

UDK 619(05)

ISSN 1840-2887 Штампа-Print
ISSN 2303-4475 Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Veterinary Journal of Republic of Srpska



Вол/Vol XIV, бр./No 1, стр./page 1-142, Бања Лука/Banja Luka, 2014

80



1934–2014

80 ГОДИНА ВЕТЕРИНАРСКОГ ИНСТИТУТА РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ



UDK 619 (05)

ISSN 1840-2887 – Штампа-Print

ISSN 2303-4475 - Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

VETERINARY JOURNAL OF REPUBLIC OF SRPSKA

Научно стручни часопис - Scientific and professional journal

Ветеринарски журнал Републике Српске, Вол. 14, број 1, стр. 1-142, Бања Лука, 2014

Veterinary Journal of Republic of Srpska, Vol. XIV, No 1, page 1-142, Banja Luka, 2014

ОСНИВАЧ – FOUNDER:

ДРУШТВО ВЕТЕРИНАРА РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

VETERINARY ASSOCIATION OF REPUBLIC OF SRPSKA

ИЗДАВАЧ – PUBLISHER:

ЈУ ВЕТЕРИНАРСКИ ИНСТИТУТ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ „Др Васо Бутозан“ БАЊА ЛУКА

PI VETERINARY INSTITUTE REPUBLIC OF SRPSKA „Dr. Vaso Butozan“ BANJA LUKA

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК – EDITOR IN CHIEF:

Проф.др Драго Н. Недић, Prof.dr. Drago N. Nedic (БиХ-РС, В&Н-RS)

МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР – INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD:

Балтић др Милан, Baltić dr Milan, Србија-Srbija,

Георгиев Бошков др Иван, Georgiev Bozhkov dr Ivan, Бугарска-Bulgaria,

Голубовић др Србољуб, Golubović dr Srboľjub, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Цветнић др Жељко, Cvetnić dr Źeljko, Хрватска-Croatia),

Иветић др Војин, Ivetić dr Vojin, Србија-Srbija,

Калаба др Весна, Kalaba dr Vesna, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Кубелка др Драго, Kubelka dr Drago, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Латиновић др Рајко, Latinović dr Rajko, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Лукаускас др Казимиерас, Lukauskas dr Kazimieras, Литванија-Lithuania

Матаругић др Драгутин, Matarugić dr Dragutin, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Мијачевић др Зора, Mijačević dr Zora, Србија-Srbija,

Надаждин др Миливоје, Nadaždin dr Milivoje, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Тешић др Милан, Tešić dr Milan, Србија-Srbija,

Тркуља др Родољуб, Trkulja dr Rodoljub, (БиХ-РС, В&Н-RS)

Шарић др Миленко, Šarić dr Milenko, (БиХ-РС, В&Н-RS).

ЛЕКТОР - ЛЕКТОР: Мијана Кубурић Мацура / Mijana Kuburić Macura

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, Бања Лука

Ветеринарски журнал Републике Српске, 78000 Бања Лука, Бранка Радичевића 18.

Тел/факс: 051/229-210, Е-mail: drago.nedic@virsyb.com, Web Page: <http://www.virsyb.com>

Предговор овом броју



Поштовани читаоци,

Пред вама је нови број 1/2014. године ваше и наше научно-стручне часописа „Ветеринарски журнал Републике Српске“.

Овај број доноси неколико новина. Ветеринарски журнал Републике Српске је од средине ове године индексиран у EBSCO Host бази података, те је на тај начин постао приступачнији иностраним читаоцима и ауторима.

Сваком чланку је додијелен DOI (Digital Object Identifier) број од Народне библиотеке Републике Српске, што значи да се од сада радови могу наћи у Cross Refф систему. Исто тако, Ветеринарски журнал Републике Српске се може наћи и на сајту Народне библиотеке Републике Српске: <http://doisrpska.nub.rs/>.

Министарство науке и технологије Републике Српске је Ветеринарски журнал сврстало у 2. категорију научно-стручних часописа Републике Српске. Ово представља велики успјех за наш млади часопис, посебно ако познајемо чињеницу да је сада један од најбоље ранжираних часописа биомедицинских наука у нашој држави.

У овом броју смо одиштали 15 најбољих научно-стручних радова који су прошли интернационалну анонимну рецензију коју је одабрало уредништво. Такође, убачена су нова техничка побољшања у овом броју: каталогизирани су чланци, униформисан је систем навођења литературе, преведени су дијелови чланака на енглески језик, убачени су подаци о кореспонденцијом аутору итд.

Овај број излази на сам јубилеј објелављања 80. година постојања ЈУ Ветеринарске институције Републике Српске „Др Васо Бушозан“ Бања Лука, који је уједно и издавач часописа. Данас, Институци са 60 запослених, и са 73 акредитоване лабораторијске методе представља водећу ветеринарску институцију у Републици Српској и Босни и Херцеговини. Ова година је била теška за нашу државу, јер су се десиле катастрофалне појаве, гдје је Институци одиграо важну улогу у сирецавању већих последица по јавно здравље и сточни фонд Републике Српске. Моћно Институци остаје исти: „КВАЛИТЕТ ПРИЈЕ И ИЗНАД СВЕГА“ и надамо се да ћемо и даље, као услужна ветеринарска установа, ојравдавати очекивања наших клијената.

Сви радови су лекторисани и индексирани.

Желимо да се захвалимо свим ауторима реферата што су одабрали наш часопис за мјесто гдје ће публиковати своје резултате истраживања. Додатно се захваљујемо рецензентима Ветеринарске журналу Републике Српске на стрпљењу и професионализму јер су се прихватили озбиљног задатка анализе и коректуре радова и на тај начин подигли квалитет овог броја часописа.

На крају, поново позивамо све заинтересоване истраживаче ветеринарских наука и сродних дисциплина да пишу за Ветеринарски журнал Републике Српске.

Учествујући за припрему радова могу се наћи на сајту Институције (www.virsvb.com) и на крају свакој штаманој примјерка Ветеринарске журналу Републике Српске.

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК
Проф. др Драго Н. Негић

САДРЖАЈ/CONTENTS

1. Д. Недић, С. Дојчиновић, Соња Николић, Б. Голић
**ИСПИТИВАЊЕ ПРИСУСТВА АФЛАТОКСИНА У РЕПУБЛИЦИ
 СРПСКОЈ У 2013. ГОДИНИ**
 D. Nedic, S. Dojcinovic, Sonja Nikolic, B. Golic
**EXAMINATION OF THE AFLATOXIN PRESENCE IN REPUBLIC OF
 SRPSKA IN 2013. 5**

2. D. Dinkov, D. Stratev, R. Balkanska
**IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ROYAL GELLY AGAINST
 PATHOGEN ESCHERICHIA COLI**
 Д. Динков, Д. Стратев, Р. Балканска
**IN VITRO АНТИБАКТЕРИЈСКА АКТИВНОСТ МАТИЧНОГ МЛЕЧА
 ПРОТИВ ПАТОГЕНА ESCHERICHIA COLI 14**

3. A. Katica, N. Mlaćo, M. Katica
**DETERMINING THE LEVEL OF ESTRADIOL CONCENTRATION IN
 SERUM OF THE DOMESTIC CATS (FELIS CATUS) OVER THE PERIOD
 OF ONE YEAR**
 А. Катица, Н. Млаћо, М. Катица
**ОДРЕЂИВАЊЕ НИВОА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЕСТРАДИОЛА У СЕРУМУ
 ДОМАЋИХ МАЧАКА (FELIS CATUS) ТОКОМ ПЕРИОДА ОД ЈЕДНЕ
 ГОДИНЕ 26**

4. С. Дојчиновић, Д. Н. Недић, Б. Пећанац, М. Ж. Балтић
КВАЛИТЕТ ПАШТЕТА НА БАЊАЛУЧКОМ ТРЖИШТУ У 2013. ГОДИНИ
 S. Dojcinović, D. N. Nedić, B. Pećanac, M. Ž. Baltić
QUALITY OF PATES AT THE BANJA LUKA MARKET IN 2013 32

5. M. Klopsch, M. M. Urošević, D. Drobnjak, D. Matarugić, M. Matejević,
 B. M. Urošević, J. Ograk
**ANALIZA VARIJACIJE VISINE GREBENA POPULACIJE RODEZIJSKOG
 RIDŽBEKA U NEMAČKOJ**
 M. Klopsch, M. M. Urošević, D. Drobnjak, D. Matarugić, M. Matejević, B. M.
 Urošević, Y. Ograk
**ANALYSIS VARIABILITY OF HEIGHT AT WITHERS OF RHODESIAN
 RIDGEBACK POPULATION IN GERMANY 38**

6. V. Krstić, A. Glišić
**KLINIČKA I HISTOPATOLOŠKA ISPITIVANJA LIMFOCITNO-PLAZMO-
 CITNOG DUODENITISA PASA**

V. Krstić, A. Glišić

**CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL INVESTIGATIONS OF
LYMPHOCITO-PLASMOCITIC DUODENITIS IN DOGS 47**

7. B. M. Mitrović, G. Č. Vitorović, M. Lazić

**SPECIFIČNA AKTIVNOST 40K I 137Cs U UZORCIMA ZEMLJE, SENA,
MAHOVINE I MLEKA PRIKUPLJENIH SA PODRUČJA KOPAONIKA**

B. M. Mitrović, G. Č. Vitorović, M. Lazić

**SPECIFIC CONCENTRATION OF 40K AND 137Cs IN SAMPLES OF SOIL,
HAY, MOSS AND MILK COLLECTED ON KOPAONIK MOUNTAIN 55**

8. Г. Параш, С. Параш, О. Вујиновић, О. Витковић, Б. Лукач, И. Черар,
М. Баника, И. Комленић

АНАЛИЗА КЛИНИЧКИХ СЛУЧАЈЕВА БАБЕЗИОЗЕ ПАСА

G. Paras, S. Paras, O. Vujinović, O. Vitković, B. Lukac, I. Cegar, M. Banika,
I. Komlenic

ANALYSIS OF CLINICAL CASES OF BABESIOSIS IN DOGS 62

9. I. Hajzler, N. Milčić Matić

**ISPITIVANJE VALIDNOSTI EMPIRIJSKOG TRETMANA
SUPERFICIJALNOG BAKTERIJSKOG FOLIKULITISA PASA**

I. Hajzler, N. Milčić Matić

**EVALUATION OF EMPIRICAL TREATMENT OF DOGS WITH
SUPERFICIAL BACTERIAL FOLICULITIS 70**

10. S. Paraš, M. Manojlović, G. Paraš

**UTICAJ ELEKTROMAGNETNOG ZRAČENJA NA MORFOLOŠKE
KARAKTERISTIKE ENDOKRINO PANKREASA PACOVA
WISTAR SOJA**

S. Paraš, M. Manojlović, G. Paraš

**EFFECTS OF THE ELECTROMAGNETIC RADIATION TO
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ENDOCRINE PANCREAS
IN WISTAR SPP. RAT 81**

11. A. Zorić, I. Krdžić

**UPOREDNA ANALIZA SEROLOŠKIH METODA U DIJAGNOSTICI
BRUCELOZE GOVEDA**

A. Zorić, I. Krdžić

**A COMPARATIVE EXAMINATION OF SEROLOGICAL METHODS IN
DIAGNOSTICS OF BOVINE BRUCELLOSIS 91**

12. Z. Tomić, N. Stojanac, O. Stevančević, I. Stančić
**ZNAČAJ PRIMENE KLOPROSTENOLA NA REPRODUKATIVNU
 EFIKASNOST KRMAČA**
 Z. Tomić, N. Stojanac, O. Stevančević, I. Stančić
**THE IMPORTANCE OF CLOPROSTENOL USING ON THE
 REPRODUCTIVE EFFICIENCY OF SOWS 101**

13. Д. Ђурђевић Милошевић, В. Калаба, А. Костић, А. Николић, М. Стијепић,
 Ј. Глушац
**ПРОЦЕНА ПРОШИРЕНЕ МЕРНЕ НЕСИГУРНОСТИ ПРИ ОДРЕЂИВАЊУ
 БРОЈА КУЛТУРАБИЛНИХ МИКРООРГАНИЗАМА У ВОДИ**
 D. Đurđević Milošević, V. Kalaba, A. Kostić, A. Nikolić, M. Stijepić, J. Glušac
**ESTIMATION OF EXPANDED MEASUREMENT UNCERTAINTY
 OF CULTURABLE MICROORGANISMS IN WATER 108**

14. E. Hadžiahmetović Jurida, J. Ferizbegović
**HUMORALNA ULOGA RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON SISTEMA
 U GENEZI HIPERTENZIJE KOD LOVAČKIH PASA**
 E. Hadžiahmetović Jurida, J. Ferizbegović
**THE HUMORAL ROLE OF THE RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE
 SYSTEM IN THE GENESIS OF HYPERTENSION
 OF HUNTING DOGS 118**

15. Р. Бабић, С. Николић, Д. Н. Недић, О. Стевановић, В. Сантрач, Ј. Марић,
 С. Вељовић
**STREPTOCOCCUS SUIС ТИП I – УЗРОЧНИК ФАТАЛНЕ ХЕМОРАГИЧНЕ
 СЕПТИКЕМИЈЕ ПРАСАДИ?**
 R. Babić, S. Nikolić, D. N. Nedić, O. Stevanović, V. Santrač, J. Marić, S.
 Veljović
**STREPTOCOCCUS SUIС TYPE I – A CAUSATIVE AGENT OF LETHAL
 HAEMORRHAGIC SEPTICAEMIA IN PIGLETS? 131**

DOI: 10.7251/VETJ1401001D

UDK 637.525.055:582.28

Д. Недић, С. Дојчиновић, Соња Николић, Б. Голић¹

Оригинални рад

ИСПИТИВАЊЕ ПРИСУСТВА АФЛАТОКСИНА У РЕПУБЛИЦИ СРПСКОЈ У 2013. ГОДИНИ

Кратак садржај

Афлатоксине, као што је познато, продукују гљивице из рода аспергилус, *Аспергилус флаvus* (*A. flavus*) и скоро сви сојеви аспергилус паразитикус (*A. parasiticus*). Од осамнаест до сада познатих токсина, афлатоксин Б1 је најважнији у погледу заступљености и токсичности. Циљ рада био је да се испита присуство афлатоксина у храни за животиње и сировом млијеку у 2013. години. Узорци су анализирани компететивном Елиса методом. Од анализираних 1678 узорака сировог млијека, 471 узорак (28,06%) био је позитиван на присуство афлатоксина М1. Од 94 анализирана узорка кукуруза, седам узорака (7,21%) било је позитивно на присуство афлатоксина Б1. Од 48 анализираних потпуних крмних смјеса за исхрану говеда, њих шест (12,50%) било је позитивно на присуство афлатоксина Б1. Појава афлатоксина М1 у млијеку у 2013. години подудара се са почетком коришћења кукуруза из бербе 2012. године у исхрани музних крава.

Кључне ријечи: афлатоксин, храна за животиње, сирово млијеко.

D. Nedic, S. Dojcinovic, Sonja Nikolic, B. Golic

Original paper

EXAMINATION OF THE AFLATOXIN PRESENCE IN REPUBLIC OF SRPSKA IN 2013.

Abstract

Aflatoxin, as is well known, is produced by fungi of the genus *Aspergillus*: *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) and almost all strains of *Aspergillus parasiticus* (*A. parasiticus*). Eighteen of known toxin aflatoxin of B1 are the most important in terms of presence and toxicity. The aim of this study was to investigate the presence of aflatoxin in feed and raw milk in

¹ ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина.

