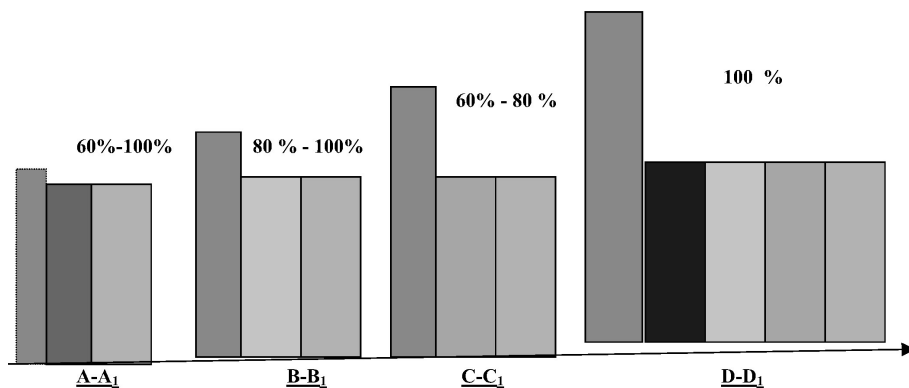
1. 1,3 LD<sub>50</sub> malationa + 1 mmol/l  $NaHCO_3$  = 4 uginula (80%) i 1 preživeo (20%);
2. 1,3 LD<sub>50</sub> malationa + 2 mmol/l  $NaHCO_3$  = 3 uginula (60%) i 2 preživela (40%);

3. 1,3 LD<sub>50</sub> malationa + 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> = 1 uginuo (20%) i 4 preživela (80%);

4. 1,3 LD<sub>50</sub> malationa + 4 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> = 4 uginula (20%) i 1 preživeo (80%).

**Toksikologija:** Ispitivanjem na deset pacova mužjaka, soja Wistar, težine od 290 do 300 g, utvrdili smo srednju letalnu dozu preparata Malation Fitofarmacija Galenika, koji nam je dostavljen sa propisa-

nom tehničkom čistoćom aktivne supstance od 95%, metodom po Litchfield-Wilkocsonu, i dobili smo da je LD<sub>50</sub> = 2800 mg/kg navedenog ispitivanog preparata.



#### Legenda:

A – 5 pacova + 2,6 LD<sub>50</sub> (7280 mg/kg) + atropin (10mg/kg im.) = 2 uginula (40%) i 3 preživela (60%);

A<sub>1</sub> – 5 pacova + 2,6 LD<sub>50</sub> (7280 mg/kg) + atropin (10mg/kg im.) + 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> (0,2 ml int. per.) = 5 preživelih (100 %);

B – 5 pacova + 3,9 LD<sub>50</sub> (10920 mg/kg) + oksim (10mg/kg im.) = 1 uginuo (20%) i 4 preživela (80%);

B<sub>1</sub> – 5 pacova + 3,9 LD<sub>50</sub> (10920 mg/kg) + oksim (10mg/kg im.) + 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> (0,2 ml int. per.) = 5 preživelih (100%);

C – 5 pacova + 2,6 LD<sub>50</sub> (7280 mg/kg) + diazepam (10mg/kg) = 2 uginula (40%) i 3 preživela (60%);

C<sub>1</sub> – 5 pacova + 2,6 LD<sub>50</sub> (7280 mg/kg) + diazepam (10mg/kg) + 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> (0,2 ml int. per.) = 1 uginuo (20%) i 4 preživela (80%);

D – 5 pacova + 5,2 LD<sub>50</sub> malationa (14560 mg/kg) + atropin (10mg/kg im.) + oksim (10mg/kg im.) + diazepam (10mg/kg) = 5 preživelih (100 %);

D<sub>1</sub> – 5 pacova + 5,2 LD<sub>50</sub> malationa (14560 mg/kg) + atropin (10mg/kg im.) + oksim (10mg/kg im.) + diazepam (10mg/kg) + 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> (0,2 ml int. per.) = 5 preživelih (100%).

**Grafikon 1.** Grafički prikaz procentualnog odnosa broja preživelih i uginulih pacova akutno otrovanih sa različitim dozama LD<sub>50</sub> malationa uz pojedinačnu antidotsku zaštitu i u kombinaciji sa više antidota i 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub>.

**Tabela 3. 1.** Uticaj 1,3 LD 50 (3640 mg/kg) malationa i različita milimolarnost  $\text{NaHCO}_3$  na parcijalni pritisak gasova u arterijskoj krvi pacova mužjaka u vremenskom intervalu od 6 sati i 24 sata po trovanju

| GASNI<br>PARA-<br>METRI          | KON-<br>TROLNA<br>GRUPA | MALATION<br>1,3 LD <sub>50</sub><br>(6 h) | MALATION<br>1,3 LD <sub>50</sub><br>(24 h) | $\text{NaHCO}_3$<br>1 mmol/l<br>10 min.<br>posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$<br>2 mmol/l<br>10 min.<br>posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$<br>3 mmol/l<br>10 min.<br>posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$<br>4 mmol/l<br>10 min.<br>posle i. p. |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| pH<br>1.                         | 7,10 ± 0,70             | 7,02 ± 1,02                               | 7,20 ± 0,78                                | 7,16 ± 0,35                                            | 7,13 ± 0,83                                            | 7,19 ± 0,50                                            | 7,19 ± 0,55                                            |
| pCO <sub>2</sub><br>(mmHg)<br>2. | 41,61 ± 10,90           | 32,06 ± 5,41                              | 44,69 ± 5,52                               | 41,92 ±<br>15,60                                       | 54,60 ± 6,04                                           | 46,82 ±<br>7,19                                        | 36,10 ±<br>10,52                                       |
| pO <sub>2</sub><br>(mmHg)<br>3.  | 41,52 ± 12,07           | 114,21 ±<br>25,13                         | 27,24 ± 5,61                               | 65,58 ±<br>24,99                                       | 53,17<br>± 11,52                                       | 41,82 ±<br>13,16                                       | 62,57 ±<br>37,60                                       |

|                               |                  |                 |                 |                  |                 |                  |                  |
|-------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| ctHb<br>(g/dl)<br>3.          | 11,40 ±<br>1,80  | 8,12 ± 0,70     | 13,72 ± 1,37    | 10,38 ± 4,04     | 14,82 ±<br>1,37 | 14,22 ± 1,82     | 9,35 ± 2,29      |
| fO <sub>2</sub> Hb<br>%<br>4. | 42,62 ±<br>16,77 | 88,9 ±<br>3,30  | 24,74 ±<br>9,00 | 61,35 ±<br>22,25 | 39,85 ±<br>8,12 | 43,27 ±<br>18,49 | 55,82 ±<br>25,41 |
| sO <sub>2</sub><br>%<br>5.    | 43,31 ±<br>17,81 | 94,20 ±<br>3,38 | 24,92 ±<br>9,21 | 64,35 ±<br>24,94 | 40,60 ±<br>8,50 | 44,27 ±<br>19,43 | 58,31 ±<br>27,70 |
| fCOHb<br>%<br>6.              | 1,20 ±<br>1,03   | 4,22 ±<br>0,20  | 0,11 ±<br>0,57  | 2,92 ±<br>1,62   | 1,08 ±<br>0,49  | 1,15 ±<br>1,08   | 2,63 ±<br>1,66   |
| fHHb<br>%<br>7.               | 55,78 ±<br>18,01 | 5,48 ±<br>3,19  | 74,76 ±<br>9,71 | 34,67 ±<br>24,41 | 58,58 ±<br>8,72 | 54,95 ±<br>19,79 | 40,72 ±<br>27,48 |
| fMetHb<br>%<br>8.             | 0,72 ±<br>0,22   | 1,37 ±<br>0,34  | 0,38 ±<br>0,16  | 34,67 ±<br>24,41 | 0,48 ±<br>0,17  | 0,63 ±<br>0,22   | 0,83 ±<br>0,41   |

### Legenda:

1. = pH arterijske krvi pacova;
2. = parcijalni pritisak CO<sub>2</sub> u arterijskoj krvi pacova (mmHg);
3. = koncentracija hemoglobina u arterijskoj krvi pacova (g/dl);
4. = procenat vezanog kiseonika za hemoglobin u arterijskoj krvi pacova (%);
5. = procenat saturacije kiseonika u arterijskoj krvi pacova (%);
6. = procenat ugljen monoksida vezanog za hemoglobin (%);
7. = procenat slobodnog hem-hemoglobina u arterijskoj krvi pacova (%);
8. = procenat met-hemoglobina u arterijskoj krvi pacova (%).

**Tabela 3. 2.** Uticaj 1,3 LD 50 (3640 mg/kg) malationa i različita milimolarnost  $\text{NaHCO}_3$  na metabolički status i acido-bazne parametre arterijske krvi pacova mužjaka u vremenskom intervalu od 6 sati i 24 sata po trovanju

| GASNI PARAMETRI      | KONTROLNA GRUPA | MALATION 1,3 LD <sub>50</sub> (6 h) | MALATION 1,3 LD <sub>50</sub> (24 h) | $\text{NaHCO}_3$ 1 mmol/l 10 min. posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$ 2 mmol/l 10 min. posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$ 3 mmol/l 10 min. posle i. p. | $\text{NaHCO}_3$ 4 mmol/l 10 min. posle i. p. |
|----------------------|-----------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| cGLU (mmol/l)<br>1.  | 4,08 ± 0,76     | 1,72 ± 0,45                         | 6,44 ± 1,82                          | 2,52 ± 0,65                                   | 3,00 ± 0,94                                   | 6,1833 ± 1,7769                               | 3,9000 ± 1,9078                               |
| cLAC (mmol/l)<br>2.  | 7,23 ± 1,65     | 4,08 ± 0,92                         | 7,00 ± 1,35                          | 5,38 ± 1,88                                   | 8,18 ± 0,64                                   | 7,60 ± 1,1                                    | 4,32 ± 0,89                                   |
| ctBIL (μmol/l)<br>3. | 0,17 ± 0,40     | 0,17 ± 0,40                         | -                                    | 0,17 ± 0,40                                   | -                                             | -                                             | -                                             |

|                            |              |              |              |              |              |              |              |
|----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| ctO <sub>2</sub> c %<br>1. | 6,67 ± 2,18  | 0,17 ± 0,40  | 4,71 ± 1,66  | 0,17 ± 0,40  | 8,33 ± 1,72  | 8,47 ± 3,22  | 6,87 ± 2,15  |
| pbOc (mmHg)<br>2.          | 44,81 ± 5,80 | 41,98 ± 4,34 | 41,58 ± 2,66 | 45,49 ± 9,04 | 60,03 ± 5,96 | 44,03 ± 2,28 | 44,80 ± 6,66 |

|                                  |               |              |               |               |              |              |               |
|----------------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| cBase (mmol/l)<br>1.             | -15,42 ± 2,23 | -9,21 ± 3,71 | -21,03 ± 2,55 | -12,58 ± 6,55 | -9,97 ± 4,58 | -9,25 ± 4,22 | -12,95 ± 5,94 |
| cHCO <sub>3</sub> (mmol/l)<br>2. | 11,37 ± 1,38  | 15,28 ± 2,71 | 8,52 ± 1,68   | 13,47 ± 4,05  | 14,33 ± 2,96 | 15,37 ± 2,49 | 13,55 ± 3,63  |

### Legenda:

1. koncentracija glukoze u arterijskoj krvi pacova (mmol/l);
2. koncentracija laktoze u arterijskoj krvi pacova (mmol/l);
3. koncentracija bilirubina u arterijskoj krvi pacova (μmol/l).
1. koncentracija hemoglobina u arterijskoj krvi pacova (g/dl);
2. procenat vezanog kiseonika za hemoglobin u arterijskoj krvi pacova (%).
1. koncentracija vezanog baznog puferskog potencija u krvi pacova (mmol/l);
2. koncentracija slobodnog bikarbonatnog jona u krvi pacova (mmol/l).

**Tabela 3. 3.** Vrednosti  $p\text{O}_2$  i  $p\text{CO}_2$  kod pacova tretiranih sa 3 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$  u 0 minuta, 10 minuta, 20 minuta i 30 minuta

| Vreme uzorkovanja arterijske krvi pacova posle aplikacije 3 mmol/l $\text{NaHCO}_3$ (min.) | $p\text{O}_2$ (kPa)  | $p\text{CO}_2$ (kPa) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|
| 0                                                                                          | 15,20 ± 4,68         | 4,66 ± 0,47          |
| 10 <b>a</b>                                                                                | 9,62 ± 2,81 <b>a</b> | 5,54 ± 0,93 <b>a</b> |
| 20 <b>b</b>                                                                                | 9,86 ± 3,05 <b>b</b> | 5,33 ± 1,08 <b>b</b> |
| 30                                                                                         | 11,78 ± 0,79         | 4,89 ± 0,37          |

**a-b < 0.05 vs = min**

**Tabela 3. 4.** *Acido-bazni status baziran na vrednostima kiselinskog puferskog sistema kod pacova tretiranih sa 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> u 0 minuta, 10 minuta, 20 minuta i 30 minuta*

| Vreme uzorkovanja<br>arterijske krvi pacova<br>posle aplikacije 3 mmol/l<br>NaHCO <sub>3</sub> (min.) | ct CO <sub>2</sub><br>(mmol/l)       | ct CO <sub>2</sub><br>(mmol/l)      | c Lac.<br>mmol/l                    | pH            | c Base<br>(Ect) c.<br>(mmol/l)       | c HCO <sub>3</sub><br>(mmol/l)       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 0                                                                                                     | 31,60 ± 2,24                         | 4,10 ± 0,89                         | 8,20 ± 0,58                         | 7,049 ± 0,27  | 18,00 ± 0,78                         | 9,50 ± 1,23                          |
| 10                                                                                                    | 44,20 ± 2,93<br><b>a<sub>2</sub></b> | 3,60 ± 2,30<br><b>a<sub>1</sub></b> | 7,40 ± 0,55<br><b>a<sub>1</sub></b> | 7,121 ± 0,05  | 13,80 ± 0,56<br><b>a<sub>1</sub></b> | 12,60 ± 0,38<br><b>a<sub>1</sub></b> |
| 20                                                                                                    | 28,10 ± 3,89<br><b>a</b>             | 4,80 ± 2,06<br><b>a</b>             | 8,50 ± 0,78<br><b>a</b>             | 7,182 ± 0,97  | 10,00 ± 0,69<br><b>a</b>             | 15,00 ± 1,47<br><b>a</b>             |
| 30                                                                                                    | 26,13 ± 2,89                         | 8,30 ± 2,30                         | 5,80 ± 0,80                         | 7,269 ± 0. 67 | 2,30 ± 0. 96                         | 19,80 ± 1,32                         |

**a, a<sub>1</sub> a<sub>2</sub> < 0,05; 0,001; 0,001 vs 0 min.**

**Tabela 3. 5.** *Komparativni pregled vrednosti p O<sub>2</sub> i p CO<sub>2</sub> u arterijskoj krvi ispitivanih pacova tretiranih pojedinačnim antidotskim preparatima i u kombinaciji*

| Tretman                                                                                                               | p O <sub>2</sub> (kPa)               | p CO <sub>2</sub> (kPa)               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| kontrolna grupa                                                                                                       | 15,02 ± 4,34                         | 4,52 ± 0,61                           |
| 3 mmol/l NaHCO <sub>3</sub>                                                                                           | 9,42 ± 2,71<br><b>a</b>              | 5,40 ± 0,82<br><b>a</b>               |
| 1,3 LD50 malationa                                                                                                    | 2,73 ± 2,87<br><b>a<sub>1</sub></b>  | 10. 28 ± 4,24<br><b>a<sub>2</sub></b> |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg)                                                                             | 3,33 ± 2,73<br><b>a<sub>1</sub></b>  | 10,28 ± 4,24<br><b>a<sub>2</sub></b>  |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg) +<br>NaHCO <sub>3</sub> (3mmol/l)                                           | 6,00 ± 3,88<br><b>a</b>              | 5,98 ± 1,23<br><b>a</b>               |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg) + PAM -2 (10mg/kg)                                                          | 10,11 ± 2,98<br><b>b<sub>1</sub></b> | 9,89 ± 3,54<br><b>b<sub>1</sub></b>   |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg) + PAM -2 (10mg/kg)<br>+ NaHCO <sub>3</sub> (3mmol/l)                        | 15,89 ± 3,45<br><b>b</b>             | 7,87 ± 3,78<br><b>b</b>               |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg) + PAM -2 (10mg/kg)<br>+ diazepam (10mg/kg)                                  | 12,34 ± 4,35<br><b>b<sub>2</sub></b> | 10. 87 ± 3,98<br><b>b<sub>2</sub></b> |
| 1,3 LD50 malationa + atropin<br>(10mg/kg) + PAM -2 (10mg/kg)<br>+ diazepam (10mg/kg + NaHCO <sub>3</sub><br>(3mmol/l) | 17,98 ± 4,78<br><b>b</b>             | 8,89 ± 3,76<br><b>b</b>               |

**a, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub> < 0,05; 0,01; 0,001 značajno se razlikuje od ispitivane grupe sa fiziološkim rastvorom**  
**b,b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub> < 0,05; 0,01; 0,001 značajno se razlikuje od ispitivane grupe sa malationom**

**Tabela 3. 6.** Komparativni acido-bazni status baziran na vrednostima kiselinog puferskog sistema kod pacova tretiranih 1,3 LD<sub>50</sub> malationom, 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub>, atropinom, PAM-2, i diazepamom

| Tretman                                                                                                     | ct CO <sub>2</sub><br>(mmol/l)    | Beb<br>(mmol/l)                  | SCB<br>(mmol/l)                   | pH                      | c Base<br>(Ect) c.<br>(mmol/l)   | sO <sub>2</sub> c<br>%                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| fiziološki<br>rastvor                                                                                       | 23,08 ± 2,19                      | -0,52 ± 1,86                     | 24,98 ±<br>1,30                   | 7,049                   | -2,16 ±<br>2,01                  | 98,65 ±<br>1,62                                     |
| NaHCO <sub>3</sub><br>(3 mmol/l)                                                                            | 31,06 ±<br>2,93 a <sub>2</sub>    | 6,24 ±<br>3,78 a <sub>1</sub>    | 29,64 ±<br>3,01 a <sub>1</sub>    | 7,121<br>a <sub>1</sub> | 6,00 ± 3,89<br>a <sub>1</sub>    | 92,50 ±<br>5,93 a <sub>1</sub>                      |
| 1,3 LD <sub>50</sub><br>malationa                                                                           | 25,51 ± 2,01                      | -7,25 ± 5,50 a                   | 17,31 ±<br>5,11 a <sub>1</sub>    | 7,005<br>a <sub>1</sub> | -6,53 ±<br>4,57                  | 31,00 ±<br>7,34 b <sub>1</sub>                      |
| 1,3 LD <sub>50</sub><br>malationa +<br>atropin                                                              | 24,60 ±<br>3,99<br>b              | -7,13 ±<br>6,80<br>a             | 17,63 ±<br>5,11<br>a <sub>1</sub> | 7,237<br>a              | -6,71 ±<br>4,57                  | 38,05 ±<br>29,69                                    |
| 1,3 LD <sub>50</sub><br>malationa +<br>atropin + PAM<br>-2                                                  | 28,39 ±<br>2,93                   | 2,05 ±<br>2,40                   | 25,71 ±<br>1,81                   | 7,247<br>b              | 1,71 ±<br>2,78                   | 69,88 ±<br>14,49<br>a <sub>1</sub> , b <sub>1</sub> |
| 1,3 LD <sub>50</sub><br>malationa +<br>atropin + PAM<br>-2 + diazepam                                       | 28,49 ±<br>2,93<br>b <sub>2</sub> | 2,55 ±<br>2,40<br>a <sub>2</sub> | 25,91 ±<br>1,81<br>a <sub>2</sub> | 7,267<br>b              | 2,71 ±<br>2,78<br>a <sub>2</sub> | 69,88 ±<br>14,49<br>a <sub>1</sub> , b <sub>1</sub> |
| 1,3 LD <sub>50</sub><br>malationa +<br>atropin + PAM<br>-2 + diazepam<br>+ NaHCO <sub>3</sub><br>(3 mmol/l) | 30,80 ± 3,90<br>b, c              | -3,98 ±<br>5,96                  | 21,76 ±<br>4,72                   | 7,170                   | 5,70 ±<br>5,75                   | 92,25 ± 3,88<br>b <sub>1</sub>                      |

**a, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub> < 0,05; 0,01; 0,001 značajno se razlikuje od grupe sa fizioloških rastvorom**

**b, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub> < 0,05; 0,01; 0,001 značajno se razlikuje od grupe sa malationom**

**značajno se razlikuje od grupe sa malationom + PAM/2 i atropinom + diazepam**

## DISKUSIJA

Procena podataka demonstrira da su atropin + PAM -2 + diazepam + natrijum bikarbonat, korišćeni kao koktel protivotrova kod akutnog trovanja malationom (OF insekticid), davali bolja i statistički značajna poboljšanja u svim testiranim biohemijskim parametrima arterijske krvi pacova, nego u administraciji pojedinačnih navedenih protivotrovnih supstanci i u administraciji njihovih kombinacija. Relativni postojeći pomaci u poboljšanju funkcija periferne neuromuskulature i reaktivnosti centralnonervne acetilholinesteraze još uvek su predmet naučnog izučavanja i istraživanja i tu nema statistički značajnih parametara u ovoj studiji u cilju dokazivanja kliničkog pozitivnog ishoda (Changet 1990, Worek 1994, Tayesse 2003). Podaci predsta-

vljeni u rezultatima jasno pokazuju da koadministracija 3 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> u kontinuiranoj infuziji dovodi do poboljšanja gasnih parametara arterijske krvi pacova uz konvencionalnu antidotsku terapiju akutnog trovanja organofosfatnim insekticidima, konkretno malationom. Malation je veoma lipofilna supstanca i dobro prolazi centralnu moždanu barijeru i difunduje u sve strukture CNS, te time veoma depresivno deluje na respiratorne centre u produženoj kičmenoj moždini i posledično izaziva depresiju respiratornih organa pacijenta i samu smrt. Testirane vrednosti u ovoj pretkliničkoj studiji pokazale su promenu vrednosti gasnih parametara arterijske krvi pacova, i to: povećanje koncentracije p CO<sub>2</sub> i smanjenja p O<sub>2</sub> što je klinički prouzrokovalo respiratornu acidozu kod ispitivanih pacova mužjaka soja Wistar blu. U prethodnim studijama koje su se

koristile kao animalni model, domaće svinje rase landras koje su bile izložene VX otrovima (koji takođe spadaju u grupu organofosfornih jedinjenja), pokazale su statistički značajno povećanje jona  $K^+$ , neorganskih fosfata,  $p\ CO_2$ ,  $t\ CO_2$ , i te vrednosti su ispitane u momentu apnoje pri niskom pH arterijske krvi (acidoze) (Chilcott RP 2003). Kod Bajgera (2001) i Balali-Mooda (2000), pH arterijske krvi pacijenata tokom intoksikacije organofosfornim insekticidima bio je nizak (acidoza). Dobijeni rezultati u studiji koja je provedena pod autorstvom Stefanovića (2003), takođe pokazuju identična naučna saznanja u vezi sa pozitivnim kliničkim efektom aplikacije  $NaHCO_3$  kao infuzionog potpornog rastvora.

Aplikacijom 3 mmol/l  $NaHCO_3$  u kombinaciji sa atropinom (10 mg/kg im.), diazepamom (10 mg/kg im.) i oksimima dobila se statistički značajna pozitivna korekcija gasnih parametara u arterijskoj krvi pacova akutno otrovanog malationom. Dodatno delovanje oksima koji se koriste javlja se usled reaktivacije dijafragmalne acetilholinesteraze i efekta na aktivnost.

## ZAKLJUČAK

Kada se ova studija i prethodne studije uporede po postavljenoj naučnoj hipotezi, da natrijum bikarbonat u infuzionom rastvoru pomaže kod korekcije acido-baznog statusa i vraćanja gasnih parametara arterijske krvi pacova na normalne fiziološke granice, adekvatan, naučno dokazan i eksperimentalno potvrđen odgovor bi bio – da, pomaže i statistički značajno pozitivno utiče na vraćanje gasnih parametara arterijske krvi pacova sa pretpostavkom da na isti način pozitivno deluje i u humanoj terapiji akutno otrovanih organofosfornim insekticidima, konkretno malationom u našem slučaju.

## LITERATURA

1. Antonijević B., Stefanović D., Bokonić D., Milovanović Z., Stojiljković M., Nedeljković M., Uticaj sode bikarbone i standardnih protivotrova na kiselo-baznoj osnovi kod pacova otrovanih dihlorfosom. *Jugos. Med. Biohem.* 2004; 23 (2), 165–170.
2. Antonijević B., Stefanović D., Milovanović Z., Stojiljković M., Bokonić D., Đukić M., *Standardni protivotrovi u kombinaciji sa natrijum bikarbonatom u organofosfatnim trovanjima*. CB
3. Bošković B., *Pesticidi – toksikologija i terapija trovanja*; Insitut zaštite „Beograd“, 1980.
4. Bajgar J., Lečenje intoksikacija sa odabranim organofosfatima i karbamatima: poređenja različitih terapijskih pristupa. *CBMTS procedure – Industrija II*, Svetski kongres o hemijskom i biološkom terorizmu (2001): 22–27 april, Dubrovnik, 180–184.
5. Balali-Mood M., Shahab-Ahmadi A., Salimifar M., Shariate M., *Uticaj natrijum bikarbonata u humanim organofosfornim trovanjima*. Treći simpozijum o hemijskim i biološkim medicinskim tretmanima. (2000); 7–12 maj, Spiez, Švajcarska, pp. 1-4.
6. Balali-Mood M., Ayati MH., Ali-Akbarian H., *Uticaj velikih doza natrijum bikarbonata u akutnom organofosfornom trovanju pesticidima*. Četvrti simpozijum o biološkom i medicinskom tretmanu (2002); 28 april – 3 maj, Spiez, Švajcarska, 21–25.
7. Bismuth C., R. H. Inns., Marss T. C. Toksičnost i kliničko korišćenje oksima u antiholinesternom trovanju. *Klinička i eksperimentalna toksikologija organofosfatima i karbamatima*. Ed. : B. Ballantyne & T. C. Marss. Butterworth-Heinemann, Oxford, 1992; 555–557.
8. Chang F. C. T., Foster R. E., Beers E. T., Rickett D. L., Filberg M. G. Nefiziološki prateći efekti somatskog indukovano gašenja disanja kod budnih gvinejskih svinja. *Toxicol & Appl. Pharmacol.* (1990); 102: 233–250.
9. Chillcot R. P., Dalton C. H., Hill I., Davidson C. M., Blohm K. L., Hamilton M. G. Kliničke manifestacije VX trovanja praćene perkutanom izloženošću kod domaćih belih svinja. *Hum. Exp. Toxicol.* (2003); 255–261.
10. Dollery C., *Therapeutic Drugs*; second edition; 1999.
11. Dunn M. A., Sidell F. R. Napredak u medicinskoj odbrani od nervnih agenasa. *J. Am. Med. Assoc.* (1989); 262 (5): 649–652.
12. Heath A. J. W., Merdith T. (1992): Atropin u rukovođenju antiholinesternim trovanjima, U:

Četvrti sipmozijum Medicinskog lečenja, 28 april – 3. maj, Spiez, Švajcarska 2002; 12–16.

- Klinička i eksperimentalna toksikologija organofosfatima i karbamatima*. Ed. B. Ballantyne & T. C. Marrs, Butterworth-Heinemann, Oxford (1992); 543–555.
13. Jeevarathinam K., Ghosh A. K., Das Gupta S. Farmakokinetika pralidoksim hlorida i njegova povezanost sa terapijskom efikasnošću protiv diisopropil fluorofosfatnom intoksikacijom kod pacova. *Pharmazie* (1998); 43: 114–115.
  14. Jokanović M., Kosanović M., Maksimović M., Interaction of organophosphorus compounds with carboxyesterases in the rat, *Arch Toxicol* (1996) 70 : 444–450.
  15. Karalliedde L., Szinicz, Upravljanje organofosforinim sastojcima trovanja . In. *Organofosfati i zdravlje*. ED: L., Karalliedde, S., Feldman, J., Henry & T., Marss, Imperial College Press (2001); 257–294.
  16. Leadbeater L. Kad sve drugo ne uspe. *Chem.* (1949); 24: 683–686.
  17. Litchfield J. T., Wilcoxon F. Pojednostavljen metod evaluacije kod eksperimenata sa doza efektom. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1949); 96: 99–113.
  18. Malathion. M: American Hospital Formulary Service (AHES), drug information (McEvoy KG, ed) AM Soc. of Health-system Pharmacists, Bethesda, USA; 2009; 51: 3565–3669.
  19. Taysse L., Calvet J. H., Buee J., Christin D., Delamanche S., Breton P., *Toxicol.* (2003); 188: 197–209.
  20. Loomis T., *Essentials of toxicology*; LeaFebiger; Philadelphia 1974.
  21. Vučinić S., Todorović V., Potrebić O., Jović-Stošić J., Srnić D., Đorđević D., Babić G., *Mehanička ventilacija u trovanju organofosforinim insekticidima*. Zbornik radova 14. Savetovanja veterinara Srbije sa međunarodnim učešćem. Zlatibor (2002); 329–331.
  22. Vučinić S., *Evaluation of pralidoxime methylsulphate effect in organophosphate insecticide poisoning: clinical controversies*. Proceedings of CBMTS V, Spietz (2004), Switzerland.
  23. Vučinić S., Akutna trovanja pesticidima. *Urgentna medicina*, „Obeležja“ (2002); 1174–1184.
  24. Vučinić S., Joksović D., Jovanović D., Vučinić Ž., Todorović V., Factors influencing the degree and outcome of acute beta-blockers poisoning. *Vojnosanitetski pregled* (2000); 619–623.
  25. Vučinić S., Šegrt Z., Todorović B., Marković M. Paraquat poisoning: a case series. *Programme and abstracts XXV EAPCCT Congress* (2005).
  26. Vučinić S., Todorović V., Đorđević D., Srnić D., Potrebić O., Jovanović M., *Smrtnost u akutnim trovanjima insekticidima*. Četvrta Beogradska konferencija o suzbijanju štetnih artropoda i glodara. Zbornik radova. (2000); 211–217.
  27. Vučinić S., Joksović D., Todorović V., Šegrt Z., Potrebić O., Jovanović M., Režić T., Đorđević D., *Acute organophosphate insecticide poisoning: antidotes and intensive care management*. EAPCCT Congress, Programme and abstracts, Rome May (2003).
  28. Vučinić S., Jovašević-Stojanović M., Vučinić Ž., Šegrt Z., Đorđević D. *Acute herbicide poisonings: the role of the National Poison Control Centre*. International Conference on rural Health in Mediterranean and Balkan Countries. Bari. Book of abstracts. (2002).
  29. Willems J. L., Belpaire F. M. *Klinička i eksperimentalna toksikologija organofosfata i karbamata*. ED: Ballantyne B., & Marss T. C., Butterworth – Heinemann, Oxford (1992); 536–542.
  30. Worek F., Kirchner T., Szinicz L. (1994): Uticaj atropina, LuH-7 i LuH-6 na funkcije disanja i cirkulacije kod gvinejskih svinja otrovanih O-etil-S-2-(diisopropilamino)-etil-metilfosfonotioatom (VX otrovom). *Pharmacology & Toxicology* (1994); 75: 302–309.
  31. Worek F., Kirchner T., Backer M., Szinicz L., (1996): Reaktivacija različitih oksima ljudskih eritrocita acetilholinesterazom inhibisanih različitim organofosforinim jedinjenjima. *Arch. Toxicol.* (1996); 70: 497–503.

UDK 639.33.043:639.21

Н. Савић<sup>1</sup>, Д. Микавица<sup>1</sup>, З. Марковић<sup>2</sup>, Д. Матаругић<sup>1</sup>

## УТИЦАЈ TEMПЕРАТУРЕ ВОДЕ И ХРАНИВА РАЗЛИЧИТЕ ЕНЕРГЕТСКЕ ВРИЈЕДНОСТИ НА МОРТАЛИТЕТ ДУЖИЧАСТЕ ПАСТРМКЕ (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) ГАЈЕНЕ У КАВЕЗИМА

### Кратак садржај

Експеримент је реализован у два одвојена циклуса (јесен–зима и прољеће–љето) у кавезној фарми „Тропик рибарства“ која је лоцирана у воденој акумулацији Бочац, у трајању од 90 дана по циклусу, са дужичастом пастрмком (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) почетне масе  $\bar{x} = 95,3$  g – I циклус и  $\bar{x} = 96,1$  g – II циклус, истом насадном масом (400 kg рибе по третману) и исхраном са шест хранива различите енергетске вриједности. Водене акумулације карактерише изражена варијабилност физичких и хемијских својстава воде (дневне и сезонске варијације). Поред изражених колебања основних чинилаца квалитета воде, у појединим периодима године екстремне температуре воде представљају ограничавајући чинилац за гајење дужичасте пастрмке у кавезима. У периоду октобар–јануар највећи морталитет броја јединки (5,08%) констатован је у третману 1, а најмањи (2,60%) у третману 5. Период април–јул карактерише највећи морталитет броја јединки (2,64%) у третману 6, а најмањи (1,98%) у третману 1. Растом температуре воде и норми исхране у прољеће–љето расте и стопа морталитета, што указује на већу осјетљивост јединки при интензивнијим метаболичким процесима на стресне ситуације, као што су динамична промјена температуре воде, велике разлике по вертикалном нивоу воденог стуба, интензивнија исхрана и манипулација рибом. Хранива са различитим садржајем масти немају утицаја на угинуће дужичасте пастрмке уколико је исхрана у складу са масом рибе и температуром воде.