PI Veterinary Institute of Republic of Srpska “Dr Vaso Butozan” Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

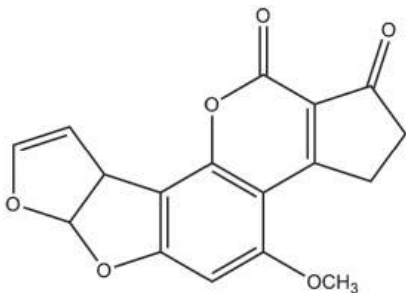
Е-пошта кореспондентног аутора/ E-mail of the corresponding author: drago.nedic@virsvb.com

2013. The samples were analyzed with the competitive ELISA method. An analysis of 1.678 samples of raw milk was performed, 471 (28,06%) sample was positive for the presence of aflatoxin M1. Out total of 94 samples of corn, 7 (7,21%) were positive for the presence of aflatoxin B1. Of the 48 analyzed complete fodder for diet of cattle, six (12,50%) were positive to the presence of aflatoxin B1. Occurrence of aflatoxin M1 in milk in 2013. coincided with the beginning of the use of corn from harvest 2012. nutrition in dairy cows.

Key words: aflatoxin, animal feed, raw milk.

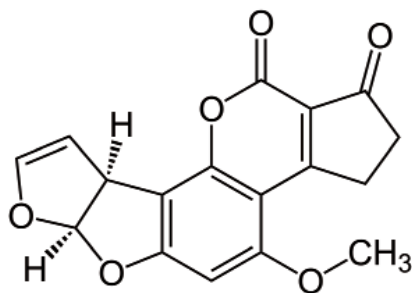
УВОД/ INTRODUCTION

Афлатоксине, као што је познато, продукују гљивице из рода аспергилус, *Аспергилус флавус* (*A. flavus*) и скоро сви сојеви аспергилус паразитикус (*A. parasiticus*). Постоји претпоставка да и многе друге плијесни могу синтетисати афлатоксине, мада само у траговима. Од осамнаест до сада познатих токсина, афлатоксин Б1 је најважнији у погледу заступљености и токсичности. То је у води слабо растворљив, а у неорганским растварачима нерастворљив бијели до жуто-бијели прах, осјетљив на свјетлост и ваздух, тачке топљења 268–269°C и релативне молекулске масе 312. Афлатоксин Б1 је бисфуранокумарин, чија је формула $C_{17}H_{12}O_6$ (слика 1) (3. Синовец, 2006).



Слика 1. Афлатоксин Б1

Афлатоксини унесени храном ресорбују се преко слезнице цријева и доспијевају у крвоток за 30 минута, а у јетру за један сат. Биотрансформација афлатоксина врши се у јетри и бубрезима. У процесу трансформације, ензим оксигеназа има двојаку улогу: дјелује као активатор афлатоксина Б1 и помаже његову трансформацију у активне метаболите растворљиве у води, између осталих, и афлатоксин М1 (слика 2).



Слика 2. Афлатоксин М1

Од 1% до 6% афлатоксина Б1 из хране трансформише се у афлатоксин М1. Афлатоксин М1 је растворљив у воденој фази млијека и апсорбују га честице казеина. У млијеку се појављује након 12–14 часова, а највећу концентрацију достиже 2–4 дана након ингестије кон-

таминираних хране (М. Шкрињар, 2013). У Републици Српској, као и у државама чланицама ЕУ, максимално дозвољена количина афлатоксина М1 у млијеку је 0,05 µg/kg (Недић, Д. и сар., 2006; Танковић, С. и сар., 2008; Балтић, М. и сар., 2000).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДА/ MATERIAL AND METHODS

Материјал

Као материјал за испитивања кориштена је храна за животиње (кукуруз и потпуне крмне смјесе за исхрану музних грла) и сирово млијеко. Храна за животиње испитана је на присуство афлатоксина Б1, док је сирово млијеко

испитано на присуство афлатоксина М1. Укупно је анализирано 1.810 узорака.

Метода испитивања

У испитивањима је кориштена компететивна Елиса, а резултати су обрађени компјутерским програмом добијеним од произвођача ELISA кита.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА/ RESULTS AND DISCUSSION

Нашим испитивањима било је обухваћено 1.810 узорака у периоду од фебруара до децембра 2013. године. Врста и број узорака приказани су у табели 1.

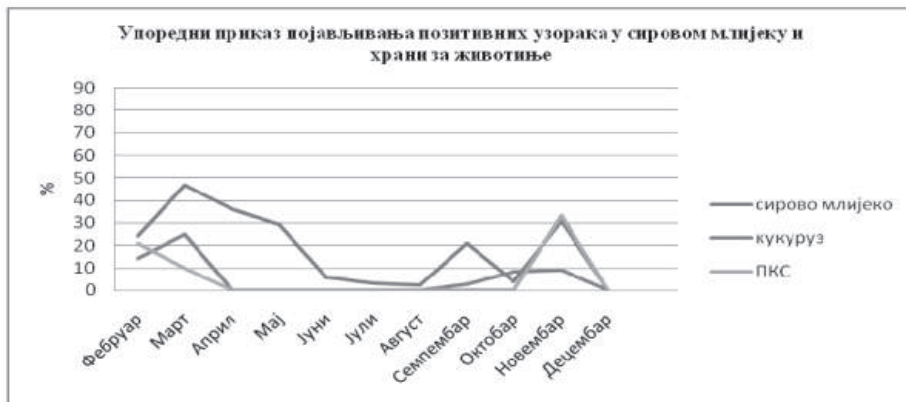
Табела 1 . Врста и број испитаних узорака

Врста узорка	Број испитаних узорака
Сирово млијеко	1.678
Кукуруз	94
Потпуне крмне смјесе (ПКС)	48

У табели 2. и графикону 1. приказана је процентуална заступљеност позитивних узорака по мјесецима.

Табела 2. Процентуалне заступљености позитивних узорака по мјесецима у 2013.

Период анализирања (2013. година)	Врста узорка		
	Сирово млијеко (n=1.678)	Кукуруз (n=94)	ПКС (n=48)
Фебруар	24,1	14,28	21,05
Март	46,62	25	10
Април	36,1	0	0
Мај	29,4	0	0
Јуни	6,12	0	0
Јули	3,07	0	0
Август	2,32	0	0
Септембар	21,05	2,94	0
Октобар	3,84	8,33	0
Новембар	30,76	9,09	33,3
Децембар	0	0	0



Графикон 1. Графички приказ процентуалне заступљености позитивних узорака по мјесецима у 2013. години

Храна за животиње

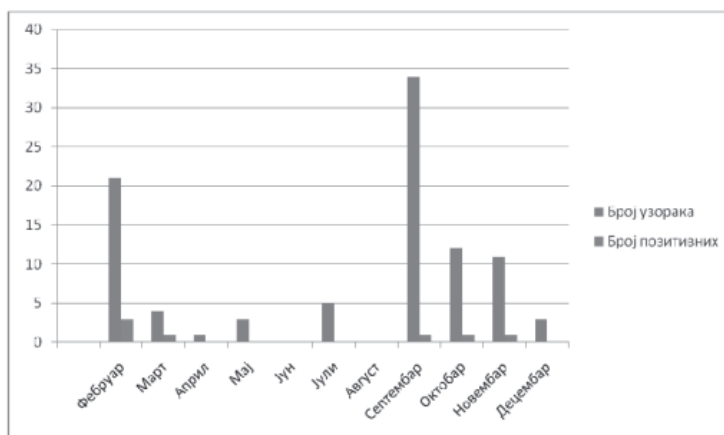
У наведеном периоду испитано је 162 узорака хране за животиње. Испитивањем су обухваћена хранива која се користе у исхрани музних крава. Према врсти, хранива су подијељена на потпуне крмне смјесе и кукуруз (табела 3).

Од 94 анализирана узорка кукуруза, седам или 7,21% узорака било је позитивно на присуство афлатоксина Б1. Од 48 анализираних узорака потпуне

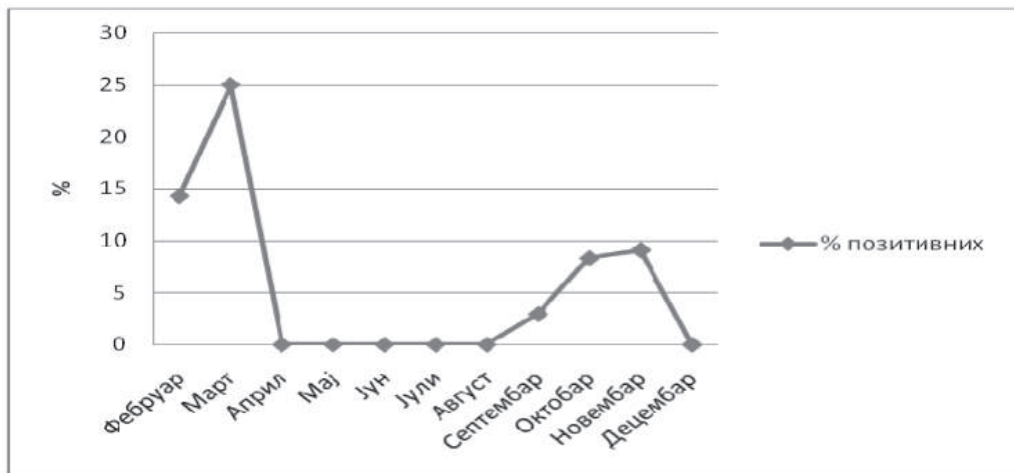
Табела 3. Број и врста испитиваних хранива

Врста хранива	Број испитаних узорака
Кукуруз	94
Потпуне крмне смјесе	48

крмне смјесе за исхрану музних грла, шест или 12,50% узорака било је позитивно на присуство афлатоксина Б1.



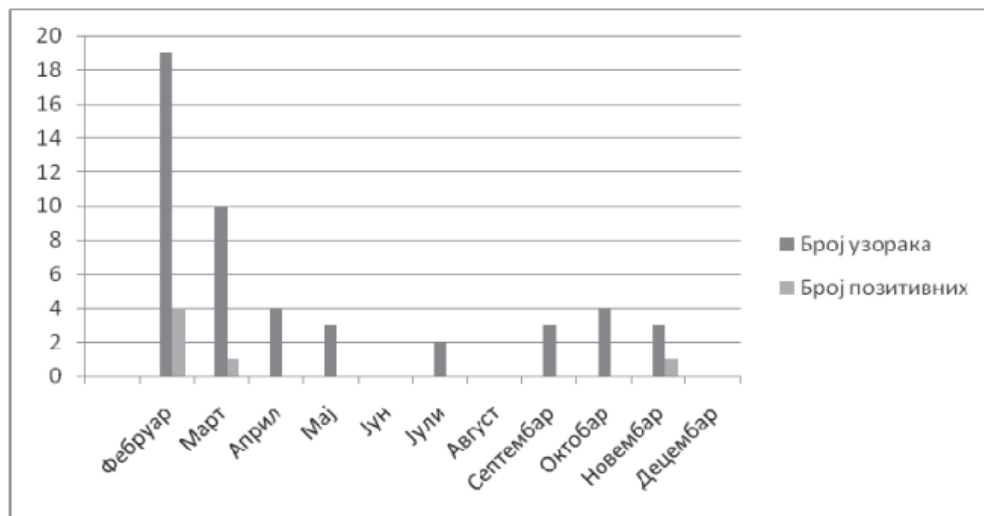
Графикон 2. Графички приказ заступљености позитивних узорака кукуруза по мјесецима у 2013. години



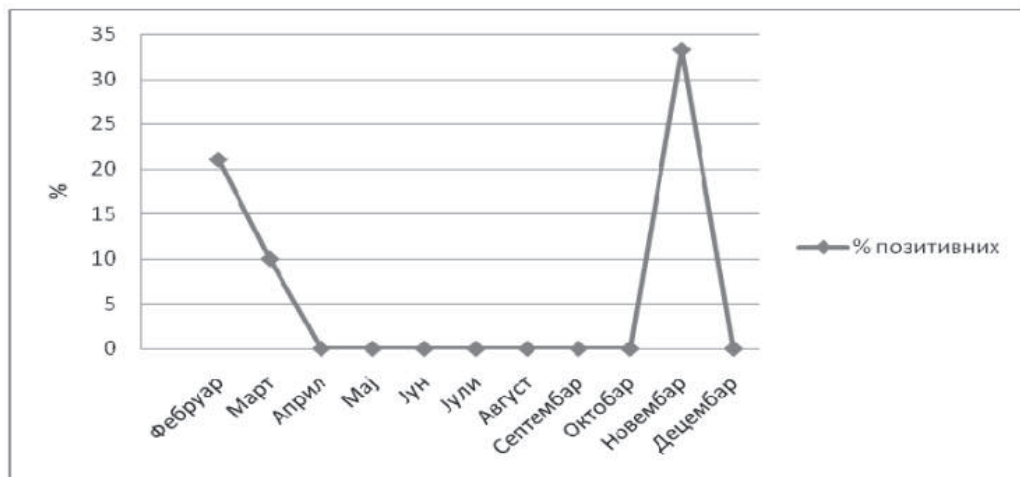
Графикон 3. Заступљеност позитивних узорака кукуруза изражена у %

Табела 4. Интервал појављивања афлатоксина Б1 у кукурузу

Интервали појављивања	Број узорака
< 5 ppb	84
5–20ppb	2
>20 ppb	7



Графикон 4. Графички приказ заступљености позитивних узорака ПКС за исхрану музних ђрла



Графикон 5. Заступљеност позитивних узорака ПКС, према времену испитивања, изражена у %

Табела 5. Интервал појављивања афлатоксина Б1 у ПКС

Интервали појављивања	Број узорака
<2 ppb	36
2–5ppb	8
>5ppb	6

Заступљеност позитивних узорака кукуруза нешто је нижа у односу на литературне податке, гдје се заступљеност контаминираног кукуруза креће у опсегу од 24% до 51% (М. Шкрињар и сар., 2013).

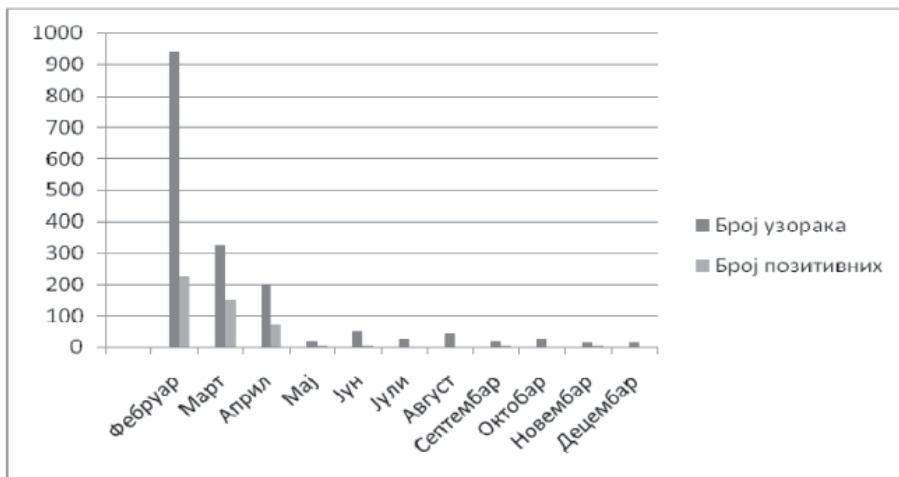
Међутим, заступљеност афлатоксина у потпуним крмним смјесама у сагласности је са подацима из литературе (Almeida и сар., 2007).

Десетогодишња истраживања у истраживача у Португалу показала су да се интервал кретања вриједности афлатоксина Б1 код узорака смјеса за исхрану музних крава кретао од 1

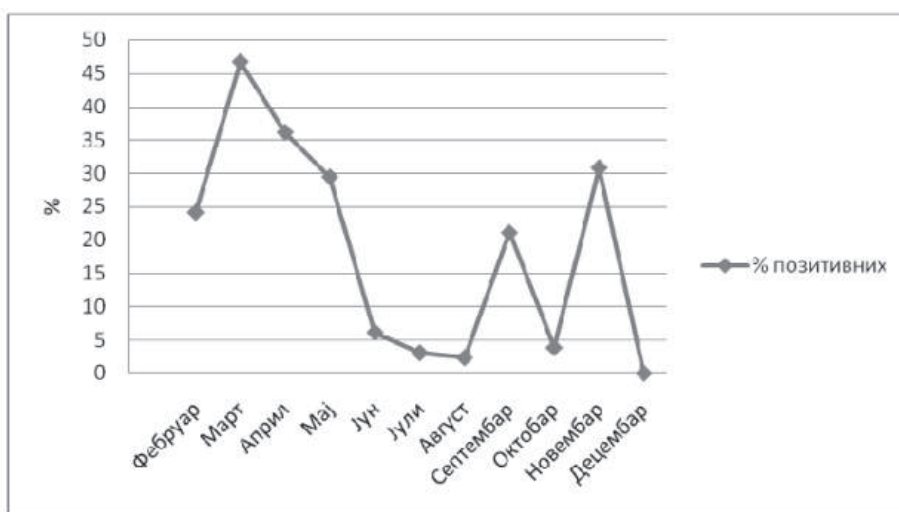
ppb до 74 ppb (I. Almeida и сар., 2013). Највећи број узорака имао је вриједности мање од 5 ppb, док су 62 узорака (6,2%) били позитивни на присуство афлатоксина Б1.

Сирово млијеко

У наведеном периоду анализирано је 1.678 узорака сировог млијека. Испитивањем ових узорака утврђено је да је 471 узорак или 28,06% био позитиван на присуство афлатоксина М1. Највећа заступљеност позитивних узорака забиљежена је у марту (46,62%), а најмања у августу (2,32%) и у децембру, када није било позитивних узорака.



Графикон 6. Графички приказ заступљености позитивних узорака сирове млијеке



Графикон 7. Заступљеност позитивних узорака млијеке према времену испитивања изражена у %

Табела 6. Интервал појављивања афлатоксина М1 у сировом млијеку

Интервали појављивања	Број узорака
<0,030	808
0,030–0,050	400
0,051–0,070	77
>0,070	394

Пошто је млијеко главни извор афлатоксина у људској исхрани, неколико истраживача су кроз своје радове показали и доказали опасност излагања афлатоксину М1.

У неким државама, нарочито државама Азије, пронађени су високи садржаји афлатоксина М1. У Индонезији, од 342 узорка млијека, 199 узорака (58%) садржавало је афлатоксин М1 у Тајланду, од 310 течних узорака млијека, више од 261 (> 84%) били су контаминирани афлатоксином М1 (M. Hamid, 2011).

Подаци за Републику Кореју у 1995. и 1997. показују да од 134 течна узорка млијека, у 50 (37%) садржан је афлатоксин М1 у концентрацији 0,05 mg/kg, уз максимум од 0,28 mg/kg. Од 504 узорка узета у Индији 1995, 89 (15,6%) узорака садржи афлатоксин М1 при концентрацији 100–3.500 mg/kg (M. Sani, 2012).

У другој студији у Индији, 87,3% од 87 узорака који су анализирани показали су контаминираност са афлатоксином М1. Распон контаминације афлатоксина М1 течног млијека је 28–164 mg/kg. Скоро 99% контаминираних узорака премашили су максимално дозвољени ниво у Европи. Према истраживањима у Турској, 23,2% узорака било је позитивно на присуство афлатоксина М1, док се у Египту тај број креће до 64% (Мерујет, 2010).

Истраживања у Португалу показала су да је само 19% узорака садржавало афлатоксин у распону 0,02–0,05 ppb, док је у осталим узорцима утврђено

мање или није утврђено присуство микотксина. Сличне резултате добили су и истраживачи из Италије (Anfossi и сар., 2011).

Анализом резултата добијених испитивањем хране за животиње и сировог млијека долазимо до закључка да одатле долази афлатоксин М1 у храну за људе.

Присуство афлатоксина у кукурузу одразило се на присуство афлатоксина М1, а поред кукуруза, према нашим резултатима, и контаминиране потпуне крмне смјесе за исхрану млијечних крава биле су узрок појаве афлатоксина М1.

ЗАКЉУЧЦИ/ CONCLUSIONS

1. Присуство микотоксина, па и афлатоксина, зависи од климатских фактора. Инцидентна ситуација изазвана дуготрајном сушом у 2012. години погодовала је развоју *A. flavus* на кукурузу, па самим тим и појави афлатоксина.
2. Појава афлатоксина М1 у млијеку подудара се са почетком коришћења кукуруза из бербе 2012. године у исхрани музних крава.
3. Испитивањем сировог млијека на откупним мјестима и линијама откупа значајно је смањило присуство М1 у производима од млијека.
4. Потребно је обратити више пажње на контаминираност кукуруза јер је очигледно да је он носилац афлатоксина и у готовим крмним смјесама.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Laura Anfossi, Claudio Baggiani, Cristina Giovannoli and Gianfranco Giraudi (2011). "Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products", *Aflatoxins – Detection, Measurement and Control*, Dr Irineo Torres-Pacheco (Ed.), ISBN: 978-953-307-711-6, InTech, DOI: 10.5772/22724.
2. Ines F. M. Almeida, M. Manuela Gueera, Herminia Marina L. Martins, Jose Manuel J. Costa, Fernando M. A. Bernando (2013). *Aflatoksin B1 and zeralenone in dairy feeds in Portugal 2009–2011*; Society for mikotoxin and Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2013.
3. Ines F. M. Almeida, M. Manuela Gueera, Herminia Marina L. Martins, Jose Manuel J. Costa, Fernando M. A. Bernando (2005). *Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feeds over 10 years in Portugal (1995–2004)*; Iberoam Micol., 2007.
4. Hamid Mohammadi (2011). "A Review of Aflatoxin M1, Milk, and Milk Products", *Aflatoxins – Biochemistry and Molecular Biology*, Dr Ramon G. Guevara-Gonzalez (Ed.), ISBN: 978-953-307-395-8, InTech, DOI: 10.5772/24353.
5. Sani Mohamadi Ali, Kheyri Mohamed, Moradnia Halimi (2012). *Determination of Aflatoxin M1 in milk by Elisa technique in Mashad*; ISRN toxicology volume 2012.
6. Синовец Златан, Ресановић Радмила, Синовец Сњежана (2006). *Микотоксини – појава, ефекти, превенција*; Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду.
7. Шкрињар, Марија; Ђ. Јоцковић; Матијевић, З.; Сунчица Коцић-Танацков (2013). *Афлатоксини у житарицама и производима на бази житарица – појава, утицај на људско здравље, законска регулатива*; Зборник реферата, 47. савјетовање агронома Србије, Златибор.
8. Балтић, М.; Недић, Д.; Раичевић, Смиља: *Национални програми контроле контаминената и резидуа у намирницама (улога и значај)*. Зборник кратких саржаја радова VII савјетовања ветеринара Републике Српске, 68, Теслић, 2000.
9. Недић, Д.: „Хармонизација домаћих ветеринарских прописа са прописима Европске уније – шанса за развој и услов за прикључење Европској унији“. Зборник *Clinica veterinaria* 2006. (4–5). Неум, 26–30.6.2006.
10. Танковић, С.; Недић, Д.; Фејзић, Н.: *Стандарди у погледу максимално дозвољених количина ветеринарских лијекова, хормона, пестицида, тешких метала, микотоксина и других контаминаната у намирницама животињског поријекла у Босни и Херцеговини*. Зборник кратких садржаја. 13. годишње савјетовање ветеринара Републике Српске, 120–121, Теслић, 4–7.6.2008.

DOI: 10.7251/VETJ1401002D

UDK 616-022.5:579.842.11

D. Dinkov,¹ D. Stratev,¹ R. Balkanska²*Original paper*

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ROYAL GELLY AGAINST PATHOGEN ESCHERICHIA COLI

Abstract

In the study was used a pathogen strain of *E. coli*, caused septicemia for ducks, resistant for different antibacterial agents: Amoxicillin, Lincospectin, Chloramphenicol, Doxycyclin, Enrofloxacin, Sulfonamides and Trimetoprim. Bacterial suspension of *E. coli* contaminated each from test solutions in TSB of royal jelly (n=6), mixes of royal jelly and rape honey, and independent used rape honey (10–45% v/v). Have in mind exactly counts of colonies before and after incubation from each of test substances was calculated the percent of reduction up to 30 min, and after incubation (24 h and 48 h). In almost all concentrations of royal jelly (10–45 v/v), were found total inhibition effect to *E. coli*. Mixes from royal jelly and rape honey (1:100) possessed a higher antibacterial effect, compared with independent use of rape honey. Up to 45% (v/v), rape honey does not cause total antibacterial reduction. Royal jelly and mixes from royal jelly and rape honey have potential as alternative therapeutics agents against resistant for antibiotics pathogen strains of *E. coli*.

Key words: royal jelly, rape honey, antibacterial, *E. coli*.

¹ Trakia University, Faculty of Veterinary Medicine, 6000 Stara Zagora, Bulgaria.

Универзитет у Тракији, Факултет ветеринарске медицине, Стара Загора, Бугарска.

² Department of Special Branches – Bees, Institute of Animal Science, Kostinbrod, Bulgaria.

Департман за специјалистичке студије – пчеле, Институт за науку о животињама, Костинброд, Бугарска.

Е-пошта кореспондентног аутора/ E-mail of the corresponding author: dinkodinkov@abv.bg

Д. Динков,¹ Д. Стратев,¹ Р. Балканска²

Оригинални рад

IN VITRO АНТИБАКТЕРИЈСКА АКТИВНОСТ МАТИЧНОГ МЛЕЧА ПРОТИВ ПАТОГЕНА *ESCHERICHIA COLI*

Кратак садржај

У студији је коришћен патогени сој *E. coli*, који је изазвао септикемију патака, и који је отпоран на различите антибактеријске агенсе: амоксицилин, линкоспектин, хлорамфеникол, доксициклин, енрофлоксацин, сулфонамиде и триметоприм. Бактеријским суспензијама *E. coli* контаминирани су све тест солуције ТСБ (триптон соја бужона) матичног млеча (n = 6), мешавине млеча и репиног меда, као и репиног меда (10%–45% в/в). Имајући на уму тачан број колонија пре и после инкубације од сваке тест супстанције је израчунат проценат редукције до 30 мин., и после инкубације (24 часа и 48 часова). У скоро свим концентрацијама млеча (10%–45% в/в) пронађени су тотални инхибициони ефекти на раст *E. coli*. Мешавина млеча и репиног меда (1: 100) поседовала је веће антибактеријско дејство у поређењу са независном употребом репиног меда. До 45% (в/в), репин мед не изазива смањење укупне антибактеријске редукције. Млеч и мешавина млеча и репиног меда имају потенцијал као алтернативни терапеутски агенси против *E. coli*, која је резистентна на антибиотике.

Кључне речи: матични млеч, репица мед, антибактеријски, *E. coli*.

INTRODUCTION/ УВОД

The antibacterial action of honey was reported for the first time in 1892 (Van Ketel, 1892). The antibacterial effect of honey, mostly against gram-positive bacteria, is very well documented (Molan, 1992a; 1992b; Bogdanov, 1997; Molan, 1997).

The antimicrobial activity of honey is attributed largely to osmolarity, pH,

hydrogen peroxide production and the presence of other phytochemical components. In vivo, such activity may occur due to a synergistic relationship between any of these components rather than a single entity (Mavric et al., 2008). It was found, that the honey acids and low pH exert the main antibacterial factors (Bogdanov, 1997).

Pathogen strains of *E. coli* are often case agents for intestinal infections

for animals and humans. According spectrophotometric studies, the MIC₁₀₀ (the lowest concentration of test material which results in 100% inhibition of growth) value for *E. coli* to manuka honey was 12,5% (v/v), (Patton et al., 2006).

Some authors found that growth of *E. coli* was completely inhibited by 30–100% honey concentrations (Noori and Al-Waili, 2004). In other study antibacterial activity of 13 types honeys were tested at four concentrations (10%, 5%, 2,5%, and 1% w/v), against *E. coli*. It was found that several honeys can inhibit *E. coli* and may have potential as therapeutic honeys (Wilkinson and Cavanagh, 2005). As the potential role for honey as a topical agent to manage surgical site or infections is increasingly acknowledged and other types of honeys need to be assessed and evaluated (Gethin and Cowman, 2008).

The hypopharyngeal glands of the honeybee (*Apis mellifera* L.) produces royal jelly (RJ) that is essential to feed and raise broods and queens (Li et al., 2010). RJ may cause allergic reactions in humans, asthma, to even fatal anaphylaxis, thus this product remains unaffordable in most countries (Leung et al., 1997; Lombardi et al., 1998; Takahama and Shimazu, 2006).

From the other hand, it was found more positive effect of RJ: imunostimulating, activating vegetative and central neural systems etc. The main RJ acid, 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA), is known to have high antibiotic effect (Blum et al., 1959; Melliou and Chinou, 2005).

Research suggests that the 10-HDA found in RJ may inhibit the vascularization of tumors (Izuta et al., 2007).

Recently, it was found specific antibacterial peptide Royalisin in RJ, displayed certain antibacterial activities against Gram-positive bacteria (Shen et al., 2010).

It was found a few studies about antibacterial effect of RJ to Gram-negative microorganisms (Shirzad et al., 2007). *E. coli* have been used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of a freshly reaped RJ. The MIC of RJ against *E. coli* was 2% (v/v), (Boukraa et al., 2009).

In available references not found studies for effect of royal jelly for resistant for antibacterial agents strains of *E. coli*, case agents for septicemia for animals.

To avoid acid taste and allergic reactions after consumption of royal jelly many producers recommend mixing of this product with honey, mainly in proportion 1:100. In available references not found studies about exactly degrees of antibacterial activity from this mix for pathogen for animals strains of *E.coli*.

In many studies for detection of antibacterial activities of honey was used agar well diffusion method (Al Jabri et al., 2005).

Usefulness of agar well diffusion method must be interpreted with clear criterions. To the moment some authors used measuring the clear zone around the well, and expressed in phenol concentration possessing equivalent activity (Baltrusaityte et al., 2007).

On the other side standards for methods required for microbiological testing of foods for pathogens used incubation that make objective detection of pathogens.

Only alive cells of microorganisms could survive and made colonies. This is the principle, required for microbiological testing of foods in Europe (Commission regulation (EC) No 1441/2007).

This arguments were used from as to investigate a new principle for antibacterial activity testing for bee products (Stratev et al., 2012).

In our study we use the rape honey because of findings, that the antimicrobial activity of rape honey is higher, similar to that of honeydew honey (Bogdanov, 1997) – a little-known fact, which would be useful of consumers. The potential for production of the additionally processed finely crystallised rape honey, which is especially attractive for many consumers, is also substantial.

Thus, the aims of our study were to found by microbiological method the Real Bactericidal Concentration (RBC) or 100% inhibition (0 CFU/ml), of rape honey, mixes from royal jelly with rape honey (10,20,30 and 45%v/v), and independent used royal gelly, to pathogen strain of *E. coli*, caused septicemia for ducks, resistant for different antibacterial agents.

MATERIALS AND METHODS/ МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

1. Test substances

The tested rape bee honey samples were obtained from beekeepers owning many hives (from 50 to 210), immediately after the flowering of rape (the centrifugation of honey was performed in June) in different regions of the Stara Zagora district, Bulgaria. During the honey collection period, bees were not

supplemented with carbohydrate syrups or treated with antimicrobial drugs. Until the analysis, samples were kept at refrigerator conditions (0–4°C).

Water content, pH, free acidity, electrical conductivity, diastase and invertase activity, specific optical activity and hydroxymethylfurfural (HMF) content were assayed as per the harmonized methods of the European honey commission (Bogdanov et al., 1997). The botanical origin of the samples was established by their melissopalynological, organoleptic, physical and chemical characteristics (von der Ohe et al., 2004; Oddo et al., 2004)

All data referring to physical and chemical parameters of rape honey were statistically processed by the Student's t-test and presented as mean and standard deviation (SD) (table 2).

Used in the study royal jelly (n=6), was pipette directly from queens cells. The following parameters of samples were determined: sugars (fructose, glucose, sucrose by HPLC after Sesta (2006); proteins by Folin-Ciocalteu reagent; water content by refractometer; dry matter of the sample was obtained by subtracting the water content from 100; pH values – potentiometrically by pH meter model Mi 150 (1% water solution of royal jelly); total acidity by titration with 0.1 n NaOH according to ON 2576693-84 (ON 2576693-84. Fresh and lyophilized royal jelly (Bg); electrical conductivity of 1% water solution of royal jelly by conductimeter (Bogdanov et al., 1997) (table 3).