**Кључне ријечи:** температура воде, хранива, морталитет, дужичаста пастрмка, кавези.

N. Savić, D. Mikavica, Z. Marković, D. Matarugić

## INFLUENCE OF WATER TEMPERATURE AND NUTRIENT VALUES OF VARIOUS ENERGY ON MORTALITY RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM, 1792) GROWN IN CAGES

### Abstract

The experiment was performed in two separate cycles (autumn-winter and spring-summer) in cages farm of "Tropic fisheries", which is located in a water accumulation Bočac, for a period of 90 days/cycle, with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) initial mass  $\bar{x} = 95.3$  g - I cycle and  $\bar{x} = 96.1$  g - II cycle, the same plantation (400 kg fish/treatment) and 6-nutrient diet different energy values. Water reservoir is characterized by marked variability of physical and chemical properties of water (the daily and seasonal

<sup>1</sup> Пољопривредни факултет Универзитета у Бањој Луци.

<sup>2</sup> Пољопривредни факултет Универзитета у Београду.

variations). Apart from the major emerging fluctuations of water quality, in certain periods of the extreme water temperatures are the limiting factor for cultivation of rainbow trout in cages. In the period from October to January the highest mortality rate of 5.08% of individuals noted in the treatment of 1, and the lowest 2.60% in the treatment of 5. The period April-July is characterized by the highest mortality of individuals from 2.64% in treatment 6, and the lowest 1.98% in the treatment of 1. Increase in water temperature and diet in the spring-summer growth and mortality rates, suggesting higher sensitivity of individuals with more intensive metabolic processes in stressful situations, such as dynamic changes in water temperature, large differences in the vertical level of the water column, intensive diet and manipulation in fish. Nutrients with various fat contents have no influence on mortality if the rainbow trout diet in accordance with the mass of fish and water temperature.

**Key words:** water temperature, feed, mortality, rainbow trout, cages.

## УВОД

Један од начина повећања биопродуктивности водних потенцијала јесте интензивно гајење рибе у кавезима, које у БиХ почиње да добија на значају последњих двадесетак година, али није било детаљнијих проучавања утицаја варијабилних услова средине и хранива различите енергетске вриједности на морталитет гајене дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Водене акумулације карактерише вертикална термичка стратификација воде током љетног периода, а изражена температурна колебања воде утичу на брзину метаболичких процеса у организму рибе.

Дужичаста пастрмка подноси широк распон температуре, а екстремне температурне границе могу се толерисати у краћем периоду (Cain и Garling, 1993). Гранична температура за преживљавање дужичасте пастрмке је доста широка – доња је 0,56°C, а горња 25,6°C (Piper и сар., 1982), 25–27°C (Sedgwick, 1985), >25°C (Stevenson, 1987), <24°C (Brannon, 1991), >26,5°C (Barton, 1996), 26,0°C (Bear, 2005), 24–25°C (Адамек, 2006). Морталитет гајене дужичасте пастрмке индивидуалне масе од 100 до 200 g износи 2% (Дреџун, 1977). Морталитет дужичасте пастрмке масе 70–450 g при просјечној температури воде од 8,3°C и исхраном хранивима са 22% и 28% сирове масти је у границама од 1,31% до 1,95% (Савић и сар., 2003). Интензивирањем производње дужичасте пастрмке природна храна изгубила је на значају и у потпуности је замијењена комплетним фабри-

чким хранивима. Неадекватна исхрана резултира повишеним трошковима и ниском производњом, деградацијом квалитета воде и могућношћу појаве болести. Здравствени статус рибе може се пратити преко индекса кондиције по Фултону (K), показатеља ухрањености јединки различитих дужина, јер може упућивати на појаву болести и стреса код риба прије физичких знакова.

Циљ рада је анализа утицаја температуре воде и хранива различитог садржаја масти на морталитет дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss*) гајене у кавезима.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Експеримент је реализован у кавезном рибогјилишту „Тропик рибарство“ у воденој акумулацији Бочац у два циклуса са истим временским трајањем (90 дана/циклус, укупно 180 дана) и узрасном категоријом претконзумне дужичасте пастрмке. Први циклус реализован је у јесен–зиму (октобар–јануар), а II у прољеће–љето (април–јул), са истом методологијом и хранивима, а јединке су биле сличне почетне просјечне масе,  $x = 95,3 \text{ g}$  – I циклус и  $x = 96,1 \text{ g}$  – II циклус. Димензије кавеза су  $5 \times 5 \text{ m}$ , површине  $25 \text{ m}^2$ , а с обзиром на то да су коришћене мреже дубине 7 m, производна запремина је износила  $162,5 \text{ m}^3$  по кавезу, док је насад рибе износио 400 kg по третману.

Температура воде (°C) мјерена је свакодневно термо-оксиметром са сондом на продужном каблу (Oxy Guard, Данска) на 1, 2 и 3 m дубине.

**Табела 1.** Састав коришћених хранива

| Хранива                                | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         |
|----------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Сирови протеини/сирова маст (СП/СМ), % | 44/14     | 48/26     | 42/22     | 42/23     | 44/26     | 42/18     |
| Укупна енергија (MJ)                   | 20,4      | 23,8      | 21,8      | 22,3      | 23,2      | 21,0      |
| Сварљива/метаболич. енергија (MJ)      | 17,7/15,7 | 21,9/19,6 | 19,3/17,4 | 20,3/18,3 | 20,9/18,9 | 19,1/17,2 |
| Слободни азотни екстракт (NFE), %      | 21,0      | 17,0      | 15,0      | 17,2      | 13,0      | 21,5      |

Здравствено стање риба у експерименту праћено је сваки дан визуелним посматрањем изгледа и понашања риба прије, после и у току храњења, када је риба при површини воде. У редовним мјесечним интервалима вршена је контрола од стране ветеринарске службе и преглед унутрашњих органа, те повремени преглед из руке. Угинула риба свакодневно је евидентирана за сваки кавез посебно, одстрањивана из кавеза, пакована у пластичне кесе и нешкодљиво одстра-

њивана на мјесто предвиђено за те сврхе. Поред јединки које су биле уочљиве на површини, једном седмично дизане су мреже ради провере mortalитета (јединке које угину и падну на дно кавеза, а нису уочљиве са површине, због слабе провидности воде, односно веће дубине мрежа).

Фактор кондиције (K) представља однос масе рибе према кубној тоталној дужини тијела. Индекс кондиције по Fulton-у рачунат је према формули:

$$K = (BW/TL^3) \times 100$$

K - коефицијент кондиције по Fulton-у; BW – маса рибе, g; TL – тотална дужина рибе, mm

## РЕЗУЛТАТИ РАДА И ДИСКУСИЈА

Температуре воде у I циклусу не указују на значајну вертикалну термичку разлику (табела 2). Раст температуре ваздуха условио је повећање температуре воде која је током II циклуса у сталном порасту, услед чега је дошло до вертикалног температурног раслојавања воденог стуба (табела 2).

Температура воде крајем јуна мјесеца достигла је максималних 26,9°C на 1 m, 24,6°C на 2 m и 19,6°C на 3 m дубине (задржале су се два дана), те су представљале веома ризичан период за здравље гајених риба. Дубина мрежа од 7 m и проведене одговарајуће технолошке мјере разлози су због којих није било повећаног mortalитета у тим периодима.

**Табела 2.** Просјечне температуре воде ( $\bar{x}$ ), стандардна грешка аритметичке средине ( $S_x$ ) и коефицијент варијације (CV) по данима I и II циклуса на 1, 2 и 3 m дубине

| Дани  | Дубина (m) | I циклус (октобар–јануар) |      | II циклус (април–јул) |      |
|-------|------------|---------------------------|------|-----------------------|------|
|       |            | $\bar{x} \pm S_x$         | CV   | $\bar{x} \pm S_x$     | CV   |
| 0–15  | 1          | 12.04±0.05                | 2.00 | 8.61±0.14             | 6.43 |
|       | 2          | 11.82±0.08                | 3.17 | 8.62±0.14             | 6.53 |
|       | 3          | 11.75±0.09                | 3.25 | 8.62±0.13             | 6.20 |
| 15–30 | 1          | 10.85±0.19                | 7.69 | 9.99±0.13             | 4.92 |
|       | 2          | 10.82±0.18                | 7.61 | 9.98±0.12             | 4.81 |

|       |   |            |       |            |       |
|-------|---|------------|-------|------------|-------|
|       | 3 | 10.80±0.18 | 7.46  | 9.97±0.12  | 4.82  |
| 30–45 | 1 | 7.84±0.34  | 16.75 | 10.58±0.20 | 7.70  |
|       | 2 | 7.79±0.35  | 17.25 | 10.56±0.20 | 7.52  |
|       | 3 | 7.76±0.35  | 17.53 | 10.53±0.19 | 7.06  |
| 45–60 | 1 | 6.55±0.20  | 11.76 | 15.05±0.37 | 12.05 |
|       | 2 | 6.51±0.19  | 11.27 | 14.75±0.35 | 11.75 |
|       | 3 | 6.49±0.19  | 11.13 | 14.38±0.31 | 10.64 |
| 60–75 | 1 | 4.90±0.11  | 9.03  | 14.43±0.15 | 5.71  |
|       | 2 | 4.93±0.11  | 8.86  | 14.08±0.10 | 3.72  |
|       | 3 | 4.93±0.11  | 8.86  | 13.85±0.13 | 4.95  |
| 75–90 | 1 | 4.79±0.22  | 25.73 | 21.32±0.59 | 15.21 |
|       | 2 | 4.79±0.23  | 26.19 | 19.54±0.52 | 14.44 |
|       | 3 | 4.80±0.23  | 26.23 | 17.26±0.39 | 12.32 |

Анализом (једном мјесечно) унутрашњих органа рибе нису уочене патолошке промјене. Спорадично су уочаване дезоријентисане јединке, које су пливале уз мрежу и нису показивале вољу за храном, такве јединке су изловљаване и биљежене као угинуће. Углавном се радило о риби која је заостајала у расту услед деформација кичменог стуба. Повремено, код јединки које су се тако понашале, а потом изловљене ради одстрањивања из кавеза уочене су повреде на тијелу,

што је била посљедица напада сиве чапље. Иако су преко кавеза биле заштитне мреже, чапља је успијевала повриједити рибу, али не и да је извади из кавеза.

Анализом Fulton-овог фактора кондиције види се да су на почетку I циклуса (табела 3) јединке из свих третмана биле у доброј кондицији. Високи фактор кондиције указује на добру ухрањеност рибе, а низак на слабију ухрањеност рибе исте дужине.

**Табела 3.** *Fulton-ов фактор кондиције риба по данима I циклуса*

| Дани    | Третман |       |       |       |       |       |
|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
|         | 1       | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
| Почетак | 1.130   | 1.130 | 1.128 | 1.100 | 1.124 | 1.115 |
| 0–15    | 1,146   | 1,115 | 1,145 | 1,132 | 1,116 | 1,149 |
| 15–30   | 1,112   | 1,105 | 1,132 | 1,120 | 1,119 | 1,133 |
| 30–45   | 1,090   | 1,114 | 1,135 | 1,097 | 1,098 | 1,078 |
| 45–60   | 1,103   | 1,119 | 1,131 | 1,087 | 1,091 | 1,090 |
| 60–75   | 1,043   | 1,047 | 1,070 | 1,039 | 1,067 | 1,028 |
| 75–90   | 1,032   | 1,069 | 1,060 | 1,050 | 1,040 | 1,032 |

Након првих 15 дана изражена је тенденција пада индекса кондиције јединки, узрокована константним падом температуре воде, а сходно томе и мањим днев-

ним количинама исхране. Таква ситуација је довела до слабије ухрањености јединки исте дужине тијела, што је условило варирање индекса кондиције. Најнижи ин-

декс кондиције на крају I циклуса утврђен је у третманима 1 и 6, што у цијелости одговара енергетском садржају хранива. Почетак II циклуса карактеришу незнатно ниже вриједности индекса кондиције јединки у односу на почетак I циклуса, које су ипак у задо-

вољавајућим границама. Индекси кондиције одговарају садржају енергетске компоненте у хранивима и варирањима физичког и хемијског састава воде (табела 4).

**Табела 4.** *Fulton-ов фактор кондиције риба по данима II циклуса*

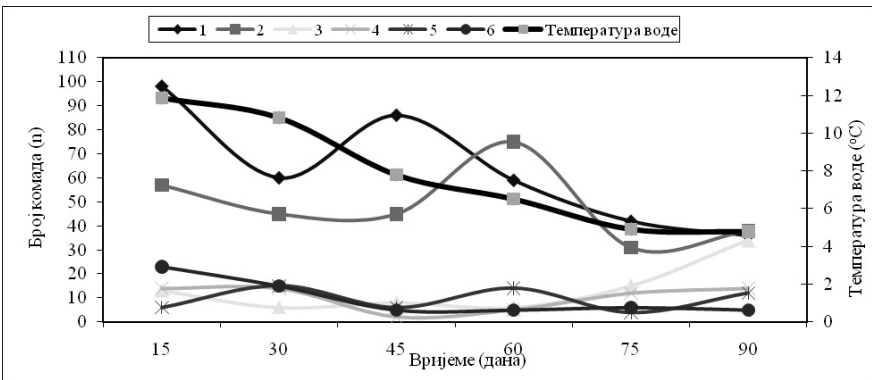
| Дани    | Третман |       |       |       |       |       |
|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
|         | 1       | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
| Почетак | 1,116   | 1,097 | 1,107 | 1,126 | 1,090 | 1,099 |
| 0–15    | 1,129   | 1,133 | 1,124 | 1,146 | 1,137 | 1,128 |
| 15–30   | 1,137   | 1,166 | 1,155 | 1,150 | 1,145 | 1,109 |
| 30–45   | 1,139   | 1,175 | 1,148 | 1,142 | 1,157 | 1,092 |
| 45–60   | 1,138   | 1,167 | 1,152 | 1,118 | 1,167 | 1,089 |
| 60–75   | 1,131   | 1,167 | 1,195 | 1,128 | 1,161 | 1,079 |
| 75–90   | 1,120   | 1,172 | 1,168 | 1,121 | 1,184 | 1,078 |

На основу утврђених индекса кондиције може се закључити да је здравствено стање јединки било добро.

Апсолутни и релативни број угинулих јединки по данима и третманима I циклуса приказан је у табели 5.

**Табела 5.** *Морталитет дужичасте пастрмке по данима и третманима изражен у апсолутним (n) и релативним (%) показатељима броја јединки током I циклуса*

| Дани  | Третман |      |    |      |    |      |    |      |    |      |    |      |
|-------|---------|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|
|       | 1       |      | 2  |      | 3  |      | 4  |      | 5  |      | 6  |      |
|       | n       | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    |
| 0–15  | 98      | 2,36 | 60 | 1,42 | 86 | 2,11 | 59 | 1,39 | 42 | 0,99 | 36 | 0,85 |
| 15–30 | 57      | 1,41 | 45 | 1,08 | 45 | 1,13 | 75 | 1,79 | 31 | 0,74 | 38 | 0,90 |
| 30–45 | 13      | 0,33 | 6  | 0,15 | 8  | 0,20 | 6  | 0,15 | 15 | 0,36 | 34 | 0,81 |
| 45–60 | 14      | 0,35 | 14 | 0,34 | 2  | 0,05 | 5  | 0,12 | 12 | 0,29 | 14 | 0,34 |
| 60–75 | 6       | 0,15 | 15 | 0,37 | 6  | 0,15 | 14 | 0,34 | 4  | 0,10 | 12 | 0,29 |
| 75–90 | 23      | 0,58 | 15 | 0,37 | 5  | 0,13 | 5  | 0,12 | 6  | 0,15 | 5  | 0,12 |



**Графикон 1.** Просјечне температуре воде и морталитет дужичасте пастрмке по данима и третманима изражен у апсолутним показатељима броја јединки током I циклуса

Најизраженије угинуће јединки у I циклусу констатовано је у првих 15 дана у третману 1 и

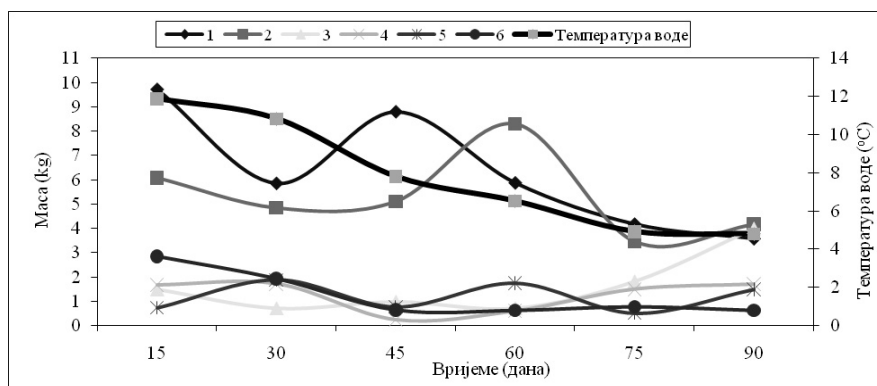
износило је 98 јединки или 2,36%, а најмање у третману 6 са 36 јединки или 0,85%. Уочљив је

значајан пад стопе морталитета од 45 дана, иако је температура воде у константном паду. У табели 6. приказана је апсолутна и релативна маса

угинулих јединки по данима и третманима I циклуса.

**Табела 6.** Морталитет дужичасте пастрмке по данима – маса јединки, апсолутни (kg) и релативни (%) у I циклусу

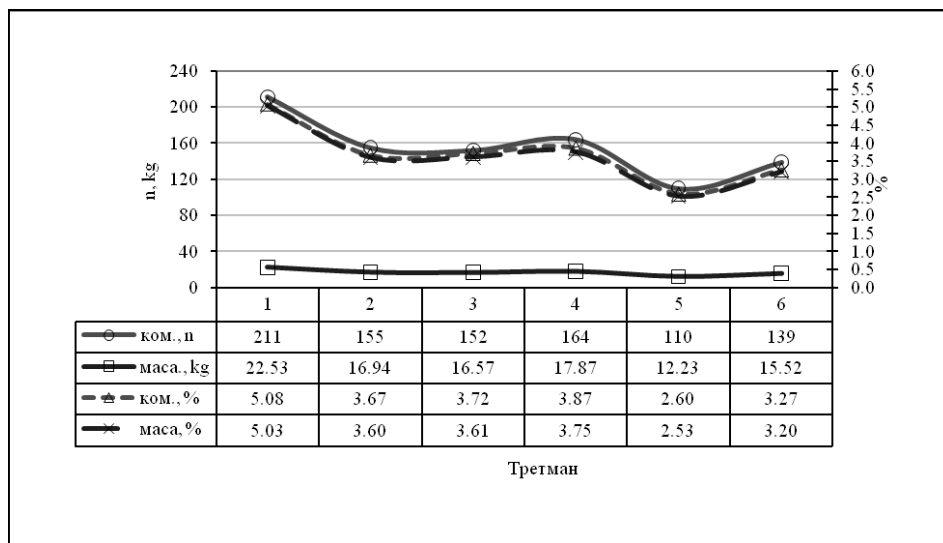
| Дани  | Третман |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|       | 1       |      | 2    |      | 3    |      | 4    |      | 5    |      | 6    |      |
|       | kg      | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    |
| 0–15  | 9,72    | 2,30 | 5,85 | 1,38 | 8,80 | 2,02 | 5,87 | 1,32 | 4,17 | 0,95 | 3,57 | 0,81 |
| 15–30 | 6,08    | 1,35 | 4,84 | 1,02 | 5,11 | 1,06 | 8,30 | 1,70 | 3,46 | 0,69 | 4,16 | 0,86 |
| 30–45 | 1,49    | 0,32 | 0,71 | 0,14 | 0,98 | 0,20 | 0,71 | 0,14 | 1,82 | 0,35 | 4,00 | 0,79 |
| 45–60 | 1,67    | 0,35 | 1,72 | 0,34 | 0,25 | 0,05 | 0,61 | 0,12 | 1,50 | 0,29 | 1,70 | 0,34 |
| 60–75 | 0,73    | 0,15 | 1,88 | 0,36 | 0,77 | 0,15 | 1,74 | 0,34 | 0,51 | 0,10 | 1,48 | 0,29 |
| 75–90 | 2,85    | 0,58 | 1,94 | 0,36 | 0,65 | 0,13 | 0,63 | 0,12 | 0,78 | 0,14 | 0,63 | 0,12 |



**Графикон 2.** Просјечне температуре воде и морталитет дужичасте пастрмке по данима и третманима изражен кроз масу јединки током I циклуса

У складу са релативним показатељима броја угинулих јединки, морталитет јединки изражен кроз масу има сличне тенденције. Преглед уку-

пног броја и масе (апсолутно и релативно) угинулих јединки у I циклусу приказан је у графикону 3.



**Графикон 3.** Укупни морталитет (број и маса) дужичасте пастрмке по третманима I циклуса

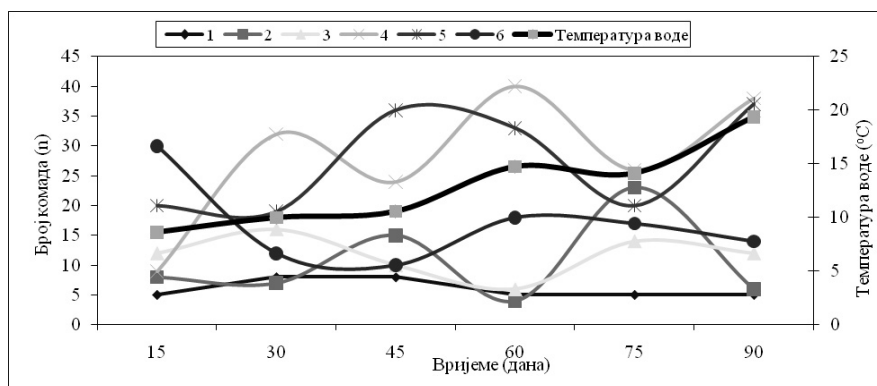
Јединке су биле доброг здравственог стања, што значи да констатовани морталитет није последица болести. Највећи морталитет броја јединки 5,08%, исхраном јединки хранивом са 44/14% СП/СМ, при сталном паду температуре воде, ипак је значајно нижи од резултата истраживања утицаја исхране дужичасте пастрмке у кавезном систему гајења на карактеристике раста и ефикасност хране које износе Cho и Bureau (1998), према којим укупни морталитет износи 9% током цијеле године. Сезону јесен–зима карактерише виша стопа морталитета јединки, што није последица утицаја различитих хранива, већ се прије може тумачити као последица стреса јединки узрокована транспортом до кавезне фарме Боцац и интензивном исхраном у лjetном периоду, а вршена је и честа манипулација рибом

при знатно нижим температурама ваздуха него што су то биле температуре воде. Прилагођавањем јединки на средину и храну угинуће је сведено на прихватљив губитак у процесу гајења дужичасте пастрмке у кавезима. Сагледавањем укупне масе угинулих јединки може се закључити да је исти у границама дозвољених губитака за дужичасту пастрмку индивидуалне масе од 90 до 200 g. Хранива различитог садржаја сирове маси нису имала утицаја на угинуће јединки.

Током II циклуса морталитет је био значајно мањи у односу на I циклус. Фактор кондиције јединки, на почетку II циклуса, незнатно је нижи у односу на почетак I циклуса, када је забиљежено највеће угинуће. У табели 7. приказан је апсолутни и релативни морталитет броја јединки по данима и третманима II циклуса.

**Табела 7.** Морталитет јединки дужичасте пастрмке по данима – број јединки, апсолутни (n) и релативни (%) током II циклуса

| Дани  | Третман |      |    |      |    |      |    |      |    |      |    |      |
|-------|---------|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|
|       | 1       |      | 2  |      | 3  |      | 4  |      | 5  |      | 6  |      |
|       | n       | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n  | %    |
| 0–15  | 5       | 0,12 | 8  | 0,19 | 8  | 0,19 | 5  | 0,12 | 5  | 0,12 | 5  | 0,12 |
| 15–30 | 8       | 0,19 | 7  | 0,17 | 15 | 0,36 | 4  | 0,10 | 23 | 0,55 | 6  | 0,14 |
| 30–45 | 12      | 0,28 | 16 | 0,39 | 10 | 0,24 | 6  | 0,15 | 14 | 0,34 | 12 | 0,28 |
| 45–60 | 9       | 0,21 | 32 | 0,79 | 24 | 0,58 | 40 | 1,00 | 26 | 0,63 | 38 | 0,90 |
| 60–75 | 20      | 0,48 | 19 | 0,47 | 36 | 0,87 | 33 | 0,83 | 20 | 0,49 | 37 | 0,89 |
| 75–90 | 30      | 0,72 | 12 | 0,30 | 10 | 0,24 | 18 | 0,46 | 17 | 0,42 | 14 | 0,34 |



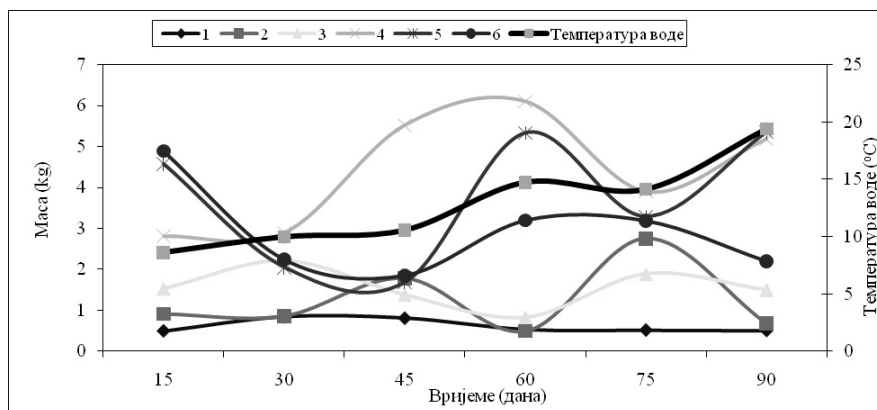
**Графикон 4.** Просјечне температуре воде и морталитет дужичасте пастрмке по данима и третманима изражен у апсолутним показатељима броја јединки током II циклуса

Најмањи морталитет, четири јединке или 0,10%, забиљежен је од 15. до 30. дана, док је највећи број јединки, 40 или 1,00%, угинуо у периоду од 45. до 60. дана истог третмана (4).

Морталитет јединки, апсолутна и релативна маса угинулих јединки, по данима и третманима II циклуса, приказан је у табели 8.

**Табела 8.** Морталитет јединки дужичасте пастрмке по данима – маса јединки, апсолутни (kg) и релативни (%) током II циклуса

| Дани  | Третман |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|       | 1       |      | 2    |      | 3    |      | 4    |      | 5    |      | 6    |      |
|       | kg      | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    | kg   | %    |
| 0-15  | 0,50    | 0,11 | 0,84 | 0,18 | 0,81 | 0,18 | 0,54 | 0,12 | 0,52 | 0,11 | 0,51 | 0,11 |
| 15-30 | 0,91    | 0,18 | 0,86 | 0,16 | 1,78 | 0,33 | 0,49 | 0,09 | 2,75 | 0,52 | 0,68 | 0,14 |
| 30-45 | 1,53    | 0,27 | 2,21 | 0,37 | 1,38 | 0,22 | 0,83 | 0,14 | 1,89 | 0,32 | 1,50 | 0,27 |
| 45-60 | 2,81    | 0,46 | 2,89 | 0,45 | 5,52 | 0,83 | 6,10 | 0,97 | 3,90 | 0,60 | 5,18 | 0,87 |
| 60-75 | 4,57    | 0,68 | 2,05 | 0,28 | 1,68 | 0,23 | 5,33 | 0,79 | 3,29 | 0,45 | 5,35 | 0,84 |
| 75-90 | 4,89    | 0,70 | 2,24 | 0,29 | 1,85 | 0,23 | 3,20 | 0,44 | 3,19 | 0,40 | 2,20 | 0,33 |

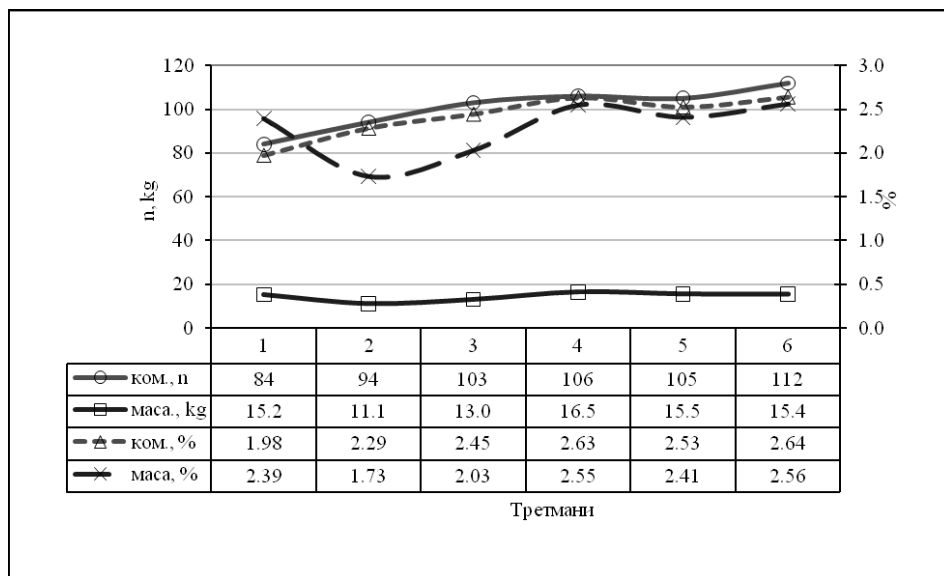


**Графикон 5.** Просјечне температуре воде и морталитет дужичасте пастрмке по данима и третманима изражен кроз масу јединки током II циклуса

Морталитет се кретао од минималних 0,50 kg или 0,11% током првих 15 дана (третман 1) до максималних 6,10 kg или 0,97% у периоду од 45. до 60. дана (третман 4).

Период од 60. дана карактерише висока варијабилност физичких и хемијских свој-

става воде, стални раст температуре воде, појава значајне вертикалне термичке стратификације и већих осцилација температуре воде на свим мјереним нивоима. Укупни морталитет (апсолутни и релативни показатељи) масе и броја јединки по третманима II циклуса приказан је у графикону 6.



**Графикон 6.** Укупни морталитет (број и маса), дужичасте пастрмке у II циклусу

Највеће укупно угинуће износило је 112 јединки или 2,64% у третману 6, а најмање 84 јединке или 1,98% у третману 1. Укупно угинуће не указује на значајнија одступања броја угуинулих јединки по третманима. С обзиром на то да су јединке из свих третмана биле исто третиране (манипулативни поступци при анализама), угинуће је, без обзира на честу манипулацију рибом, било у оквирима технолошких губитака. На основу изнесених резултата може се рећи да различити типови рибеје хране нису утицали на угинуће јединки.

Здравствено стање дужичасте пастрмке током експерименталног периода било је добро, на шта указују резултати анализа унутрашњих органа на којима нису уочене патолошке промјене, као и индекси кондиције јединки. Иако је здравствено стање јединки било добро, јасне су разлике апсолутних и релативних показатеља утврђеног морталитета у различитим сезонама гајења.

Сезону прољеће–љето карактерише нижа стопа морталитета, нарочито на почетку, што указује на то да није било значајнијег стреса приликом транспорта јединки из рибогојишта Г. Рибник. Растом температуре воде и норми исхране у сезони прољеће–љето расте и стопа морталитета, која се кретала од минималних 0,50 kg (0,11%) првих 15 дана у третману 1, до максималних 6,10 kg (0,97%) у периоду од 45. до 60. дана у третману 4. Повећани морталитет посљедица је високе варијабилности абиотичких својстава воде и стреса јединки при манипулацији рибом.

Разлике које се јављају у релативним показатељима броја и масе угуинулих јединки посљедица су разлике индивидуалне масе у тренутку угинућа и укупне масе рибе која зависи од интензитета раста и прираста масе, што зависи од типа хране и сезоне исхране. Тако је у третману 6, према релативним показатељима, већи мор-

талитет него у третману 4, док је према апсолутним показатељима ситуација обрнута.

Слична стопа морталитета јединки у различитим сезонама исхране третмана 5 указује на чињеницу да храна са већим садржајем масти и нижим учешћем угљених хидрата у храни резултира уједначеном стопом морталитета. Хранива са различитим садржајем масти немају значајнијег утицаја на угинуће дужичасте пастрмке уколико се води рачуна да не дође до прехране, што може узроковати масну инфилтрацију јетре, а посљедице томе и знатно већу стопу морталитета, сагласно наводима Hillestad-а и сар. (1998) и Савића и сар. (2003) да виши садржај масти у исхрани салмонидна нема значајнијег утицаја на морталитет.

## ЗАКЉУЧАК

Падом температуре воде (јесен–зима) и норми исхране, иако долази до погоршања услова средине, стопа морталитета је у паду. Основни разлог због којег је у сезони јесен–зима присутна виша стопа морталитета јесте интензивна исхрана прије зиме (љетни период), при чему су јединке много осјетљивије на стресове који резултују повећаним морталитетом. Растом температуре воде и норми исхране у прољеће–љето расте и стопа морталитета, што неминовно указује на већу осјетљивост јединки при интензивнијим метаболичким процесима на стресне ситуације, као што су динамична промјена температуре воде, велике разлике по вертикалном нивоу воденог стуба, интензивнија исхрана и манипулација рибом. Хранива са различитим садржајем масти немају утицаја на угинуће дужичасте пастрмке уколико је исхрана у складу са масом рибе и температуром воде.