From some authors only storage of royal jelly in frozen state prevents

decomposition of biologically active proteins and thus royal jelly should be frozen as soon as it is harvested (Li et al., 2007). For our experiments royal jelly was stored prior to analyze in the dark bottle in frozen conditions (-20°C).

Immediately before conducting microbiological assays in order to aid pipetting during preparation of diluted honey solutions, all test substances were adjusted to 40°C in a water bath. Solutions containing 10, 20, 30, 40 and 45% (v/v) from each of test substances were prepared in sterile TSB. To prevent photodegradation of glucose oxidase, connected with antimicrobial activity in honey (Bogdanov, 1997), all honey samples and mix from royal jelly and rape honey, were stored in the dark and dilutions were prepared immediately prior to testing (Sherlock et al., 2010).

2. Microbiological survey

In the study was used a pathogen strain of *E. coli*, caused septicemia for ducks, resistant for different antibacterial agents: Amoxicillin, Lincospectin, Chloramphenicol, Doxycyclin, Enrofloxacin, Sulfonamides and Trimetoprim (NCCLS, 2002).

Bacterial suspension was with density 0,5 McFarland and be prepared from 24 h bacterial culture of *E. coli*, by taking 3–4 colonies and dissolving in 0,85% sterile saline solution. Received bacterial suspension was with approximate concentration $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. From suspension were prepared tenfold dilutions with sterile Tryptic Soy Broth (TSB), (Merck), at to 10^7 . For detection of exactly count of *E.coli* from each of dilutions (1 ml) was made cultivation

with ChromoCult® TBX Agar (Merck), followed by incubation with 37°C for 24 h.

Used quantity of 0,6 ml for diluted test suspension of *E. coli* in each from test solutions in TSB (11.4 ml), maintain the mean final concentration of log 1,9–2,11 CFU/ml (table 3).

This microbiological survey was done up to 30 min after inoculation (without incubation), and after 24 h and 48 h incubation at 37°C from all dilutions in TSB of contaminated with bacterial suspense test substances. With a view to calculate percent of reduction we adopt as 100% the initial (up to 30 min) and bacterial count after 24 h incubation in positive controls. Have in mind exactly counts of colonies before and after incubation, from each of test substances was calculated the percent of reduction (table 1).

RESULTS/ РЕЗУЛТАТИ

After 30 min before incubation of samples were found log 0,3–0,78 CFU/ml of *E.coli*. This is below data for positive controls (log 1,9–2,11 CFU/ml) (table 1).

In almost all concentrations of royal jelly (10–45 v/v) were found total inhibition effect to *E.coli*. Only for sample 2 in 10% (v/v) after 24 h and 48 incubation was found higher content of *E.coli*. This could be connected with content of sugars in this sample. Five from samples of royal jelly have a higher content of glucose, but only sample 2 a higher content of fructose (table 2). A higher contamination with *E.coli* in this case also could explain a final multiplication in 10% concentration of royal jelly (log > 8 and 7,4 CFU/ml) (table 1).

Table 1. Antibacterial activity of royal jelly (J), mix from royal jelly and rape honey (1:100), (JH) and rape honey (H), against resistant pathogen strain of *E. coli*.

Test substance	% (v/v)	30 min		24 h		48 h		Test substance	% (v/v)	30 min		24 h		48 h	
		log CFU/ml	reduction, %	log CFU/ml	reduction, %	log CFU/ml	reduction, %			log CFU/ml	reduction, %	log CFU/ml	reduction, %	log CFU/ml	reduction, %
J-1	10	0,3	84,2	-	100	-	100	J-4	10	0,48	75,1	-	100	-	100
	20	0,7	63,2	-	100	-	100		20	0,78	59,6	-	100	-	100
	30	0,78	59	-	100	-	100		30	0,78	59,6	-	100	-	100
	40	-	100	-	100	-	100		40	-	100	-	100	-	100
	45	-	100	-	100	-	100		45	-	100	-	100	-	100
JH-1	10	0,9	52,6	> 8	0	> 8	0	JH-4	10	0,95	49,2	> 9	0	> 9	0
	20	0,6	68,4	> 8	0	> 8	0		20	0,7	63,7	> 9	0	> 9	0
	30	0,3	84,2	> 8	0	> 8	0		30	0,48	75,1	> 9	0	> 9	0
	40	0,48	74,7	-	100	0	99,9		40	0,48	75,1	-	100	-	100
	45	0,3	84,2	-	100	-	100		45	0,3	84,5	-	100	-	100
H-1	10	0,7	63,2	> 8	0	> 8	0	H-4	10	0,78	59,6	> 9	0	> 9	0
	20	0,48	74,7	> 8	0	> 8	0		20	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	30	0,3	84,2	> 8	0	> 8	0		30	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	40	0,48	74,7	-	100	1	88,9		40	0,48	75,1	-	100	0,95	89,5
	45	0,48	74,7	-	100	0,7	92,2		45	0,48	75,1	-	100	0,7	92,2
Positive control (TSB)	1,9	0	8,98	0	8,98	0	8,98	Positive control (TSB)	1,93	0	0	9	0	9	0
J-2	10	0,3	85,8	> 8	0	7,4	80,3	J-5	10	0,48	75,1	-	100	-	100
	20	0,78	63,3	-	100	-	100		20	0,78	59,6	-	100	-	100
	30	0,7	66,8	-	100	-	100		30	0,78	59,6	-	100	-	100
	40	-	100	-	100	-	100		40	-	100	-	100	-	100
	45	-	100	-	100	-	100		45	-	100	-	100	-	100

JH-2	10	0,85	59,7	> 9	0	> 9	0	10	0,95	49,2	> 9	0	> 9	0
	20	0,78	63,3	> 9	0	> 9	0	20	0,7	63,7	> 9	0	> 9	0
	30	0,7	66,8	> 9	0	> 9	0	30	0,48	75,1	> 9	0	> 9	0
	40	0,6	71,6	-	100	-	100	40	0,48	75,1	-	100	-	100
	45	0,48	77,3	-	100	-	100	45	0,3	84,5	-	100	-	100
H-2	10	0,78	63,3	> 9	0	> 9	0	10	0,78	59,6	> 9	0	> 9	0
	20	0,7	66,8	> 9	0	> 9	0	20	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	30	0,6	71,6	> 9	0	> 9	0	30	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	40	0,48	77,3	-	100	1,1	88,1	40	0,48	75,1	-	100	1,1	87,8
	45	0,3	85,8	-	100	0,78	91,5	45	0,48	75,1	-	100	0,8	91,1
Positive control (TSB)		2,11	0	9,22	0	9,22	0	Positive control (TSB)		1,93	0	9	9	0
J-3	10	0,48	75,1	-	100	-	100	10	0,48	75,1	-	100	-	100
	20	0,78	59,6	-	100	-	100	20	0,78	59,6	-	100	-	100
	30	0,78	59,6	-	100	-	100	30	0,78	59,6	-	100	-	100
	40	-	100	-	100	-	100	40	-	100	-	100	-	100
	45	-	100	-	100	-	100	45	-	100	-	100	-	100
JH-3	10	0,95	49,2	> 9	0	> 9	0	10	0,95	50,8	> 9	0	> 9	0
	20	0,7	63,7	> 9	0	> 9	0	20	0,7	63,7	> 9	0	> 9	0
	30	0,48	75,1	> 9	0	> 9	0	30	0,48	75,1	> 9	0	> 9	0
	40	0,48	75,1	-	100	-	100	40	0,48	75,1	-	100	-	100
	45	0,3	84,5	-	100	-	100	45	0,3	84,5	-	100	-	100
H-3	10	0,78	59,6	> 9	0	> 9	0	10	0,78	59,6	> 9	0	> 9	0
	20	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0	20	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	30	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0	30	0,6	68,9	> 9	0	> 9	0
	40	0,48	75,1	-	100	1	88,9	40	0,48	75,1	-	100	1,1	87,8
	45	0,48	75,1	-	100	0,7	92,2	45	0,48	75,1	-	100	0,7	92,2
Positive control (TSB)		1,93	0	9	0	9	0	Positive control (TSB)		1,93	0	9	9	0

DISCUSSION/ ДИСКУСИЈА

Physico-chemical parameters of Bulgarian's rape honey are comparable to those reported in the literature and in accordance with European quality standards (Bogdanov, 1997). Active

acidity values were lower (3,232) than data reported by Devillers et al. (2004) – 4,019, and than European rape honey from 2004 – from 3,9 to 4,1 (Piazza and Oddo, 2004), and could be related to the organoleptically established slightly acid taste (table 2).

Table 2. *Quality parameters of rape honey*

Quality parameters	Results	References	
		Devillers et al., 2004	Piazza and Oddo, 2004
Water content (%)	X 16,8	18,46	-
	SD $\pm$ 0,2108	$\pm$ 0.655	-
	Min 16,6	17,00	14,7
	Max 17	19.80	21,3
	p<0,05		
Free acidity (meq.kg ⁻¹)	X 36,3	10,66	9,4 - 22
	SD $\pm$ 1,1595	$\pm$ 1,318	-
	Min 35	6,510	-
	Max 38	12,30	-
	p<0.05		-
pH	X 3,232	4,019	3,9 - 4,1
	SD $\pm$ 0,01032	$\pm$ 0,119	-
	Min 3,22	3,700	-
	Max 3,25	4,260	-
	p<0.05		
Conductivity (mS.cm ⁻¹)	X 0,128	0,2031	0,14 - 0,34
	SD $\pm$ 0,00105	$\pm$ 0,4435	-
	Min 0,127	0,110	-
	Max 0,13	0,269	-
	p=0.4979		
Diastase activity (Ghote), (DN)	X 12,9	26,85	10 - 46,6
	SD $\pm$ 0,1051	$\pm$ 5,911	-
	Min 12,8	11,20	-
	Max 13,1	36,80	-
	p<0.05		

Hydroxymethylfurfurol (HMF), (mg.kg ⁻¹)	X	14,89	3,196	-
	SD	± 0,3528	± 1,665	
	Min	14,4	0,210	-
	Max	15,36	5,950	-
	p<0.05			-
Invertase activity (IN)	X	10,643 IN	132,9 U/kg	77,1 U/kg
	SD	± 0,0241	±33,8	-
	Min	10,62	[von der Ohe	39,7
	Max	10,69	W., von der Ohe K. (1996)]	50,7 [Krauze and Zalewski (1991)]
Specific optical rotation, [α] _D ²⁰	X	(-) 12	-	-
	SD	± 0,8164		
	Min	(-) 11		
	Max	(-) 13		

The minimal and maximal values of the main components of royal jelly samples are in the limits proposed from Sabatiny et al. (2009). They are comparable with those of royal jelly samples produced in other countries (Balkanska et al., 2012).

Table 3. *Quality parameters of royal jelly samples (Balkanska et al., 2012)*

Sample No	Water content, %	pH	Total acidity, ml 0,1n NaOH/g	Electrical conductivity μS/cm	Proteins %	Fructose %	Glucose %	Sucrose %
1	65,10	3,20	4,23	223	14,92	4,14	3,69	2,82
2	64,80	3,50	3,96	211	12,46	5,00	4,54	1,94
3	63,10	3,60	3,68	194	12,92	4,12	3,75	5,08
4	65,80	3,70	2,48	173	12,62	3,64	4,04	3,44
5	63,30	3,80	4,23	180	13,08	4,19	2,69	2,28
6	65,30	3,70	3,86	181	12,23	4,27	5,87	2,74

Mixes from royal jelly and rape honey (1:100) possessed a higher antibacterial effect compared with independent use of rape honey. In 40 and 45 % (v/v) were found 100% inhibition after 24 and 48 h, but in rape honey after 24 h – 100% inhibition, but after 48 h were found different log reduction of

E.coli (88,8–92,22%). This indicate that independent use of rape honey not have total antibacterial effect on pathogen strain of *E.coli*.

CONCLUSIONS/ ЗАКЉУЧЦИ

Royal jelly and mixes from royal jelly and rape honey have potential as alternative therapeutics agents against pathogen strains of *E.coli*, resistant for antibiotics. Before this have to be done testing for allergy reactions (Leung et al., 1997; Lombardi et al., 1998; Takahama and Shimazu, 2006).

REFERENCES/ ЛИТЕРАТУРА

1. Al Jabri, A. A.; Al Hosni, S. A.; Nzeako B. C.; Al Mahrooqi, Z. H.; H. Nsanze (2005): *Antibacterial activity of Omani honey alone and in combination with gentamicin*, Saudi Medical Journal 26: 767–771.
2. Baltrusaityte, V.; Venskutonis, P. R.; V. Ceksteryte (2007): *Antibacterial activity of honey and beebread of different origin against S-aureus and S-epidermidis*, Food Technology and Biotechnology 45: 201–208.
3. Blum, M. S.; Novak, A. F.; Taber, S. (1959): 10-Hydroxy- Δ^2 -decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly, Science 130: 452–453.
4. Bogdanov, S. P.; Martin, Lüllman C. (1997): *Harmonized methods of the European Honey Commission*, Apidologie, Extra Issue 1–59, Elsevier/INRA/DIB/AGIB.
5. Bogdanov, S. (1997): Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensm. Wiss. Technol.* 30: 748–753.
6. Bogdanov, S. (1997): *Nature and origin of the antibacterial substances in honey*, *Lebensm. Wiss. Technol.* 30: 748–753.
7. Boukraa, L.; Meslem, A.; Benhaniafia, M.; Hammoudi, S. M. (2009): *Synergistic Effect of Starch and Royal Jelly Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli*. Journal of Alternative and Complementary Medicine 15 (7): 755–757.
8. Commission regulation (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs (Text with EEA relevance), Official Journal of the European Union, L 322: 12–29.
9. Devillers, J.; Morlot, M.; Pham-Delegue, M. H.; Dore, J. C. (2004): *Classification of monofloral honeys based on their quality control data*, Food Chemistry, 86: 305–312.
10. Gethin, G.; Cowman, S. (2008): *Bacteriological changes in sloughy venous leg ulcers treated with manuka honey or hydrogel: an RCT*, J Wound Care, 17: 241–244, 246–247.
11. Izuta, H.; Chikaraishi, Y.; Shimazawa, M.; Mishima, S.; Hara, H. (2007): *10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF-induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells*. Oxford Journals, [online] <http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/content/full/nem152> (Accessed on 02 Oktober 2009).