## ЛИТЕРАТУРА

- Barton, B. A. (1996): General biology of salmonids. In, Pennel, W., and Barton, B.A., (eds), *Principles of Salmonid Culture*. Elsevier, Amsterdam, 29–96.
- Bear, Elizabeth Ann (2005): *Effects of Temperature on Survival and Growth of Westslope Cutthroat Trout and Rainbow Trout: Implications For Conservation And Restoration*. Master of Science Thesis, Bozeman, MT, Montana State University.
- Богут И., Хорват Ј., Адамек З., Катавић И. (2006): *Рибогојство*. Изд. Пољопривредни факултет, Осиек; Зденек Адамек, *Узгој салмонидних врста риба*, Свеучилиште Ческе Бучејовице.
- Brannon, E. L. (1991): Trout culture. In, Stickney, R. R. (ed), *Culture of Salmonid Fishes*. CRC Press, Inc. Boca Raton, 21–56.
- Дрецул, Ђ. (1977): *Експериментална испитивања могућности временског скраћивања узгоја калифорнијске пастрмке*. Агрокомбинат „13. јул“, Агроекономски институт, Титоград.
- Hillestad, M., Johnsen, F., Austreng, E., Asgard, T. (1998): Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquaculture nutrition*, april, 1998, vol. 42, no. 2, 89–97(9).
- Cain, K., Garling, D. (1993): *Trout Culture in the North Central Region*. North Central Regional Aquaculture Center In cooperation with USDA North Central Regional Aquaculture Center.
- Cho, C. Y., Bureau, P. D. (1998): Development of bioenergetic model and the Fish-PrFEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. *Aquat. Living Resour.* 11 (4), 199–210, Ifremer/Elsevier, Paris.
- Piper, R. G., McElwain, I. B. Ornie, L. E. McGraven, P. H., Fowler, L. G. Leonard, J. R. (1982). *Fish hatchery management*. US Dep. of the Interior Fish and Wildlife Serv. Washington, D. C.
- Савић, Н., Микавица, Д., Матаругић, Д., Важић, Б. (2003): Исхрана, коефицијент конверзије и морталитет јединки дужичасте пастрмке (*Oncorhynchus mykiss* Wal.) у рибогојишту Горњи Рибник – регија Бања Лука, *Савремена пољопривреда*, вол. 52, 3–4, стр. 165–168, Нови Сад.
- Sedgwick, S. D. (1985): *Trout Farming Handbook*. Fourth Edition. Fishing News Books, Farnham, 160.
- Stevenson, J. P. (1987): *Trout Farming Manual*. Second Edition. Fishing News Books, Farnham, 259.

UDK 630:[599.731.1(497.11)

M. Urošević<sup>1</sup>, D. Matarugić<sup>2</sup>, D. Drobnjak<sup>3</sup>, B. Živković<sup>4</sup>

## UTICAJ RODA ŽIRA NA ŠTETE OD DIVLJE SVINJE (*Sus scrofa*) NA POLJOPRIVREDNIM KULTURAMA U HOMOLJU

### Kratak sadržaj

Ne postoji precizna evidencija šteta koje naprave divlje svinje tokom sezone. Metode borbe i pokušaji smanjenja šteta na poljoprivrednim kulturama prilično su različite. Među lovcima je najčešće uvreženo mišljenje da se odstrelom može smanjiti broj jedinki u određenoj populaciji divljih svinja i da će se, samim tim, umanjiti i broj ulazaka divljih svinja na kultivisane poljoprivredne površine. Međutim, takva praksa ne daje dovoljno dobre rezultate i štete na poljoprivrednim kulturama najčešće se ne smanjuju.

Višegodišnje posmatranje i analiza pričinjenih šteta na poljoprivrednim kulturama u Homolju jasno je pokazalo da je veličina (izražena u hektarima) oštećenih površina u direktnoj povezanosti sa rodnošću žira u obližnjim šumama i rodnom voćkarica u lovištima.

**Ključne reči:** divlja svinja, šteta, poljoprivredna kultura, žir.

M. Urošević, D. Matarugić, D. Drobnjak, B. Živković

## INFLUENCE OF ACORN YIELD ON WILD BOAR (*Sus scrofa*) DAMAGES TO AGRICULTURAL CROPS IN HOMOLJE REGION

### Abstract

There is no accurate records of damage that wild boar make during the season. The methods of struggle and efforts to reduce damage to agricultural crops are quite different. Among the hunters is the most popular belief that the shooting may reduce the number of individuals in some populations of wild boar, and therefore will reduce the number of entries of wild pigs on cultivated agricultural land. However, this practice does not give enough results and damages to agricultural crops, mostly, are not reduced.

Years of observation and analysis of damage to agricultural crops in Homolje clearly showed that the size of the damaged area, expressed in hectares, is in direct relationship with acorn and native fruit yield in the nearby forests and hunting grounds.

**Key words:** wild boar, damage, agricultural crops, acorn.

---

<sup>1</sup> Milivoje Urošević, dr vet. med. spec., Taurunum, Temišvar.

<sup>2</sup> Dr Dragutin Matarugić, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Banjaluka.

<sup>3</sup> Darko Drobnjak, dr vet. med., Veterinarska ambulanta „Guta“, Beograd.

<sup>4</sup> Branislav Živković, SEŠ, Žagubica.

## UVOD

Neosporna je činjenica da se lovom, pored ispu-njenja određenih emotivnih stanja, ostvaruju i značajne ekonomske koristi. Divlja svinja svakako je jedna od vrsta divljači čijim se lovom mogu ostvariti značajni eko-nomski efekti. Međutim, već dugi niz godina ozbiljan problem predstavljaju štete koje divlje svinje čine na poljoprivrednim kulturama. O tačnim visinama šteta i oštećenja gotovo je nemoguće govoriti pošto ne postoji sinhronizovana i organizovana evidencija nastalih šteta, a pre svega zbog činjenice da vlasnici parcela na kojima su oštećeni usevi često ne prijavljuju nastalu štetu.

Cilj ovog rada je pokušaj da se nastajanje šteta na poljoprivrednim kulturama, na parcelama u Homolju, poveže sa rodnošću žira i prisustvom plodova voćaka u polju. Homolje je geografska oblast u istočnoj Srbiji, sa svih strana omeđena planinama čija visina na severu dostiže 950 metara, a na istoku i do 1.300 metara. Potre-bno je istaći da je Homolje poznato po velikim po-vršinama pod šumama. Po glavi stanovnika dolazi jedan hektar šume.

O štetama koje pričinjavaju divlje svinje u švajcar-skom kantonu Argau i problemima koji tim povodom na-staju izveštava Ammann (2008). U periodu od 2000. do 2008. godine najviše divljih svinja odstreljeno je 2002, i to oko 1.350 komada, a načinjena šteta na poljopri-vrednim kulturama bila je gotovo 600.000 franaka. Autor preporučuje da se kukuruz, kao omiljena hrana divljih svinja, ne seje tik uz rub revira sa svinjama već nešto dalje, dublje u polju.

Pravljeni su različiti ogledi sa ciljem da se divlje svinje odvrate od ulaska u parcele i pravljenе šteta. Tako Liebl (2004) saopštava rezultate ogleда gde je na ogledne parcele posipan kreč sa željom da se spreči ulazak divljih svinja u parcele ili da se eventualne štete umanje. I pored verovanja koje vlada među lovcima da kreč deluje odbijajuće, ogled je pokazao da je to netačno. Divlje svi-nje su podjednako činile štetu, kako u oglednim, tako i u kontrolnim parcelama. Dakle, posipanjem kreča ne mogu

se smanjiti štete od divljih svinja pošto im on ne pričinjava nikakav problem.

Kako navodi Beer (2006), štete koje su pričinile di-vlje svinje u kantonu Ženeva tokom poslednje decenije dostižu vrednost od više miliona švajcarskih franaka. Istraživanja koja je sproveo negiraju verovanje da je divlja svinja veliki šetač i da prevaljuje velika rastojanja. Marki-rane su 122 jedinice divljih svinja i od tog broja 54% je lokalizovano u krugu od svega 2 km. Samo se 7,9% je-dinki udaljilo više od 10 km.

Popović (2007) ističe da su štete na žitaricama najvi-še prisutne u fazi mlečnog dozrevanja. Najveće štete trpe parcele na kojima kukuruz prvi uđe u mlečno-voštanu fa-zu zrelosti. Procentualno uništenje parcela kretalo se od 5% do 47%.

## MATERIJAL I METOD RADA

Istraživanja su obavljena na terenimna LU „Jovan Šerbanović“, čije je sedište u Žagubici, a koje gazduje lovnim površinama od 75.000 hektara. Posmatrane su lovne sezone 2006/2007, zatim 2007/2008. i 2008/2009. godine.

Tokom posmatranih lovnih sezona procenjivan je rod žira i voćarica u lovištu. Merena je masa iznesenog kukuruza upotrebljenog za prihranu divljih svinja. Utvrđivane su površine poljoprivrednih kultura koje su pretrpele štetu od divljih svinja.

Utvrđen je broj divljih svinja u matičnom fondu u posmatranom lovištu, a među ukupno odstreljenim divljim svinjama posebno su evidentirane one koje su odstreljene pored njiva sa kukuruzom.

## REZULTATI I DISKUSIJA

U lovištu površine 75.000 hektara kretanje broja jedinki u matičnom fondu prikazano je u sledećoj tabeli.

**Tabela 1.** Broj divljih svinja u matičnom fondu

| Lovna sezona | Matični fond |
|--------------|--------------|
| 2006/2007.   | 215          |
| 2007/2008.   | 230          |
| 2008/2009.   | 270          |

Tokom zimskih meseci, na određenim hranilištima ostavlja se kukuruz i so za prihranu divljih

svinja. Količine datog kukuruza i soli prikazane su u narednoj tabeli.

**Tabela 2.** Količine kukuruza i soli na hranilištima tokom posmatranih godina

| Lovna sezona | Kukuruz (kg) | So    |
|--------------|--------------|-------|
| 2006/2007.   | 9.510        | 980   |
| 2007/2008.   | 8.000        | 1.400 |
| 2008/2009.   | 9.000        | 2.435 |

U posmatranom lovištu, divlje svinje tradicionalno se love na dva načina. Iskonski način je „brakiranje“ odnosno lov pomoću goniča, a drugi način je odstrel sa visoke čeke ili odstrel sa čekajućeg me-

sta sa zemlje. Broj odstreljenih divljih svinja u Holmlju tokom posmatranih lovnih sezona prikazan je u tabeli broj 3. Posebno je prikazan broj grla odstreljenih pored njiva sa kukuruzom i hranilišta.

**Tabela 3.** Broj odstreljenih divljih svinja

| Lovna sezona | Ukupno odstreljeno | Pored njiva sa kukuruzom | %     |
|--------------|--------------------|--------------------------|-------|
| 2006/2007.   | 27                 | 3                        | 11,11 |
| 2007/2008.   | 60                 | 16                       | 26,67 |
| 2008/2009.   | 78                 | 45                       | 57,69 |

Posebno treba obratiti pažnju na značajno povećanje broja grla koja su odstreljena pored njiva sa kukuruzom ili pored hranilišta. Logičnost tog niza povećanja uvida se kada se pogleda prikaz rodosti

žira i voćkarica tokom posmatranih lovnih godina. Ova procena rodosti urađena je na osnovu dugogodišnjeg iskustva tako da ne postoji metrička jedinica za izražavanje ovog parametra.

**Tabela 4.** Rod žira i voćkarica

| Lovna sezona | Rod žira | Rod voćkarica |
|--------------|----------|---------------|
| 2006/2007.   | odličan  | odličan       |
| 2007/2008.   | prosečan | prosečan      |
| 2008/2009.   | loš      | loš           |

Dakle, u godini sa dobrom ponudom prirodne hrane u lovištu, divlje svinje nisu često dolazile do hranilišta pošto im dodatna hrana nije bila potrebna. Zbog toga je, procentualno izraženo, svega 11,11% svinja odstreljeno pored njiva sa kukuruzom ili pored hranilišta. Kako je prirodne hrane bivalo manje, tako se povećavao broj svinja koje su tražile njive sa kukuruzom i dolazile na hranilišta.

Uporedo sa ovim, praćene su i štete koje su divlje svinje počinile na poljoprivrednim kulturama. Odmah treba istaći da su realne štete veće od prikazanih, ali one nisu registrovane pošto niko od vlasnika livada ne prijavljuje štete nastale aktivnošću ove divljači na takvim parcelama. Štete su prikazane kroz površinu koju su oštetile divlje svinje.

**Tabela 5.** Štete na poljoprivrednim kulturama u zavisnosti od roda žira i voćkarica

| Lovna sezona | Rod žira | Rod voćkarica | Oštećene površine (ha) |
|--------------|----------|---------------|------------------------|
| 2006/2007.   | odličan  | odličan       | 4,5                    |
| 2007/2008.   | prosečan | prosečan      | 11,0                   |
| 2008/2009.   | loš      | loš           | 55,0                   |

Kao što se sasvim jasno vidi, u godini kada su rod žira i ponuda plodova voća u lovištu bili slabi, površina oštećenih poljoprivrednih kultura desetostruko se povećala u odnosu na godinu kada je te prirodne hrane bilo u izobilju.

### ZAKLJUČAK

Štete na poljoprivrednim kulturama u lovištima umnogome zavise od mogućnosti nalaska hrane u prirodi. Divlje svinje pričinjavaju štete iz nužde, tražeći hranu i boreći se za sopstveni opstanak. Količine hrane koja će biti iznesena na hranilišta u svrhu prihrane divljih svinja tokom zimskog perioda treba određivati na drugačiji način. Naime, u slučaju slabog roda žira i voćkarica u lovištu, vremenski period prihrane ne može biti ograničen samo na zimske mesece, već ga je neophodno produžiti ka jeseni i ka proleću.

### LITERATURA

1. Ammann, T. (2008): *Sorgenkind Wildschwein: Bestaende und Schaeden schwanken stark*. Umwelt Aargau, 42, 33–3.
2. Beer, R. (2006): *Dem Wildschwein im Grossraum Genf auf den Fersen: ein ehrgeiziges, ueber die Grenzen verbindendes Projekt*. Ecotec Environnement S. A. Bericht
3. Liebl, T. (2004): *Mit Kalk gegen Schwarzwildschaeden?* WFS-Mitteilungen, nr. 6.
4. Popović, Z. (2007): Štete od divljači na šumskim i poljoprivrednim kulturama. *Glasnik Šumarskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci*, br. 7, 51–61.



UDK 579.62:637.12(497.16)

Мирјана Бојанић Рашовић<sup>1</sup>, Александра Стјепановић<sup>2</sup>, Вера Катић<sup>3</sup>, Јелена Куч<sup>1</sup>

## НЕКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ СОЈЕВА *LACTOCOCCUS GARVIEAE* ИЗОЛОВАНИХ ИЗ ПРИРОДНО КОАГУЛИСАНОГ СИРОВОГ МЛИЈЕКА СА ПОДРУЧЈА ЦРНЕ ГОРЕ

### Кратак садржај

Циљ рада је био да се испитају неке морфолошке, биохемијске и технолошке карактеристике три изолата *Lactococcus garvieae* изолованих из спонтано коагулисаног свјежег крављег млијека са подручја града Мојковца.

За изолацију бактерија млијечне киселине су коришћени MRS агар, M17 агар, MPC бујон и M17 бујон (Merck, Darmstadt, Њемачка). Испитивана врста бактерија је изолована на M17 агару из разблажења узорка  $10^{-6}$ . На основу морфолошких карактеристика селектоване су округле колоније бијеле боје које су потом супкултивисане у M17 бујону и инкубиране на  $30^{\circ}\text{C}$  током 24 сата, након чега су засијане на M17 агару и инкубиране 24 сата на  $30^{\circ}\text{C}$ . Грам позитивне, каталаза негативне коке су до нивоа врсте идентификоване уз помоћ Rapid ID 32 Стреп система (Bio Merieux, Француска).

Сва три испитивана изолата *Lactococcus garvieae* су након 24 сата показала способност споре ацидификације M17 бујона са 1% глукозе, односно са 1% лактозе, као и 1% реконституисаног обраног млијека у праху. Мали степен постацидификације су показали сви изолати након инкубације у M17 бујону са додатком 1% глукозе, односно 1% лактозе, а значајно већи степен постацидификације 1% реконституисаног млијека. Два од три испитивана изолата су показала способност коагулације млијека након 24 сата инкубације. Само један од три испитивана изолата показао је способност стварања гаса након 24 сата инкубације. Може се закључити да испитивани изолати *Lactococcus garvieae* својим метаболичким продуктима могу утицати на стварање специфичних карактеристика млијечних производа, у којима се налазе као дио природне микрофлоре.

**Кључне ријечи:** *Lactococcus garvieae*, стартер културе, технолошке карактеристике, ферментисано млијеко.

## SOME FEATURES OF *LACTOCOCCUS GARVIEAE* ISOLATED FROM NATURAL COAGULATED RAW MILK ON THE TERRITORY OF MONTENEGRO

### Abstract

The aim of this study was to examine some morphological, biochemical and technological characteristics of the three isolates of *Lactococcus garvieae* isolated from spontaneously fermented raw milk cow from the area of the town Mojkovac.

<sup>1</sup> Др Мирјана Бојанић Рашовић, виши научни сарадник, e-mail: bojanic.m@t-com.me, дипл. инж. пољопр. Јелена Куч, сарадник у настави, Биотехнички факултет, Подгорица.

<sup>2</sup> Др Александра Стјепановић, научни сарадник, Norwegian University of Life Sciences, Department for Chemistry, Biotechnology and Food Science, e-mail: aleksandra.stjepanovic@umb.no

<sup>3</sup> Др Вера Катић, редовни професор, Факултет ветеринарске медицине, Београд, e-mail: vera@vet.bg.ac.rs

For the isolation of lactic acid bacteria MRS agar, M17 agar, MRS broth and M17 broth have been used (Merck, Darmstadt, Germany). Examined strains of bacteria were isolated on M17 agar from  $10^{-6}$  sample dilution. Grown round white colonies were subcultured in M17 broth and incubated at a temperature of  $30^{\circ}\text{C}$  24 hours followed by their plating on M17 agar. Gram-positive catalase negative cocci were further identified by using Rapid ID 32 Strep system (Bio Merieux, France).

All examined isolates of *Lactococcus garvieae* after 24h incubation at  $30^{\circ}\text{C}$  showed the ability of slow acidification M17 broth with 1% glucose or 1% lactose, as 1% reconstituted skim milk. All isolates showed the small ability of postacidification after 48h incubation in the M17 broth with 1% glucose or 1% lactose, but significant higher ability of postacidification in 1% reconstituted skim milk. Two of the three tested isolates showed the ability of coagulation of milk, while only one of the tested isolates proved able to produce gas after 24 hours incubation.

It can be concluded that the tested isolates of *Lactococcus garvieae* with their metabolic products may influence on the formation of specific features of some dairy products.

**Key words:** *Lactococcus garvieae*, starter cultures, technological characteristics, fermented milk.

## УВОД

У индустрији ферментисаних производа од млијека примјењује се велики број бактерија млијечне киселине, при чему је врста *Lactococcus lactis* најзначајнија. Варијабилност између сојева који се користе у индустрији млијека је мала. Зато се традиционални млијечни производи и даље базирају на спонтаној ферментацији млијека, што за резултат има велику разноврсност производа различитог укуса, конзистенције и микробиолошког квалитета. Из тих разлога у мљекарској индустрији постоји велика потреба за новим сојевима. Данас је изолација и идентификација бактерија млијечне киселине из сировог млијека и традиционалних сирева без додатка starter култура предмет интересовања многих истраживача. Значај познавања природне популације микроорганизама у производима од млијека је у томе што се може спријечити губитак микробиолошког диверзитета који је типичан за сваки производ. Сходно томе, може се утицати на спречавање губитка широког асортимана производа чије типичне особине зависе од локалне и регионалне традиције, домаће микробне популације и животне средине.

Нови сојеви се могу добити помоћу генетске модификације познатих сојева или изолацијом нових сојева из природних еколошких ниша. За ова истраживања је значајно познавати да ли и гдје сојеви лактокока живе изван млијека (Nicolette Klijn et al., 1995).

Сојеви *Lactococcus garvieae* представљају значајни дио микробне популације која учествује у природној ферментацији традиционалних италијанских сирева. Познавање особина сојева *L. garvieae* помаже разумијевању функционалног и еколошког значаја њиховог присуства у млијечним производима, као и избору нових сојева за примјену у мљекарској индустрији. Присуство *L. garvieae* у традиционалним италијанским сиревима је у вези са типичношћу производа. Мада антимикробна резистенција и присуство детерминанти вируленције представљају потенцијални ризик са гледишта здравствене исправности, већина сојева показује позитивне особине. Додавање ових микроорганизама starter културама може допринијети очувању природне бактеријске популације која одређује типичне сензорне карактеристике традиционалних сирева од сировог млијека (Fortina et al. 2007).

*Lactococcus garvieae* ствара бактериоцин, назван гарвиецин L1-5, који има бактерицидно дејство на сродне врсте, али и на врсте других родова, као што су *Listeria monocytogenes* и *Clostridium spp.* Овај бактериоцин је отпоран на третмане температуром, као и на ниску pH вриједност. Испитивања микроорганизама на способност да стварају антимикробне супстанце дају значајне информације о њиховој физиологији, екологији и практичној примјени (Villani et al. 2001).

Аломар et al. (2008a, 2008b) утврдили су да *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* и *Enterococcus faecalis* инхибирају раст *Staphylococcus aureus* SA15 у микрофилтрираном млијеку. При томе су сојеви *L. garvieae* најјаче инхибирали раст *S. aureus*. Аутори истичу значај додавања сојева антагониста у рану фазу производње сира.

*Lactococcus garvieae* инхибира *Staphylococcus aureus* уз помоћ производње водоник пероксида у медијуму и микрофилтрираном млијеку. Овај ефекат може утицати на динамику микробне популације сировог млијека и производњу ентеротоксина током прављења и зрења сира. Број ентерокока, мезофилних хетероферментативних лактобацила, леуконостока који стварају декстран, као и ентеробактерија у сиру значајно се смањује у присуству *L. garvieae* након 32 дана (Delbes Céline et al., 2008). Супротно резултатима ранијих истраживача, Domenech et al. (1993) утврдили су да *L. garvieae* и *E. seriolicida* могу бити бета хемолитични.

Лактоза позитивни сојеви *L. garvieae* су изоловани из млијека, а лактоза негативни сојеви из риба. Сојеви *Lactococcus garvieae* који немају способност да користе лактозу ипак имају способност да расту у млијеку. Утврђено је да ови изолати немају ген који кодира способност коришћења лактозе. Сојеви *L. garvieae* изоловани из млијека посједују једноставни систем катаболизма лактозе. Гени који кодирају ову особину врло су слични генима *Lactococcus lactis*. Међутим, код многих сојева, гени *L. lactis* за ову особину налазе се на плазмиду, док су код *L. garvieae* лоцирани на хромозому (Fortina et al., 2009).

El-Baradei et al. (2007) проучавали су бактеријски биодиверзитет у традиционалном египатском меком сиру *Domiamti*. Међу доминантним бактеријама млечне киселине био је изолован и *Lactococcus garvieae*.

Бактерије млечне киселине чине највећи дио микробне популације током припреме и зрења шпанског традиционалног сира Casin. Од 14 идентификованих бактеријских врста, *Lactococcus garvieae* је доминирао у сиру старом три дана, а након 30 дана је замијењен са *Lactococcus lactis subsp. lactis* (Alegria et al., 2009).

Nicolette Klijn et al. (1995) су, од укупно 116 изолата кока поријеклом из сира, 24 идентификовали као *L. lactis subsp. lactis*, 10 као *L. lactis subsp. cremoris*, 44 као *L. garvieae*, 6 *S. suis*, 2 *S. agalactiae*, 2

*S. dysgalactiae*, 6 *S. macedonicus*, 3 *S. thermophilus*, 1 *S. uberis*, 9 *E. faecium*, 4 *E. durans*, 2 *E. faecalis* и 4 *Enterococcus spp.* Уочава се да је *L. garvieae* био доминантна микрофлора испитиваног сира.

Јоковић и сар. (2008) утврдили су присуство *Lactococcus garvieae* у традиционално произведеном кајмаку поријеклом из Србије.

Fernández et al. (2010) испитивали су особине сојева *Lactococcus garvieae* изолованих из шпанског традиционалног сира као доминантне популације микроорганизама. Овај сир се припрема из сировог млијека и без додатка стартер култура. Сви испитивани сојеви су ферментовали лактозу, али су расли споро у УХТ млијеку. Ензимска активност *L. garvieae* је била слична *Lactococcus lactis*, али је већа активност естеразе и липазе утврђена код сојева *L. garvieae*. *L. garvieae* сојеви не производе хемолизин, желатиназу и биогене аминне тирамин и хистамин. Неки сојеви *L. garvieae* су показали резистенцију на тетрациклин која је кодирана од стране tet(M) гена. Сојеви *L. garvieae* се могу препоручити као стартер култура или додатне културе за одређене типове сира.

Фенотипске особине сојева *L. garvieae*, поријеклом са три различита континента (Азија, Европа и Аустралија), различите су (Eldar et al., 1999).

Имајући у виду значај *L. garvieae* у стварању карактеристичних особина производа од млијека, поставили смо задатак да извршимо његову изолацију и идентификацију из природно коагулисаног сировог крављег млијека и испитамо неке особине изолованих сојева.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

### Изолација и идентификација *L. garvieae*

Узорак свјеже помузеног крављег млијека са подручја Мојковца остављен је на собној температури 24 сата. У том периоду је дошло до грушања млијека дејством природне микрофлоре. Затим су из узорка млијека изоловане бактерије млијечне киселине засијавањем децималних разређења млијека на селективне бактериолошке подлоге (Радуловић и сар., 2006; Мартиновић и сар., 2005, 2006). Основно разблажење млијека је прављено мијешањем 20 мл млијека са 180 мл 2% Na цитрата. Даља децимална разблажења до  $10^{-7}$  прављена су мијешањем претходног разблажења са 9 мл стерилног физиолошког раствора. Из разблажења је пренесен по 1 мл у стерилне празне Петри шоље и преливен са 10 до 15

мл MRS агара, односно M17 агара (Merck, Darmstadt, Њемачка). Засијане подлоге су инкубиране пет дана при температури 30 °C и 44 °C аеробно и анаеробно. Анаеробни услови су обезбијеђени уз помоћ лонаца за анаеробе и кесицама за анаеробе (Anaerocult, Merck, Darmstadt, Њемачка).

По завршеној инкубацији, карактеристичне колоније су пренешене у M17, односно MRS бујон (Merck, Darmstadt, Њемачка). Тако засијани MRS и M17 бујони инкубирани су 48 сати, при температури од 30 °C, односно 37 °C. По завршеној инкубацији, једна омчица бујонске културе је пресијана на MRS и M17 агар, који су затим инкубирани 24–48 сати при температурама 30 °C, односно 37 °C. Израсле колоније су идентификоване на основу макроскопских, микроскопских и биохемијских особина помоћу Rapid ID 32 Strep система (Biomerieux, Француска).

#### ИСПИТИВАЊЕ ТЕХНОЛОШКИХ КАРАКТЕРИСТИКА СОЈЕВА *L. GARVIEAE*

##### Способност ацидификације и постаидификације

У M17 бујону, којем је додато 1% глюкозе односно 1% лактозе инокулисана је езом испитивана култура и инкубирана на температури од 30 °C. Промена pH вриједности је праћена након 2, 4, 6, 8, 12, 24 и 48 сати.

##### ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ АЦИДИФИКАЦИЈЕ

Способност ацидификације испитиваних сојева у 1% реконституисаном обраном млијеку испитивана је засијавањем 1 мл бактеријског бујона старог 24

сата у 200 мл 1% реконституисаног млијека, инкубацијом на температури од 30 °C и мјерењем pH вриједности након 2, 4, 6, 8, 24 и 48 сати. Способност постаидификације је одређивана након периода инкубације 24–48 сати. Вриједност pH мјерена је pH метром. Почетна pH вриједност млијека је била 7,20.

#### СПОСОБНОСТ СТВАРАЊА CO<sub>2</sub>

Стварање CO<sub>2</sub> из глюкозе посматрано је након засијавања испитиваних култура у M17 бујону, у епрувети са Дурхамовом цјевчицом у току 24–48 сати инкубације на температури од 30 °C. Уколико дође до накупљања гаса у Дурхамовој цјевчици више од 1/3 њене запремине, тест се сматра позитивним.

#### СПОСОБНОСТ ФЕРМЕНТАЦИЈЕ УГЉЕНИХ ХИДРАТА

Способност ферментације угљених хидрата је одређена помоћу Rapid ID 32 Strep система (Bio Merieux, Француска).

#### РЕЗУЛТАТИ

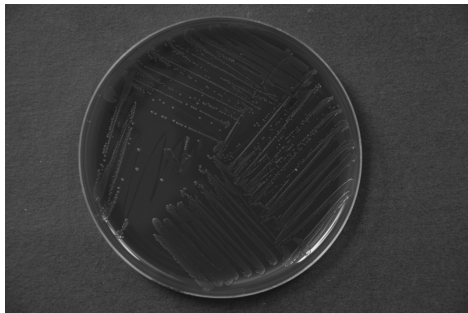
*L. garvieae* је изолован из узорка млијека на M17 агару инкубираном при температури од 30°C у анаеробним и аеробним условима.

#### МОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

Колоније изолованих сојева *Lactococcus garvieae* биле су различитог изгледа, сочивасти (изолат 1 и 3) и округлог (изолат број 5). Супкултивацијом су добијене округле сјајне и глатке колоније (слике 1. и 2). Бојењем препарата по Граму уочене су грам позитивне сферичне коке, у паровима, кратким ланцима или гроздовима.



Слика 1. Изглед колонија *L. garvieae* на M17 агару након 24 h инкубације на 30 °C



**Слика 2.** Изглед колонија *L. garvieae* на Columbia чоколадном агару након 24 h инкубације на 30°C

### БИОХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

Метаболички профили испитиваних изолата *L. garvieae* добијени Rapid ID 32 Strep системом приказани су у табели 1.

**Табела 1.** Метаболички профили изолата *L. garvieae* добијени Rapid ID 32 Strep системом (Biomérieux, Француска).

| Test  | Aktivni ingredient                      | Reakcija – enzim                      | Isolat <i>L. garvieae</i> |   |   |
|-------|-----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---|---|
|       |                                         |                                       | 1                         | 3 | 5 |
| ADH   | L-arginin                               | Arginin dihidrolaza                   | +                         | + | + |
| β GLU | Resorufin- β D glukopiranosid           | β glukozidaza                         | +                         | + | + |
| β GAR | Resorufin βD galaktopiranozid           | β galaktozidaza                       | -                         | - | - |
| B GUR | Resorufin β D glukuronid                | B glukuronidaza                       | -                         | - | - |
| A GAL | 4 nitrofenil AD galaktopiranozid        | A galaktozidaza                       | -                         | - | - |
| PAL   | 4 nitrofenil β D galaktopiranozid 2-CHA | Alkalna fosfataza                     | -                         | - | - |
| RIB   | D-riboza                                | Riboza-acidifikacija                  | -                         | - | - |
| MAN   | D-manitol                               | Manitol-acidifikacija                 | -                         | - | - |
| SOR   | D-sorbitol                              | Sorbitol-acidifikacija                | -                         | - | - |
| LAC   | D-laktoza (bovinog porijekla)           | Laktoza-acidifikacija                 | +                         | + | - |
| TRE   | D-trehaloza                             | Trehaloza-acidifikacija               | +                         | + | + |
| RAF   | D-rafinoza                              | Rafinoza-acidifikacija                | -                         | - | - |
| SAC   | D saharoza                              | Saharoza-acidifikacija                | -                         | - | - |
| LARA  | L-arabinoza                             | L Arabinoza-acidifikacija             | -                         | - | - |
| DARL  | D arabitol                              | L arabitol-acidifikacija              | -                         | - | - |
| CDEX  | A ciklodekstrin                         | Ciklodekstrin-acidifikacija           | -                         | - | - |
| VP    | Natrijum piruvat                        | Produkcija acetoina (Voges Proskauer) | +                         | + | + |
| APPA  | L alanil L fenilalanil L                | Alanil fenilalanil prolin             | +                         | + | + |

|       |                                                  |                                              |   |   |   |
|-------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------|---|---|---|
|       | prolin $\beta$ naftilamid                        | arilamidaza                                  |   |   |   |
| B GAL | 2 naftil $\beta$ D galaktopiranozid              | B galaktozidaza                              | - | - | - |
| PyRA  | Piroglutaminska kiselina – $\beta$ naftilamid    | Piroglutaminska kiselina arilamidaza         | - | - | - |
| B NAG | 6-bromo 2 naftil N acetil $\beta$ D glukosaminid | N acetil $\beta$ glukozaminidaza             | - | - | - |
| GTA   | L glicil L triptofan $\beta$ naftilamid          | Glicil triptofan arilamidaza                 | - | - | - |
| HIP   | Natrijum hipurat                                 | Hidroliza hipurata                           | - | - | - |
| GLYG  | Glikogen                                         | Glikogen-acidifikacija                       | - | - | - |
| PUL   | Puliulan                                         | Puliulan-acidifikacija                       | - | - | - |
| MAL   | D maltoza                                        | Maltoza-acidifikacija                        | - | - | - |
| MEL   | D melibioza                                      | Melibioza-acidifikacija                      | - | - | - |
| MLZ   | MLZ D melecitoza                                 | melecitoza-acidifikacija                     | - | - | - |
| MBDG  | Metil $\beta$ D glukopiranozid                   | Metil $\beta$ D glukopiranozid-acidifikacija | - | - | - |
| TAG   | D tagatoza                                       | Tagatoza-acidifikacija                       | - | - | - |
| B MAN | 4 nitrofenil $\beta$ D manopiranozid             | B manozidaza                                 | - | - | - |
| URE   | urea                                             | ureaza                                       | - | - | - |

Резултати приказани у табели 1. показују да је метаболички профил два изолата (1 и 3) био исти, док се изолат број 5 разликовао једино у погледу способности ацидификације лактозе.

Промјена pH вриједности у M17 бујону са 1% глюкозе дејством изолата *L. garvieae* приказана је у табели 2.