12. Krauze, A.; Zalewski, R. I. (1991): *Classification of honeys by principal component analysis on the basis of chemical and physical parameters*, Z. Lebensm. Unters. Forsch., 192, 19–23.
13. Leung, R.; Ho, A.; Chan, J.; Choy, D.; Lai, C. K. (1997): *Royal jelly consumption and hypersensitivity in the community*. Clin Exp Allergy, 27(3): 333–336.
14. Li, J. K.; Feng, M.; Begna, D.; Fang, Y.; Zheng, A. J. (2010): *Proteome Comparison of Hypopharyngeal Gland Development between Italian and Royal Jelly-Producing Worker Honeybees (Apis mellifera L.)*. Journal of Proteome Research, 9 (12): 6578–6594.
15. Lombardi, C.; Senna, G. E.; Gatti, B.; Feligioni, M.; Riva, G.; Bonadonna, P.; Dama, A. R.; Canonica, G. W.; Passalacqua, G. (1998): *Allergic reactions to honey and royal jelly and their relationship with sensitization to compositae*. Allergol Immunopathol (Madr), 26(6): 288–290.
16. Mavric, E.; Wittmann, S.; Barth, G.; Henle, T. (2008): *Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (Leptospermum scoparium) honeys from New Zealand*. Mol Nutr Food Res, 52: 483–489.
17. Melliou, E.; Chinou, I. (2005): *Chemistry and bioactivity of royal jelly from Greece*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 8987–8992.
18. Molan, P. C. (1992a): *The antibacterial activity of honey*. 1. The nature of the antibacterial activity, Bee World 73: 5–28.
19. Molan, P. C. (1992b): *The antibacterial activity of honey*. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity, Bee World 73: 59–76.
20. Molan, P. C. (1997): *Honey as an antimicrobial agent*, Bee Products. Properties, Applications, and Apitherapy, Symposium Tel Aviv, pp. 27–37.
21. NCCLS (2002): *Performance standards for Antimicrobial Disc-Susceptibility Tests*. Sixth Edition; Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters for veterinary antimicrobial agent Approved guideline, second ed., NCCLS Document M37–A2.
22. Noori, S. Al-Waili (2004): *Investigating the Antimicrobial Activity of Natural Honey and Its Effects on the Pathogenic Bacterial Infections of Surgical Wounds and Conjunctiva*, Journal of Medicinal Food. 210–222.
23. Oddo, L. P.; Piana, L.; Bogdanov, S.; Bentabol, A.; Gotsiou, P.; Kerkvied, J.; Martin, P.; Morlot, M.; Valbuena, A. O.; Ruoff, K.; von der Ohe, K. (2004): *Botanical species giving unifloral honey in Europe*. Apidologie, 35: 82–93.
24. ON 2576693-84. Fresh and lyophilized royal jelly (Bg)
25. Patton, T.; Barrett, J.; Brennan, J.; Moran, N. (2006): *Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey*. J Microbiol Methods, 64: 84–95.
26. Piazza, M. G., Oddo, L. P. (2004): *Bibliographical review of the main European*

- unifloral honeys*, Apidologie 35, S94–S111, INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, DOI: 10.1051/apido: 2004046.
27. Sesta, G. (2006): *Determination of sugars in royal jelly by HPLC*. Apidologie, 37: 84–90.
28. Shen, L. R.; Ding, M. H.; Zhang, L. W.; Jin, F.; Zhang, W. G.; Li, D. (2010): *Expression of Acc-Royalisin Gene from Royal Jelly of Chinese Honeybee in Escherichia coli and Its Antibacterial Activity*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58 (4): 2266–2273.
29. Sherlock, O.; Dolan, A.; Athman, R.; Power, A.; Gethin, G.; Cowman, S.; Humphreys, H. (2010): *Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*, BMC. Complementary and Alternative Medicine, 10: 47. [online] <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/10/47>.
30. Shirzad, H.; Shahinfard, N.; Naficy, M. R.; Karami, M. (2007): *Comparison of royal jelly effects with gentamicin and ceftriaxone on the growth of Escherichia coli, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, in a laboratory environment*. Tropical Medicine & International Health, 12: 159.
31. Stratev, D.; Dinkov, D.; Vashin, I. (2012): *Antibacterial effect of extracts from Bulgarian's "poplar" propolis and Smoke tree (Cotinus coggigria Scop.) against Aeromonas hydrophila (ATCC 7965)*, Revue Méd. Vét., 163, 10: 443–447.
32. Takahama, H.; Shimazu, T. (2006): *Food-induced anaphylaxis caused by ingestion of royal jelly*. J Dermatol., 33(6): 424–426.
33. Van Ketel, B. A. (1892): *Festnummer der Berichten van den Nederlandsche Maatschappij, Bevordering der Pharmacie*, 67–96.
34. von der Ohe, W.; Piana, M. L.; Morlot, M.; Martin P. (2004): *Harmonized methods of melissopalynology*. Apidologie, 35: 18–25.
35. von der Ohe, W.; von der Ohe, K. (1996): *Charakterisierung einheimischer Rapshonige*, Dtsch. Bienen J. 4: 438–443.
36. Wilkinson, J. M.; Cavanagh, H. M. A. (2005): *Antibacterial Activity of 13 Honeys Against Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*, Journal of Medicinal Food. 8: 100–103.

DOI: 10.7251/VETJ1401003K

UDK 636.8.09:[616.98:579.8

A. Katica,¹ N. Mlaćo,¹ M. Katica¹*Original paper***DETERMINING THE LEVEL OF ESTRADIOL CONCENTRATION
IN SERUM OF THE DOMESTIC CATS (FELIS CATUS) OVER THE
PERIOD OF ONE YEAR****Abstract**

Reproductive ability of the domestic cats, based on the experience, varies, which depends on the range of both internal and external factors. Like their wild counterparts, the domestic cats reproduce several times a year; hence, they are polyestric animals. Actuality of endocrinological testing, considering the extreme importance of the ovaries in the neuroendocrinology system and the importance of impact of different factors, climatic factors in particular from the aspect of the onset and detection of estrus, prompted us to determine the frequency of estrus during the period of one year, based on the level of estradiol concentration in blood serum.

Key words: domestic cat, estradiol, estrus.

A. Катица,¹ Н. Млаћо,¹ М. Катица¹

*Оригинални рад***ОДРЕЂИВАЊЕ НИВОА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЕСТРАДИОЛА
У СЕРУМУ ДОМАЋИХ МАЧАКА (FELIS CATUS) ТОКОМ
ПЕРИОДА ОД ЈЕДНЕ ГОДИНЕ****Кратак садржај**

Репродуктивна способност домаће мачке, на основу искуства, варира, што зависи од опсега интерних и екстерних фактора. Као и њихови дивљи сродници,

¹ Veterinary faculty, Department of Histology and Embryology, University of Sarajevo, Zmaja od Bosne 90, 71000, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

¹ Ветеринарски факултет, Катедра за хистологију и ембриологију, Универзитет у Сарајеву, Змаја од Босне 90, 71000, Сарајево, Босна и Херцеговина.

E-mail of the corresponding author/ E-пошта кореспондентног аутора: amela.katica@yahoo.com

домаће мачке репродукују неколико пута годишње. Стога, оне су полиестричне животиње. Актуелност ендокринолошких тестирања, с обзиром на изузетну важност јајника у неуроендокринолошком систему и значај утицаја различитих фактора, климатских фактора посебно, са аспекта настанка и откривања еструса, навело нас је да утврдимо учесталост еструса током периода од једне године, на основу нивоа концентрације естрадиола у крвном серуму.

Кључне ријечи: домаћа мачка, естрадиол, еструс.

INTRODUCTION/ УВОД

Sexual maturity in domestic cats is conditioned by the existence of functional ovaries, and they are the ovaries in which Graafian (tertiary follicles) mature and then burst and eject a fertilizable egg into the oviduct. All these events take place in the ovaries of exclusively sexually mature animals. The ovaries are inactive up to the puberty. On thier surface, there are numerous primary follicles and during the reproductive period, only small number of them will develop and mature. A double role of the ovaries begins with sexual maturing: female sex cells-oocytes are maturing in them and secretion of female sex hormones, estrogens and progesterone, begins.

The main ovarian estrogen hormone is estradiol. The examination of the hormonal status of estradiol in peripheral blood of cats is particularly important for precise detection of the onset of estrus.

Estrogens isolated from urine – estrone and estriol – have slightly weaker action than estradiol, and, in fact, they are its metabolic products. Besides being

responsible for the onset of estrus, estradiol also boosts the development of female sex characteristics. Inactivation of this hormone occurs in liver, and to some smaller extent, in kidneys.

Considering the fact that cats are polyestric animals, i.e. their onset can happen throughout the entire year, which, of course, depends on the living conditions, climatic factors and isolation in particular, the goal of our research is to determine the intensity of sexual cyclicity based on the results received.

MATERIAL AND METHODS/ МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

The material required for the research, i.e. whole blood, was taken from 26 domestic cats that were kept indoors, age from one to three years old. These were sexually mature animals, females, which were not in direct contact with males. The animals were in good health condition; their body temperature, pulse and breathing were in physiological ranges. Our study concerning the level of estradiol concentrations in blood serum in cats involved two time intervals during

the year, from January to July and from October until middle December, hence during the estrus season and outside the mating season. The blood for the analysis was taken in the beginning, in the middle and in the end of the research periods, from different animals that had been feed in different ways.

Blood samples of 5 ml coagulated after 30 minutes, and then, they were centrifuged at 3000 turns for one minute. The extracted serum was deposited in the freezer at -20°C from the beginning of the laboratory testing. 24 hours prior to lab testing the serums were brought to 4°C , and then to room temperature.

After that, the serums were homogenized, but the levels of the estradiol and progesterone concentrations were determined using DELFIA method.

DELFIA method is a Fluoroimmunoassay with non-radioactive marker, which uses fluorescence for reading the results of the immunological reactions.

Marking of antigens or antibodies is done using fluorescent marker from the group of lanthanides – europium. Since in its complex it has a very weak fluorescence, following the immunological reaction, its dissociation occurs, and it creates a chelate in a special solution, which has a million times stronger fluorescence.

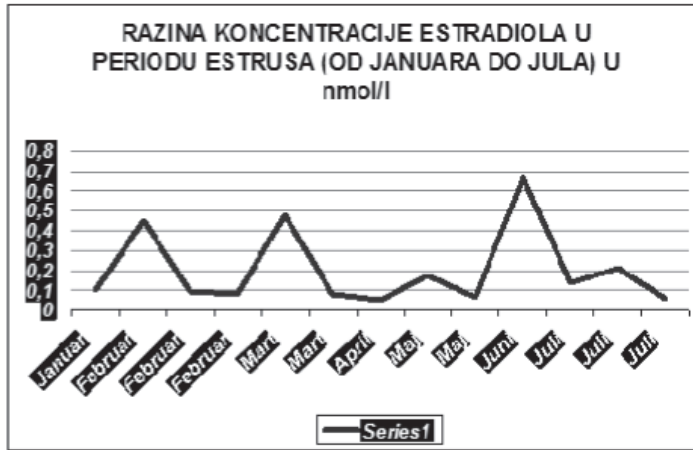
RESULTS AND DISCUSSION/ РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

The results were shown using graphs in order to visually observe variations of the estradiol concentration during the ti-

me intervals significant for reproduction of the domestic cats. We used the original results, expressed in nmo1/1 .

First, we will address the levels of estradiol in serum of cats during estrus. The curve for estradiol level during the year has ups and downs. The values of the estradiol significantly declined from January, and then in February, the concentration was $0,077 \text{ nmo1/1}$ on average (Graph 1). The lowest concentration of estradiol in serum was observed in February. It was $0,045 \text{ nmo1/1}$. The average monthly temperature for that period was $5,8^{\circ}\text{C}$, and insolation lasted 108,2 hours. However, the levels of estradiol concentration in the same month, in February, also showed not so insignificant variety; from the minimum value of $0,045$ to $0,93 \text{ nmo1/1}$. The curve for estradiol level abruptly rose; in March, it reached the value of $0,28 \text{ nmo1/1}$. In addition, during the same month (March), the values of the estradiol concentrations varied similar to those in February, from $0,083$ to $0,48 \text{ nmo1/1}$. In April, the curve significantly drops, that is, the estradiol concentration dropped down to $0,05 \text{ nmo1/1}$. In May, the curve goes up to the average of $0,124 \text{ nmo1/1}$ and continues to rise to maximum values in June, $0,67 \text{ nmo1/1}$.

The average monthly temperature for this period was $19,4^{\circ}\text{C}$, and insolation lasted 188,0 hours. The estradiol concentration abruptly declines as of June, and in the following month it was at $0,138 \text{ nmol/l}$, that is, it varied from $0,061$ to $0,213 \text{ nmol/l}$ (Graph 1).

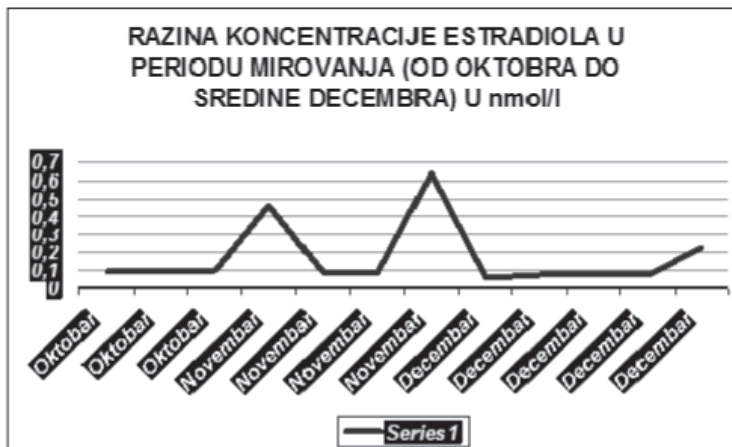


Graph. 1. Levels of Estradiol concentrations during period of Oestrus (from January to July)

During the time known as the time of “inaction” or abstinence, which is from October to mid December, there is significant variation in the levels of estradiol concentration in the serum of tested animals. In October, the average concentration of estradiol was 0,093 nm1/1, i.e., it ranged from 0,088 to 0,1 nmol/l (Graph 2). In the following month of November, the level of estradiol in serum abruptly rises to the maximum-

recorded value of 0,319 nmol/l. This time is also characterized by variations in determined concentrations, ranging from the minimum values of 0,079 nmol/l to the maximum level of estradiol – 0,466 nmol/l.

The minimum value of the estradiol concentration 0,057 nmol/l (Graph 2), was recorded in December when the average monthly air temperature was 2,4C°, and insolation 40,9 hours.



Graph 2. Levels of Estradiol concentrations during silent period (from October to December)

In November, which was rather warm, with average monthly air temperature of $9,8^{\circ}\text{C}$, and insolation of 107,1 hours, we recorded the highest concentration of estradiol 0,466 nmo1/1, which is close to the level of estradiol concentration recorded during estrus time, that is in March, and which was the maximum of 0,48 nmo1/1.

It is known that estrogens cause estrus in all species, although, in some animals, small amounts of progesterone can also play a certain role in inducing estrus (Jo Ann Eurell and Brian L. Frappier, 2006). Prior to estrus, for a period of few days, follicles, Graafian in particular, significantly rise, mature. In that case, there is an increased follicular liquid rich in hormones (A. Katica et al., 2010). Estrogens, mostly 17β estradiol and estrone, produce theca interna cells that surround tertiary follicles in growth, helped with gonadotrophin hormones of pituitary (A. Mutevelić et al., 2003; Junqueira and Carneiro, J., 2005). The estradiol and progesterone concentrations will vary depending on the sexual cycle phase (Taylor D., 1988; Tsutsui et al., 1993). Hence, the authors claim that the estradiol concentrations at the moment of mating is around 60 pg/ml, while in the next five days, the estradiol concentration level drop down to 8 to 12 pg/ml.

Other authors (Taha, M. B. and Noakes, D. E., 1982) examined the impact of age and seasonality on the function of testes and level of testosterone concentrations. They determined that the levels of testosterone concentrations gradually rose during estrus regardless of

the age of animals, especially in spring and autumn. We compared the authors' observations with our research results, regardless of the fact that they had treated male animals. Considering that in our research we did not strictly pay attention to the age of the cats (in line with authors cited), however, these were sexually mature animals, the estradiol concentration during estrus gradually rose from Feb to July.

The drop of estradiol concentration was observed from the end of May to the beginning of June. Furthermore, with the drop in air temperature and insolation, the estradiol concentration gradually drops from Oct to Nov, only to see the concentration rise again at the beginning of Dec. The research also determined that the level of estradiol concentration in blood serum of the animals varied both during estrus and outside the mating season. It is normal that the level of estradiol concentration shows different values, which depends on the functional condition of the ovaries, i.e. whether it is the follicular, luteal phase or the middle of sexual cycle (Verhage et al., 1976; Shille et al., 1979; Burkit et al., 1993), which corresponded with the findings of our research.

CONCLUSIONS/ ЗАКЉУЧЦИ

Based on examining the level of estradiol concentration in blood serum of domestic cats during one year, we concluded the following:

- The level of estradiol concentration both in estrus and outside the mating season shows some variations.

- Maximum values of the levels of estradiol concentration during estrus were observed in June at 0,67 nmol/l, while the minimum value was in February at 0,045 nmol/l.
- The period outside estrus, from October to mid December, is characterized by maximum values of estradiol in November at 0,466 nmol/l, while the minimum value was in December at 0,057 nmol/l.
- Considering the different ways of feeding of domestic cats, there are some deviations in the levels of estradiol concentrations during the research periods. Somewhat higher concentrations of estradiol in December in relation to February might be linked with the different ways of feeding and care for the researched animals.
- With reducing insulation and air temperature, the level of the estradiol concentration gradually declines; however, it begins to rise in late autumn, as of December.