**Табела 2.** Резултати испитивања утицаја изолата *L. garvieae* на промјену pH вриједности у M17 бујону са 1% глюкозе

| Вријеме                  | Ознака изолата  |      |      |
|--------------------------|-----------------|------|------|
|                          | 1               | 3    | 5    |
| Након 2 h                | 6,83            | 6,86 | 6,87 |
| 4 h                      | 6,83            | 6,83 | 6,83 |
| 8 h                      | 6,76            | 6,77 | 6,75 |
| 24 h                     | 4,90            | 4,90 | 4,91 |
| 48 h – постацидификација | 4,86            | 4,85 | 4,87 |
| Гас након 24 h           | 1/3 Дурх. цјев. | Мало | -    |

Резултати приказани у табели 2. показују да се pH M17 бујона са 1% глюкозе након 24 sata инкубације испитиваних изолата кретао од 4,90 до 4,91 и при томе је изолат број 1 стварао гас.

Промјена pH вриједности у M17 бујону са 1% лактозе дејством изолата *L. garvieae* приказана је у табели 3.

**Табела 3.** Резултати испитивања утицаја изолата *L. garvieae* на промјену pH вриједности у M17 бујону са 1% лактозе

| Вријеме                  | Ознака изолата |      |      |
|--------------------------|----------------|------|------|
|                          | 1              | 3    | 5    |
| Након 2 h                | 6,88           | 6,97 | 6,87 |
| 4 h                      | 6,90           | 6,97 | 6,89 |
| 8 h                      | 6,84           | 6,84 | 6,87 |
| 24 h                     | 5,04           | 5,64 | 5,69 |
| 48 h – постацидификација | 4,81           | 4,73 | 4,75 |

Резултати приказани у табели 3. показују да се pH вриједност M17 бујона са додатком 1% лактозе након 24 h инкубације испитиваних изолата кретала од 5,04 до 5,69.

Резултати испитивања способности ацидификације и постацидификације изолата *L. garvieae* у 1% реконституисаном обраном млијеку приказани су у табели 4.

**Табела 4.** Резултати испитивања утицаја изолата *L. garvieae* на промјену pH вриједности у 1% реконституисаном обраном млијеку

| Вријеме                  | Ознака изолата     |              |              |
|--------------------------|--------------------|--------------|--------------|
|                          | 1                  | 3            | 5            |
| Након 2 h                | 7,16               | 7,24         | 7,22         |
| 4 h                      | 6,96               | 7,14         | 7,14         |
| 8 h                      | 6,89               | 7,05         | 7,07         |
| 24 h                     | 6,83<br>нема груша | 5,73<br>груш | 6,04<br>груш |
| 48 h – постацидификација | 4,04               | 3,90         | 3,97         |

Резултати приказани у табели 4. показују да се *L. garvieae* вриједност 1% реконституисаног млијека након 24 сата инкубације испитиваних изолата кретала од 5,73 до 6,83. Два изолата (3 и 5) показали су способност коагулације млијека након 24 сата инкубације.

Према способности ацидификације, сојеви бактерија млијечне киселине могу се сврстати у три групе. У прву групу спадају сојеви који имају брзу способност ацидификације, односно који након 24 сата инкубације мијењају *L. garvieae* вриједност бујона, односно реконституисаног 1% обраног млијека у распону од 4,31 до 4,65. У другу групу се сврставају сојеви који имају спору способност ацидификације, односно који након 24 сата инкубације мијењају *L. garvieae* вриједност бујона или реконституисаног 1% обраног млијека у границама од 5,52 до 6,47. У трећу групу спадају сојеви који се одликују спо-

ром способношћу ацидификације и одсуством стварања груша у 1% реконституисаном обраном млијеку. Сојеви који имају степен постацидификације у интервалу од 0 до 0,49 вриједности *L. garvieae* сматрају се сојевима који имају мали степен или уопште немају способност постацидификације (Мартиновић Александра, 2003). На основу способности ацидификације, испитивани сојеви *L. garvieae* означени са 3 и 5 могу се сврстати у другу групу сојева, јер након 24 сата мијењају *L. garvieae* вриједност млијека у интервалу 5,41 до 6,32, а сој *L. garvieae* означен са 1 може се сврстати у групу сојева који имају мали степен ацидификације.

## ДИСКУСИЈА

Наша испитивања су показала да су два од три изолата *L. garvieae* имала способност разлагања лактозе, односно стварања млијечне ки-

селине, док је један сој био лактоза негативан (табела 1). Fortina et al. (2007) у својим су истраживањима утврдили да су сви изолати *L. garvieae* поријеклом из традиционално произведених сирева у Италији били лактоза позитивни, а сви изолати поријеклом из риба лактоза негативни. Borgo Francesca et al. (2009) у својим су истраживањима утврдили да сојеви *L. garvieae* изоловани из млијека посједују ген који кодира стварање ензима фофсо- $\beta$ -галактозидазе, за разлику од сојева изолованих из риба. Аутори сматрају да овај ген може бити маркер за разликовање типова из двије различите еколошке нише. Супротно овим истраживањима, сва три наша испитивана изолата су показала негативан тест на фосфо- $\beta$ -галактозидазу (табела 1).

Сви испитивани изолати *L. garvieae* показали су способност стварања ацетона, испарљиве компоненте која утиче на стварање карактеристичног укуса и мириса производа, што је једна од значајних особина микроорганизама који се користе у стартер културама. Ацетонин (ацетилметилкарбинол) настаје кондензацијом два молекула ацеталдехида уз присуство тиамина-пиродифосфата.

Током индустријске производње различитих врста ферментисаних млијечних производа веома је значајна способност ацидификације култура које се користе као стартери. У зависности од врсте производа и начина производње захтева се и различита рН вриједност. Код неких производа пожељно је снижити рН на 4,6–4,8, док је код неких жељени рН у границама од 5,0 до 5,2 (Мартиновић Александра, 2003). Сојеви изоловани у нашим испитивањима су мијењали рН М17 бујона са додатком 1% глукозе у интервалу од 4,90 до 4,91, М17 бујона са додатком лактозе од 5,04 до 5,69, а рН 1% реконституисаног обраног млијека од 5,73 до 6,83 (табеле 2, 3. и 4).

Два испитивана изолата су након 24 сата коагулисали 1% реконституисано обрано млијеко. Један изолат није показао способност коагулације млијека, али је једини стварао гас из глукозе. На промјене рН утиче количина створене млијечне киселине у току метаболизма бактерија млијечне киселине које се користе за инокулацију.

На трајност појединих ферментисаних производа у великој мјери утиче и степен поста-

цидификације. При одабирању стартер култура велика пажња се поклања сојевима који се карактеришу малим степеном или потпуним одсуством постаидификације. Сви испитивани сојеви су показали мали степен постаидификације М17 бујона са додатком 1% глукозе, који се кретао у интервалу од 0,04 до 0,05, као и мали степен постаидификације М17 бујона са додатком 1% лактозе, који се кретао од 0,23 до 0,91. Међутим, висок степен постаидификације сви сојеви су показали у 1% реконституисаном обраном млијеку, гдје се промјена рН вриједности кретала од 1,83 до 2,79. С обзиром на то да су уочљиве значајне разлике у степену постаидификације у зависности од медијума, то се може довести у везу са способношћу ових микроорганизама да користе и друге изворе енергије, осим глукозе и лактозе. У прилог овој чињеници су и позитивни тестови на способност разлагања аргинина, трехалозе, аланина, фенилаланина и натријум пирувата (табела 1).

## ЗАКЉУЦИ

Сва три испитивана изолата *Lactococcus garvieae* су након 24 сата показала способност споре ацидификације М17 бујона са 1% глукозе односно 1% лактозе, као и 1% реконституисаног обраног млијека. Сва три изолата су показала мали степен постаидификације М17 бујона са 1% глукозе, М17 бујона са 1% лактозе и значајно већи степен постаидификације 1% реконституисаног обраног млијека након 48 сати инкубације. Два од три испитивана изолата су грушали млијеко након 24 сата инкубације. Само један од три испитивана изолата је показао способност стварања гаса након 24 сата инкубације.

Испитивани изолати *Lactococcus garvieae* својим метаболичким продуктима могу утицати на стварање специфичних карактеристика млечних производа, у којима се налазе као дио природне микрофлоре.

## LITERATURA

1. Alegria, A., Alvarez-Martin, P., Sacristàn, N., Fernández, E., Delgado, S., Mayo, B. (2009): Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casin, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk, *Int J Food Microbiol.*, 136(1): 44–51.

2. Alomar, J., Loubiere, P., Delbes, C., Nouaille, S., Montel M. C. (2008a): Effect of *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecalis* on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in microfiltered milk, *Food Microbiol.*, 25(3), 502–508.
3. Alomar, J., Lebert, A., Montel, M. C. (2008b): Effect of temperature and pH on growth of *Staphylococcus aureus* in co-culture with *Lactococcus garvieae*, *Curr. Microbiol.* 56(4): 408–412.
4. Borgo Francesca, Giovanni Ricci, Maria Grazia Fortina (2009): A genetic marker for distinguishing *Lactococcus garvieae* strains from different food environments, *Annals of Microbiology*, 59, Special Issue.
5. Delbes Céline, Jomaa Alomar, Cécile Callon, Z. Chaabna, Marie-Christine Montel (2008): *Ecological approach of the inhibition of S. aureus by Lactococcus garvieae in raw milk cheese*, [www.foodmicro2008.org/fm08/resources/374/1143/pdf/FM2008\\_0806](http://www.foodmicro2008.org/fm08/resources/374/1143/pdf/FM2008_0806)
6. Doménech, A., Prieta, J., Fernández-Garayzábal, J. F., Collins, M. D., Jones, D., Domínguez, L. (1993): Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*, *Microbiologia*. 9(1): 63–68.
7. El-Baradei, G., Delacroix-Buchet, A., Ogier, J. C. (2007): Biodiversity of bacterial ecosystems in traditional Egyptian Domiati cheese, *Appl. Environ. Microbiol.* 73(4): 1248–55.
8. Eldar, A., Goria, M., Ghittino, C., Zlotkin, A., Bercovier, H. (1999): Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia, *Appl. Environ. Microbiol.* 65(3): 1005–8.
9. Fernández Elena, Ángel Alegría, Susana Delgado, Baltasar Mayo (2010): Phenotypic, genetic and technological characterization of *Lactococcus garvieae* strains isolated from a raw milk cheese, *International Dairy Journal*, Vol. 20 Issue 3, 142–148.
10. Fortina, M. G., G. Ricci, R., Foschino, C., Picozzi, P., Dolci, G., Zeppa, L., Cocolin, P.L., Manachini (2007): Phenotypic typing, technological properties and safety aspects of *Lactococcus garvieae* strains from dairy environments, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 103, Issue 2, 445–453.
11. Joković, N., Nikolić, M., Begović, J., Jovčić, B., Savić, D., Topisirović, L. (2008): A survey of the lactic acid bacteria isolated from Serbian artisanal dairy product kajmak, *Int J Food Microbiol.* 127(3): 305–311.
12. Klijn Nicolette, A. H. Weerkamp, Willem M. De Vos Nizo (1995): Detection and characterization of lactose-utilizing *Lactococcus spp.* in natural ecosystems, *Applied and environmental microbiology*, Vol. 61, No. 2, 788–792.
13. Martinović Aleksandra (2003): *Karakterizacija sojeva bakterija mliječne kiseline izolovanih iz autohtonih fermentisanih mliječnih proizvoda*, Magistarski rad, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
14. Martinović, A., Radulović Z., Wind A., Janzen T., Obradović D. (2005): Isolation and characterization of bacterial flora from farmhouse fermented milk products of Serbia and Montenegro, *Acta Veterinaria*, Vol. 55, No. 4, 307–318, Beograd.
15. Martinović Aleksandra, R. K. Abrahamsen, D. Obradović (2006): Biohemijske aktivnosti selektovanih sojeva bakterija mlečne kiseline, *Biotechnology in Animal Husbandry* 22 (1–2), ISSN 1450–9156, 139–151.
16. Radulović Zorica, Radin Dragoslava, Obradović D. (2006): Autohtona mikroflora sjeničkog sira, *Prehrambena industrija*, 48–51.
17. Villani F., M. Aponte, G. Blaiotta, G. Mauriello, O. Pepe, G. Moschetti (2002): Detection and characterization of a bacteriocin, garviecin L1-5, produced by *Lactococcus garvieae* isolated from raw cow's milk, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 90, Issue 3, 430–439.
18. Zeppa G., Maria Grazia Fortina, Paola Dolci, Anna Acquati, A. Gandini, P. L. Manachini (2004): Characterization of autochthonous lactic acid bacteria from an artisanal italian cheese, *Acta agriculturae slovenica*, 84 (2004)1, 3–9.

J. Vasić, D. Urošević<sup>1</sup>, S. Gatarić<sup>2</sup>

## OSTEOFIKSACIJA PRELOMA DUGIH KOSTIJU

### Kratak sadržaj

U ovom radu prikazani su rezultati dvadesetogodišnjeg rada na sanaciji preloma dugih kostiju metodom intramedularne fiksacije Küntscherovim klinom. Tokom ovog perioda urađen je i eksperimentalni rad na 29 životinja kojima je, posle artificijelno kreirane frakture distalne trećine potkolenice, prelom saniran intramedularnim uklinjavanjem kroz skočni zglob i ove životinje su opservirane u periodu od 3,5 meseci, a praćene su klinički i radiografski, da bi, po završetku oglada, bile žrtvovane i da bi bila urađena patohistološka analiza mesta frakture i strukture skočnog zgloba. Posle završetka ovog eksperimenta, ovaj metod sanacije distalnih preloma podlaktice i potkolenice uveden je u standardnu kliničku praksu i uspešno je iskorišćen kod preko 230 pacijenata.

**Ključne reči:** osteofiksacija, radius, tibija, Küntscherov klin, pas.

### Abstract

This paper presents the results of the twenty-year work on the restoration of long bone fracture fixation method intramedularne Küntscherovim nail. During this period, made the experimental work of the 29 animals that was created after arteficial distal-third leg fractures. Fracture repaired intramedular nailing through the tarsal joint and the animals were observed during the period of 3.5 months, and are accompanied by clinical and x-ray to the end experiments were sacrificed and done pathohistological analysis of fractures and tarsal structure. After completion of the experiment, this method of repair distal tibia fractures was introduced into standard clinical practice and successfully used in over 230 patients.

**Key words:** osteofixation, radius, tibia, Küntscher nail, dog.

---

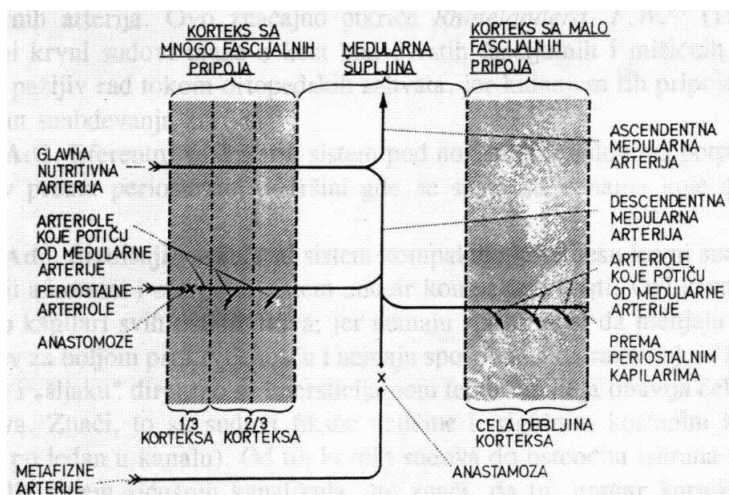
<sup>1</sup> Prof. dr Jugoslav Vasić, as. mr sc. Dragiša Urošević, Katedra za hirurgiju, oftalmologiju i ortopediju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

<sup>2</sup> Dr sc. Siniša Gatarić, Veterinarska stanica Prnjavor.

## UVOD

Osteofiksacija podlaktice i potkolenice predstavlja veliki izazov za svakog hirurga zbog idealnog operativnog pristupa i relativno lake primene operativne tehnike. Međutim, entuzijazam brzo nestaje zbog čestih komplikacija, čije lečenje uslovljava veliki trud, znanje i vreme. Distalnoj trećini podlaktice i potkolenice pripada posebno mesto zbog anatomske, morfološke i funkcionalne karakteristike. Kod osteofiksacije preloma distalne trećine ovih

kostiju, zbog raspolaganja manjim fragmentima kosti za fiksaciju, zahteva se i mnogo preciznija pozicija. Otežavajuću okolnost predstavlja i blizina zglobnih površina. Sve ove specifičnosti upućuju na postojanje mogućnosti novog načina fiksacije preloma distalne trećine potkolenice putem transartikularnog intramedularnog uklinjavanja Küntscherovim klinom. Ovakvom hirurškom tehnikom dobija se stabilna osteofiksacija. Operativni pristup distalnoj trećini podlaktice i potkolenice je sa medijalne strane.



Slika 1. Normalne komponente kostnog krvotoka

Normalne komponente periostalne cirkulacije dugih kostiju su vene i kapilari koji dreniraju krv iz korteksa (sl. 1). Arteriole su u manjem stepenu zastupljene sa funkcijom snabdevanja krvlju samo korteksa na mestima čvrstih fascijalnih pripoja.

Reparacija koštanog tkiva je kontinuirani proces, koji je grubo podeljen u tri faze. Granice između pojedinih faza nisu jasno izražene i stoga dolazi do preklapanja pojedinih procesa u raznim fazama.

### a) Inflamatorna faza

Dejstvom traume sama kost je oštećena, ali uz nju i okolno meko tkivo, uključujući periost, pripadajuće mišiće i mnogobrojne krvne sudove, što izaziva pojavu i akumulaciju hematoma. Krv vrlo brzo koaguliše, stvarajući tromb na tom mestu. Dalje, kao posledica ruptur krvnih sudova prekida se ishrana osteocita i nastupa njihova liza, i to u zoni do kolateralnih kanala najbližih liniji frakture.

Ovakva oštećenja u predelu frakture, mekog tkiva, periosta i koštane srži doprinose stvaranju nekrotičnog materijala koji izaziva akutnu inflamatornu reakciju, ne samo s lokalnom već i širom vazodilatacijom i eksudacijom i stvaranjem akutnog edema sveže frakture. Vezivne ćelije migriraju prema regiji frakture, kao i polimorfonukleari, leukociti i makrofagi. Kako akutna faza jenjava, započinje prvi korak u reparatornoj fazi.

### b) Reparatorna faza

Ćelije koje su direktno uključene u reparatornu fazu mezenhimnog su porekla. Ove ćelije su multipotentne i mogu formirati kolagen, koštano i hrskavičavo tkivo. Male varijacije njihove mikrosredine, kao i pritisak kojem su podvrgnute, određuju vrstu tkiva koje će dominirati.

Preživeli osteociti ne učestvuju u reparaciji jer su inaktivisani u procesu resorpcije. Međutim, većina ćelija

koje učestvuju u zaceljivanju frakture ulaze u oblast frakture zajedno sa granulacionim tkivom koje osvaja ovu regiju iz okolnih krvnih sudova. Da li reparatorne ćelije potiču direktno od endotela krvnih sudova ili su „lutajuće ćelije“, ili su derivati jedara eritrocita, čini se manje važnim od same činjenice da je reparacija direktno vezana za ulazak krvnih sudova, tj. kapilara u oblasti frakture. Celokupni navedeni proces dovodi do stvaranja tkiva odnosno kalusa koji se sastoji od fibroznog tkiva, hrskavice i nezrele fibrozne kosti.

Kalus brzo obuhvata krajeve frakturirane kosti i povećava njihovu stabilnost. Varijacije u pritisku kiseonika bez sumnje dovode do formiranja koštanog ili hrskavičnog tkiva. Hrkavično tkivo formira se u zonama manjeg pritiska kiseonika kao rezultat veće udaljenosti ćelija od krvnih sudova. Ovakvo formirana hrskavica vremenom se resorbuje procesom koji se ne može razlikovati od endohondralnog mehanizma stvaranja kosti, osim po nedostatku u organizaciji trabekula.

U ranoj fazi reparacije, prema tome, dominira hrskavična formacija sa visokom koncentracijom mukopolisaharida, nakon čega se postepeno povećava koncentracija kolagena i akumulacija kristala kalcijumhidroksiapatita. Sadržaj kolagena se vraća na normalni nivo posle faze mineralizacije. Zatim dolazi do formiranja osteoblasta od tro-

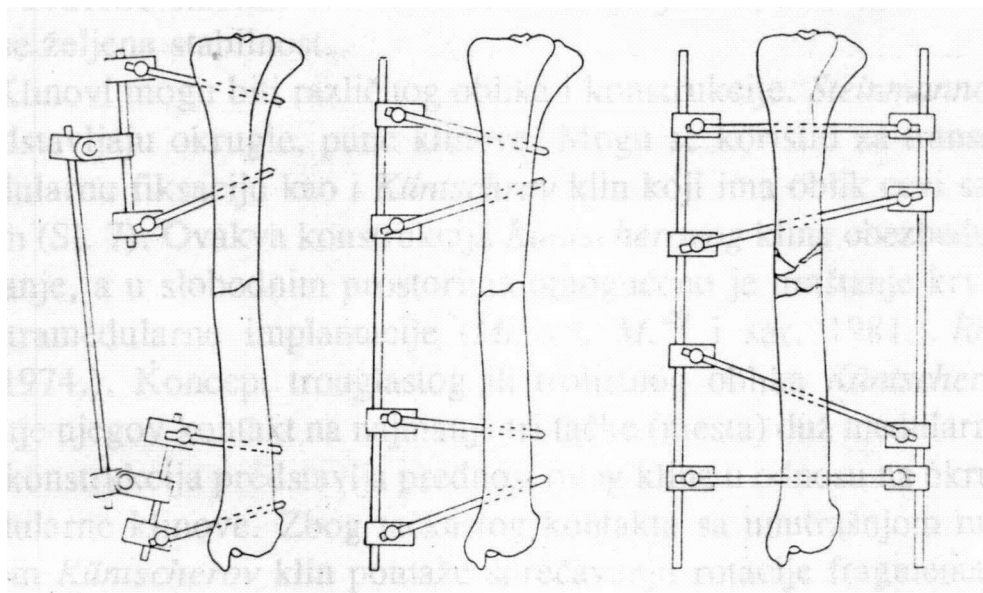
pokolagena koji se kreće iz unutrašnjeg ka spoljašnjem delu ćelije polimerizujući se u kolagene.

### c) Faza remodelacije

Faza remodelacije traje relativno dugo. U njoj dolazi do osteoklastične resorpcije nepotrebnih i loše postavljenih trabekula i formiranja novih potpornih koštanih ćelija koje odgovaraju linijama sile. Završni rezultat je originalna forma kosti, tj. njen izmenjeni oblik, koji je u stanju da postavljene funkcije najadekvatnije obavi.

U eksperimentu sa psima dokazano je da kanali remodeliranog Haverzovog sistema rastu brzinom od 70 do 100 nm na dan. Nakon osam nedelja, oko 60% osteoma prelazi liniju osteotomije, a najveći intenzitet remodeliranja je između treće i šeste nedelje.

Osnovni cilj osteofiksacije jeste repozicija, kontencija i fiksacija, čime se omogućava da biološki mehanizmi obave koštano zarastanje. Dobar broj preloma podlaktice i potkolenice može da se sanira zatvorenom repozicijom i fiksacijom gipsanim zavojem ili udlagama. Drugi način zbrinjavanja je perkutana spoljna fiksacija (slika 2) upotrebom Steinmannovih klinova, koji moraju da budu pod uglom od 35 do 45°.



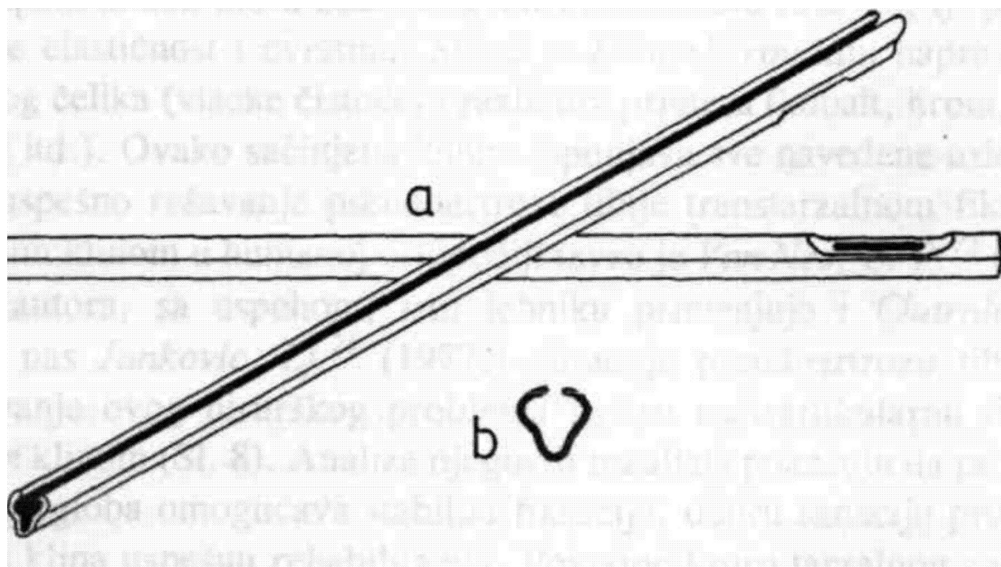
**Slika 2.** Izgled Kürschner-Ehmer aparata za spoljašnju fiksaciju

Indikacija za operativni zahvat osteofiksacije jesu otvoreni prelomi i prelomi sa skraćenjem više od 1 cm. Primena ploča i šrafova, pogotovu kompresivnih, vrlo je popularna u modernoj ortopediji. Ona omogućava odličnu anatomsku repoziciju i kontenciju fragmenata, bez njihovog odvajanja od pripojenih mekih tkiva, stabilnu osteofiksaciju i ranu mobilizaciju zglobova i mišića. Iz ovih razloga mnogi autori koriste ovu operativnu tehniku za prelome dijafize podlaktice i potkolenice. Ova tehnika podrazumeva mnogobrojnu i skupu opremu, u čijoj primeni dobrim delom i leži tajna uspeha ovog metoda.

Küntscher (1940) je prvi izvršio uspešne operacije fraktura dijafize femura, primenjujući klin od specijalne legure čelika koji ne oksidiše, a tkivo ga dobro podnosi. Nakon uspešnih eksperimentalnih radova na psima primenio je ovaj metod sa uspehom i na ljudima. Nakon ovoga pojavljuju se sve češće radovi iz područja intramedularne osteofiksacije klinom po metodu Küntschera, i to ne samo za butnu kost, već i za druge duge cevaste kosti. Kod preloma

dijafize podlaktice i potkolenice intramedularni klinovi se koriste kod kratkih kosih i poprečnih preloma.

Klinovi mogu biti različitog oblika i konstrukcije. Steinmannov i Rushov klin predstavljaju okrugle, pune klinove. Mogu se koristiti za transartikularnu intramedularnu fiksaciju, kao i Küntscherov klin, koji ima oblik cevi sa trolisnim presekom (slika 3). Ovakva konstrukcija Küntscherovog klina obezbeđuje najbolje uklinjavanje, a u slobodnim prostorima omogućeno je urastanje krvnih sudova posle intramedularne implantacije. Koncept trouglastog ili trolisnog oblika Küntscherovog klina omogućuje njegov kontakt na najmanje tri tačke (mesta) duž medularne šupljine. Ovakva konstrukcija predstavlja prednost ovog klina u odnosu na okrugle (pune) intramedularne klinove. Zbog tačkastog kontakta sa unutrašnjom medularnom površinom, Küntscherov klin pomaže sprečavanju rotacije fragmenata. Funkcija klina kao implantata jeste da omogući stanje mirovanja i imobilizacije fragmenata frakturirane kosti, čime su stvoreni maksimalni uslovi za zarastanje preloma, a sve to se postiže elastičnim uklještenjem.



**Slika 3.** (a) Küntscherov klin, (b) trolisni profil

Stabilnost osteofiksacije ne povećava se dodatnom kompresijom, već proširenjem medularnog kanala i pravilnim izborom klina koji s elastično ukotvljuje. Nakon opterećenja, sekundarno dolazi do stabilizirajuće interfragmentarne kompresije. Na ovaj način klin zadovoljava

osnovne principe AO metode, odnosno prisutna je sila nanošenja i sila interfragmentarne kompresije. One su posledica prenapregnutosti implanta, a rezultiraju neutralizacijom štetnih sila torzije, smicanja i savijanja.

Iako je izvođenje operativnog zahvata predstavljalo traumom za organizam, sve su životinje operaciju podnele veoma dobro zahvaljujući pravilnoj preoperativnoj pripremi, dobroj anesteziji i kratkotrajnoj operacionoj tehnici (svega u proseku 15 do 20 minuta). Vrednosti trijasa su prva tri dana bile u gornjim granicama, da bi nakon toga i do kraja ekstrakcije klina bile u normalnim vrednostima. Zarastanje rane je u svim slučajevima bilo *per primam intentionem* u roku od 7 do 10 dana.

Kliničkom opservacijom u postoperativnom toku ustanovili smo da već petoga dana većina životinja počinje da opterećuje vrhovima prstiju operisani ekstremitet, kako pri stajanju tako i pri kretanju. Nakon tri nedelje svi psi su se oslanjali na operisani ekstremitet uz hromost II stepena i primetnu ankilozu karpalnog i skočnog zgloba i otok veličine oraha na medijalnoj strani. Palpacijom smo ustanovili bezbolnu, netemperiranu i čvrsto elastičnu konzistenciju otoka i prisustvo kraja Küntscherovog klina na dorzalnoj strani ekstremiteta.

U pokazanim rezultatima radiografskog ispitivanja kod životinja u periodu odmah nakon operativnog zahvata dominiraju znaci uspešne i potpune repozicije i kontencije fragmenata frakturiranih kostiju bez obzira na visinu linije prekida kosti u odnosu na distalnu epifizu.

U drugom posmatranom periodu, tri nedelje od operativnog zahvata, kada smo vršili kontrolna snimanja, kod svih životinja je primećeno dobro formiranje periostalnog i endostalnog kalusa, kao i prisustvo otoka mekih tkiva u predelu zglobova.

Treći posmatrani period je vreme pre ekstrakcije klina, u kome se može zapaziti kod svih jedinki dobro konsolidovan kalus koji ne deformiše kost, zatim zrnasto zasenčenje na karpusu, talusu i kalkaneusu (u predelu ulaska klina), kao i sužen interartikularni prostor zglobova. Kod svih eksperimentalnih životinja prisutna je i malo uvećana senka mekih tkiva u predelu karpalnog i tarzalnog zgloba. U periodu od 12 do 14 nedelja nakon vađenja klina gube se znaci reaktivnog procesa. Javljaju se i dominiraju procesi sanacije koštanog tkiva. U oblasti oštećenja zglobnih površina formiranje kosti je brzo i uočeno je da se proteže prema zglobu. Granulaciono tkivo je u potpunosti zamenjeno zrelim vezivnim tkivom koje je slabo celularno i delom hijalinizovano. U ovom periodu nestaju znaci hiperplastične hrskavice. Ona u vidu zrele hijaline hondroidne mase čvrsto spaja krajeve defekta, a mestimično je prekrivena vezivnim tkivom.



**Slika 4.** ML i AP projekcija potkolenice psa sa dvostrukom kosom frakturom potkolenice sa prisustvom iverastih sekvestara i sačme



**Slika 5.** ML i AP projekcija potkolenice psa odmah posle transartikularne intramedularne fiksacije



**Slika 6.** ML i AP projekcija potkolenice psa pet nedelja posle operacije sa znacima stvaranja periostalnog kalusa



**Slika 7.** ML i AP projekcija potkolenice psa četiriipo nedelje posle vađenja klina

С. Гатарих<sup>1</sup>, Д. Урошевић, Ј. Васић<sup>2</sup>

## ЕНУКЛЕАЦИЈА БУЛБУСА КОД ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА

### Кратак садржај

Енуклеација представља хируршки захват којим се одстрањује очна јабучица и трећи очни капак.

Индикације за енуклеацију су: неоплазме ока, масивне и перфорирајуће трауме, енофталмус и панофталмус високог степена, као и хронични глауком који је резистентан на све терапеутске методе.

У хирургији домаћих животиња постоје три квалитативно различита метода за екстирпацију ока са специфичним индикацијама за њихово извођење.

**Кључне речи:** око, енуклеација, домаће животиње.

S. Gatarić, D. Urošević, J. Vasić

### Abstract

The frequency of occurrence of infections, accidental wounds and malignant tumors of the eye ablation a common surgical procedure. The most satisfactory technic used is the one described by Bemis. This involves the complete removal of the conjunctiva along with the eyeball and the suturing together of the eyelids. This operation removes all the secreting glands and closes the eye socket.

**Key words:** eye, enucleation, domestic animals.

---

<sup>1</sup> Др sc. Синиша Гатарих, Ветеринарска станица Прњавор

<sup>2</sup> Ас. мр sc. Драгиша Урошевић, проф. др Југослав Васић, Катедра за хирургију, офталмологију и ортопедију, Факултет ветеринарске медицине, Београд.

## УВОД

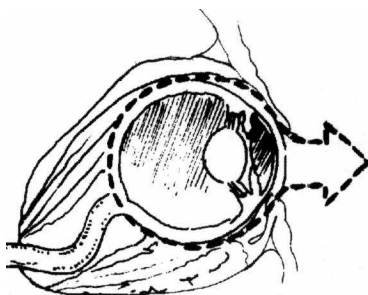
Енуклеација представља хируршки захват којим се одстрањује очна јабучица и трећи очни капак.

Индикације за енуклеацију су: неоплазме ока, масивне и перфорирајуће трауме, енофталмус и панофталмус високог степена, као и хронични глауком који је резистентан на све терапеутске методе.