REFERENCES/ ЛИТЕРАТУРА

1. Burkitt, H. G.; Yung, B.; Health, J. W. (1993): *Functional Histology*, Third Edition, Churchill Livingstone.
2. Eurell, J. A.; Brian, L.; Frapier, L. (2006): *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*, Sixth Edition.
3. Katica, A.; Mlaćo, N.; Bašić, D. H.; Hamzić, E. (2010): *The basics of Veterinary Histology*, The Faculty of Veterinary Medicine, Sarajevo.
4. Junqueria, L. C.; Carneiro, J. (2005): *Basic Histology*, Data Status, Belgrade.
5. Mutevelić, A.; Ferizbegović, J.; Mutevelić, T. (2003): *Reproduction of domestic animal*, Print Com d.o.o. Grafički inženjering, Tuzla.
6. Shile, V. M.; Lundstrom, K. E.; Stabenfeldt, G. H. (1979): *Follicular function in domestic cat as determined by estradiol 17 β concentrations in plasma*. Biol Rerod 21: 953–963.
7. Taha, M. B.; Noakes, D. E. (1982): *The effect of age and season of the year on testicular function in the dog, as determined by histological examination of the seminiferous tubules and the estimation of peripheral plasma testosterone concentrations*. J Small Anim Pract 23: 351–357.
8. Taylor, D. (1988): *Your cat, Manual on care, health and behaviour of cats*, Mladost, Zagreb.
9. Tsutsui, T. G. H.; Stabenfeldt G. (1993): *Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat*, J Reprod Fert Suppl. 47: 29–35.
10. Verhage, H. G.; Beamer, N. B.; Brenner, R. M. (1976): *Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during polyestrous, pregnancy and pseudo pregnancy*. Bio Reprod 14: 579–585.

DOI: 10.7251/VETJ1401004D

UDK 637.525'62.053/.055(497.6)"2013"

С. Дојчиновић,¹ Д. Н. Недић,¹ Б. Пећанац,¹ М. Ж. Балтић²*Оригинални рад*

КВАЛИТЕТ ПАШТЕТА НА БАЊАЛУЧКОМ ТРЖИШТУ У 2013. ГОДИНИ

Кратак садржај

Квалитет производа од меса дефинисан је у Републици Српској Правилником о уситњеном месу, полупроизводима и производима од меса („Сл. гласник БиХ“ бр. 82/2013). Циљ рада био је да се испита хемијски састав јетрених и пилећих паштета, као и да се утврди учесталост одступања садржаја састојака чије су вриједности прописане Правилником. Просјечан садржај протеина код испитаних 13 узорак пилеће паштете био је 11,72% (10,40%–12,43%), а код 10 узорак јетрене паштете 11,13% (9,80%–12,18%). Просјечан садржај масти био је код узорак пилеће паштете 24,89% (20,94%–27,92%) и јетрене паштете 22,81% (13,66%–26,99%). Просјечан садржај соли био је код узорак пилеће паштете 1,73% (1,25%–2,06%) и код узорак јетрене паштете 1,81% (1,63%–2,07%). Просјечан садржај воде у узорцима пилеће паштете износио је 60,25% (57,32%–62,61%), а у узорцима јетрене паштете 62,59% (60,27%–67,23%). Испитивани узорци испуњавали су захтјеве прописане Правилником.

Кључне ријечи: паштета, квалитет, хемијски састав, Правилник.

¹ Мр Слободан Дојчиновић, ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина.

Mr Slobodan Dojčinović, PI Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.

Проф. др Драго Н. Недић, ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука; Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Србија.

Prof. dr Drago N. Nedić, PI Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka and Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Serbia.

Др Биљана Пећанац, ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина.

Dr Biljana Pećanac, PI Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.

² Проф. др Милан Ж. Балтић, Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Србија.

Prof. dr Milan Ž. Baltić, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Serbia

Е-пошта кореспондентног аутора/ E-mail of the corresponding author: slobodan.dojcinovic@virsrb.com

S. Dojčinović,¹ D. N. Nedić,¹ B. Pećanac,¹ M. Ž. Baltić²

Original paper

QUALITY OF PATES AT THE BANJA LUKA MARKET IN 2013

Abstract

Quality of meat products in Republic of Srpska is defined by the Regulations of minced, semi-finished and finished meat products ("Official Gazette of BiH" No. 82/2013). The aim of this study was to investigate the chemical composition of the chicken and liver pate, and to determine the frequency of the content deviations which components values are specified in the Regulations. The average protein content in 13 respondents, samples of chicken pate was 11,72% (10,40%–12,43%) and in 10 samples tested liver pate was 11,13% (9,80%–12,8%). The average fat content observed in samples of chicken pate was 24,89% (20,94%–27,92%) and in liver pates 22,81% (13,66%–26,99%). The average salt content observed in samples of chicken pate was 1,73% (1,25%–2,06%) and in liver pate 1,81% (1,63%–2,07%). The average water content in the samples of chicken meat paste was 60,25% (57,32%–62,61%), and in samples of liver pates 62,59% (60,27%–67,23%). The tested samples fulfilled the requirements prescribed in the Regulations.

Key words: pate, quality, chemical composition, rules.

УВОД/ INTRODUCTION

По обиму производње, конзерве, а нарочито паштете, представљају најзаступљеније производе на тржишту. Квалитет производа од меса дефинише се прописима, па је и у Републици Српској квалитет производа од меса регулисан Правилником о уситњеном месу, полупроизводима и производима од меса (Анон., 2013). Код паштета, од хемијских параметара квалитета, дефинисан је садржај протеина као ми-

нимална вриједност, а такође и садржај протеина везивног ткива у протеинима меса (садржај колагена) као максимална вриједност.

Циљ овог истраживања био је:

1. да се испитају хемијски параметри квалитета јетрених и пилећих паштета на бањалучком тржишту;
2. да се утврди учесталост одступања садржаја састојака чија количина је прописана Правилником.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ / MATERIAL AND METHODS

Материјал

Као материјал за рад кориштени су узорци који су анализирани у току редовног рада Лабораторије за хемијска испитивања Ветеринарског института Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука. Испитано је 13 узорака пилеће паштете и 10 узорака јетрене паштете.

Методe

Резултати испитиваних параметара добијени су помоћу *FoodScan Meat Analyzer* произвођача *Foos*, Данска.

РЕЗУЛТАТИ РАДА И ДИСКУСИЈА/ RESULTS AND DISCUSSION

Резултати испитивања приказани су табеларно. За сваки производ одређен је просјечан садржај протеина, масти, воде, соли и колагена.

Табела 1. Хемијски састав узорака пилеће паштете ($n=13$)

%	X	Мјере варијације				
		Sd	Se	$X_{\min}$	$X_{\max}$	C_v (%)
Протеини	11,72	0,59	0,16	10,49	12,43	5,07
Масти	24,89	1,98	0,55	20,94	27,92	7,97
Вода	60,25	1,44	0,40	57,32	62,61	2,39
Со	1,73	0,23	0,06	1,25	2,06	13,20
Колаген	10,29	4,35	1,21	3,59	15,97	42,28

Пилеће паштете у просјеку садрже 11,72% протеина, а масти 24,89%.

Просјечан садржај воде био је 60,25%, колагена 10,29% те соли 1,73%.

Табела 2. Хемијски састав узорака јетрене паштете ($n=10$)

%	X	Мјере варијације				
		Sd	Se	$X_{\min}$	$X_{\max}$	C_v (%)
Протеини	11,13	0,86	0,27	9,80	12,18	7,76
Масти	22,81	3,54	1,12	13,66	26,69	15,51
Вода	62,59	1,94	0,61	60,27	67,23	3,09
Со	1,81	0,15	0,05	1,63	2,07	8,12
Колаген	14,16	3,35	1,06	10,58	19,06	23,69

Јетрене паштете у просјеку су садржале 11,13% протеина, масти 22,81%, воде 62,59%, колагена 14,16% и соли

1,81%. Највећи коефицијент варијације од 23,69 забиљежен је код вриједности колагена.

Табела 3. Расподјела узорака јетрене паштете и пилеће паштете према садржају протеина

Интервал садржаја протеина %	Јетрена паштета (n=10)		Пилећа паштета (n=13)	
	n	%	n	%
<10	2	20,00	0	0
10–12	6	60,00	8	61,54
12–14	2	20,00	5	38,46

Мање од 10% садржаја протеина забиљежено је код 20% јетрених паштета, док код пилећих паштета није забиљежен случај са мање од 10% садржаја протеина. Највећи број – 60,00% јетрених паштета и 61,54% пилећих паштета

имао је садржај протеина у интервалу од 10% до 12%. Проценат од 38,46% пилећих паштета односно 20,00% јетрених паштета имао је садржај протеина у интервалу од 12% до 14%.

Табела 4. Расподјела узорака јетрене паштете и пилеће паштете према садржају масти

Интервал садржаја масти %	Јетрена паштета (n=10)		Пилећа паштета (n=13)	
	n	%	n	%
<20	1	10,00	0	0
20–25	8	80,00	6	46,15
25–30	1	10,00	7	53,85

Највећи број јетрених паштета кретао се у интервалу од 20% до 25% садржаја масти, док се 53,85% пилећих паштета кретало у интервалу 25%–30%

масти. Мање од 20% масти забиљежено је у 10% јетрених паштета, док у пилећим паштетама то није забиљежено.

Табела 5. Расподјела узорака јетрене паштете и пилеће паштете према садржају воде

Интервал садржаја воде %	Јетрена паштета (n=10)		Пилећа паштета (n=13)	
	n	%	n	%
55–60	0	0	6	46,15
60–65	9	90,00	7	53,85
>65	1	10,00	0	0

Најмањи садржај воде (интервал 55%–60%) забиљежен је у 46,15% анализираних пилећих паштета, док се 90% анализираних јетрених паштета

и 53,85% пилећих паштета кретало у интервалу од 60% до 65%. Више од 65% воде забиљежено је код 10% јетрених паштета.

Табела 6. Расподјела узорака јетрене паштете и пилеће паштете према садржају соли

Интервал садржаја соли %	Јетрена паштета (n=10)		Пилећа паштета (n=13)	
	n	%	n	%
1,0–1,5	0	0	2	15,38
1,5–2,0	8	80,00	10	76,92
2,0–3,0	2	20,00	1	7,69

У интервалу 1,0–1,5% садржаја соли налази се 15,38% пилећих паштета. Највећи број паштета кретао се у ин-

тервалу 1,5%–2,0%, док се 20% јетрених и 7,69% пилећих паштета налази у интервалу од 2,0%–3,0% садржаја соли.

Табела 7. Релативан садржај протеина везивног ткива

Интервал садржаја протеина везивног ткива %	Јетрена паштета (n=10)		Пилећа паштета (n=13)	
	n	%	n	%
<10	0	0	5	38,46
10–15	10	100	8	61,64

Највише анализираних паштета (100% јетрених и 61,64% пилећих) кретао се у интервалу 10%–15%. Мање од 10% протеина везивног ткива забиљежено је код 38,46% пилећих паштета. Садржај протеина који смо добили у нашем истраживању није у сагласности са подацима из литературе. Silva и сар. (2013) наводе да пилећа паштета садржи 14,20% протеина, док Abu-Salem и Ferial (2010) наводе 10,10% протеина. Приближно исте податке у свом истраживању добио је Стојановић Б. (2000).

Према Милић и сар. (2010), садржај протеина у јетреним паштетама био је

8,57%, што је ниже него што смо добили у нашим истраживањима. Сходно томе, био је и већи интервал у којем се кретао садржај протеина. Милић (2006) наводи средње вриједности садржаја протеина од $10,17 \pm 0,50$ до $12,71 \pm 0,54$. Такође, и садржај масти није у сагласности са литературним подацима. Abu-Salem и Ferial (2010) у својим истраживањима утврдили су да пилеће паштете садрже 58,2% масти. Silva и сар. (2013) наводе садржај од 28% масти у паштетама, док Милић (2010) наводи 24,82%, а Милић (2006) као просјечан садржај масти наводи интервал од $30,81 \pm 2,96$

до $35,60 \pm 0,98$. Садржај воде који смо добили у нашим испитивањима са незнатним одступањима одговара садржају који су добили Милић и сар. (2010), као и Красић (2001), а виши је у односу на испитивања Silva и сар. (2013), који наводе 53,90% воде и Abu-Salem и Ferial (2010) – 27,8% воде. Анализирајући јетрене паштете за потребе Војске Србије, Милић (2006) наводи да се просјечан садржај воде у јетреним паштетама кретао у интервалу од $49,84 \pm 1,06$ до $55,58 \pm 2,85$. Милић и сар. (2010) наводе и просјечан садржај од 1,43% кухињске соли, док Милић (2006) наводи просјечан садржај соли од $0,67 \pm 0,06$ до $0,99 \pm 0,06$, који је мањи него што смо ми добили у својим истраживањима. Просјечан садржај колагена у сагласности је са подацима наведеним у литератури (Милић и сар., 2010).

ЗАКЉУЧЦИ/ CONCLUSIONS

На основу добијених резултата, изведени су следећи закључци.

1. Просјечан садржај протеина код узорака пилеће паштете био је 11,72%, а јетрене паштете 11,13%.
2. Просјечан садржај масти био је код узорака пилеће паштете 24,89%, а јетрене паштете 22,81%.
3. Просјечан садржај код узорака пилеће паштете износио је 60,25%, а јетрене паштете 62,59%.
4. Просјечан садржај колагена био је код узорака пилеће паштете 10,29%, а код узорака јетрене паштете 14,16%.
5. Просјечан садржај соли био је код узорака пилеће паштете 1,73% и код узорака јетрене паштете 1,81%.
6. Сви узорци су задовољавали Правилником прописане параметре квалитета.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Анон. (2013): *Правилник о уситњеном месу, полупроизводима и производима од меса* („Сл. гласник БиХ“ бр. 82/2013).
2. Abu Salem, Ferial M. (2010): *Chemical properties, microbiological quality and sensory evaluation of chicken and duck liver paste (foie gras)*, Grasas y Aceites 61: 126.
3. Красић, Ј. (2001): *Квалитет производа од меса на тржишту средње и северне Банаће*, Специјалистички рад, Факултет ветеринарске медицине, Београд.
4. Милић, Д.; Живковић, М.; Мандић, С. (2010): *Технологија производње и квалитета конзерви од меса на бањалучком тржишту*; Технологијада, Лепенски вир.
5. Милић, П. (2006): *Испитивање хемијских параметара квалитета јетрених паштета различитих произвођача за употребу војске СЦГ*, Специјалистички рад, Факултет ветеринарске медицине, Београд.
6. Silva, D.; Anderson, F.; Bezerra, T.; Guerra, I. (2013): *Chemical and sensory quality of sheep liver pate prepared with variety meat*; Ciencias Agrarias, Londrina, 34: 1741–1752.
7. Стојановић, Б. (2000): *Енергетска и хранлива вриједност производа од меса намијењених исхрани Војске Југославије*, Специјалистички рад, Факултет ветеринарске медицине, Београд.

DOI: 10.7251/VETJ1401005K

UDK 636.7.05/.06(430)

M. Klopsch,¹ M. M. Urošević,¹ D. Drobnjak,¹ D. Matarugić,² M. Matejević,³
B. M. Urošević,¹ J. Ograk⁴*Originalni rad***ANALIZA VARIJACIJE VISINE GREBENA POPULACIJE
RODEZIJSKOG RIDŽBEKA U NEMAČKOJ****Kratak sadržaj**

Afrika je domicilna zemlja za svega nekoliko rasa pasa, koje su zvanično priznate od strane Međunarodne kinološke federacije (FCI). Jedna od njih je rodezijski ridžbek (*Rhodesian Ridgeback*). Rasa je priznata i od drugih kinoloških organizacija u svetu koje nisu članice FCI, ali imaju potpisane memorandume o razumevanju i saradnji. Te kinološke organizacije su Kinološki savez Amerike (AKC), Kinološki savez Velike Britanije (KC) i Kanadski kinološki savez (KCK). Svaka od ovih organizacija propisala je standard za ovu rasu u kome je precizno definisana visina grebena psa.