У хирургији малих животиња постоје три квалитативно различита метода за екстирпацију ока са специфичним индикацијама за њихово извођење:

- супконјунктивална енуклеација (слика 1), која подразумева супконјунктивално одстрањивање очне јабучице; овај метод има најбоље резултате и оставља много орбиталног ткива, за разлику од транспалпебралне технике;

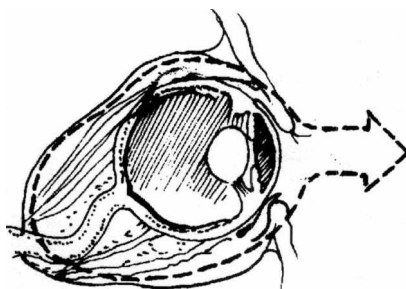
Слика 1.



- ексентерација (слика 2) јесте транспалпебрални метод која обухвата радикално хируршко одстрањивање целокупног булбуса са маргиналним делом капака, мишићима који покрећу очну јабучицу и припадајућим периор-

биталним ткивом; ова техника се користи код оних процеса који имају инвазивни карактер, као што су неконтролисане инфекције или неоплазме;

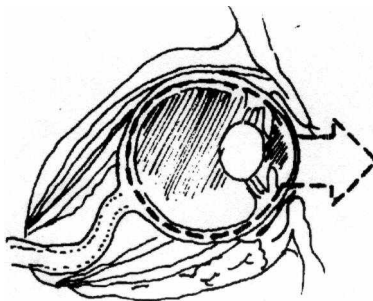
Слика 2.



- евисцерација (слика 3) јесте хируршка техника којом се одстрањује само садржај очне јабучице, без одстрањивања склере и корнеје;

ова техника се користи код оних случајева глаукома који се решавају имплантацијом интрасклералне протезе.

Слика 3.



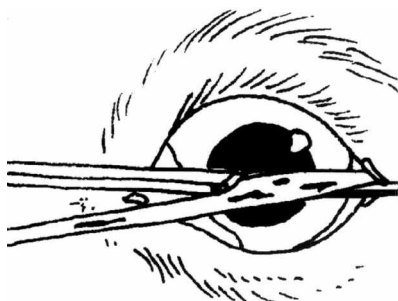
### СУПКОНЈУНКТИВАЛНА ЕНУКЛЕАЦИЈА

Профилактичка употреба антибиотика код енуклеације може да се користи у оним случајевима када је процес старији или када се установе знаци унапредовале инфекције.

Оперативни захват се изводи у општој анестезији. Животиња је постављена у по страни

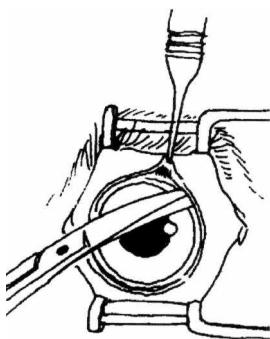
положај са оком које се оперише према горе. Длака на латералном очном углу мора да се уклони шишањем, а кожа да се дезинфикује повидон јодид раствором. После постављања компресе пласира се рез из латералног очног угла дужине до 2 центиметра (латерална кантотомија, слика 4), чиме се олакшава експозиција ткива ока које се оперише.

Слика 4.



Следећа фаза оперативног захвата обухвата постављање иницијалног циркуларног реза (360 степени) на конјунктиви, одмах поред лимбуса корнеје. Затим се конјунктива, фасција и

екстраокуларни мишићи кривим маказама одвајају од склере све до нивоа оптичког нерва (слика 5).

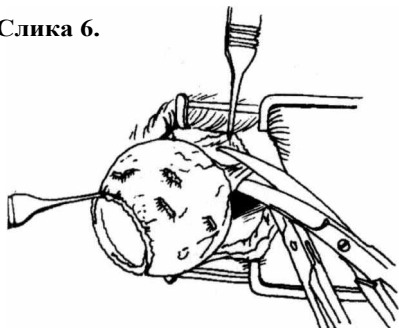


Слика 5.

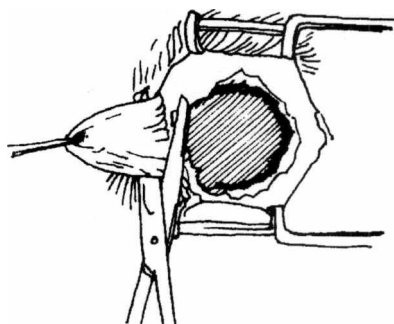
Манипулација, а посебно тракција оптичког нерва мора да буде изузетно пажљива, јер у противном долази до оштећења шијазме са последичним поремећајем на контралатералном оку. Пре одвајања оптичког нерва поставља се лигатура око њега и околних крвних судова, чиме се превенирају обимнија крва-

рења (слика 6). После обављене енуклеације, створена шупљина се привремено испуни газом да би се спречило крварење док се обрађују капци. Следећи корак је потпуно одстрањивање трећег очног капка и рубова горњег и доњег очног капка (слика 7).

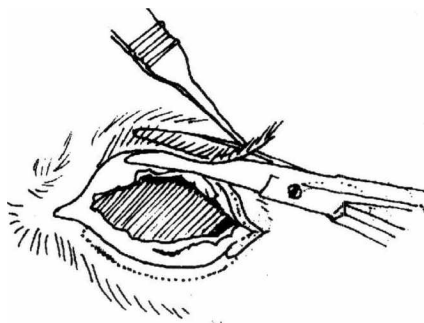
Слика 6.



Слика 7.

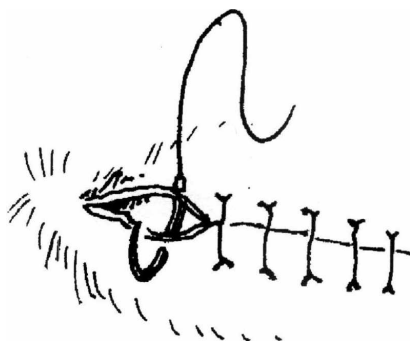
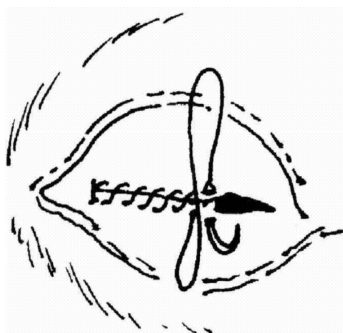


У следећој фази оперативног захвата капци се исецају маказама (слика 8).

**Слика 8.**

Газа која је привремено стављена у орбиту одстрањује се и овако припремљена позиција се затвара по слојевима без апликације било каквог антисептичког раствора или антибиотског прашка у шупљину. Прво се шије конјунктива (сли-

ка 9) шавом дебљине 4-0 од ресорптивног материјала (Дехон). Инцизија која је остала после одстрањивања рубова капака шије се појединачним шавом (слика 10) дебљине 4-0, коришћењем нересорптивног материјала – најлон или свила.

**Слика 9.****Слика 10.**

У постоперативном току, посебно у првих 24 до 72 часа, може да се појави оток који се повлачи за 3–4 дана. Поред отока, запажа се и светлоцрвени исцедак из ипсилатералне ноздрве, који је последица евакуације садржаја из орбите преко назолакрималног канала.

## ЗАКЉУЧАК

Супконјунктивална енуклеација представља технику која даје одличне резултате код паса и мачака. Интраоперативно су присутна крварења мањег обима, а највећа предност овог метода је у томе што оставља орбитално масно ткиво и екстраокуларне мишиће, чиме је дефект после операције и процеса зарастања много мањи. Зато су и козметички резултати оваквог оперативног захвата много бољи него код ексентерације.



J. Bojkovski, B. Stanković, M. Mirilović, T. Petrujkić, B. Petrujkić, B. Savić<sup>1</sup>

## DA LI CITOGENETIČKE METODE MOGU DA POSLUŽE KAO DEO BIOSIGURNOSNIH PLANOVA NA FARMAMA VISOKOMLEČNIH KRAVA?

### CAN CYTOGENETIC METHODS BE USED AS A PART OF BIOSECURITY PLANS ON DAIRY FARM?

#### Abstract

In our research heeded attention to the implementation biosecurity measures on farms cattle and pigs (Bojkovski *et al.* 2005, 2008, 2010). Planed implementation of bio security measures is fundamental in the protection of health of cattle and pigs. Requires level of biosecurity on cattle and pig farms is a result of logical thinking and timely undertaken activities in the present environment and according to epidemiological situation with recognition of specific risks from the environment and the mistakes in the process of production. The introduction of HACCP and sanitation protocols is logical solution to prevent entry and spread of infective agents in flock (Stanković *et al.* 2008, Stanković and Hristov 2009). Therefore, today it is generally accepted that biosecurity, welfare, good manufacturing practises, and risk analyses at critical control points are very important elements in the intensive production of cattle and pigs, which includes a large concentration of animals on a relatively small area. Biosecurity plans are key in disease prevention of unwanted situations and production volume increase (Uhlehoop, 2007). Plans for urgent situation in order to provide faster response to certain events are being made. Use of biosecurity indicators (insulation, as a measures of bio security on the farm quarantine, health status flock, the ratio of staff to the equipment, control of moment, and trade, the regime of visits, the control of food and equipment for feeding, removal of dead animals, control birds and rodents) should become routine mechanism to assess biosecurity on the farm, which indicate the direction for further action and possibility their improvement (Stanković *et al.* 2009, Bojkovski, 2010). In our dairy farms using questionnaire we came to conclusion that cytogenetic analysis are not widely used in detection of carriers to hereditary anomalies. Describing the holders, of genetic anomalies in particular is great importance in artificial insemination program. In this paper we have shown cytogenetic analysis n=44 heifers, which were descended from the high producing dairy cows, kept in tied system. Our recommendation is that the farms of industrial type and centres for reproduction and artificial insemination should use cytogenetic methods in detection of carriers of hereditary anomalies.

**Key words:** cytogenetic method, heifers, biosecurity plans.

<sup>1</sup> Dr Jovan Bojkovski, vanr. prof., Fakultet veterinarske medicine, Beograd; Mr Branislav Stanković, asistent, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun; dr Milorad Mirilović, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr Tihomir Petrujkić, red. prof., Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Branko Petrujkić, saradnik u nastavi, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Božidar Savić, istraživač-saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd.

Ovaj rad je finansiran sredstvima projekta TP 20110, „Razvoj i implementacija standarda dobrobiti i biosigurnosti u cilju unapređenja tehnologije proizvodnje goveda i svinja“; bojkovski@vet.bg.ac.rs

<sup>1</sup> Dr Jovan Bojkovski, assoc. prof., Faculty of Veterinary Medicine, Beograd; Mr Branislav Stanković, assistant, Agricultural faculty, Beograd-Zemun; dr Milorad Mirilović, assistant, Faculty of Veterinary Medicine, Beograd; dr Tihomir Petrujkić, full. prof., Faculty of Veterinary Medicine, Beograd; mr Branko Petrujkić, saradnik u nastavi, Faculty of Veterinary Medicine, Beograd; mr Božidar Savić, researcher, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd.

This paper is supported by Ministry of Science and Technological Developmet; TP 20110; bojkovski@vet.bg.ac.rs

## UVOD

U okviru naših istraživanja obratili smo pažnju na primenu biosigurnosnih mera na farmama goveda i svinja (Bojkovski i sar., 2005, 2008, 2010). Planska primena biosigurnosnih mera presudna je u zaštiti zdravlja goveda i svinja i uspeha proizvodnje. Potreban nivo biosigurnosti na farmama goveda i svinja treba da predstavlja rezultat logičnog razmišljanja i pravovremeno preduzetih aktivnosti u konkretnom okruženju i epidemiološkoj situaciji, sa prepoznavanjem konkretnih pretnji iz okruženja i slabih tačaka u tehnološkom procesu proizvodnje. Uvođenje HACCP-a i protokola sanitacije logično je rešenje kojim se sprečava unošenje i širenje infektivnih agenasa u zapatu (Stanković i sar., 2008; Stanković i Hristov, 2009). Naime, danas je opštepoznato da su biosigurnost, dobrobit i dobra proizvodna praksa i analiza rizika na kritičnim kontrolnim tačkama veoma značajni elementi u intenzivnoj proizvodnji goveda i svinja, koja podrazumeva veliku koncentraciju životinja na relativno malom prostoru. Biosigurnosni planovi su ključni u prevenciji bolesti i sprečavanju neželjenih situacija i unaređenju poslovanja (Uhlehoop, 2007). Takođe, prave se planovi za urgentne situacije zbog brzog reagovanja na neželjene događaje sa ciljem blagovremenog nastavljanja proizvodnje. Ocena biosigurnosti na osnovu indikatora (izolacija kao mera biosigurnosti na farmi, karantin, zdravstveni status zapata, odnos osoblja prema opremi, kontrola kretanja i prometa, režim poseta, kontrola hrane i opreme za hranjenje, izdubavanje, uklanjanje leševa uginulih životinja, odnos prema drugim životinjama na farmi, kontrola ptica, glodara) trebalo bi da postane rutinski mehanizam u proceni biosigurnosti na farmi, koji ukazuje na pravac daljeg delovanja i, eventualno, njenog unapređenja (Stanković i sar., 2009; Bojkovski i sar., 2010).

Na našim kontrolisanim farmama visokomlečnih krava metodom upitnika smo došli do zaključaka da se ne koriste rezultati citogenetičkih metoda koje omogućavaju otkrivanje nosilaca naslednih anomalija. Otkrivanje nosilaca naslednih anomalija naročito ima velikog značaja u programima veštačkog osemenjavanja. Korišćenje malog broja elitnih očeva za veštačko osemenjavanje predstavlja rizik jer postoji mogućnost brzog širenja genetskih defekata i hromozomskih abnormalnosti u populaciji

visokomlečnih krava (Molteni i sar., 2005; Bonet-Garnier i sar., 2008). Iz navedenih razloga, u ovom radu postavili smo pitanje da li citogenetičke metode mogu da budu deo biosigurnosnih planova na farmama visokomlečnih krava i u centrima za reprodukciju i veštačko osemenjavanje.

U ovom radu smo prikazali citogenetičku analizu junica  $n=44$  koje su poticale sa jedne kontrolisane farme visokomlečnih krava, vezanog sistema držanja, na kojoj su kod krava registrovani zdravstveno-reproduktivni problemi (Petrukić i sar., 1997, 2001).

## MATERIJAL I METOD

U radu je korišćen metod upitnika za sakupljanje podataka koji su se odnosili na primenu citogenetičkih rezultata prilikom odabira priplodnih grla, kao i na primenu biosigurnosnih mera na farmi.

U ogledu smo imali 44 junice holštajn-frizijske rase, koje su uzete metodom slučajnog izbora sa jedne farme visokomlečnih krava. Kariotip je analiziran kod svih junica na kulturama limfocita periferne krvi. Za analizu kariotipa iz limfocita periferne krvi korišćen je metod po Moorhedu i sar. (1960), koji je kasnije modifikovan od strane Evansa i O'Riordanove (1977).

## REZULTATI I DISKUSIJA

Prvu anomaliju kariotipa kod govečeta opisao je Gustavson (1969). Ova pojava je otkivena kod priplodnog bika, a predstavlja jednu translokaciju dva akrocentrična autozoma koja ima za posledicu smanjenu plodnost. Translokacije su najčešće uočene aberacije kod goveda, a uzrokovane su spajanjem dva akrocentrična autozoma u centromeri. Karakteristično je da se najčešće javlja centrična fuzija prvog i dvadeset devetog autozoma (1q, 29q), što kod švedskih rasa goveda uzrokuje smanjenu plodnost za 14% (Gustavson, 1974). Gustavson i Rockborn su 1964. doveli u vezu pojavu smanjene plodnosti i steriliteta goveda sa nalazom različitih tipova translokacija. Takođe, ove nalaze je potvrdio veliki broj autora, a u poslednje vreme ovom fenomenu su dali značaj Citzek i sar. (2009), Ducos i sar. (2008).

Po svakoj junici je pregledano po 100 metafaznih figura. Ustanovili smo da je procenat

U našoj analizi 44 junice u procentu od 43,1% javlja se značajan broj aberatnih ćelija, i to posebno sa strukturnim promenama hromozomskog seta.

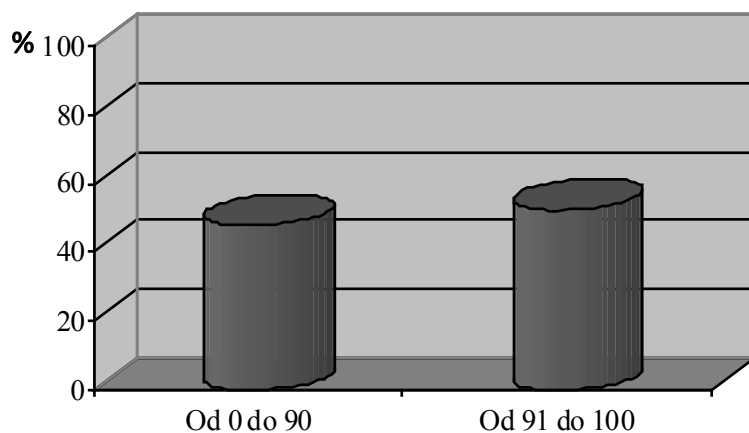
Naročito su bili visoko zastupljeni hromatidni prekidi, kao u značajnom broju pojava translokacija hromozoma raznih tipova (Bojkovski, 1994, 1998, 1999a). Ovaj naš nalaz potvrđuje i nalaze drugih autora da u osnovi poremećaja u repodukciji značajnog uticaja imaju hromozomske aberacije (Fechheimern, 1979). Sve analizirane junice potiču sa farme koja je smeštena u neposrednoj blizini zemljišta koje se intenzivno obrađuje i na kojem se značajno primenjuju herbicidi i insekticidi. Veliki broj istraživanja je potvrdio delovanje različitih hemijskih jedinjenja koja se nalaze u neposrednoj blizini životinja na zdravlje životinja (Legator, M. A., 1970; Bojkovski i sar., 1994, 1998, 1999 b, 2007; Parada i Jaszcak, 1993; Rubes i sar., 1997). Kada su u pitanju mlada grla, dozvoljava se minimum izlaganja različitim hemijskim jedinjenjima (Šivikova i sar., 1999).

**Tabela 1. Citogenetička analiza junica**

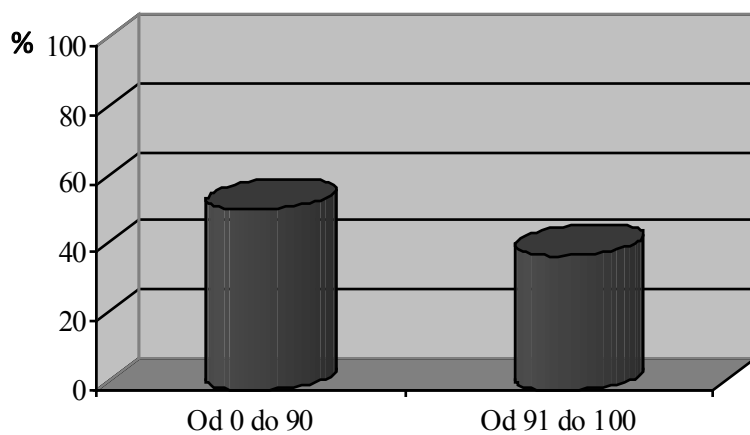
[illegible]

|           |           |           |                   |
|-----------|-----------|-----------|-------------------|
| 2 (2,0)   | 98 (98,0) | -----     | 1 (1,0) (t1q,29)  |
| 2 (2,0)   | 97 (97,0) | 1 (1,0)   | 1 (1,0) (t1q,29q) |
| 26 (26,0) | 74 (74,0) | -----     | 1 (1,0) (t1q,29)  |
| 3 (3,0)   | 97 (97,0) | -----     | 1 (1,0) (t1q,29q) |
| 40 (40,0) | 60 (60,0) | -----     | 1 (1,0) (t1q,29)  |
| 79 (79,0) | 18 (18,0) | 3,0 (3,0) | -----             |
| 81 (81,0) | 19 (19,0) | -----     | 1 (1,0)           |
| 91 (91,0) | 8 (8,0)   | 1 (1,0)   | 1 (1,0)*          |
| 91 (91,0) | 9 (9,0)   | -----     | 1 (1,0) (tq,29q)  |
| 91 (91,0) | 8 (8,0)   | 1 (1,0)   | -----             |
| 93 (93,0) | 7, (7,0)  | -----     | -----             |
| 95 (95,0) | 5 (5,0)   | -----     | 1 (1,0)*          |
| 96 (96,0) | 4 (4,0)   | -----     | -----             |
| 96 (96,0) | 4 (4,0)   | -----     | 1 (1,0)           |
| 96 (96,0) | 4 (4,0)   | -----     | -----             |
| 97 (97,0) | -----     | -----     | -----             |
| 97 (97,0) | 22        | -----     | -----             |
| 97 (97,0) | 3 (3,0)   | -----     | -----             |
| 98 (98,0) | 2 2,0     | -----     | -----             |
| 98 (98,0) | 3 (3,0)   | -----     | -----             |
| 98 (98,0) | 2 (2,0)   | -----     | -----             |
| 98 (98,0) | 2 (2,0)   | -----     | -----             |
| 98 (98,0) | 2 (2,0)   | -----     | 1 (1,0)*          |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | -----             |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | 1 (1,0)   | 1 (1,0)*          |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | -----             |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | -----             |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | 1 (1,0) (t1q,29)  |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | 1 (1,0)           |
| 99 (99,0) | 1 (1,0)   | -----     | 1 (1,0)*          |

|                              |          |          |
|------------------------------|----------|----------|
| Broj diploidnih od 0 do 90   | 21 od 44 | 11 od 21 |
| Broj diploidnih od 91 do 100 | 23 od 44 | 9 od 23  |



Procenat diploidnih



Procenat ćelija sa strukturnim hromozomskim aberacijama

$t = 0,89$   $p \geq 0,05$  statistički nije značajno

## ZAKLJUČAK

Naša preporuka je da farme industrijskog tipa i centri za reprodukciju i veštačko osemenjavanje koriste citogenetičke metode koje omogućavaju otkrivanje nosilaca naslednih anomalija.

Otkrivanje nosilaca naslednih anomalija naročito ima velikog značaja u programima veštačkog osemenjavanja.

Preventivne mere koje mogu da se sprovedu jesu isključenje nosilaca naslednih anomalija iz procesa reprodukcije (Schmutz i sar., 1996).

## LITERATURA

- Bojkovski, J. (1994): *Efekti faktora sredine na kariotipske varijacije sisata*, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
- Bojkovski, J., Petrujić, T. (1998): Cytogenetic analyses of cows from Velika Plana and Kopaonik regions, *Rev. Rom. Med. Vet.* 8, 1, 79–82.
- Bojkovski, J., Dobrić, Đ., Erski-Biljić Milanka, Palševski, B., Zakarija Dolores (1999a): The influence of polluted environment on different types of translocations and chromosome fragments cows with reproductive disorders, *Macedonian Journal of reoriduction*, 5, 1, 85–96.
- Bojkovski, J., Petrujić, T. (1999b): *Hromozomska varijabilnost krava sa poremećajima u reprodukciji*, Zbornik radova prvog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, Budva, 13–17 septembar, str. 176–182.
- Bojkovski, J., Radojičić, B., Petrujić, T., Brozan, S. (2008): *Prilog poznavanju etioloških činilaca koji utiču na zdravlje farmskih životinja*, 20 Savetovanje veterinaru Republike Srbije sa međunarodnim učešćem, Zlatibor, str. 405–412.
- Bojkovski, J., Petrujić, T., Stanković, B., Đoković, R., Valčić, M., Pavlović, I., Savić, B. (2010): *Prilog poznavanju zdravstvenih, biosigurnosnih i ekoloških problema u intenzivnoj svinjarskoj i govedarskoj proizvodnji*, Zbornik naučnih radova vol.16 br. 3–4, Institut agroekonomik, Beograd, str. 105–114.
- Bojkovski, J., Borožan, Sunčica, Hristov, S., Stanković, B., Joksimović-Todorović Mirjana, Davidović Vesna (2007): Uticaj kontaminacije sredine na zdravstveno stanje farmskih životinja, *Dobrobit životinja i biosigurnost na farmama*, monografija, Poljoprivredni fakultet Zemun str. 251–258.
- Bonet-Garnier, A., Lacaze, S., Beckers, J. F., Berland, H. M., Printon, A., Yerle, M., Duscus, A. (2008): Meiotic segregation analysis in cows carrying the t(1;29) Robertsonian translocation. *Cytogenetic Genome Res.* 120: 91–96.
- Citzek, J., Rubes, J., Hajkova, J. (2009): Short coumunication: Robertsonian transalctions, chimerisam and aneuploidy in cattle, *J. Dairy Sci.* 92: 3481–3483.
- Ducos, A., T. Revay, A. Kovacs, A. Hidas, A. Pinton, A. Bounet-Garnier, L. Molteni, E. Slota, M. Switonski, M. V. Arruga, W. A. van Haerringen, I. Nicolae, R. Chaves, H. Guedes-Pinto, M. Andereson, L. Ianuzzi (2008): Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: An overview. *Cytogenet. Genome Res.* 120: 26–41.
- Fechheimer, N. S. (1979): Cytogentic in animal production, *J. Dairy. Sci.* 62: 844–853.
- Gustavson I., Rockborn, G. (1964): Chromosome abnormality in three cases of lymphocyte leukaemia in cattle, *Nature*, 203: 990.
- Gustavson, I. (1969): Cytogenetic distribution and phenotypic effects of translocation in Swedish cattle. *Heraditas* 63, 68–169.
- Gustavson, I. (1974): 1st World congress on genetics, applier to livestock production, Madrid, 97, 176–195.
- Hristov, S., Stanković, B., Joksimović-Todorović Mirajna, Davidović Vesna (2007): Biosigurnosne mere na farmama goveda. *Dobrobit životinja i biosigurnost na farmama*, monografija, Poljoprivredni fakultet, Zemun, 259–269.

17. Legator, M. A. (1970): *Chemical mutagenesis comes of age: environmental implications*. J. Hered. 61: 239.
18. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J. Batips, D. M., Hungerford, D. A. (1960) EXP. CELL. RES. 20, 613–615.
19. Molteni, L., D. Meggiolaro, A. De Giovanni, Mascchi, L. de Lorenzi, P. Crepaldi, S. Stacchezzini, F. Cremonesi, F. Ferrara (2005): Fertility of choromosomal sperm in thre bulls with differenrt Robertosnian translations. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 27–36.
20. Stanković, B., Hristov, S. (2009): *Najčešći propusti u obezbeđenju biosigurnosti na farmama goveda i svinja*. Zbornik naučnih radova, Institut Agroekomik, Beograd, str. 103–109.
21. Stanković, B., Hristov, S., Petrujkić, T., Todorović-Maksimović Mirjana, Davidović, V., Bojkovski, J. (2008): Biosigurnost na farmi svinja u svakodnevnoj praksi. *Biotechnology in Animal Husbandry* 24 (spec. issue), 601–608.
22. Schmutz, S. M., J. S. Moker, E. G. Clark, J. P. Orr (1996): Choromomal aneupolidy associated with spontaneus aberations and neonatal losses in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 8: 91–95.
23. Parada, R., Jaszczak (1993): A cytogenetic study of cows from a highly industrial and agricultural region, *Mutation research genetic toxicology*, vol. 3–4, 300, 295–263.
24. Petrujkić, T., Bojkovski, J., Vuković, D., Šamanc, H., Raketić, V. (1997): *Cytogenetic studies of aborted bovine fetuses and bovine reproductive disturbances carried out in six regions in Serbia*, Timsora Symposium "Progress in Veterinary Pathology" organized at Faculty of Veterinary Medicine. Timsora, 2–24 May, Romania.
25. Petrujkić, T., Bojkovski, J., Mrvoš, G. (2001): Fertility control through the observation of reproduction parameters and puerperium in cows. *Veterinary Journal of Republic of Srpska*, 1, 3, 119–123.
26. Rubes, J., Pokorna, Z., Borkovec, L., Urbanova, J., Srtrandova, V. (1997): Dairy cattle as a bioinicator of expousure to genotoixic supstances in a heavelly polluted area in northern Bohemia. *Muta. Res.* 391: 57–70.
27. Uhlenhoop, E. (2007): Biosecurity planing for livestock farms. *Dobrobit životinja i biosigurnost na farmama*, monografija Poljoprivredni fakultet, Zemun, 227–237.
28. Šivikova, K., Dianovsky, J., Piešova, E. (1999): Chromosome damage in cultured bovine peripheral lymphocytes induced by herbicide chloridazon, *Acta Vet.*, Brno 1999, 68, 105–110.

Весна Калаба, Драгица Ђурђевић Милошевић, Драгана Калаба<sup>1</sup>

## КОНТРОЛА ХИГИЈЕНСКЕ ИСПРАВНОСТИ У ПОГОНИМА ПРЕХРАМБЕНЕ ИНДУСТРИЈЕ ПО ПРЕПОРУЧЕНОМ КРИТЕРИЈУМУ HRN ISO 18593

### Кратак садржај

У цијелом низу могућности загађења намирница налазе се и бактериолошки нечисте површине. Квалитет механичког чишћења и дезинфекције оцјењује се визуелно и бактериолошким претрагама. Визуелном контролом служимо се приликом свакодневних прегледа механичке чистоће површина ради оцјене хигијенског минимума, међутим, ова метода није довољно објективна и њена вриједност зависи од процјене прегледача. У раду су презентовани резултати испитивања бактериолошке исправности 1680 узорак брисева узетих са радних површина, опреме, руку радника и испитани методом бриса.

У недостатку наше законске регулативе о процјени прихватљивог нивоа контаминације радних површина, опреме, амбалаже и руку радника, у нашем раду одлучили смо се за испитивање и процјену прихватљивог нивоа контаминације по HRN ISO 18593, препорученом микробиолошком критеријуму за предмете, површине и руке радника који долазе у додир са храном.

**Кључне ријечи:** микробиолошки критеријум, радна површина, опрема, амбалажа.

Vesna Kalaba, Dragica Đurđević Milošević, Dragana Kalaba

## CONTROL OF HIGIENE IN FOOD INDUSTRY BY ARECOMMENDED CRITERION HRN ISO 18 593

### Abstract

Within the possibilities of food contamination there's risk of contamination from bacteriologically unclean working areas. Quality of mechanical cleaning and disinfection is estimated visually and by bacteriological methods. Visual control is in use during every day control of mechanical purity in order to estimate hygienic minimum.

The paper presents results of the bacteriological safety swab samples in 1680, taken from work surfaces, equipment, hands of workers and tested method of smear.

---

<sup>1</sup> Др sc. Весна Калаба, Ветеринарски институт РС „Др Васо Бутозан“, Бања Лука; мр sc. Драгица Ђурђевић Милошевић, предавач, Висока технолошка школа струковних студија, Шабац; Драгана Калаба, студент, Медицински факултет, одсјек Фармација, Бања Лука.

In the absence of legislation on our assessment of acceptable levels of contamination of working surfaces, equipment, packaging and hands of workers in our work we have opted for testing and evaluation of acceptable levels of contamination by HRN ISO 18 593 registered microbiological criteria for subjects, surface and hands of workers who come into contact with food.

**Key words:** microbiological criteria, work surfaces, equipment, packaging.

## УВОД

Хигијенска исправност у погонима прехранбене индустрије те у току транспорта и дистрибуције намирница од изузетног је технолошког, економског и медицинског значаја. Поједине линије, опрема, прибор и друге радне површине, па и амбалажа, у прехранбеној индустрији често представљају отворене или полу-отворене системе у којима је могућа контаминација микроорганизама са стране. Будући да су у тим манипулацијама, поред сапрофита, заступљени и патогени микроорганизми, неопходно је одржавати сталну чистоћу погона, што се постиже прањем и дезинфекцијом. За утврђивање присуства микроорганизама на радним површинама, опреми, судовима, површини амбалаже и руку радника постоје разне методе, као

што су метод брисева и метод узимања отиска агаром. Хигијенска исправност судова (боце, канте) који се користе у прехранбеној индустрији може се испитати примјеном метода испирања и методом ваљања. Свакако, постоје и други методи који се успјешно примјењују.

У недостатку наше законске регулативе о процјени прихватљивог нивоа контаминације радних површина, опреме, амбалаже и руку радника, у нашем раду одлучили смо се за испитивање и процјену прихватљивог нивоа контаминације по HRN ISO 18593, препорученом микробиолошком критеријуму за предмете, површине и руке радника који долазе у додир са храном.

Препоручени микробиолошки критеријум за радне површине, опрему, амбалажу и руке радника приказан је у табели 1.

**Табела 1.** Препоручени микробиолошки критеријуми за радне површине, опрему, амбалажу и руке радника (HRN ISO 18593)

| Предмети, површине, руке                                                 | Аеробне мезофилне бактерије |               | <i>Enterobacteriaceae</i> |             |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------|---------------------------|-------------|
|                                                                          | Одговара                    | Не одговара   | Одговара                  | Не одговара |
| Порцеланске, стаклене, глатке металне површине (цфу/цм <sup>2</sup> )    | ≤10                         | >10           | 0-1                       | >1          |
| Остале површине (цфу/цм <sup>2</sup> )                                   | ≤30                         | >30           | 0-1                       | >1          |
| Тањери, шерпе, прибор за јело, мање посуђе (цфу/мл или цм <sup>2</sup> ) | ≤100<br>(≤10)               | >100<br>(>10) | 0-1                       | >1          |
| Боце или амбалажа за течне производе (цфу/мл)                            |                             | ≥1            | 0-1                       | >1          |
| Руке особља у додиру са храном (цфу/мл или цм <sup>2</sup> )             | ≤200<br>(≤20)               | >200<br>(>20) | 0-1                       | >1          |

Циљ нашег рада је да се на основу препорученог критеријума процијени хигијенски ниво за радне површине, опрему, судове, површине амбалаже и руку радника и да се на основу добијених резултата дају приједлози за нову законску регулативу за микробиолошке критеријуме за радне површине, опрему, амбалажу и руке радника.

### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДА РАДА

У нашем раду испитано је 1680 брисева који су узети са различитих површина (радних столова, машина, прибора, амбалажа и руку радника). Кориштени су готови брисеви за једнократну употребу. Површина са које су узети хигијенски брисеви је ограничена, па је у ту сврху кориштен метални шаблон за узимање брисева. Шаблон је димензија 5 x 4 cm (четвртасти рам са дршком), који се прије узимања брисева стерилише (за сваки брис је кориштен стерилан рам). Узимање брисева је извођено тако да се брис претходно натопи стерилним физиолошким раствором. Помоћу шаблона је са више

мјеста вршено узимање брисева, и то у хоризонталној, а затим у вертикалној равни. Узети узорци хигијенских брисева су транспортовани у лабораторију у ручном фрижидеру са ледом (на температури до + 8°C). Бактериолошки преглед узетих брисева започет је одмах по приспијећу у лабораториј (најкасније шест часова по узимању узорака брисева). Обрада хигијенских брисева је вршена на чврсте хранљиве подлоге, директним наношењем, премазивањем површине. Инкубирање је вршено у зависности од врсте хранљиве подлоге (температура и дужина инкубирања). На основу добијеног броја и врста бактерија вршена је процјена хигијенског стања површине са које је узет брис.

### РЕЗУЛТАТИ

За одређивање укупног броја бактерија, након инкубације од 48 сати на 30°C избројали смо израсле колоније и прерачунали на 1 cm<sup>2</sup> испитиване површине, а резултати тих испитивања су приказани у табели 2.

**Табела 2.** Резултати процјене укупног броја бактерија (препорука HRN ISO 18593)

| Предмети, површине, руке                                                 | Укупно | HRN ISO 18593               |               |          |             |
|--------------------------------------------------------------------------|--------|-----------------------------|---------------|----------|-------------|
|                                                                          |        | Аеробне мезофилне бактерије |               |          |             |
|                                                                          |        | Одговара                    | Не одговара   | Одговара | Не одговара |
| Порцеланске, стаклене, глатке металне површине (цфу/цм <sup>2</sup> )    | 775    | ≤10                         | >10           | 386      | 389         |
| Остале површине (цфу/цм <sup>2</sup> )                                   | 50     | ≤30                         | >30           | 38       | 12          |
| Тањери, шерпе, прибор за јело, мање посуђе (цфу/мл или цм <sup>2</sup> ) | 50     | ≤100<br>(≤10)               | >100<br>(>10) | 21       | 29          |
| Боце или амбалажа за течне производе (цфу/мл)                            | 80     |                             | ≥1            | 71       | 9           |
| Руке особља у додиру са храном (цфу/мл или цм <sup>2</sup> )             | 725    | ≤200<br>(≤20)               | >200<br>(>20) | 620      | 105         |
| Укупно                                                                   | 1680   |                             |               | 1136     | 544         |

Од 1680 узорака прегледаних брисева, 544 узорка нису задовољила препоручене критеријуме. Највећи број неисправних брисева (58,00%) односи се на брисеве посуђа мањих површина, затим на брисеве радних површина (50,19%), потом остале површине (24,00%), брисеве руку запослених радника (15,03%) и, на крају, брисеве амбалаже (11,25%).

Хигијена радног простора, опреме, прибора и руку особља које долази у додир са храном има важну улогу у осигуравању микробиолошке исправности намирница и свакако се треба контролисати и побољшати, а особље обучити. Добра хигијенска пракса требало би да буде начело усађено у свијест сваког запосленог који долази у додир са храном.

Познавање начина рада и знања које особље које ради с намирницама показује доводи до закључка да већина особља не проводи ефикасну дезинфекцију из незнења и немара, а оправдање за овакво стање јесте „штедња“ и „недостатак времена“.

Публиковано је неколико препорука о прихватљивом нивоу контаминације површина микроорганизмима (Code of statute SLVSFS 1998 (No. 10), EC Decision 2001/47/EC, US Public Health Service, Tasmanian Laboratory Services) и више аутора се слаже у мишљењу да је број бактерија мањи од 2,5 цфу/цм<sup>2</sup> за различите површине које су опране и дезинфиковане у објектима за храну прихватљив ниво.

На основу резултата које смо добили у току рада, мишљења смо да више од 10 колонија по квадратном центиметру површине није задовољавајући ниво.

У неким случајевима имали смо захтјеве за испитивање присуства *E. coli* (индикатор фекалног загађења), коагулаза позитивног стафилокока, *Salmonella* врсте, *Proteus* врсте, *Listeria monocytogenes* и резултати тих испитивања приказани су у табели 3, а процјена је вршена на основу препоруке HRN ISO 18593 за *Enterobacteriaceae*.

**Табела 3.** Резултати процјене присуства патогених микроорганизама (HRN 18593)

| Предмети, површине, руке                                                 | <i>Enterobacteriaceae</i> |             | HRN 18593      |                         |                       |                               |           |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------|----------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------|
|                                                                          | Odgovara                  | Ne odgovara | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella</i> врсте | <i>Pro-teus</i> врсте | <i>Listeria monocytogenes</i> | K+C       |
| Порцеланске, стаклене, глатке металне површине (цфу/цм <sup>2</sup> )    | 0-1                       | >1          | 3              | 0                       | 0                     | 2                             | 0         |
| Остале површине (цфу/цм <sup>2</sup> )                                   | 0-1                       | >1          | 2              | 0                       | 1                     | 4                             | 0         |
| Тањери, шерпе, прибор за јело, мање посуђе (цфу/мл или цм <sup>2</sup> ) | 0-1                       | >1          | 1              | 0                       | 1                     | 0                             | 0         |
| Боце или амбалажа за течне производе (цфу/мл)                            | 0-1                       | >1          | 0              | 0                       | 0                     | 0                             | 0         |
| Руке особља у додиру са храном (цфу/мл или цм <sup>2</sup> )             | 0-1                       | >1          | 4              | 0                       | 0                     | 0                             | 12        |
| <b>Укупно</b>                                                            |                           |             | <b>11</b>      | <b>0</b>                | <b>2</b>              | <b>6</b>                      | <b>12</b> |

Најчешће изоловани патогени микроорганизми су коагулаза позитиван стафилокок, *E. coli* и *L. monocytogenes* и *Proteus* врсте. У нашим испитивањима нису изоловане *Salmonella* врсте.

На основу наших истраживања и нашег искуства, сматрамо да би прихватљив ниво контаминације површина, опреме и руку запослених био 0-1 цфу/цм<sup>2</sup> површине.

Највећи фактор ризика у раду са храном је човек. Човек може пренијети патогене бактерије на/у храну својим рукама које је загадио преко површина, остале загађене хране (сирове хране) или микроорганизма из свог гастроинтестиналног тракта (клицоноштво). Постоји знатан број бактеријских врста које су везане за нос, грло или уста, па и руке радника, али најчешће су врсте *Staphylococcus*, које се налазе у носној шупљини, устима, на рукама и другим дијеловима тијела.

Присуство *E. coli* и *Proteus* врста указује на нехигијенске услове и неадекватно очишћене и дезинфиковане површине, поготово ако се зна да су то патогени који се директно из сирове хране анималног поријекла могу пренијети на руке и на тај начин загадити храну, опрему, прибор, површине и остале запослене.

*Listeria spp.* веома је отпорна на ниске и повишене температуре (пастеризација их убија споро или никако), отпорне су на алкалну и киселу средину, те уобичајене концентрације дезинфицијенса.

Да би се смањило број обољелих од *L. monocytogenes*, а тиме и број смртних случајева, велика пажња се мора поклонити превенцији. CDC је прописао мјере превентиве, по којим се савјетује да се не једу месни производи без претходног термичког третмана, да се контролише цијели поступак производње месних прерађевина, од сировине па до готовог производа, да се води рачуна о томе које намирнице се чувају у фрижидеру и замрзивачу и који временски период се чувају, да се не конзумира непастеризовано млијеко и производи од непастеризованог млијека, и да се, прије свега, води рачуна о личној хигијени.

## ЗАКЉУЧАК

1. У нашој законској регулативи не постоје препоручени критеријуми за процјену микробиолошких нивоа за радне површине, опрему, амбалажу и руке радника. За праћење контаминације површина микроорганизмима примјењује се неколико различитих техника и не постоји универзална метода којом се могу доказати сви микроорганизми на површинама. На резултате испитивања може да утиче више фактора, а најважнији су врста и број микроорганизма на површини, врста површине која се испитује (материјал, храпавост), количина и нечистоће на површини, метода испитивања, и сл.
2. На основу свјетских истраживања, података из литературе и наших резултата предлажемо да се у нови правилник о микробиолошкој исправниости намирница у промету унесу и микробиолошки критеријуми за брисеве радних површина опреме, алата и руку радника који долазе у непосредан контакт са храном.

## ЛИТЕРАТУРА

1. HRN ISO18593, 2004. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонталне методе за поступке узорковања с површина употребом контактних плоча и брисева
2. Commission Decision (2001/471/EC) of 8 June 2001 laying down rules for the regular checks on the hygiene carried out by operators in establishments according to Directive 64/433/ecc on health problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat. *Official Journal of the European Communities* L 165/48-53, 21. 6. 2001.
3. Tasmanian laboratory Services, 2008. Sample, Collection. <http://www.taslab.com.au/microbiology/sample-collection.aspx>
4. Olsen S. J., MacKinnon L. C., Goulding J. S., 2000. CDS. *Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 1993–1997*. In: CDS Surveillance summaries (March). MMWR 2000; 49 (No. SS-1) <http://www.cdc.gov/foodstafety>.

5. Norwood D. E., Gilmour A. 2001. The differential adherence capabilities of two *Listeria monocytogenes* strains in monoculture and multispecies biofilms as a function of temperature, *Lett Appl. Microbiol.* 33, 4, 320–324.
6. Калаба, Весна 2006: *Микробиолошка исправност производа од млијека у свјетлу непостојања правилника о минимуму хигијенске чистоће радних површина*, 12. савјетовање ветеринара РС са међународним учешћем, Зборник кратких садржаја, Теслић, 2006.
7. Калаба, Весна, Дојчиновић, С. 2006: *Микробиолошка чистоћа радних површина у свјетлу непостојања правилника о минимуму хигијенске чистоће радних површина*, 12. савјетовање ветеринара РС са међународним учешћем, Зборник кратких садржаја, Теслић.
8. Harrigan W. F., 1998: *Laboratory methods in food microbiology*, Academic Press.
9. Helke D. M., Somers E. B., Wong A. C. L. 1993, Attachment of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* to stainless steel and buna N in the presence of milk and individual milk components, *J. Food Prot.* 56, 6, 479–484.
10. Правилник о нормативима микробиолошке чистоће и методе њеног одређивања, Народне новине, 46/94.
11. EN ISO 6887-1, 1999: Microbiology of food and animal feeding stuffs preparation of test samples, initial suspension and decimal dilution for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.



UDK 616-22:579.62

Весна Калаба<sup>1</sup>, Драгица Ђурђевић Милошевић<sup>2</sup>, Драгана Калаба<sup>3</sup>

## КОНТАМИНИРАНЕ НАМИРНИЦЕ И РИЗИК ОД ЛИСТЕРИОЗЕ

### Кратак садржај

*Listeria monocytogenes* је широко распрострањена у животној средини и може бити пренесена до конзумента преко контаминираних хране. Намирнице животињског поријекла посебно су подложне контаминацији и изазивачи су листериозе.

Анализиран је укупно 531 узорак, укључујући намирнице, воду за пиће и брисеве површина. *Listeria monocytogenes* је изолована из 1,35% узорака конфекционираног меса, 3,33% узорака производа од меса, 9,09% узорака димљене рибе, 18,18% узорака пужева, 12% узорака сировог млијека, 1,47% узорака производа од млијека, 2,4% узорака маслаца, 8,33% узорака јестивог уља, 3,9% узорака брисева површина, док је 12 узорака воде показало одсуство ових бактерија.

Циљ ове студије био је да укаже на поједине намирнице и ризик од листериозе.

**Кључне ријечи:** *Listeria monocytogenes*, листериоза, намирнице.

V. Kalaba, D. Đurđević Milošević, D. Kalaba

## CONTAMINATED FOODSTUFFS AND RISKS OF LISTERIOSIS

### Abstract

*Listeria monocytogenes* is widely distributed in the environment and may be transmitted to the consumer through contamination of food products. The foodstuffs of animal origin appear to be particularly susceptible to contamination and listeriosis outbreak.

The total of 531 samples (foodstuffs, drinking water, swabs surface) were analyzed. *Listeria monocytogenes* was isolated from 1.35%, 3.33%, 9.09%, 18.18%, 12%, 1.47%, 2.4%, 8.33%, 3.9% samples of cut meat, meat products, smoked fish, snails, raw milk, milk products, butter, cooking oil and swabs surface, respectively. *L. monocytogenes* was not isolated from sample of drinking water.

The goal of present study was to evaluate the association between some foodstuff and risks of listeriosis.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, listeriosis, foodstuffs.

<sup>1</sup> Др sc. Весна Калаба, Ветеринарски институт РС „Др Васо Бутозан“, Бања Лука.

<sup>2</sup> Мр sc. Драгица Ђурђевић Милошевић, предавач, Висока технолошка школа струковних студија, Шабац.

<sup>3</sup> Драгана Калаба, студент, Медицински факултет, одсјек Фармација, Бања Лука.

## УВОД

*Listeria monocytogenes* широко је распрострањена, а може бити отпорна и на различите методе конзервације намирница. Има способност преживљавања под врло неповољним условима и представља велики проблем за прехранбене производе током чувања на хладном, јер може да се размножава и при температурама хлађења. У скоро свим експериментима бактерије рода *Listeria* су се показале као отпорније на зрачење него *E. coli*, *Campilobacter*, *Yersinia* и *Staphylococcus* врста (Kathariou, 2002; Samelis и Metaxopoulos, 1999; Juneja и Eblen, 1999).

Род *Listeria* чине кратки кокоидни грам позитивни, аеробни до микроаерофилни штапићи. Аспорогени су облици и не садрже капсулу. Температуре на којима се размножавају крећу се од 1 до 45 °C, док су оптималне температуре од 20 до 25 °C (Curtis и сар., 1989; Bille и Doyle, 1991; Beolin и сар., 1992).

*Listeria monocytogenes* се најчешће може наћи у свјежој непрерађеној храни, као што су млијеко, месо и меки сиреви. Поред тога, може бити присутна и у различитим млијечним прерађевинама, као што су јогурт и чоколадно млијеко. Нису рјетки случајеви присуства бактерија рода *Listeria* у разним врстама намирница, као што су кобасице, шунка, паштете, RTE (ready-to-eat) храна (Radin et al., 2007). Поред намирница животињског поријекла, извор листерија могу бити и сировине и производи биљног поријекла (Поповић и Никшић, 2007; Conway et al., 2000; Sado et al., 1998). Код ове групе намирница, листериоза се најчешће јавља као посљедица конзумирања свјежег купуса и купус салате (Schlech и сар., 1983), зелене салате, целера, парадајза (Ho и сар., 1986), краставаца, кромпира, ротквица и другог поврћа (Heisick и сар., 1989).

Након конзумирања хране контаминиране овом бактеријом, симптоми инфекције се могу појавити у периоду од 11 до 70 дана. Особе са листериозом могу имати високу температуру, бол у мишићима и гастроинтестиналне тегобе, као што су мучнина, повраћање и дијареја. Ако се инфекција прошири на нервни систем, могу се

јавити и главобоља, укочен врат, појава грчева и губитак равнотеже. Код старијих особа, менингитис се јавља у око 1/2 случајева листериозе. Симптоми менингитиса изазваног овом бактеријом јављају се око четири дана након симптома сличних грипу, и подразумевају високу температуру, дрхтавицу, неповезане покрете мишића, поспаност и кому. У око 7,5 % случајева, *Listeria monocytogenes* изазива и ендокардитис, који изазива смрт код скоро 50% пацијената. Друге болести које изазива *Listeria monocytogenes* обухватају инфекције ока, хепатитис, перитонитис (абдоминалне инфекције), апсцес мозга, инфекције плућа и зглобова и др. Процењује се да у САД сваке године од ове болести оболи око 2000 особа. Од овог пријављеног броја приближно 20 до 40% умире од посљедица ове болести. Стопа смртности може бити и много већа (до 75%) код особа са недостатком имунитета (Goode и Pierson, 2001).

Циљ овога рада био је да анализом пројектиних група прехранбених производа, воде и брисева радних површина укажемо на потенцијалне изазиваче листериоза.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Анализиран је укупно 531 узорак воде, брисева и различитих прехранбених производа (конфекционирано месо, производи од меса, димљена риба, месо пужева, сирово млијеко, производи од млијека, маслац, јестиво уље).

Припрема узорака и идентификација бактерија *L. monocytogenes* обављена је према следећој процедури. Узорак од 25 грама хомогенизован је са 225 милилитара *Listeria* бујона за обогаћење 1 (UVM 1) у дуплој пластичној врећици у стомахеру у трајању од двије минуте. Након тога, из врећице је истиснут ваздух, фиксирана је хватаљкама и инкубирана на 30 °C кроз 24 часа. Брисеви са *Listeria* бујоном за обогаћење најпрвије су миксани на електричном вибратору у трајању од пет минута, а затим инкубирани на 30 °C током 24 часа. Након инкубације по 0,1 ml UVM 1 пренесено је у 10 ml *Listeria* бујона за обогаћење 2 (UVM 2). Након инкубације на 37 °C током 48 сати, езом је у облику густе мреже засијан садржај по површини *Listeria* Palcam агра.

Засијане петри плоче инкубиране су 24–48 часова на 37°C, а након инкубације типичним колонијама (ситне бијеле са црном зоном), провјерена су и друга карактеристична својства (грам позитивне, каталаза позитивне, оксидаза негативне колоније, као и да на подлози за покретљивост расту у облику кишобрана. Идентификација *Listeria* врста вршена је помоћу CAMP-теста и ферментацијом угљених хидрата.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Добијени резултати анализа узорака на присуство бактерија *Listeria monocytogens* приказани су у табели 1. С обзиром на процентуалну заступљеност позитивних узорака на присуство листерија, издваја се месо пужа са 18,18% позитивних налаза, док одсуство листерија у узорцима воде охрабрује, будући да се вода за пиће користи како за прање радних површина, прање сировина, тако и као незаобилазна помоћна сировина која улази у састав производа.

Производи од меса, укључујући ready-to-eat (RTE) производе, као што су виршле, повезани

су са појавом обољења листериозе. До контаминације ових производа патогеном бактериом *Listeria monocytogenes* најчешће долази након производње и примijeњеног термичког третмана, а пре паковања. С обзиром на то да се многи од ових производа могу конзумирати без поновног загријавања, могу бити узрок листериозе (Radin et al., 2007). У децембру 1998. године, због појаве епидемије са 21 смртним случајем и више од 200 обољелих, из промета је повучено 15 милиона фунти хот-дога и сјечених сухомеснатих производа. И у октобру 2002. године приближно 27,4 милиона фунти ћурећих и пилећих готових јела повучено је из промета због могуће контаминације овим микроорганизмом (USDA-FSIS, 2002). Наши налази су показали да је 3,33% анализираних узорака производа од меса било позитивно на листерије, док је чак 9,09% узорака димљене рибе показало позитиван налаз листерија. Нешто нижу вриједност позитивних налаза – 8,33% показали су узорци јестивог уља, што може да буде велики ризик при употреби уља за спремање салата, односно без термичког третмана.

**Табела 1.** Резултати анализа узорака на присуство бактерија *Listeria monocitogenes*

| Поријекло узорка     | Број анализираних узорака | Број узорака са позитивним налазом <i>L. monocitogenes</i> | Процент позитивних налаза (%) |
|----------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Конфекционирано месо | 74                        | 1                                                          | 1,35                          |
| Производи од меса    | 30                        | 1                                                          | 3,33                          |
| Риба димљена         | 22                        | 2                                                          | 9,09                          |
| Месо пужа            | 11                        | 2                                                          | 18,18                         |
| Сирово млијеко       | 25                        | 3                                                          | 12                            |
| Производи од млијека | 68                        | 1                                                          | 1,47                          |
| Маслац               | 125                       | 3                                                          | 2,4                           |
| Јестиво уље          | 12                        | 1                                                          | 8,33                          |
| Брисеви површина     | 152                       | 6                                                          | 3,95                          |
| Вода                 | 12                        | 0                                                          | 0                             |
| Укупно               | 531                       | 20                                                         | 3,77                          |

Од млијека и млијечних производа највећи проценат листеријама контаминираних узорака (12%) евидентиран је приликом анализа сировог млијека, затим слиједе узорци маслаца са 2,4% позитивна налаза, док је од осталих млијечних производа било контаминирано само 1,47% узорака. Интересовање за изолацију и идентификацију *Listeria monocytogenes* у млијеку и млијечним

производима порасло је у задњих десет година, првенствено због 160 случајева клинички манифестоване листериозе код људи, од чега је 56 случајева завршило смртним исходом, и то код особа које су конзумирале пастеризовано млијеко (Datta и сар., 1991; Boeolin и сар., 1992). Инфекције у Швајцарској у периоду од 1983. до 1987. године, изазване конзумирањем меког

сира, као и епидемије у Аустрији 1986. године повезане су са непастеризованим млијеком, што указује на повећан ризик у вези са конзумирањем сировог млијека и меких сирева произведених од непастеризованог млијека. Такође су забиљежени и случајеви епидемија листериозе као посљедица конзумирања пастеризованих производа од млијека, као што је случај са епидемијом у Масачусетсу 1983. године (Finny и Ryser, 2002). Јау и сар. (2005) наводе да је испитивањем сировог млијека у танковима са 260 фарми у Шкотској, у 25 узорак, од укупно 160 испитаних узорак, доказан овај микроорганизам, што приближно пропорционално одговара и нашим налазима – од 25 анализираних узорак, ове бактерије су нађене у три узорка. Након прегледа 100 узорак млијека, у три млекаре са различитим географским продучјем, током љета и јесени, нађено је присуство *L. innocua*, док *L. monocitogenes* није изолована у испитиваним узорцима (Пешић Микунец et al., 2010).

Спречавање контаминације овом бактеријом значајно је у свим областима производње хране, али се посебно мора узети у обзир да храна након производње, у току паковања или било ког вида манипулације на радној површини, може лако бити контаминирана овом бактеријом. У прилог томе иду и наши налази присуства ових бактерија на радним површинама. Наиме, од 152 анализирана бриса, *Listeria monocitogenes* је нађена у шест узорак и тиме оправдала могућност секундарне контаминације овом бактеријом током руковања храном. До сада су се као ефикасна дезинфекциона средства против *Listeria monocitogenes* показала кватерна амонијумова једињења, раствор хлора и препарати на бази персирћетне киселине. Сушење, као првенствена мјера, такође је значајно, јер се на сувим површинама (поводи, зидови итд.) смањује могућност раста *Listeria monocitogenes*.

Као што је видљиво из горњих резултата, спречавање контаминације бактеријама листерија значајно је у свим областима производње хране, али се посебно мора узети у обзир да храна након производње, у току контакта са радном површином, може лако бити контаминирана овом бактеријом.

Због високе стопе морталитета и у циљу смањења листериоза, у САД је обавезно ана-

лизирање намирница у смислу „нула толеранције“ за *Listeria monocytogenes*. Овај принцип подразумева да се у храни која се прије конзумирања термички не обрађује, не смеје наћи ниједна ћелија овог микроорганизма. Будући да су ризици при конзумацији намирница контаминираних листеријама повезани са потенцијалним смртним исходима, за препоруку је озваничење анализе намирница на листерију и на нашим подручјима.

## ЗАКЉУЧАК

Анализиран је укупно 531 узорак воде, брисева и различитих прехранбених производа (конфекционирано месо, производи од меса, димљена риба, месо пужева, сирово млијеко, производи од млијека, маслац, јестиво уље) на присуство *Listeria monocytogenes* и нађено је укупно 20 узорак контаминираних овим бактеријама.

Резултати анализа су показали позитивне налазе на листерију код: 1,35% узорак конфекционираног меса, 3,33% узорак производа од меса, 9,09% узорак димљене рибе, 18,18% узорак пужева, 125 узорак сировог млијека, 1,47% узорак производа од млијека, 2,4% узорак маслаца, 8,33% узорак јестивог уља, 3,9% узорак брисева површина, док је 12 узорак воде показало одсуство ових бактерија.

Будући да случајеве с листериозом у високом проценту прати смртни исход, поготово ако су у питању имунодефицијентне особе, за препоруку је појачана анализа намирница и брисева радних површина на присуство ових бактерија, и „нула толеранција“ за *Listeria monocytogenes*, каква се примјењује у САД.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bille, J., and Doyle, M. P. 1991. *Listeriae* nad *Erysipelothrix*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed., A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Herman, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy (eds). Americal Society for Microbiology, Washington, DC, 287–295.
2. Boeclin, P., Rocourt, J., Grimont, F., Grimont, P. A. D., Jacquet, C., Piffaretti, J. C. 1992. *L. ivnovii* subsp. *Londoniensis* subsp. *Novi*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42: 69–73.

3. Curtis, G. D. W., Mitchell, R. G., King, A. F., Emma, J. 1989. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 8: 95–98.
4. Datta, A. R., Wentz, B. A., Lane, J., Moore, M. A. 1991. *Nonradioactive DNA probe hybridization assay for identification of Listeria monocytogenes*. ASM Abstracts, 91: 82.
5. Finny, P. M., and Ryser, E. T. 2002. Competition of thermally injured *Listeria monocytogenes* with a mesophilic lactic acid starter culture in milk for various heat treatments. *J. Food Prot.* 65, (4), 643–650.
6. Goode, A. J., and Pierson, D. M. 2001. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on frankfurters by modified atmosphere packaging and antimicrobials, *Food science and technology*, Blacksburg, Virginia.
7. Heisick, J. E, Wagner, D. E., Nierman, M. L. and Peeler, J. T. 1989. *Listeria* spp. found on fresh market produce. *Appl. Environ. Microbiology*. 55: 1925–1927.
8. Ho, J. L, Shands, K. N, Friedland, G., Eckind, P, Fraser, D. W. 1986. An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals. *Arch. Int. Med.* 146: 520–524.
9. Jay, M. J., Loessner, J. M., and Golden, A. D. 2005. *Modern food microbiology*, 7th ed.
10. Juneja, K. V, and Eblen, S. B. 1999. Predictive thermal inactivation model for *Listeria monocytogenes* with temperature, pH, NaCl and sodium pyrophosphate as controlling factors. *Journal of Food Protection*, 62 (9): 986–993.
11. Kathariou, S. 2002. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective, *J. Food Prot.*, 65 (11): 1811–1829.
12. Pešić Mikules D., Dugalić Vrnčić N., Rajić Savić. 2010. Novija iskustva u izolovanju *Listeria* spp. u mleku i proizvodima od mleka. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik*. 16 (3-4): 201–209.
13. Radin, D., Niebuhr, S. E., Dickson, J. S. 2007. Spoilage microflora of vacuum packaged frankfurters and influence on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Biotechnology in Animal Husbandry* 23 (5–6): 103–112.
14. Samelis J. and Metaxopoulos J. 1999. Incidence and principal source of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. *Food Microbiology* 16, 465–477.
15. Schlech, W. F, Lavigne, P. M, Bortolussi, R. A, Allen, A. C, Haldene, E. V, Wort, A. J, Hightower, A. W, Johnston, S. E, King, S. H, Nicholls, E. S, and Broome, C. V. 1983. Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.* 308: 203–206.
16. USDA-FSIS 2002. Active recall cases, Recall Information Center, Food Safety and Inspection Service, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C. Available at <http://www.Fsis.usda.gov/oa/recalls/prelease/pr090-2002.htm>.
17. Калаба, Весна 2008. Испитивање присуства *Listeria* spp. у намирницама анималног поријекла, Савјетовање хемичара и технолога, Зборник кратких садржаја, Бања Лука.

Г. Параш, О. Вујиновић, О. Витковић, Смиљана Параш, Д. Ђурђевић<sup>1</sup>

## ХИРУРШКИ ТРЕТМАН ФРАКТУРЕ ФРОНТАЛНЕ КОСТИ ДОБЕРМАНА – ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

### Кратак садржај

Фрактуре костију паса или мачака веома су честе у ветеринарској пракси. Оне захтијевају брзу и квалитетну дијагнозу, мониторинг општег стања животиње, избор најбољег третмана излечења и оптималног времена за хируршки захват ако је потребан.

У нашем примјеру имамо добермана старог пет година који има повреду, прелом чеоне кости са отвореним чеоним синусом. Повреда је проузрокована ударцем копита коња. Прегледом смо установили болно атипично стање пса који није изгубио оријентацију у простору, а из ноздрва је излазио крвав исцједак. У регији удarca и повреде налазио се оток који се спустио и затворио око. Приликом инспирација примјећено је подизање коже на мјесту прелома, што нам даје право да посумњамо да је чеони синус отворен и постоји комуникација са носним ходником. За комплетнију дијагностику, која је потврдила дијагнозу, урађен је РТГ снимак и крвна слика пса. На РТГ снимку се видјело да се ради о уломку чеоне кости који проминира у синус фронталис, што је потврдило сумње да је дошло до комуникације између носног ходника и чеоног синуса.

Хируршки третман је урађен пет дана након повреде. Хируршки рез је урађен на мјесту фрактуре по најповољнијој кливажи у односу на повреду, пронашли смо заломљени дио кости, отворили синус, урадили киретажу синуса и затворили га хемостатским сунђерима. Фронталну кост довели смо у позицију за синтезу и фиксацију урадили серклажном жицом.

Опоравак је био изузетно добар, синус се затворио, серозни исцједак носа је трајао неколико дана и потпуно нестао. Пас је све вријеме нормално дисао на нос и био весео и расположен за игру.

**Кључне ријечи:** кост, фрактура, пас.

<sup>1</sup> Др вет. мед. Горан Параш, Ветеринарска амбуланта МИМ ЦООП, Бања Лука; др вет. мед. Огњен Вујиновић, Министарство пољопривреде, шумарства, водопривреде РС, Бања Лука; др вет. мед. Огњен Витковић, Ветеринарска амбуланта МИМ ЦООП, Бања Лука; мр Смиљана Параш, Природно-математички факултет, Бања Лука; др Дејан Ђурђевић, Клиничко-болнички центар, Бања Лука.

Goran Paraš, Ognjen Vujinović, Ognjen Vitković, Smiljana Paraš, Dejan Đurđević

## SURGICAL TREATMENT OF FRACTURES OF THE FRONTAL BONE DOBERMANS

### Abstract

Bone fractures of dogs or cats are very common in veterinary practice. They require a fast and efficient diagnosis, monitoring the general state of the animals, choosing the best treatment, recovery and the optimal time for surgery if needed.

In our example we have a five year old Doberman who is injury, fracture of the frontal bone with an open frontal sinus. Injury was caused by a blow horse hooves. Examination we found a painful condition of atypical, dog didn't lose orientation in space and out of the nostrils is a bloody discharge. In the region of impact and injury there was a swelling that is down and closed eye. Inhalation observed during the lifting of the skin in the area of the fracture, which gives us the right to suspect that the frontal sinus opened and there is communication with the nasal passage. For a more complete diagnostic examination was done in addition to snapshot RTG and analysis blood of dog. We saw on the snapshot RTG, that it is a frontal bone fragments into in the frontal sinus, which confirmed the suspicion that there has been communication between the nasal passages and frontal sinus.

Surgical treatment was performed five days after the injury. Surgical incision is made in the area of fractures at the best position to the injury, we found broken part of bones, opened sinus, cleaned sinus and curettage did close it haemostatic sponges. Frontal bone in the position we are led to the synthesis and fixation did surgical wire.

Dog's recovery was very good, sinus closed, slimy nasal discharge lasting several days and completely disappeared. The dog was all during normal breathing through the nose and was cheerful and the mood of the game.

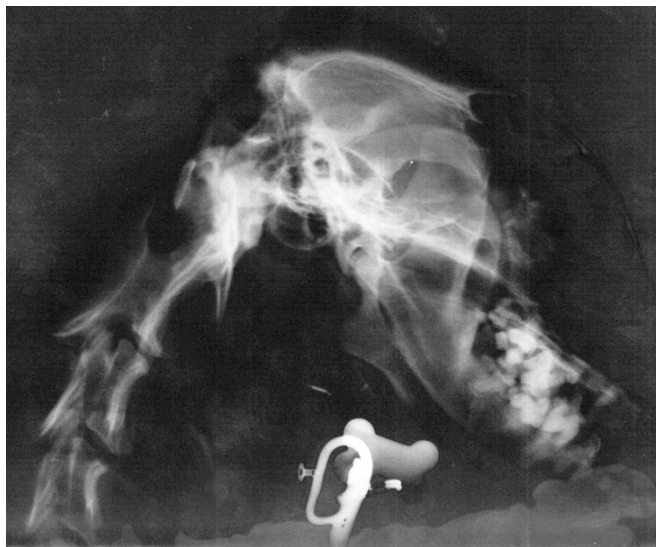
**Key words:** bone, fractures, dog.

### УВОД

Све до открића рендген апарата, преломи костију лобање паса и мачака третирали су конзервативном техником „сачекати и видјети“. Ова техника се огледала у завијању главе и вилице животиње која има прелом лобање газам и чекањем одређеног времена које је потребно за растање и, потом, сагледавању резултата, који су углавном били лоши. Радиографија је много помогла у ветеринарској пракси и коначној дијагностици. Године 1938, Адвент је почео да лијежи преломе лобање паса стерилним техникама по узору на неурохирушке технике које су се примјењивале код људи (Satoshi и сар., 2009). То

је био почетак великих екстракранијалних и интракранијалних операција код паса. Године 1946, Бер је извео први хируршки захват у којем је користио кожу њушке пса за лечење максиларних прелома лица (Fargoog, 2007). Већина дугих костију код паса су релативно једноставне за проучавање и памћење, међутим, ово није случај са костима главе којих има далеко више, далеко су сложеније и теже се памти њихов распоред и међусобна повезаност. Лобања пса је веома компликована структура, формирана од четрнаест парних и седам непарних костију, великог броја спојева, максиле, носног дела, непца, носних шупљина и можданих опни. Ових 35 костију лобање имају 40 отвора на себи за пролазак

кранијалних нерава, вена, артерија и лимфних судова, што значи да, прије предузимања било какве хируршке интервенције на лобањи пса, ветеринар мора да буде потпуно сигуран у своје знање анатомије лобање паса и добро прочитан рендгенски снимак (Fossum и сар., 2006). Наизглед безопасан прелом лобање без доброг познавања анатомије може да доведе до затварања путева за пролазак крвних, нервних и лимфних судова и касније до тоталне дисфункције калуса и околног калусног ткива. Повреде фронталног дијела чеоне кости честе су код паса и скоро све имају исту клиничку слику (Bergadano, 2010). Пас знатно крвари из фронталног региона главе и носне дупље, лошег је општег стања, палпацијом се констатује депресија лобање и повреда коже у чеоној регији. Коначна дијагноза се допуњава комплетном крвном сликом пса и урађеним рендгенским снимком који јасно показује депресију и прелом чеоне кости и компресију мозга у том дијелу са појавом широког едема.