Istraživanje je sprovedeno u periodu od 1989. do 2012. na ukupno 722 psa (253 mužjaka i 469 ženki) rase rodezijski ridžbek. Merena je visina grebena. Svi mereni psi su bili u starosti od 1 do 5 godina. Mere su uzete Lithinovim štapom, u poziciji pravilnog stava prednjih i zadnjih nogu, od podloge do vrha lopatice. Prikazane su srednje vrednosti merenih parametara i indeksa, maksimalna i minimalna vrednost, kao i deskriptivni statistički parametri standardna devijacija, standardna greška i koeficijent varijacije. Primenom t-testa izračunata je statistička značajnost razlike merenih parametara između mužjaka i ženki, kao i unutar grupa. Izračunat je i procenat mužjaka i ženki koje se nalaze mimo vrednosti propisanih standardom.

Kod mužjaka iz sve tri grupe prosečna visina grebena je 68,40 cm. Interval variranja je od 63,00 do 73,00 cm. Kod mužjaka nije zabeleženo odstupanje ispod

¹ Centar za očuvanje autohtonih rasa, Beograd, Srbija.

Center for preservation of indigenous breeds, Belgrade, Serbia.

² Poljoprivredni fakultet u Banjoj Luci, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina.

Faculty of Agriculture, University in Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Hercegovina.
virsrb.com

³ Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Novom Sadu, Departman za geografiju, hotelijerstvo i menadžment, Srbija/ Faculty of Science in Novi Sad, Department of Geography, Tourism and Hotel Management, Serbia.

⁴ Prof. dr Jusuf Ograk, Fakultet veterinarske medicine, Sivas, Turska.

Dr Yusuf Ograk, professor, Faculty of Veterinary Medicine, Sivas, Turkey.

E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: drobnjakvet@yahoo.com

donje granice koju propisuju standardi, dok je gornja granica bila veća za 4,00 cm od vrednosti propisane FCI standardom, a za 3,00 cm od one koju toleriše klub u Nemačkoj. Standardna greška kod mužjaka je bila 0,11.

Kod ženki je zabeleženo odstupanje i u gornjoj i u donjoj vrednosti koju predviđaju standardi. Donja granica je bila 58,50 cm, što je za 3,50 cm niže od standardom dozvoljene. Maksimalna vrednost je 71,80 cm, dok je standardom predviđena gornja granica od 66,00 cm. Standardna greška kod ženki je bila manja i iznosi 0,09.

Poređenjem dobijenih vrednosti između polova ustanovljena je vrlo velika statistička značajnost ($p < 0,001$).

Ključne reči: rodezijski ridžbek, visina grebena, standard.

M. Klopsch,¹ M. M. Urošević,¹ D. Drobnjak,¹ D. Matarugić,² M. Matejević,³ B. M. Urošević,¹ Y. Ograk⁴

Original paper

ANALYSIS VARIABILITY OF HEIGHT AT WITHERS OF RHODESIAN RIDGEBACK POPULATION IN GERMANY

Abstract

Only a few dog breeds officially recognized by the FCI originate from Africa. One of these breeds is the Rhodesian Ridgeback. This breed is recognized by other cynological organizations around the world, which are not members of the FCI, but have signed agreement on cooperation and understanding. These organizations include American Kennel Club (AKC) Kennel Club of Great Britain (KCGB) and Canadian Kennel Club (CCK). Each of these organizations issued a standard for this breed which precisely specifies height at withers of this dog.

The research was undertaken in the period from 1989. to 2012. on a total of 722 dogs (253 males and 469 bitches) of the Rhodesian Ridgeback. The height at withers was measured. All measured dogs were between 1 and 5 years of age. Measuring was done by means of Lithin stick, while dogs were positioned to stand squarely and still, from the ground to the top of the shoulder blade.

Mean values of parameters and indexes are shown, as well as maximal and minimal value and descriptive statistical parameters: standard deviation, standard error and Cv. T-test was used to calculate statistical significance of the difference in parameters between males and bitches, as well as among the groups. The percentage of males and bitches that were outside the boundaries specified by the breed standard was also calculated.

The mean height at withers in males of all three groups was 68.4 cm. Range was from 63.00 to 73.00 cm. There were no recorded values below the lowest height determined by the FCI Standard in males, while the highest recorded value exceeded the upper FCI Standard boundary by 4.00 cm and German Ridgeback Club boundary by 3.00 cm. Standard error in males was 0.11.

Abberations in bitches went both above and below limits set by the FCI standard. The lowest recorded height was 58.50 cm, which is 3.50 cm lower than the lower limit set by the FCI Standard. Maximal observed value was 71.80 cm, while the FCI Standard sets the upper limit at 66.00 cm. Standard error in bitches was 0.09. Comparison of obtained values between sexes showed that there is very high statistical importance ($P < 0.001$).

Key words: Rhodesian ridgeback, height at withers, standard.

UVOD/ INTRODUCTION

Bez obzira na veličinu kontinenta, Afrika je domicilna zemlja za svega nekoliko rasa pasa, koje su zvanično priznate od strane Međunarodne kinološke federacije (FCI). Jedna od njih je rodezijski ridžbek (Rhodesian Ridgeback). Rasa je priznata i od drugih kinoloških organizacija u svetu koje nisu članice FCI, ali imaju potpisane memorandume o razumevanju i saradnji sa istom. Te kinološke organizacije su Kinološki savez Amerike (AKC), Kinološki savez Velike britanije (KC) i Kanadski

kinološki savez (KCK). Svaka od ovih organizacija propisala je standard za ovu rasu u kome je precizno definisana visina grebena psa.

Prvi standard publikovan je 1926. i objavio ga je kinološki savez u Južnoj Africi (Kennel Union of Southern Africa – KUSA). Tim standardom određeno je da je visina grebena iznad 28 inča, odnosno iznad 71,12 cm. Nekoliko godina kasnije, 1931. dolazi do bližeg definisanja visine grebena, tako da je za mužjake određen interval od 63 cm do 69 cm, a za ženke od 61 cm do 66 cm. Od tog vremena nema

više promena vrednosti visine grebena od strane KUSA.

U Kanadi je Kanadski kinološki savez (*The Canadian Kennel Club*) 1948. objavio prvi standard za pse ove rase i visina grebena mužjaka definisana je intervalom od 63 cm do 69 cm, a ženki od 61 cm do 66 cm. Ovaj standard, koji važi na teritoriji Kanade, predvideo je i donju granicu visine grebena. Za mužjake je to 63 cm, a za ženke 61 cm.

Iste godine, 1948, Međunarodna kinološka federacija (FCI) objavila je standard rodezijskog ridžbeka i visina grebena mužjaka definisana je u granicama od 63 cm do 69 cm, a ženki od 61 do 66 cm. Ovaj standard je prihvaćen kao standard koji je prosledila matična zemlja, a to je Južnoafrička Republika. Do danas nema promena u definisanju visine grebena. Poslednji put standard je od strane FCI publikovan 1996. godine.

U Engleskoj (*The Kennel Club*), koja nije članica FCI-a, standard je prvi put objavljen 1952. Visina grebena mužjaka je u granicama od 63,5 do 68,58 cm (25–27 inča), a ženki od 61 do 66 cm (24–24 inča). Do danas nije bilo promene u definisanju intervala variranja visine grebena.

Američki kinološki savez (AKC), koji takođe nije član FCI-a, objavio je 1970. standard ove rase. Za mužjake je to u granicama od 63,5 do 68,58 cm (25–27 inča), a za ženke od 61 do 66 cm (24–26 inča).

Pošto su ova istraživanja sprovedena na teritoriji Savezne Republike Nemačke, treba pogledati kako je definisan interval

variranja vrednosti visine grebena mužjaka i ženki. Nemački klub (*Deutsche Zuechtergemeinschaft Rhodesian Ridgeback e.V.*) 2007. godine odlučio je da se toleriše odstupanje od standarda +/- 3%. Tako je visina grebena mužjaka u granicama od 67 do 71 cm, a ženki od 59 do 68 cm. Ovakva istraživanja neophodno je sprovesti u više zemalja da bi se moglo sveobuhvatnije sagledati kakvo je stanje u populaciji u odnosu na ovaj eksterijerni parametar.

Pored standarda, u dostupnoj literaturi nema referenci o ovakvoj vrsti istraživanja kod ove rase. Prema sistematici FCI, rodezijski ridžbek spada u rase 6. grupe, gde su goniči. Do sada je morfometrijski opisano nekoliko rasa goniča.

Na osnovu istraživanja Pavlović, S. i Antić, S. (1954), objavljena je prva studija o srpskom goniču koji se tada nazivao balkanski gonič. Prosečna visina grebena ženki bila je 47,29 cm. Kod mužjaka je prosečna visina grebena bila 50,16 cm. Eksterijer goniča u Srbiji proučavali su Urošević i sar. (1988). Tim istraživanjem utvrđeno je da prosečna visina mužjaka srpskog, tada balkanskog, goniča iznosi 50,70 cm. Kod ženki, prosečna visina grebena bila je 47,90 cm. Kod srpskog trobojnog goniča, prosečna visina grebena mužjaka bila je 51,10 cm. Kod ženki goniča ove rase, prosečna visina grebena bila je 48,60 cm. Mužjaci srpskog žutog goniča sa područja Južne Srbije imali su prosečnu visinu od 54,98 cm, a ženke 49,38 cm (Drobnjak i sar., 2012). Mužjaci bugarskog goniča su prosečno visoki 54,60 cm, a ženke 51,73 cm (Urošević i sar., 2014).

Ovom prilikom poređeni su rezultati dobijeni ovom studijom sa vrednostima koje su propisane standardom svih gore navedenih organizacija, sa posebnim osvrtom na standard Međunarodne kinološke federacije koji se primenjuje u svim zemljama njenim članicama.

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Istraživanje je sprovedeno u periodu od 1989. do 2012. na ukupno 722 psa (253 mužjaka i 469 ženki) rase rodezijski ridžbek. Merena je visina grebena. Svi mereni psi su bili starosti od 1 do 5 godina. Mere su uzete Lithinovim štapom, u poziciji pravilnog stava prednjih i zadnjih nogu, od podloge do vrha lopatice (Drobnjak i sar., 2010). Na ukupnom uzorku merenja je obavilo jedno lice, tako da je subjektivna greška ista i minimalna.

Svi izmereni psi grupisani su odvojeno po polovima. Mužjaci su podeljeni u tri grupe: grupa 1M, mužjaci, njih 63, ošteñjeni u periodu 1988–1999; grupa 2M, mužjaci, njih 124, ošteñjeni u periodu 2000–2006; i grupa 3M, njih 66, ošteñjeni u periodu od 2007. do 2011. godine. Ženke su svrstane u tri grupe: grupa 1Ž (157), ošteñjene u periodu 1988–1999; grupa 2Ž (212), ošteñjene u periodu 2000–2006; i grupa 3Ž (100), ošteñjene u periodu 2007–2011.

Podaci su statistički obrađeni u programu *Graph Pad Prism 5*. Prikazane su srednje vrednosti merenih parametara i indeksa, maksimalna i minimalna vrednost, kao i deskriptivni statistički parametri standardna devijacija, standardna greška i koeficijent varijacije. Primenom

t-testa izračunata je statistička značajnost razlike merenih parametara između mužjaka i ženki, kao i unutar grupa. Izračunat je i procenat mužjaka i ženki koje se nalaze mimo vrednosti propisanih standardom.

REZULTATI I DISKUSIJA/ RESULTS AND DISCUSSION

Kod mužjaka u prvoj grupi, prosečna visina grebena je 68,37 cm, uz standardnu devijaciju od 2,23 i koeficijent varijacije od 3,27. Standardna greška iznosi 0,28, a interval variranja od 63,00 do 73,00 cm. U drugoj grupi, prosek visine je 68,34 cm, a interval variranja od 64,00 do 72,00 cm. Posmatrajući vrednosti u trećoj grupi, zapaže se da je prosek visine najveći i iznosi 68,55 cm. U tabeli 1. prikazane su sve vrednosti po grupama. Analizirajući dobijene vrednosti između grupa, utvrđeno je da nema statističke značajnosti ($p > 0,05$).

U odnosu na publikovani standard FCI (1996) uočava se da maksimalna vrednost koja je zabeležena ovom studijom u svim grupama premašuje maksimalnu vrednost propisanu standardom, dok se minimalna vrednost poklapa sa predviđenom standardom. Američki i britanski standard propisuju maksimalnu vrednost nešto manju nego standard FCI i ona iznosi 68,58 cm, tako da se i u ovom slučaju maksimalne vrednosti dobijene ovim istraživanjem ne uklapaju u one koje ovi standardi predviđaju. Odstupanje od minimalne vrednosti zabeleženo je u grupi 1M, gde je ona za 0,5 cm manja od minimalne vrednosti koja je 63,5 cm prema standardu KC.

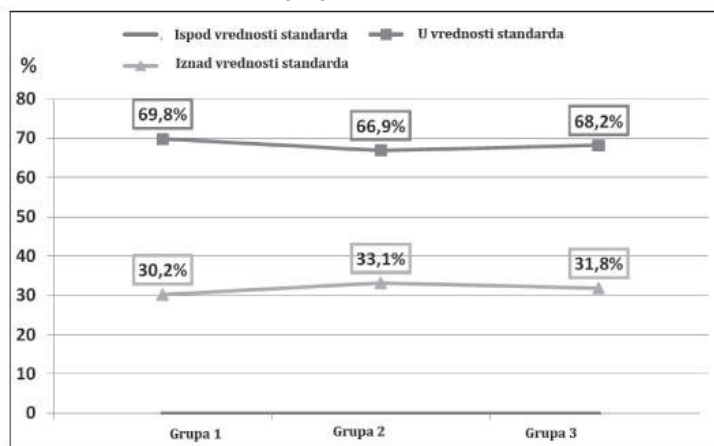
Tabela 1. Vrednosti visine grebena mužjaka po grupama

Visine grebena	Deskriptivni statistički parametri					t
	X±SD	Sg	CV(%)	min	max	
Grupa 1M	68,37±2,23	0,28	3,27	63,00	73,00	0,06 ^{ns}
Grupa 2M	68,34±1,77	0,16	2,59	64,00	72,00	
Grupa 3M	68,55±1,63	0,19	2,38	63,50	72,00	

^{ns}p> 0,05

U grafikonu 1. prikazana je procentualna zastupljenost koja odgovara vrednosti standarda koje propisuju FCI i CKC. Može se uočiti da nije zabeležen nijedan mužjak u sve tri grupe koji je ispod minimalne vrednosti koja je propisana standardom za ovu rasu. Kada se pogledaju maksimalne vrednosti, situacija je

drugačija. U prvoj grupi se nalazi 30,2% mužjaka čija vrednost je veća od maksimalno dozvoljene po standardu. Procenat je još veći u drugoj grupi, gde je 33,1% mužjaka iznad maksimalne dozvoljene vrednosti. U trećoj grupi iznad te vrednosti je 31,8% mužjaka.



Grafikon 1. Zbirni pregled procentualne vrednosti mužjaka sve tri grupe

Kod prve grupe ženki, prosek visine je 64,15 cm, sa standardnom greškom od 0,16 i koeficijentom varijacije od 3,09. Minimalna vrednost visine ženki zabeležena u ovoj grupi je 60,00 cm, a maksimalna 69,00 cm. Upoređujući dobijene vrednosti intervala varijacije sa standardnim vrednostima koje su od 61,00 do 66,00 cm (FCI, AKC, BC, CKC), zapaža se da je minimalna vrednost u ovoj grupi ispod standardima propisanih, a maksimalna je za čak 3,00 cm veća od dozvoljene.

U drugoj grupi ženki, interval variranja je od 58,50 cm do 71,80 cm. U ovom slučaju, minimalna vrednost je manja za 2,50 cm od standardom propisanih, dok je maksimalna vrednost prešla standardom propisanu granicu za 5,80 cm. Prosečna vrednost visine grebena ženki druge grupe je 64,73 cm, uz standardnu devijaciju od 2,22.