**Слика 1.** Рендгенски снимак лобање пса

Прегледом је установљено болно атипично стање, постојање оријентације у простору код пса, повреда коже у чеоном региону, депресија чеоне кости и крварење из ноздрва. Сви симптоми дају за право да се посумња на прелом чеоне кости.

Послије урађеног хируршког третмана, очекује се квалитетна и правилна хистогенеза поломљене кости. Кости лобање срастају после повреда процесом интрамембранске осификације која се још означава и као директна осификација, јер коштано ткиво настаје директно, без учешћа хрскавице. На неколико мјеста стварају се нови центри осификације који се временом спајају у јединствену младу кост која се још назива и калус (Robbins и сар., 2001).

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

На лијечење у амбуланту доведен је пас расе доберман, стар пет година, који је имао повреду у чеоном региону. Повреда је проузрокована ударцем копита коња у чеони регион. Пас је клинички лоше, безвољан, малаксао и не дозвољава преглед због болног мјеста.

Послије урађеног рендгенског снимка и комплетне крвне слике, дата је дијагноза прелома чеоне кости са отвореним чеоним синусом. Пас је имао у регији удarca и повреде оток који се спустио и затворио око. Рендгенски снимак (слика 1) показује да не постоји компресија мозга нити

едем – зато је пас имао нормалну оријентацију у простору и није имао других неуролошких испада. Приликом инспирација констатовано је и подизање коже на мјесту прелома, што нам показује да је чеони синус отворен и постоји комуникација са носним ходником. Из комплетне крвне слике пса закључујемо да није дошло до инфекције, великог пада крвних параметара и да је пас способан за хируршки третман. На РТГ снимку још се видјело да се ради о уломку чеоне кости који проминира у синус фронталис, што је потврдило да је дошло до комуникације између носног ходника и чеоног синуса.

Послије свих прегледа, претрага и консултација са власником, одабран је хируршки третман као једини у циљу излечења пса. Хируршки третман је урађен пет дана након повреде. Урађена је каталептоид анестезија – ксилазин, атропин и кетамин. Хируршки рез је урађен на мјесту фрактуре по најповољнијој кливажи у односу на повреду. Пронашли смо заломљени део кости, урадили киретажу синуса и затворили га хемостатским сунђерима. Заломљени дио фронталне кости довели смо у најпогоднију позицију за синтезу уз минимално оштећење виталног ткива. Након проналажења најповољније позиције фронталне кости, урадили смо њену фиксацију серклажном жицом, затим адаптирали рубове коже и зашили кожу. Употријебљени материјал за шивање коже је силк, вел. 3/0. Након завршеног хируршког захвата, у терапији смо користили цефалоспорине четврте генерације, витамини и бутасал, а власнику препоручили квалитетну исхрану уз минерално-витаминске додатке.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Послије сваког хируршког третмана паса и мачака неопходно је урадити бар три контролна рендгенска снимка, први непосредно после хируршког захвата, други после четрнаест дана и последњи после три мјесеца. На контролним прегледима прате се заостаје коштаног и мекхичког ткива лобање, појављивање едема у лобањи, као и нормализација рефлекса, моторика и оријентација пса. У првих двадесет и четири сата очекује се нормализација оријентације и да пас може самостално да стоји, то су први знаци који обећавају добар исход.

У нашем случају опоравак је био изузетно добар, пас се без проблема пробудио из анестезије, убрзо стао самостално, а крвави исцједак из носа је престао. Серозни исцједак из носа је трајао неколико дана и потпуно нестало, пас је све вријеме несметано дисао на нос и био је весео и расположен за игру.

## ЗАКЉУЧАК

Из описаног хируршког третмана фрактуре фронталне кости пса види се да су основне методе клиничког прегледа веома битне, док је за коначну дијагнозу неопходан РТГ снимак лобање. Добро познавање анатомије лобање пса пресудно је у изналажењу рјешења овог проблема и правилног извођења хируршког третмана. Хируршка техника и избор најбољег материјала пружају могућност да се све успјешно заврши. Крајњи циљ третмана је спасавање живота пса и побољшање његовог стања. Аутори рада су изабрали овај начин презентовања рјешења проблема и надамо се да смо тим дали скромни допринос и колегама који се баве овом проблематиком.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bergadano A., (2010): Locoregional anaesthesia in small animals, *The European Journal of Companion Animal Practice*, Vol 20, ISSN 1018-2357.
2. Babić T., (2010): *Kirurške bolesti glave i vrata*, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju, 1-14.
3. Farooq B. T., (2007): Patterns of Ocular Trauma, *Journal of the College of Physicians and Surgeons* 173: 148-153.
4. Fossum W. T., Hedlund C. S., Hulse D. A., Johnson A. L., (2006): *Small animal surgery*, Second edition, Mosby, An Affiliate of Elsevier Science.
5. Robbins S. L., Cotran R. S., Kumar N., (2001): *Basic Pathology*, Advision of Harcourt Brace & Company, Philadelphia.
6. Satoshi U., Masaru O., Yuka K., Tomohiro F., (2009): Case of Depression Fracture of the Frontal Bone in a Dog, *Journal of Veterinary Anesthesia & Surgery*, ISSN: 0916-5908, YO307A.

Д. Брењо<sup>1</sup>, З. Ђерић<sup>2</sup>, Д. Сандо<sup>3</sup>

## ЕФЕКТИ УПОТРЕБЕ МЈЕШАВИНА НЕКИХ АДТИВА НА ПОНАШАЊЕ ДЈЕЦЕ

### Кратак садржај

Британски научници при Универзитету у Саутхемпτονу провели су студију о ефектима мјешавина одређених адитива на понашање дјеце. Резултати студије McCann *et al.* (2007) објављени су у септембру 2007. године у медицинском часопису *The Lancet* и одмах након објављивања изазвали бурне реакције јавности. Потрошачима и стручњацима наметнула су се бројна питања и дилеме, а произвођачи хране су се нашли пред сложеним проблемима.

Надлежни за исхрану дјеце у школама, као и представници Британске агенције за одржање стандарда у храни апеловали су на произвођаче да добровољно избаце вјештачке боје и друге адитиве из производа намијењених дјеци.

EFSA-ина радна група за прехранбене адитиве, AFC, одмах је узела у разматрање ове резултате и, у склопу програма реevaluације безбједности прехранбених боја, дала приоритет спорним бојама коришћеним у студији.

Резултат испитивања су препоруке EFSA-иног Научног одбора за прехранбене адитиве и промјене легислативе Европске комисије, која је обавезујућа за земље чланице ЕУ, да од половине 2010. године неведене боје могу употребљавати у храни само ако садрже додатне податке у вези са означавањем. Такође, на основу добијених резултата снижен је прихватљив дневни унос (ADI-Acceptable Daily Intakes) за три вјештачке боје.

Према томе, забране употребе наведених боја нема, него само постоји упозорење за потрошаче, што ће, индиректно, ипак довести до замјене тих боја другим бојама.

Легислатива у БиХ из области прехранбених адитива тренутно је потпуно усклађена са ЕУ и предузимају се потребне мјере да се настале промјене које ступају на снагу у ЕУ половином 2010. и почетком 2011. године уграде у домаће законодавство.

**Кључне ријечи:** хиперактивност, боје, легислатива.

### Abstract

British scientists at the University of Southampton conducted a study on the effects of a mixture of certain additives on the behavior of children. Results of the study McCann *et al.* (2007), are published in September 2007. in the medical journal *The Lancet*, and its publication provoked immediately violent reactions of the public. Consumers and professionals have imposed numerous questions and dilemmas, and food manufacturers have found the complex problems.

<sup>1</sup> Драган Брењо, дипл. инг. прех. техн., Савјет министара БиХ, Агенција за безбједност хране БиХ.

<sup>2</sup> Мр sc. Зоран Ђерић, др вет. мед., спец. хиг. и техн. нам., Савјет министара БиХ, Агенција за безбједност хране БиХ.

<sup>3</sup> Драго С. Сандо, др вет. мед., спец. хиг. и техн. нам., Савјет министара БиХ, Агенција за безбједност хране БиХ.

Persons and institutions who are responsible for feeding children in schools, as well as representatives of the British agency for the maintenance of standards in food are urged manufacturers to voluntarily exclude artificial colors and other additives from products intended for children.

EFSA working group on food additives, AFC, immediately took these results into consideration in a food security program reevaluation colors, gave priority to contentious colors used in the study.

Test results are recommendations of EFSA Scientific Committee on food additives and changing legislation of the European Commission which is binding for EU member states that from June of the 2010<sup>th</sup> the specified colors can be used in food only if they contain additional information related to labeling. Also, based on the results obtained decreased acceptable daily intake (ADI - Acceptable Daily Intakes) for the three artificial colors.

Consequently, there is no prohibition of the use of specified colors, but just a warning to consumers that will still indirectly lead to the replacement of these colors.

Legislation in BiH in the field of food additives is currently fully harmonized with the EU. BiH is taking the measures to incorporate the changes, which will be effective in mid 2010<sup>th</sup> and the beginning of 2011<sup>th</sup>, into domestic legislation.

**Key words:** hyperactivity, colors, legislation

---

## ЗДРАВСТВЕНИ И БЕЗБЈЕДНОСНИ АСПЕКТИ УПОТРЕБЕ

Процјени безбједности употребе сваког адитива претходи велики број испитивања која обухватају одређивање акутне и хроничне токсичности, мутагености, канцерогености, тератогености, алергогености, кумулације, метаболизма, интеракције са састојцима хране и др. На основу добијених резултата ових испитивања JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) одређује за сваки адитив прихватљив дневни унос (ADI – Acceptable Daily Intake) на основу којег се одређују максималне дозвољене количине адитива у појединим намирницама.

Прихватљив дневни унос представља ону количину адитива која се може уносити свакодневно, током цијелог живота, без икаквих штетних посљедица.

Анализа ризика конзумирања адитива има три основна циља:

1. Контрола уноса хемијских супстанци и поређење тих величина са прихватљивим дневним уносом (ADI);

2. Идентификовање група потрошача које могу бити изложене ризику због уноса адитива у количини блиској или већој од ADI;
3. Обезбјеђење информација за регулаторна тијела у циљу кориговања прописа који се односе на адитиве у случају већег уноса код свих или неких од испитаних група потрошача (конзументата).

На основу безбједности употребе, адитиви се дијеле у пет група (Brannen et al., 2002):

1. Супстанце са установљеном ADI вриједности;
2. Супстанце које се генерално сматрају безбједним;
3. Супстанце за које још нема довољно података;
4. Ароматске супстанце;
5. Природни састојци који се користе као адитиви без неких посебних података о научним испитивањима безбједности њихове употребе или са ограниченим бројем информација.

Основ за анализу уноса и процјену ризика употребе, без обзира на то о којој групи адитива је ријеч, представља прикупљање што већег броја информација и дефинисање границе безбједности употребе за сваку намјену. Приликом доношења коначне одлуке о безбједности употребе адитива, од велике важности могу бити подаци о изложености и њиховој потенцијалној токсичности.

За највећи број испитивања која врши JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives), уношење супстанце путем конзумирања хране представља основни метод за прикупљање података и процјену изложености организма човјека утицају хемијске супстанце (укупан унос хемијске супстанце у организам човјека). Три најчешће примјењивана метода у процјени изложености су (World Health Organization, Geneva, 1987):

1. Испитивање изложености по глави становника;
2. Испитивање дијеталног уноса хране (кроз дневне оброке);
3. Резултати анализе потрошачке корпе и укупног уноса хране.

Последња велика студија о уносу адитива у ЕУ, објављена 1.10.2001. године, показала је да дневни унос адитива у земљама ЕУ не премашује прихватљив дневни унос ни за један адитив са позитивне листе.

## ХИПЕРАКТИВНИ ПОРЕМЕЋАЈ

ADHD (attention deficit/ hiperactivity disorder) јесте скраћени назив за читав низ понашања која називамо поремећај пажње и хиперактивни поремећај. Односи се на скуп разних симптома који најчешће обухватају сметње пажње, праћене немиром и импулсивношћу. ADHD није само фаза коју ће дијете прерастати, није узрокован родитељским неуспјехом у васпитању. То је стварни, биолошки условљен поремећај. „Хиперактивно“ дијете може имати потешкоће на три различита подручја:

1. (хипер)активност,
2. пажња, и
3. контролисање импулса.

Није обавезно да свако дијете које је пов-



ремено понекад хиперактивно, импулсивно и има тешкоће с пажњом и концентрацијом има ADHD. Постоје и друга медицинска и психијатријска стања која се могу замијенити с поремећајем пажње и хиперактивности.

## Студија о повезаности неких прехранбених боја и натријум бензоата на понашање дјече. Саутхемптон студија.



Британски научници при Универзитету у Саутхемптону провели су студију о ефектима мјешавина одређених адитива на понашање дјече.

У њиховој студији (McCann et al., 2007) закључује се да утицај двије мјешавине од четири вјештачке боје и Na-бензоата у храни доводи до повећане хиперактивности код трогодишње, осмогодишње и деветогодишње дјече у општој популацији.

У једној ранијој студији истог истраживачког тима постојала је евиденција штетног ефекта на понашање узрокованог мјешавином четири вјештачке боје и натријум-бензоата код трогодишње дјече Isle of Wight (Bateman et al., 2004).

У студији су проучавани ефекти двије комбинације E102, E104, E110, E124, E129, E122 и E111 на понашање дјече. Пет од шест прехранбених боја припадају класи вјештачких боја, а једна, кинолин жута E104, јесте кинофталон. Натријум-бензоат се користи као презерватив.

Студија је укључивала 153 трогодишње и 144 дјече од осам до девет година, изабране да представљају широк спектар понашања у генералној популацији, укључујући дјецу са нормалним до дјече са високим степеном активности понашања. Дјеца која су лијечена од ADHD нису била укључена. Глобални свеукупни хиперактивни резултат био је главни исход студије. Овај параметар је базиран на збирним резултатима проучаваних понашања и про-

цјене учитеља, проматрача у разреду и родитеља, плус, за дјецу од осам до девет година, компјутеризовани тест пажње.

Мјешавина А, која садржи E102, E124, E110, E122 и Na-бензоат значајно је повећала GHA (*GHA – глобална укупна хиперактивност*) резултате за сву трогодишњу дјецу у поређењу са плацебо контролом GHA резултата (величина учинка 0.20 [CI 0,01-0,39],  $p < 0,05$ ).

Мјешавина Б, која садржи E110, E122, E104, E129 и Na-бензоат није имала учинка на GHA резултате код трогодишње дјеце у поређењу са плацебо контролом GHA резултата (величина учинка 0,17 [0,03-0,36]).

Резултат је одржан када је анализа забрањена за трогодишњу дјецу која су конзумирала више од 85% сока и није било недостајућих података (комплетан случај групе). У овој анализи дјеловање мјешавине А на трогодишњу дјецу било је и даље са значајним повећањем, поредећи са плацебо контролом (величина учинка 0,32 [CI 0.05 до 0.60,  $p < 0.05$ ], али за мјешавину Б није било значајних учинака на GHA резултате (величина учинка 0.21 [CI -0.06 до 0.48]).

За дјецу од осам до девет година, значајно дјеловање мјешавине А (величина учинка 0.12 [CI 0.02 до 0.23],  $p < 0.05$ ) или мјешавине Б (величина учинка 0.17 [CI 0.07 до 0.28],  $p < 0.01$ ) опажено је када је анализа забрањена за ону дјецу која су конзумирала најмање 85% напитака без недостајућих података (завршен случај групе). Када су сва дјеца узраста од осам до девет година која су завршила студију узета у обзир, мјешавина А није имала дејства на GHA резултате у поређењу са плацебо контролом (величина учинка 0.08 [CI -0.02 до 0.17]) и мјешавина Б је имала значајно дејство на GHA резултате (effect size 0.12 [CI 0.03 до 0.22]  $p < 0.05$ ).

Аутори су закључили да изложеност вјештачким бојама или Na-бензоату као презервативу (или обадвима) у храни доводи до повећане хиперактивности трогодишње и дјеце узраста од осам до девет година у генералној популацији.

Базирано на истраживањима проведеним од 2002. до 2005. године, циљане боје су најчешће коришћене у слаткишима, али се такође обично појављују и у безалкохолним пићима, а бензоат је најчешће присутан у безалкохолним пићима.

Дјеца, конзумирајући јасно обојене слаткише, могу бити изложена нивоима успоредивим са оним разматраним у протоколу McCann et al. студије за

једну или више проучаваних прехранбених боја. Упоредиви нивои се могу достићи и код дјеце која конзумирају јасно обојена безалкохолна пића. Ниво изложености натријум-бензоату вјероватно да ће се појавити.

**„Након што поједу неке слаткише или пићу газирано пиће, дјеца постају хиперактивна. Престану да слушају шта им говорите и почну да раде све оно што не смију. Нисам, међутим, примијетила промјене у понашању када син, рецимо, дам јабуку“,** каже један од родитеља испитане дјеце.

### РЕАКЦИЈЕ НА СТУДИЈУ

Резултати студије објављени су у септембру 2007. године у медицинском часопису The Lancet и одмах након објављивања изазвали бурне реакције јавности. Потрошачима и стручњацима наметнула су се бројна питања и дилеме, а произвођачи хране су се нашли пред сложеним проблемима. Надлежни за исхрану дјеце у школама, као и представници Британске агенције за одржање стандарда у храни, апеловали су на произвођаче да добровољно избаци вјештачке боје и друге адитиве из производа намијењених дјеци.

Будући да су резултати студије проведене на Универзитету у Саутхемпτονу сугерисали постојање озбиљне сумње у могућност повезаности конзумирања смјесе одређених прехранбених боја и натријевог бензоата с учинком на понашање хиперактивне дјеце, Британска агенција за храну, FSA (Food Standards Agency) их је прослиједила Европској агенцији за сигурност хране, EFSA (European Food Safety Authority).

### МИШЉЕЊЕ НАУЧНОГ ОДБОРА ЗА ПРЕХРАМБЕНЕ АДТИВЕ – EFSA

EFSA-ин Научни одбор за прехранбене адитиве одмах је узео у разматрање ове резултате и, у склопу програма реevaluације безбједности прехранбених боја, дао приоритет спорним бојама коришћеним у студији: залазак сунца жута FCF или наранџастојута С (E110), тартразин (E102), кармоизин (E122), понцеау 4R или кокинеал црвена А (E124), виолини жута (E104), лура црвена AC (E129).

Одбор сматра да кораци предузети за резултат нормализације и скупљања података су математичке трансформације које могу имати утицај на претпоставке уобичајености и независности података који су кључни за цијелу аналитичку анализу. Због

тога је ауторова примарна анализа поновљена уз више оправдан и конвенционалан статистички модел, и ово је било допуњено сетом додатних анализа са циљем помоћи при интерпретацији резултата.

Одбор сматра да су у поновљеној анализи, која је урађена од стране EFSA, све појединачне мјере (без посебне основне вриједности за ту мјеру) разматране без нормализације, тако да сваки предмет (субјект) служи као сопствена препорука, као најодговарајућа. Ова поновљена анализа је преузела обоје, на нивоу индивидуалних параметара, као и на нивоу збирних резултата.

На основу добијених резултата закључено је да анализа са поновљеним срачунатим ГНА резултатима води ка потпуно сличним закључцима са оним у оригиналном раду који је дао McCann et al., изузев следећег:

1. Мјешавина А насупрот плацебо успоредби није била статистички значајна за трогодишњу дјецу када су обухваћени сви предмети (цјелокупни узорак), док је тачност за >85% конзумирање и комплетан случај био благо повећан;
2. За групу дјеце узраста од 8 до 9 година, мјешавина А насупрот плацебо успоредби није више била статистички значајна ни за једну од три конзумацијске групе.

Додатно, подаци су анализирани на бази модификованих ГНА резултата у којима резултати родитеља нису били укључени. Резултати ове анализе не откривају више никакво статистички значајно дјеловање мјешавине А или мјешавине Б насупрот плацебу, осим за мјешавину Б насупрот плацебу код дјеце узраста од осам до девет година.

Даља анализа је проведена на читавом скупу података који укључују анализу појединачних варијабли резултата родитеља, учитеља и посматрача и, у случају дјеце узраста од осам до девет година, компјутерски базиране резултате. Сугестија ове анализе је да је статистички значајан утицај опажен код трогодишње дјеце (мјешавина А насупрот плацебо) и код дјеце узраста од осам до девет година (мјешавина Б насупрот плацебу) опсежно управљано са подацима резултата родитеља, и код старијих дјечака, у обје упоредбе компјутерским резултатима.

Одбор наглашава да су неке, али не све раније студије такође извјестиле о дјеловању прехранбених боја на понашање дјеце. Већина ових студија је била проведена на дјечи која су окарактерисана као хиперактивна или са клиничком дијагнозом ADHD.

Одбор закључује да студија McCann et al. пружа ограничене доказе да двије различите тестиране мјешавине вјештачких боја и натријум-бензоата имају мало и статистички значајно дјеловање на активност и пажњу код неке дјеце изабране из генералне популације, иако дјеловање није посматрано код све дјеце и у свим узрастним групама и нису досљедни за ове двије мјешавине. Истраживања, према томе, могу бити релевантна за специфичне индивидуе у популацији, показујући осјетљивост на прехранбене адитиве генерално или посебно за прехранбену боју.

Међутим, није могуће процијенити цјелокупну учесталост такве осјетљивости у генералној популацији и поуздани подаци о осјетљивости на сваки адитив посебно нису доступни.

Клинички значај проучаваних дјеловања такође остаје нејасан, будући да није познато да ли те мале промјене у пажњи и активности могу утицати на школске задатке и друге интелектуалне функције. Клинички значај би било могуће појаснити проценом која користи мјере функционалних оштећења и дијагностичке интервјуе, посебно ако већи удио дјеце са високим резултатима симптома треба бити укључен у такву студију.

## НЕОДРЕЂЕНОСТИ СТУДИЈЕ

Постоје неке неодређености овог новог истраживања које су очигледне, а које су се сретале и у ранијим студијама.

Те неодређености укључују:

- ограничену досљедност резултата с обзиром на године и пол дјеце, учинак двије тестиране мјешавине адитива и тип посматрача (родитељ, учитељ или независни посматрач);
- непознате клиничке релевантности нове метрике, пр. ГНА резултати;
- непознате релевантности малих размјера дјеловања (што је такође показано у метаанализи ранијих студија од стране Schab и Trinh, 2004);
- чињеница да студија није дизајнирана да идентификује учинке појединих адитива;

- недостатак информација о доза-одговор;
- недостатак биолошки могућих механизма за представљање дјеловања понашања због конзумације прехранбених адитива.

На основу препорука EFSA-иног научног одбора, Европска комисија је донијела Уредбу број 1333/08/ЕС, којом се прехранбеној индустрији

налаже да ових шест вјештачких боја могу да употребљавају у храни само ако садрже додатне податке у вези са означавањем. Додатни подаци се односе на име или Е број боје и натпис **"може имати негативан ефекат на активност и пажњу дјете"** (табела 1). Ове промјене које је донијела ЕЦ у вези са додатним подацима за наведене боје ступају на снагу 20.07.2010. године у земљама чланицама ЕУ.

**Табела 1.** Листа прехранбених боја за које ознаке на храни укључују додатне податке

| Храна која садржи једну или више следећих прехранбених боја | Подаци                                                                      |
|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Залазак сунца жута FCF                                      | Име или Е број боје: може имати негативан ефекат на активност и пажњу дјете |
| Наранџастојута С (Е110) (*)                                 |                                                                             |
| Квинолин жута (Е 104) (*)                                   |                                                                             |
| Азорубин, кармоизин (Е122) (*)                              |                                                                             |
| Алура црвена АС (Е 129) (*)                                 |                                                                             |
| Тартразин (Е 102) (*)                                       |                                                                             |
| Понцеау 4Р, кокинеал црвена А (Е 124) (*)                   |                                                                             |

(\*) Са изузетком хране гдје је/су боја/е кориштена/е у здравствену сврху или друго означавање на месним производима или штампање или декоративно бојење љуски јаја.

Научни одбор за адитиве послјије прегледа свих расположивих доказа снизео је прихватљиви дневни унос (ADI) за следеће вјештачке боје у храни:

1. Квинолин жута (Е104),
2. Залазак сунца жута FCF (Е110) и
3. Понцеау 4Р (Е124).

Одбор је утврдио да према тренутно доступним подацима не треба мијењати постојеће ADI за остале три боје које су такође процењиване: тартразин (Е102), азорубин, кармоизин (Е122) и алура црвена АС (Е129). Према мишљењу Одбора, до прекорачења ADI за ове боје може доћи само у појединим случајевима, код дјете које конзумирају изузетно велике количине хране која их садржи.

## ЗАКЉУЧАК

Прије двадесетак година такође су у Великој Британији обављена истраживања која су про-

мјене понашање повезивала с бојом Е 102 (тартразин). Иста боја је коришћена и у овој студији, што указује на оправдану сумњу повезаности узрока и последица.

Имамо најновији примјер са бојом Е 128 (није коришћена у овој студији). Након евалуације од стране EFSA, донесена је Уредба Европске комисије број 884/2007 од 26.07.2007. године о хитним мјерама забране употребе Е 128 Red 2G као прехранбене боје у ЕУ. Према EFSA-иној евалуацији, наведена боја може потенцијално оштетити генетски материјал у ћелијама и изазвати рак код животиња. Из наведених разлога, EFSA тврди како није могуће одредити границу за адитив Е 128 Red 2G која би се сматрала сигурном за здравље људи.

Надамо се да ће неке будуће студије ипак разјаснити и утицај појединих боја на понашање дјете, али и одраслих.

На основу поновне евалуације EFSA-иног одбора, боје кориштене у студији McCann et al. нису забрањене, већ је само проистекла обавеза

упозорења потрошача преко навођења додатних података на декларацији да ове боје могу имати негативно дејство на активност и пажњу дјече. То ће индиректно довести до замјене тих боја и натјерати прехранбену индустрију да користи адекватне замјене за дате боје.

Ипак, међу потрошачима имамо страх за властиту безбједност и антагонизам према споменутих бојама је све већа. Потребно је ићи у правцу што веће транспарентности употребе тих боја, као и потребе да се у домаћу легислативу, која је тренутно потпуно усклађена са легислативом ЕУ, угради и обавеза настала доношењем Уредбе 1333/08/ЕС о обавезном навођењу додатних података у вези са означавањем, која ступа на снагу 20.07.2010. године у ЕУ.

Тиме би се допринијело квалитету и здравственој исправности домаће хране, као и већем повјерењу потрошача у домаће произвођаче.

У прилогу овог рада налази се листа боја и натријум-бензоат коришћене у студији, по категоријама прехранбених производа чија је употреба дозвољена у храни како у ЕУ тако и БиХ, као и максимално дозвољене количине.

## ЛИТЕРАТУРА

1. EFSA-ино мишљење о шест боја за употребу у храни  
[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1211903038267.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211903038267.htm)
2. ADD/ADHD дефицит пажње и хиперактивност код дјече.
3. Уредба Европске комисије 884/2007 о хитним мјерама забране употребе Е 128 Red 2Г као прехранбене боје у ЕУ.
4. Марјан Каталинић, *Прехрамбени адитиви – да ли је здравље угрожено?* Хрватска агенција за храну, Загреб, 2008.
5. Проф. др Иван Станковић, експерт ЈЕСФА, *Прехрамбени адитиви – законска регулатива и ризици употребе*, Београд, 2009.
6. Правилник о употреби боја у храни, („Службени гласник БиХ“ број 85/08), 2008.
7. Уредба Европске комисије 1331/08 – Успостављање процедура за одобрење адитива, ензима и арома у храни, 2008.
8. Уредба Европске комисије 1333/08 о прехранбеним адитивима, 2008.

## ПРИЛОГ

**Највећа допуштена количина шест вјештачких боја и натријум бензоата у БиХ који су коришћени у студији, разврстани по категоријама прехранбених производа**

| МЛИНСКИ И ПЕКАРСКИ ПРОИЗВОДИ, КЕКСИ, КОЛАЧИ, ТЈЕСТЕНИНЕ, БРЗО СМРЗНУТИ И СРОДНИ ПРОИЗВОДИ |        |                                           |                                 |                                                                                                                      |                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ред. број                                                                                 | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функционално својство | Допуштеност употребе                                                                                                 | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                           |
| 1.                                                                                        | E102   | Тартразин                                 | боја                            | маса за пуњење, преливи и украси за све производе                                                                    | 200                                                                                          |
| 2.                                                                                        | E104   | Квинолин жута                             |                                 |                                                                                                                      | 200                                                                                          |
| 3.                                                                                        | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                 |                                                                                                                      | 50                                                                                           |
| 4.                                                                                        | E122   | Азорубин, кармоисин                       |                                 | маса за пуњење, преливи и украси за све производе                                                                    | 50                                                                                           |
| 5.                                                                                        | E124   | Понцеау 4Р, кокинеал црвена А             |                                 |                                                                                                                      |                                                                                              |
| 6.                                                                                        | E129   | Алура црвена АЦ                           |                                 | маса за пуњење, преливи и украси за све производе                                                                    | 200                                                                                          |
| 7.                                                                                        | E211   | Натријев бензоат                          | конзерванс                      | маса за пуњење                                                                                                       | 1 000<br>појединачно или у смјеси изражено као киселине (и ако је додана сорбинска киселина) |
| ПРОИЗВОДИ ОД МЕСА СТОКЕ ЗА КЛАЊЕ, ДИВЉАЧИ И ПЕРАЦИ                                        |        |                                           |                                 |                                                                                                                      |                                                                                              |
| Ред. број                                                                                 | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функционално својство | Допуштеност употребе                                                                                                 | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                           |
| 1.                                                                                        | E129   | Алура црвена АЦ                           | боја                            | месни доручак, мљевено месо са најмање 4% житарица или биљних додатака (бургери и др.)                               | 25                                                                                           |
| 2.                                                                                        | E124   | Понцеау 4Р, кокинеал А                    |                                 | Chorizo-кобасица Salchichon                                                                                          | 250                                                                                          |
| 3.                                                                                        | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                 | Собрасада                                                                                                            | 135                                                                                          |
| 4.                                                                                        | E124   | Понцеау 4Р, кокинеал црвена А             |                                 |                                                                                                                      | 200                                                                                          |
| 5.                                                                                        | E211   | Натријев бензоат                          | конзерванс                      | само за површинску обраду сухомеснатих производа                                                                     | quantum satis                                                                                |
| МЛИЈЕКО И МЛИЈЕЧНИ ПРОИЗВОДИ, СЛАДОЛЕД И ПУДИНГ                                           |        |                                           |                                 |                                                                                                                      |                                                                                              |
| Ред. број                                                                                 | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функционално својство | Допуштеност употребе                                                                                                 | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                           |
| 1.                                                                                        | E102   | Тартразин                                 | боја                            | сладолед* и крем сладолед*, прашак за сладолед* и пудинг*, осим сладоледа на бази воћа, какао праха, чоколаде и јаја | 150                                                                                          |
| 2.                                                                                        | E104   | Квинолин жута                             |                                 |                                                                                                                      | 150                                                                                          |
| 3.                                                                                        | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                 |                                                                                                                      | 50                                                                                           |
| 4.                                                                                        | E122   | Азорубин                                  |                                 | сладолед* и крем сладолед*, прашак                                                                                   | 50                                                                                           |

| 5.                                                     | E124      | Понцеау 4Р, кокинеал црвена А            |                                            | за сладолед* и пудинг*, осим<br>сладоледа на бази воћа, какао праха,<br>чоколаде и јаја                                                                                                                                                                                                                           | 50                                                                                                                |
|--------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6.                                                     | E129      | Алура црвена АЦ                          |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 50                                                                                                                |
| 7.                                                     | E211      | Натријев бензоат                         | конзерванс                                 | топлински необрађени млијечни<br>десерти                                                                                                                                                                                                                                                                          | 300 укупно као<br>сорбинска и<br>бензосва<br>киселина                                                             |
| ВОЋЕ, ПОВРЋЕ, ГЛЈИВЕ И ПРОИЗВОДИ                       |           |                                          |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| Ред.<br>број                                           | Е<br>број | Назив адитива                            | Намјена –<br>функцио-<br>нално<br>својство | Допуштеност употребе                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Највећа<br>допуштена<br>количина (mg/kg)                                                                          |
| 1.                                                     | E104      | Квинолин жута                            | боја                                       | цем, желе, мармелада и пекмез<br>(осим екстра цема, мармеладе и<br>екстра желеа) и слични воћни<br>намази, укључујући нискокалоричне<br>производе са или без додатка<br>шећера, воћне масе с комадима воћа<br>које служе за пуњење, надјеве и<br>украсе, а накнадно се термички<br>обрађују с основним производом | 100<br>појединачно<br>или укупно<br>осим E110 и<br>E124, које се<br>могу налазити<br>50 појединачно<br>или укупно |
| 2.                                                     | E110      | Залазак сунца жута                       |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| 3.                                                     | E120      | Кармини, кокинеал,<br>карминска киселина |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| 4.                                                     | E124      | Понцеау 4Р,<br>кокинеал црвена А         |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| 5.                                                     | E102      | Тартразин                                |                                            | <i>Processed mushy i garden peas</i>                                                                                                                                                                                                                                                                              | 100                                                                                                               |
| 6.                                                     | E211      | Натријев бензоат                         | конзерванс                                 | с о д... сафт                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 200 појединачно<br>или укупно<br>израж. као<br>бензосва<br>киселина                                               |
|                                                        |           |                                          |                                            | цем, желе и пекмез с ниским<br>садржајем шећера и слични<br>нискокалорични производи са или<br>без додатка шећера и други воћни<br>намази, кандирано воће и<br>поврће, умаци на бази воћа и поврћа<br>(укључујући и кечап), мармелада                                                                             | 1000 појединачно<br>или укупно<br>изражено као<br>киселине                                                        |
| РИБЕ, ШКОЉКЕ, РАКОВИ, ГЛАВНОНОШЦИ, МЕКУШЦИ И ПРОИЗВОДИ |           |                                          |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| Ред.<br>број                                           | Е<br>број | Назив адитива                            | Намјена –<br>функцио-<br>нално<br>својство | Допуштеност употребе                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Највећа<br>допуштена<br>количина (mg/kg)                                                                          |
| 1.                                                     | E102      | Тартразин                                | боја                                       | димљена риба, паштете од риба и<br>ракова, производи од риба с биљним<br>протеинима                                                                                                                                                                                                                               | 100<br>појединачно<br>или у смјеси                                                                                |
| 2.                                                     | E104      | Квиноклин жута                           |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   |
| 3.                                                     | E110      | Наранџасто жута С                        |                                            | СУРИМИ                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                   |
| 4.                                                     | E122      | Азорубин                                 |                                            | замјена за лосос                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 500                                                                                                               |
| 5.                                                     | E124      | Кокинеал црвена А                        |                                            | кувани ракови                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 250                                                                                                               |
| 6.                                                     | E129      | Алура црвена АЦ                          |                                            | замјена за кавијар – рибља икра                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 300                                                                                                               |
| 7.                                                     | E211      | Натријев бензоат                         | конзерванс                                 | производи од рибље икре                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 2 000<br>појединачно или<br>у смјеси                                                                              |

| КАКАО ПРОИЗВОДИ, ПРОИЗВОДИ СЛИЧНИ ЧОКОЛАДИ, КРЕМ ПРОИЗВОДИ И БОМБОНСКИ ПРОИЗВОДИ |        |                                                          |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Ред. број                                                                        | Е број | Назив адитива                                            | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                                                                                                                  | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                              |
| 1.                                                                               | E102   | Тартразин                                                | боја                             | бомбонски производи                                                                                                                                                                   | 300                                                                             |
| 2.                                                                               | E104   | Квинолин жута                                            |                                  | маса за пуњење, преливи                                                                                                                                                               | 30                                                                              |
| 3.                                                                               | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С                |                                  | бомбонски производи                                                                                                                                                                   | 50                                                                              |
|                                                                                  |        |                                                          |                                  | маса за пуњење, преливи                                                                                                                                                               | 30                                                                              |
| 4.                                                                               | E122   | Азорубин                                                 |                                  | бомбонски производи                                                                                                                                                                   | 50                                                                              |
| 5.                                                                               | E124   | Понцеау 4Р, кокинеал црвена А                            |                                  | маса за пуњење, преливи                                                                                                                                                               | 30                                                                              |
| 6.                                                                               | E129   | Алура црвена АЦ                                          |                                  | бомбонски производи                                                                                                                                                                   | 300                                                                             |
| 7.                                                                               | E211   | Натријев бензоат                                         | конзерванс                       | бомбонски производи<br>маса за пуњење<br>преливи                                                                                                                                      | 1500<br>појединачно или у смјеси, ако се додају у смјеси ПХБ се додаје мах. 300 |
| АЛКОХОЛНА ПИЋА                                                                   |        |                                                          |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| Ред. број                                                                        | Е број | Назив адитива                                            | Намјена– функцио-нално својство  | Допуштеност употребе                                                                                                                                                                  | Највећа допуштена количина (mg/kg/l)                                            |
| 1.                                                                               | E102   | Тартразин                                                | боја                             | ароматизовани ликери, горки ликери (могу се обојити и с E131, E132, E133, E142, E151 ), домаћи рум, BITTER VINO, AMERICANO (осим E110)                                                | 100<br>(појединачно или укупно)                                                 |
| 2.                                                                               | E104   | Квинолин жута                                            |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 3.                                                                               | E110   | Наранџасто жута С, залазак сунца жута ФЦФ                |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 4.                                                                               | E122   | Азорубине, кармоисин                                     |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 5.                                                                               | E124   | Понцеау 4Р, кокиенал                                     |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 6.                                                                               | E102   | Црвена А                                                 | боја                             | алкохолна пића без назнаке сировине од које је алкохол направљен, укључујући и она с <15% етанола (осим *), ароматизирана пића на бази вина, ароматизовани вински коктелски производи | 200<br>(појединачно или укупно )                                                |
| 7.                                                                               | E104   | Тартразин                                                |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 8.                                                                               | E110   | Квинолин жута, наранџасто жута С, залазак сунца жута ФЦФ |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 9.                                                                               | E122   | Азорубине, кармоисин                                     |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 10.                                                                              | E124   | Понцеау 4Р, кокиенал црвена А                            |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 11.                                                                              | E129   | Алура црвена АЦ                                          |                                  |                                                                                                                                                                                       |                                                                                 |
| 12.                                                                              | E211   | Натријев бензоат                                         | конзерванс                       | алкохолна пића с <15% етанола                                                                                                                                                         | 400 укупно<br>сорбинске и бензоеве кис.                                         |

| БЕЗАЛКОХОЛНА ОСВЈЕЖАВАЈУЋА ПИЋА                     |        |                                           |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------|--------|-------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ред. број                                           | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                     | Највећа допуштена количина (мг/л)                                                                 |
| 1.                                                  | E102   | Тартразин                                 | боја                             | безалкохолна освјежавајућа пића, осим пића од воћног сока и воћних база                  | 100                                                                                               |
| 2.                                                  | E104   | Квинолин жута                             |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| 3.                                                  | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С | боја                             | безалкохолна освјежавајућа пића, осим пића од воћног сока и воћних база                  | 50                                                                                                |
| 4.                                                  | E122   | Азорубине, кармоисин                      | боја                             | безалкохолна освјежавајућа пића од воћног сока и воћне базе јагоде и црвеног цитрус воћа | 50                                                                                                |
| 5.                                                  | E124   | Понџеау 4Р, кокинеал црвена А             |                                  | безалкохолна освјежавајућа пића, осим осталих пића од воћног сока и воћних база          |                                                                                                   |
| 6.                                                  | E129   | Алура црвена АЦ                           | боја                             | безалкохолна освјежавајућа пића од воћног сока и воћне базе јагоде и црвеног цитрус воћа | 100                                                                                               |
| 2 7.                                                | E211   | Натријев бензоат                          | конзерванси                      | безалкохолна освјежавајућа пића осим пића на бази млијечних производа                    | 150 појединачно или 250 мг/л сорбинске киселине и сорбата и 150 мг/л бензоеве киселине и бензоата |
| ВИНО, ПИВО И БЕЗАЛКОХОЛНО ПИВО                      |        |                                           |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| Ред. број                                           | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                     | Највећа допуштена количина (мг/л)                                                                 |
| 1.                                                  | E211   | Натријев бензоат                          | конзерванс                       | безалкохолно пиво у бачвама                                                              | 70                                                                                                |
| ПРАШАК ЗА ПУДИНГ, КРЕМЕ, ДЕСЕРТЕ И СРОДНЕ ПРОИЗВОДЕ |        |                                           |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| Ред. број                                           | Е број | Назив адитива                             | Намјена - функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                     | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                                |
| 1                                                   | E102   | Тартразин                                 | боја                             | сви производи осим оних који у називу садрже воће, јаја, какао, чоколаду                 | 50 појединачно или укупно (осим Е 104 150 појед. или укупно)                                      |
| 2                                                   | E104   | Квинолин жута                             |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| 3                                                   | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| 4                                                   | E122   | Азорубин, кармоисин                       |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| 5                                                   | E124   | Понџеау 4Р, кокенеал црвена А             |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| СНЕК – ПРОИЗВОДИ                                    |        |                                           |                                  |                                                                                          |                                                                                                   |
| Ред. број                                           | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                     | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                                |
| 3.                                                  | E102   | Тартразин                                 | боја                             | флипс, експандирана жита                                                                 | 200                                                                                               |

|                                      |        |                                           |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------|--------|-------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4.                                   | E104   | Квинолин жута                             |                                  | пржени плодови и сјеменке,<br>мјешавине<br>и остали снек-производи                                                                                                  | 100                                                                                                                                                                 |
| 5.                                   | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 7.                                   | E122   | Азорубине, кармоисин                      |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 8.                                   | E124   | Понџеау 4Р, кокинеал црвена               |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 9.                                   | E129   | Алура црвена АЦ                           |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| С Е Н Ф                              |        |                                           |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| Ред. број                            | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                                                                                                | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                                                                                                  |
| 1                                    | E102   | Тартразин                                 | боја                             | све врсте сенфа                                                                                                                                                     | 300 појединачно или укупно                                                                                                                                          |
| 2                                    | E104   | Квинолин жута                             |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 3                                    | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С | боја                             | све врсте сенфа                                                                                                                                                     | 50                                                                                                                                                                  |
| 4                                    | E122   | Азорубине, кармоисин                      |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 5                                    | E124   | Понџеау 4Р, кокинеал црвена               |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| 6                                    | E 211  | Натријев бензоат                          | конзерванс                       | све врсте сенфа                                                                                                                                                     | 1000 појединачно или укупно изражено као киселине                                                                                                                   |
| ХРАНА ЗА ПОСЕБНЕ ПРЕХРАМБЕНЕ ПОТРЕБЕ |        |                                           |                                  |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                     |
| Ред. број                            | Е број | Назив адитива                             | Намјена – функцио-нално својство | Допуштеност употребе                                                                                                                                                | Највећа допуштена количина (mg/kg)                                                                                                                                  |
| 3.                                   | E102   | Тартразин                                 | боја                             | храна за редукцију тјелесне масе, храна за посебну медицинску намјену, додаци прехрани у текућем или чврстом облику                                                 | 50                                                                                                                                                                  |
|                                      |        |                                           |                                  | текући додаци прехрани                                                                                                                                              | 100                                                                                                                                                                 |
|                                      |        |                                           |                                  | чврсти додаци прехрани                                                                                                                                              | 300                                                                                                                                                                 |
| 4.                                   | E104   | Квинолин жута                             |                                  | храна за редукцију тјелесне масе, храна за посебну медицинску намјену, додаци прехрани у текућем или чврстом облику                                                 | 50                                                                                                                                                                  |
|                                      |        |                                           |                                  | текући додаци прехрани                                                                                                                                              | 100                                                                                                                                                                 |
|                                      |        |                                           |                                  | чврсти додаци прехрани                                                                                                                                              | 300                                                                                                                                                                 |
| 5.                                   | E110   | Залазак сунца жута ФЦФ, наранџасто жута С |                                  |                                                                                                                                                                     | храна за редукцију тјелесне масе, храна за посебну медицинску намјену, додаци прехрани у текућем или чврстом облику, текући додаци прехрани, чврсти додаци прехрани |
| 7.                                   | E122   | Азорубин                                  |                                  | храна за редукцију тјелесне масе, храна за посебну медицинску намјену, додаци прехрани у текућем или чврстом облику, текући додаци прехрани, чврсти додаци прехрани | 50                                                                                                                                                                  |

Б. Новаковић, Д. Матаругић, М. Урошевић, Д. Дробњак<sup>1</sup>

## ОСНОВНИ БИОХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ У КРВНОМ СЕРУМУ ДОЈНИХ КУЈА ПАСТИРСКОГ ПСА ТОРЊАКА

### Кратак садржај

Босанскохерцеговачко-хрватски пастирски пас торњак, кинолошки посматрано, припада млађим расама паса, међутим, по својој филогенези припада групи пастирских паса формираних прије више вијекова. Поред званичног стандарда, који дефинише екстеријерне параметре, да би се боље упознала нека раса, неопходно је обавити и читав низ истраживања физиолошких и биохемијских карактеристика како би се утврдили одговарајући параметри и формирале референтне јединице за поједине параметре. Ово истраживање има за циљ да се утврде основни биохемијски параметри у серуму дојних куја торњака. Анализом је обухваћено 25 крвних серума 25 дојних куја торњака. Утврђене су минималне, средње и максималне вриједности за: АСТ (21,35 У/Л), АЛТ (24,62 У/Л), ЛДХ (308,00 У/Л), АФ (84,00 У/Л), ламиназу (745,75), холестерол (3,18 ммол/Л), триглицериде (0,52 ммол/Л), уреу (5,65 ммол/Л), глукозу (3,23 ммол/Л), калијум (4,79 ммол/Л), фосфор (1,38 ммол/Л) и натријум (157,00 ммол/Л), гвожђе (18,40 ммол/Л).

**Кључне ријечи:** торњак, куја, биохемијски параметри, серум.

### Abstract

Bosnia Herzegovina - Croatian shepherd dog Tornjak, Kynologicly speaking, belongs to the younger breeds of dogs, however, by its phylogenesis shepherd dogs belong to the group that is formed many centuries ago. In addition to the official standard, which defines the exterior parameters to be better know some breeds, it is necessary to conduct research and a series of physiological and biochemical characteristics in order to determine the appropriate parameters to form the reference units for each parameter. This research aims to determine the basic biochemical parameters in serum of lactating Tornjak females. The analysis included 25 blood serums from 25 females of lactating Tornjak. There are found minimal, medium and maximum values: AST (21.35 U / L), ALT (24.62 U / L), LDH (308.00 U / L), AF (84.00 U / L) laminasis (745.75), cholesterol (3.18 mmol / L), triglycerides (0.52 mmol / L), urea (5.65 mmol / L), glucose (3.23 mmol / L), potassium (4, 79 mmol / L), phosphorus (1.38 mmol / L) and sodium (157.00 mmol / L), iron (18.40 mmol / L).

**Key words:** Tornjak dog, Tornjak female, biochemical parameters, blood serum.

---

<sup>1</sup> Дипл. инж. Богољуб Новаковић, Пољопривредни институт Републике Српске, Бања Лука; проф. др Драгутин Матаругић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Бања Лука; др. вет. мед. спец. Миливоје Урошевић, „Таурунум“, Темишвар; др. вет. мед. Дарко Дробњак, Ветеринарска амбуланта „Гута“, Београд.

## УВОД

Површину Балкана приличним дијелом заузимају планински масиви, тако да је то условило вјековно бављење сточарством, а то је био подстицајни услов за присуство пастирских паса. Од најстаријих времена, на просторима Балкана присутни су и пастирски пси, а један од њих је босанскохерцеговачко-хрватски пастирски пас торњака. То је кинолошки млада раса, званично регистрована 2006, али се његово присуство на овим просторима мјери вијековима.

У жељи да се торњак што боље упозна, не само на основу фенотипских особина и званично прописаног стандарда, урађено је испитивање крвног серума дојних куја расе торњак.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Овим огледом обухваћено је 25 куја расе босанскохерцеговачко-хрватског пса торњака. Узорци крви узимани су од 30. до 35. дана дојења. Све керуше су се налазиле на територији кинолошких друштава у Градишци и Бањој Луци. Крв је вађена у периоду од марта до јуна 2008. године.

Крв за анализу узимана је пункцијом вене *cephalicae antebrachii*. Узорак је транспортован до лабораторије, а дужина транспорта најдуже је износила два часа. Током транспорта епрувете са узоркованом крвљу налазиле су се у вертикалном положају. У лабораторији је обављена центрифугација, пет минута на 3000 обртаја.

Све женке су већ имале најмање по једно легло, у моменту узимања крви биле су клинички здраве, као и штенад. Најмлађа женка имала је 18 мјесеци, док је најстарија стара осам година.

## ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

У доступној литератури мало је референци које су директно везане за посматрану проблематику. Једина доступна референца о овој проблематици је рад Новаковића (2002), који је испитивао крвну слику дојних куја пастирског пса торњака. Поред крвне слике, на свега девет јединки утврђени су и биохемијски параметри у серуму дојних куја. И поред релативно малог броја узорака, добијени резултати су веома значајни пошто су први у овој области.

Тако Новаковић (2002) наводи да је средња вриједност за АСТ 20,78 ммол/Л, а за АЛТ 28,00 ммол/Л. Добијена вриједност за ЛДХ била је 293,55 ммол/Л.

Пошто нема пуно података о основним биохемијским параметрима у серуму торњака, као параметри за поређење узети су подаци о сличним расама. Тако су Рајић и Миливојевић (1989) у крвном серуму југословенског овчарског пса шарпланинца утврдили концентрацију Са, Р, На, К и Fe. Пси су били у различитим режимима обуке и храњени су куваном и конзервисаном храном. Ниво калцијума достигао је максимум од 3,04 ммол/Л десетог дана од престанка циклуса обуке. Неопходно је истаћи да су ово различите категорије паса, а и расе. У истом периоду ниво фосфора био је 1,88 ммол/Л. Количина натријума у крви испитиваних шарпланинаца била је 154,25 ммол/Л, док је ниво калијума био 5,46 ммол/Л и гвожђа 34,73 ммол/Л.

Испитујући крвни серум хрватског овчара, Fury (2002) је утврдио да ниво АСТ износи 24,82 У/Л, а ниво АЛТ био је 22,53 У/Л. Количина калцијума у серуму хрватских овчара била је 2,50 ммол/Л, а фосфора 1,30 ммол/Л.

Испитујући биохемијске параметре код паса након учествовања у агилити такмичењу, Roviga и сар. (2007), између осталог, утврдили су да просјечна вриједност за АЛТ износи 11 У/Л са варијацијама од 3 до 20 У/Л, а за АСТ просјечна вриједност била је 25 У/Л, уз варијације од 10 до 41 У/Л. Аутори су утврдили да просјечна вриједност LDH износи 96 У/Л, уз варирање од 33 до 324 У/Л, а просјечна вриједност СК износила је 236 У/Л.

Биохемијске показатеље у крвном серуму хрватског овчара испитивали су Žubić и сар. (2008). На узорку од 95 паса расе хрватски овчар аутори су утврдили ниво АСТ од 23,00 У/Л, за АЛТ 22,00 У/Л. Ниво алкалне фосфатазе био је 54 У/Л, а креатин киназе 30,00 У/Л. Код посматраних паса концентрација калцијума у крвном серуму била је 2,46 ммол/Л, а фосфора 1,28 ммол/Л.

Теодосић (1991), не истичући расну припадност, наводи да је ниво урее у крви пса 3,33–6,66 ммол/Л.

Биохемијске параметре код великог енглеског хрта, прије и после трке, испитивала је Steiss Janet са сарадницима. Ниво калцијума у крви кретао се од 8,6 до 11,4 ммол/л, а алкалне фосфатазе од 3 до 75 У/Л. Код ових паса, прије трке, установљено је да ниво креатин киназе варира од 18 до 318 У/Л. Пошто ова раса паса припада групи хртова, а не пастирским псима као торњака, нећемо наводити резултате за друге параметре који су добијени у овом истраживању. Ових неколико је довољно као илустративни показатељ.

Интересанто је погледати резултате до којих је дошао Labura (1992). Аутор је истраживао

биохемијске параметре у крвном серуму истарског гонича. Ово је раса паса која се, као и пастирски пси, прилично креће током дана, односно лова. Ниво глукозе код истарског краткодлаког гонича био је 6,31 ммол/Л, урее 4,112 ммол/Л, триглицерида 0,87 ммол/Л. Ниво холестерола био је 7,01 ммол/Л.

## РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Анализом крвног серума дојних куја торњака утврђена је концентрација електролита Са, К, Р и На. Њихови нивои приказани су у следећој табели:

**Табела 1.** Концентрација електролита у крвном серуму дојних куја торњака

| Ред. бр. | Елемент | Средња вриједност | Инт. варирања |
|----------|---------|-------------------|---------------|
| 1.       | Fe      | 18,40 mmol/L      | 14,00–27,30   |
| 2.       | K       | 4,70 mmol/L       | 3,50–7,80     |
| 3.       | Ca      | 1,90 mmol/L       | 1,75–2,38     |
| 4.       | P       | 1,37 mmol/L       | 0,75–2,10     |
| 5.       | Na      | 172,00 mmol/L     | 139,00–195,60 |

Да би се процјена здравственог стања могла потпуније сагледати, неопходно је у крвном серуму утврдити ниво читавог низа биохемијских

параметара. Овим истраживањем утврђен је ниво следећих параметара.

**Табела 2.** Утврђене вриједности биохемијских параметара

| Ред. број | Параметар    | Сред. вриједност | Инт. варирања  |
|-----------|--------------|------------------|----------------|
| 1.        | AST          | 21,35 U/L        | 12,00–29,00    |
| 2.        | ALT          | 24,62 U/L        | 7,00–52,00     |
| 3.        | LDH          | 308,00 U/L       | 104,00–486,00  |
| 4.        | AF           | 84,00 U/L        | 21,00–137,00   |
| 5.        | CK           | 104,30 U/L       | 50,00–197,00   |
| 6.        | AA           | 820,00 U/L       | 354,00–1277,00 |
| 7.        | Laminaza     | 745,75 U/L       | 457,00–980,00  |
| 8.        | Urea         | 5,65 mmol/L      | 2,70–12,85     |
| 9.        | Holesterol   | 3,18 mmol/L      | 2,40–5,70      |
| 10.       | Trigliceridi | 0,52 mmol/L      | 0,24–0,83      |
| 11.       | Glukoza      | 3,23 mmol/L      | 1,85–4,90      |

AST – аспартат аминокиселин трансфераза

ALT – аланин аминокиселин трансфераза

LDH – лактат дехидрогеназа

AF – алкална фосфатаза

CK – креатин киназа

AA – алфа амилаза

Овим истраживањем није утврђена повезаност старости дојних куја и заступљености појединих параметара у крвном серуму.

### ДИСКУСИЈА

Добијени резултати говоре о релативно добром и стабилном биохемијском профилу посматраних дојних куја босанскохерцеговачко-хрватског пастирског пса торњака. Готово све добијене вриједности налазе се у физиолошки дозвољеним границама, осим глукозе и калцијума. Минимална вриједност за глукозу од 1,90 ммол/Л налази се знатно испод физиолошког минимума од 3,33 ммол/Л. И добијена средња вриједност за глукозу од 3,23 ммол/Л налази се испод физиолошког минимума.

Поред глукозе, поједине јединке имале су ниво калцијума испод физиолошке границе од 1,85 ммол/Л. Најнижа утврђена вриједност калцијума била је 1,75 ммол/Л, а максимална вриједност износила је 2,38 ммол/Л, што је испод физиолошког максимума од 2,82 ммол/Л. Овакви резултати не изненађују када се знају услови исхране за већину паса ове расе.

Потребно је истаћи да добијени подаци не одступају значајније од оних које саопштавају аутори проучавајући биохемијске параметре на другим расама паса и у другим физиолошким стањима. То указује на чињеницу да су посматране вриједности прилично константне код паса као врсте и да, вјероватно, нису подложне значајним варирањима у зависности од расе паса.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Fury M. (2002): *Hrvatski ovčar – istraživanja dijagnostički značajnih biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu*. Magistarski rad, Veterinarski fakultet, Zagreb.
2. Labura Č. (1992): *Istarski gonič – istraživanja nekih dijagnostički značajnih biokemijskih parametara u serumu*. Specijalistička rasprava, Veterinarski fakultet, Zagreb.
3. Новаковић Б. (2002): *Крвна слика дојних куја пастирског пса торњака*. Дипломски рад, Пољопривредни факултет, Бања Лука.
4. Рајић И., Миливојевић Ј. (1989): Концентрација Са, Р, Na, К, Fe у крвном серуму паса расе југословенски овчарски пас шарпланинац храњених куваном и конзервисаном храном. *Vet. гласник* 43 (7), 605–611.
5. Rovira S. et al. (2007): Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Vet. Clinical Pathology*, Vol (36) (1), 30–36.
6. Steiss Janet et al. (2000): Hematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Compendium*, Vol. 22 (3).
7. Теодосић С. (1991): *Основи клиничке дијагностике паса*. Ауторско издање, Ниш.
8. Žubčić D. et al. (2008): Blood groups, haematology and clinicochemical indicators in indigenous breeds of dog. I. Croatian sheepdog. *Veterinarski arhiv* 78 (2), 141–147.

## УПУТСТВО АУТОРИМА

Поштовани читаоци и будући аутори радова овог часописа, у тексту који слиједи дати су основни критеријуми за писање и садржај овог часописа.

### Прилози:

1. Критеријуми за издавање научних часописа,
2. Упутство за уређивање примарних научних часописа.

### А – Основни критеријуми

1. Да се у часопису обезбјеђује висок научни ниво и да представља науку у одговарајућој научној области, односно дисциплину пред домаћом и иностраном научном јавношћу.
2. Да има редакцију састављену од истакнутих научних радника у области коју покрива.
3. Да је у часопису обезбијеђена шира сарадња истакнутих стручњака из одређене научне области, односно дисциплине.
4. Да се при избору чланака примјењује систем рецензије текста.
5. Да се радови у часопису објављују првенствено на енглеском или неком другом свјетском језику, односно да је редовна пракса редакције да се објављују прилози на страним језицима.
6. Да излази редовно.
7. Да је прилагођен Упутству за уређивање примарних научних публикација.

### Б – Упутство за уређивање примарних научних часописа

Овим упутством се регулише уређивање примарних научних часописа у складу са захтјевима међународних стандарда ISO.

Уредници и издавачи примарних часописа обавезни су да се, приликом уређивања часописа, придржавају следећих упутава и критеријума.

1. У часопису се објављују чланци категорисани као:
  - оригинални научни радови,
  - претходна саопштења,
  - прегледни чланци,
  - стручни чланци,
  - прилози се не категоришу.

Одговорност за категоризацију сноси редакција часописа (услови за категоризацију дати су у прилогу 1).

Чланци морају да садрже следеће елементе:

- наслов чланка,
- имена аутора,
- адресу институције аутора,
- датум пријема чланка у уредништво,

- УДК ознаку,
- кључне ријечи или дескрипторе,
- резиме на нашем и страном језику,
- библиографски идентификатор,
- ознаку класификације чланка.

Напомена: О сваком поједином елементу видјети у прилогу 2.

2. Свака свеска једне серијске публикације треба да садржи насловну страну или страну која замјењује корице, са следећим елементима:

- наслов часописа,
- УДК ознака за часопис,
- ознака серије ако их има више,
- број свеске,
- мјесто издавача,
- издавач,
- година издавања,
- библиографска маншета.

У сваком броју часописа на истом мјесту морају бити наведени следећи подаци:

- назив организације која је одговорна за издавање часописа,
- састав уредништва,
- адреса уредништва,
- састав издавачког савјета,
- штампарија,
- садржај свеске.

Напомена: О елементима које треба да има сваки број часописа видјети у прилогу 3.

### Прилог 1.

1. Оригинални научни чланак садржи резултате изворних истраживања. Научне информације у раду морају бити обрађене и изложене тако да се експерименти могу поновити и провјерити анализе и закључци на којима се резултати заснивају.
2. Претходно саопштење садржи научне резултате чији карактер захтијева хитно објављивање, али не мора да омогући провјеру и понављање изнесених резултата.
3. Прегледни чланак представља цјеловит преглед неког подручја или проблема на основу већ публикованог материјала који је у прегледу сакупљен, анализиран и расправљан.
4. Стручни чланак представља користан прилог из подручја струке, чија проблематика није везана за изворна истраживања. Стручни рад се односи на провјеру или репродукцију у свјетлу познатих истраживања и представља користан материјал у смислу

ширења знања и прилагођавања изворних истраживања потребама науке и праксе.

Категоризација научних и стручних радова дата је према препорукама UNESCO-а.

## Прилог 2.

### 1. Елементи чланка су следећи:

**НАСЛОВ**, заједнички наслов и поднаслов, који треба сажето да значи садржај, треба да буде лак за идентификацију у библиографијама и другим публикацијама које издају информационе службе.

Наслов може да прати поднаслов који садржи само допунске информације, и они треба да буду јасно раздвојени нпр. помоћу двотачке.

#### ИМЕНА И АДРЕСЕ АУТОРА

Име и презиме аутора се наводи у пуном облику, а презиме треба типографски истакнути. Име које је дао аутор, као и ред имена аутора у групи треба да буду поштовани од стране уредника.

Када је аутор колективно тијело, треба навести у потпуности његово званично име, а адресу ставити у фусноту или на крај чланка, док скраћени облик имена може да се да у заградама.

**ДАТУМ ЧЛАНКА** означава датум пријема коначне верзије чланка.

**ТЕКСТ ЧЛАНКА** треба да слиједи логичан и јасан план. Треба изложити разлог за рад и његов однос према сличним претходним радовима. Методе и технике треба описати на начин да читалац може да их понови. Резултате и дискусију резултата, као и препоруке пожељно је одвојено приказати.

Фусноте се користе само у изузетним случајевима и садрже само додатни текст, а никада актуелне библиографске референце, али могу да упућују на референце у библиографији.

**ИЛУСТРАЦИЈЕ И ТАБЕЛЕ** треба да буду нумерисане и снабђевене одговарајућим насловом. Све илустрације и табеле треба да имају упутнице у тексту.

**ПРИЛОЗИ** садрже споредне, али важне податке, као нпр. методе анализе, компјутерске исписе, листу симбола, као и додатке, илустрације или табеле. Прилози се стављају на крај текста послје библиографије и треба да су означени словима, бројевима или заглављем.

Цитирање у тексту треба да је у складу са ISO 690/1987.

## БИБЛИОГРАФИЈА

Листа референци која се односи на чланке цитиране у тексту налази се на крају чланка, и треба да буде израђена у сагласности са ISO 690/1987. Листа референци садржи само референце објављене у документима. У случају радова цитираних из секундарних извора, референца треба да буде на оригиналу, ако се зна, и да буде праћена изразом „цитирано у“ па референца секундарног извора.

Од користи је ако се у библиографију укључи и листа литературе препоручене за читаоце.

2. Сви чланци треба да буду снабђевени резимеом, и то на језику чланка, као и на страном језику (енглески, француски). Резимеи треба да буду урађени у сагласности са ISO 214.
3. Сви чланци треба да буду праћени УДК ознакама и кључним ријечима. Уколико постоји тезаурус за ту област, дескриптори имају предност над кључним ријечима.
4. Сваком чланку треба додијелити библиографски идентификациони број BIBLID, који служи за библиографску идентификацију чланка. Он се састоји од идентификатора, који се означава великим словима латинице, BIBLID ISO 9115/87, и кода који је различите дужине, а састављен је од слова, бројева и специјалних ознака за интерпункцију. Структура кода се састоји од ISSN ознаке (без идентификатора кода ISSN), затим од године издања која се пише арапским цифрама у згради (четири цифре). Уколико нема године издања, пише се празна заграда, а затим слиједи ознака за волумен или број који се означава словима или арапским цифрама (према часопису). Уколико је број свеске означен словима, користе се само прва четири слова. Први степен назначења одваја се двотачком од другог степена назначења. Као четврти елемент кода стоји пагинација, којој претходи ознака „р.“ и бројеви од почетне до последње стране чланка.
5. Формирање свеске часописа. Сва издања се-ријске публикације морају бити истог формата због повеза и смјештаја. Научни часописи морају редовно да објаве најмање један

научни рад, док остали чланци могу припадати другим категоријама, зависно од структуре часописа.

Заглавља за специјалне облике, као апстракти, новости или дискусије могу бити набројани послје оригиналних чланака.

6. Ако је листа са садржајем преведена на један или више језика, препоручују се одвојене листе за сваки језик и да слиједе иза оригиналног листа садржаја. Уколико публикација укључује чланке на више језика, треба означити оригинални језик за сваки чланак (енглески, француски итд.). Ако је јединствена листа садржаја, преводи наслова се дају послје оригиналних наслова.

Лист садржаја, ако не стане на једну, наставља се на сљедећој страни.

Лист садржаја садржи:

- наслов публикације – библиографска маншета,
- заглавље Садржај,
- попис чланка са категоризацијом и BIBLID-ом.

За попис чланака користи се сљедећи редослијед:

- име аутора како је дато у заглављу чланка,
- пун наслов и сви поднаслови (за чланак у наставцима наслов ће бити пропраћен са „наставиће се“, „наставак“ или „крај“, како је прикладно),
- број стране на којој текст почиње и број стране на којој текст завршава, повезан цртицом.

Уколико чланак није штампан у континуитету, ставља се пагинација за сваки сегмент чланка и библиографски идентификатор BIBLID за сваки чланак.

#### **Списак релевантних ISO стандарда**

1. ISO 690/1987 Bibliographic references Content, form and structure. (Bibliografske reference – sadržaj, oblik i struktura).
2. ISO 18/1981 Contents list of periodicals. (Kratok sadržaj periodičnih publikacija i drugih dokumenata).
3. ISO 215/1985 Presentation of contributions to periodicals and other serials. (Uoblič enje članka u periodičnim publikacijama).
4. ISO 3297/86 International standard serial numbering ISSN. (Međunarodni standardni broj za serijske publikacije).
5. ISO 4/1984 Rules for the abbreviation of title words and titles of publications. (Pravila za skraćivanje reči iz naslova i naslova publikacija).
6. ISO 9115/1987 Bibliographic identification (BIBLID) of contributions in serial and books. (Bibliografska identifikacija članaka u periodičnim publikacijama i knjigama).
7. ISO 214/1976 Abstracts for publications and documentation. (Apstrakti za publikacije i dokumentaciju).
8. ISO 7275/1985 Presentation of titles information of series. (Prezentovanje informacija iz naslova periodičnih publikacija).





9 771840 288002