Treća grupa ženki ima interval variranja od 59,00 do 69,00 cm. I u ovom slučaju

prekoračene su vrednosti za minimum i maksimum od standardom propisanih. Prosek visine u ovoj grupi je 64,07, a standardna greška 0,21.

Upoređivanjem dobijenih vrednosti među grupama ustanovljeno je da je statistička značajnost između grupa velika ($p < 0,01$).

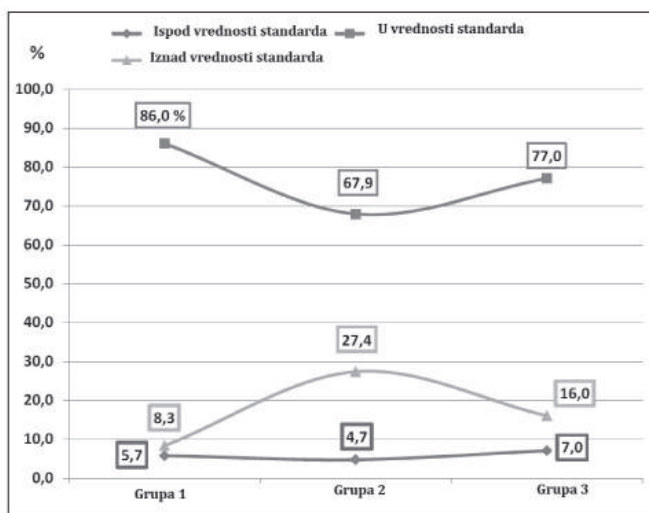
Tabela 2. Vrednosti visine grebena ženki po grupama

Visine grebena	Deskriptivni statistički parametri					t
	X±SD	Sg	CV(%)	min	max	
Grupa 1Ž	64,15±1.97	0,16	3,09	60,00	69,00	2,53"
Grupa 2Ž	64,73±2.22	0,15	3,44	58,50	71,80	
Grupa 3Ž	64,07±2.15	0,21	3,36	59,00	69,00	

" $p < 0,01$

Za razliku od mužjaka, gde nije bilo odstupanja od standardom minimalnih vrednosti, kod ženki je drugačije. U prvoj grupi, 5,7% ženki bilo je ispod minimalne standardne vrednosti. Njih 86% bilo je u okviru standardom propisanih vrednosti, dok je 8,3% bilo iznad maksimalnih dozvoljenih vrednosti. U drugoj grupi, kod ženki oštećenih u periodu od 2000. do 2006. godine, odstupanja su još veća. U okviru standardnih vrednosti našlo je se 67,9%, dok je procenat onih koje su bile

iznad maksimalno propisanih vrednosti bio čak 27,4%. Broj jedinki koje su se našle ispod standardnih vrednosti je nešto manji u odnosu na prethodnu grupu i iznosi 4,7%. Procenat ženki u trećoj grupi koje su u standardu je 77%, dok je u odnosu na grupu dva broj onih koje su iznad maksimalnih dozvoljenih vrednosti manji i iznosi 16%. Procenat onih koje su ispod minimalne vrednosti je povećan u ovoj grupi u odnosu na prvu i drugu i iznosi 7%.



Grafikon 2. Zbirni pregled procentualne vrednosti ženki sve tri grupe

Tabela 3. Vrednosti visine grebena rodezijskog ridžbeka

MERA	Pol	N	X±SD	Sg	CV(%)	min	max	t
Visina grebena	Mužjaci	253	68,40±1,85	0,11	2,71	63,00	73,00	2531***
	Ženke	469	64,39±2,15	0,09	3,34	58,50	71,80	
	Zbirno	722	65,82±2,80	0,10	4,27	58,50	73,00	

***p< 0,001

Kod mužjaka iz sve tri grupe, prosečna visina grebena je 68,40 cm. Interval variranja je od 63,00 do 73,00 cm. Kod mužjaka nije zabeleženo odstupanje ispod donje granice koju propisuju standardi, dok je gornja granica bila veća za 4,00 cm od vrednosti propisane FCI standardom, a za 3,00 cm od one koju toleriše klub u Nemačkoj. Standardna greška kod mužjaka je bila 0,11.

Kod ženki je zabeleženo odstupanje i u gornjoj i u donjoj vrednosti koju predviđaju standardi. Donja granica je bila 58,50 cm, što je za 3,50 cm niže od standardom dozvoljene. Maksimalna vrednost je 71,80 cm, dok je standardom predviđena gornja granica od 66 cm. Standardna greška kod ženki je bila manja i iznosi 0,09.

Poređenjem dobijenih vrednosti između polova ustanovljena je vrlo značajna statistička značajnost (p< 0,001).

Za razliku od do sada opisivanih goniča, rodezijski ridžbek je znatno viša rasa u odnosu na ostale, što ga je prilikom klasifikacije po FCI metodologiji svrstalo u posebnu sekciju.

ZAKLJUČAK/ CONCLUSION

Ovim istraživanjem, koje je sprovedeno na uzorku od 722 psa, ustanovljeno je da je kod ženki veći interval variranja

nego kod mužjaka. Kod ženki je bilo odstupanja od standardnih vrednosti i za minimum i za maksimum. Kod mužjaka je ustanovljeno odstupanje samo u maksimalnoj vrednosti od standardom propisanih, dok kod minimalne vrednosti nije bilo odstupanja od one vrednosti koju propisuje standard FCI. S obzirom na to da je istraživanje sprovedeno među psima u Nemačkoj, neophodno ga je sprovedi u više zemalja da bi se moglo sveobuhvatnije sagledati kakvo je stanje u populacijama ove rase u drugim državama u odnosu na ovaj eksterijerni parametar.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Američki kinološki savez – AKC (2010): *Standard rodezijskog ridžbeka*.
2. Drobnjak, D.; M. Urošević; Y. Z. Ograk; D. Matarugić (2012): *Basic exterior characteristics of Serbian Yellow Hound in Southern Serbia*. Eurasian J Vet Sci 28: 111–115.
3. Drobnjak, D.; V. Matić; D. Milijević (2010): *Eksterijer pasa: osnove procene*, Tipó Štampa, Beograd.
4. Kinološki savez Velike Britanije – KC (2011): *Standard rodezijskog ridžbeka*.
5. Kinološki savez Kanade – CKC (2010): *Standard rodezijskog ridžbeka*.

6. Međunarodna kinološka federacija – FCI (1996): *Standard rodezijskog ridžbeka*.
7. Pavlović, S.; S. Antić (1954): *Balkanski gonič*, Veterinarski arhiv 1–2: 29–37.
8. Urošević, M. (2006): *Srpski i slični goniči*, Kinološki savez Srbije i Crne Gore, Beograd.
9. Urošević, M.; D. Drobnjak; B. Živković; D. Matarugić (2009): *Osnovni eksterijerni parametri srpskog žutog goniča*, Agroznanje 10: 127–130.
10. Urošević, M.; D. Latinović; B. Špoljarić (1988): *Komparativna studija osnovnih parametara telesne razvijenosti balkanskog, jugoslovenskog trobojnog i jugoslovenskog planinskog goniča*, Zbornik radova Prve jugoslovenske konferencije o domaćim rasama goniča, Valjevo.
11. Urošević, M.; Drobnjak, D.; Koncan-kov, D.; Ograk, Y.; Fury, M.; Matarugić, D. (2004): *Basic Exterior Characteristics of Bulgarian Scent Hound* JAFAG 31: 27–31.



1934–2014

DOI: 10.7251/VETJ1401006K

UDK 636.7.05/.06:616-091.8

V. Krstić,¹ A. Glišić¹

Originalni rad

KLINIČKA I HISTOPATOLOŠKA ISPITIVANJA LIMFOCITNO-PLAZMOCITNOG DUODENITISA PASA

Kratak sadržaj

Hronična oboljenja tankih creva pasa su ređa od akutnih poremećaja i samim tim teže se dijagnostikuju. Među ova oboljenja spada idiopatsko zapaljenje tankih creva, koje se odlikuje infiltracijom ćelija inflamacije unutar *I. propriae* tankih creva, tunike mukoze tankih creva. Na osnovu kliničke slike i opšteg kliničkog pregleda moguće je postaviti sumnju. Analizom krvne slike pasa zapaža se leukocitoza i limfocitoza, dok se biohemijskim analizama može utvrditi različit stepen hipoproteinemije i hipoalbuminemije. Specijalističkim pregledom creva endoskopom može se uočiti različit stepen promena na sluznici tankih creva, od blagog edema do ulceracija. Tek nakon biopsije sluznice tankih creva i histopatološkog pregleda moguće je postaviti dijagnozu limfocitno-plazmocitnog duodenitisa. Iako je dijagnoza poznata, etiologija ovog oboljenja nije u potpunosti poznata, tako da je za postavljanje definitivne dijagnoze potrebno isključiti sva druga oboljenja sa istim ili sličnim simptomima. Tokom ovog istraživanja sprovedenog na gastroenterološkim pacijentima ambulate Klinike za male životinje Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu tokom oktobra, novembra i decembra 2011. godine, kod četrnaest pacijenata je dijagnostikovao hronični limfocitno-plazmocitni enteritis i limfocitni enteritis.

Ključne reči: IBD, hronično, limfocitno-plazmocitni enteritis.

¹ Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Srbija.
Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, Belgrade, Serbia.
E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: ana_glisic_90@yahoo.com

V. Krstić,¹ A. Glišić¹

Original paper

CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL INVESTIGATIONS OF LYMPHOCITO-PLASMOCITIC DUODENITIS IN DOGS

Abstract

Chronic diseases of the small intestine are less common than acute disorders and therefore they are harder to diagnose. They can easily be mistaken with the diseases which give similar or same symptoms, which are chronic diarrhea, chronic vomiting, followed by weight loss due to malabsorption or protein loss through digestive system. One of these diseases is idiopathic inflammatory bowel disease, which is characterized by infiltration of inflammatory cells within the lamina propria in tunica mucosa of small bowel. Based on clinical signs and general physical examination, it is possible to place a suspicion to this disease, but by blood analyses leukocytosis can be identified, while by biochemical analysis a different degree of hypoproteinemia can be found. Endoscopy examination of digestive tube different degree of changes on small bowel mucosa, from mild edema to severe ulceration can be found. A definitive diagnosis of IBD can only be made based on intestinal biopsy specimen analysis. Although the diagnosis is known, etiology of this disease is unknown, so it is necessary to exclude all other diseases with the same or similar symptoms for definitive diagnosis. During this research we used results of gastroenterological patients from Clinic for small animals of the Faculty of Veterinary medicine in Belgrade in October, November and December of 2011, with chronic plasmocytic enteritis was diagnosed 14 patients.

Key words: IBD, chronic, lympho-plasmocytic enteritis.

UVOD/ INTRODUCTION

Hronični poremećaji tankih creva se često sreću u kliničkoj praksi. Većina ovih poremećaja se može uspešno kontrolisati. Bitno je da se pacijentima sa hroničnim simptomima (oni koji traju duže od dve do četiri nedelje) što pre postavi dijagnoza, jer se slabiji poremećaji apsorpcije mogu

zakomplikovati i dovesti do razvijanja ozbiljnih malapsorptivnih poremećaja u organizmu, pa čak i do smrti (Tams, 2003). Najčešći klinički znaci povezani sa hroničnim oboljenjima tankih creva su dijareja i gubitak telesne mase. Od početka primene endoskopske dijagnostike usled boljeg uvida u stanje digestivnog sistema,

уочено је колико је IBD често оболјене. Дијагнозу је могуће поставити тек након histopatoloшког прегледа биопсијских узорака ткива. Израз IBD (eng. *Inflammatory bowel disease*) описује групу хроничних поремећаја creva, који се карактеришу дифузном инфилтрацијом унутар *I. propriae* различитим популацијама инфламаторних

ћелија, укључујући лимфоците, плазма ћелије, еозинofilне и неутроfilне granulocyte и макроfаге. Најчешћи је лимфоцитно-плазмocитни enteritis. Налаз инфилтрованих ћелија запалјења није увек знак да се ради о IBD-у. Инфилтрација инфламаторним ћелијама се може јавити као одговор организма на различите факторе (табела 1).

Табела 1. Диференцијалне дијагнозе за IBD

Хронична ђардијаза
Осетљивост на антигене из хране
Прерастање бактерија у digestivном тракту
<i>Clostridium perfringens</i> enterotoksikoza
Лимфангијектазија
Лимфом
Питиоза
Функционални поремећаји creva
Histoplazmoza
Insuficijencija egzokrinog pankreasa
Adenokarcinom
Crevna staza

Не постоји старосна, полна или расна predispozicija, иако постоји налаз да је код млађих pasa dominantније повраћање (Tams, 2003). Најчешће се јавља повраћање које траје недељима, па чак и месецима, и често се по напредовању процеса повећава

и учесталост испољјавања клиничких знакова. Често клиничка слика не одговара степену инфилтрације који се утврђује на патохистолошким исецима. Такође, врло је битно утврдити да ли се ради о IBD-у или о intestinalној форми лимфосаркома (табела 2).

Табела 2. Поређење симптома IBD-а и intestinalне форме лимфосаркома

Поређење клиничких знакова IBD-а и intestinalне форме лимфосаркома		
Клинички знакови	IBD	Intestinalни лимфосарком
Макроскопски налаз		
Чврсти зидови creva	+-	+-
Симптоми на другим органима	-	+-
Патохистолошки налаз		
Ћелијска популација	Хетерогена	Homогена
Инфилтрација лamine proprie	+	+-

Infiltracija submukoze	+-	+-
Infiltracija mišića	-	+-
Infiltracija seroza	-	+-
Infiltracija drugih organa	-	+-

(+prisutna, +-može biti prisutna, -nije prisutna)

Nakon dijagnoze, pristupa se terapiji koja se zasniva na rezultatima kliničkog i histopatološkog nalaza. Terapija se zasniva na primeni kortikosteroida, antiinflamatornih lekova i imunosupresiva. Lečenje je dugotrajno i može trajati nekoliko meseci, pa čak i nekoliko godina (Trailović, 2011).

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Na gastroenterološkim pacijentima ambulate Klinike za male životinje Fa-

kulteta veterinarske medicine u Beogradu, izvršena su endoskopska i histopatološka ispitivanja, pri čemu je kod 14 pasa (tabela 3) histopatološki potvrđen hronični limfocitno-plazmoicitni i limfocitni enteritis. Kod svih pacijenata je izvršen opšti klinički pregled u okviru kog su rađene analize krvi (krvna slika i biohemijske analize), nakon čega je uz saglasnost vlasnika obavljen endoskopski pregled digestivnog sistema, tokom kojeg je urađena biopsija sluznice duodenuma. Uzorci sluznice su bili histopatološki ispitani.

Tabela 3. Odnos starosti mužjaka i ženki obolelih od IBD-a

	0–2 god.	3–4 god.	5–7 god.	8–10 god.
Mušjaci	4	1	3	1
Ženke	/	3	1	1

Prilikom kliničkog pregleda pacijenata, korištene su metode opšteg kliničkog pregleda (adspekcija, palpacija, auskultacija) i uzeta je anamneza.

Tokom endoskopskog pregleda, svi pacijenti su bili u opštoj anesteziji, uz prethodno uskraćivanje hrane od 12 do 24 časa i uskraćivanje vode četiri časa pre pregleda. Za premedikaciju je korišćen butorfanol u dozi 0,2 mg/kg i.v. u kombinaciji sa diazepamom u dozi 0,5 mg/kg i.v. Za indukciju je korišćen propofol u dozi 3 mg/kg i.v., nakon čega su pacijenti

intubirani i opšta anestezija je održavana izofluranom u koncentraciji od 2%. Nakon uvođenja u anesteziju, pacijenti su postavljeni u levi bočni položaj, postavljen je otvarač za usta, nakon čega je pristupljeno pregledu, uz monitoring vitalnih funkcija (Krstić, 2004). Za endoskopski pregled je korišćen fleksibilni endoskop sa video kamerom, model "Storc", dužina endoskopa je 140 cm, promer 0,9 cm i radni kanal 2,2 mm. Uzorci tkiva su uzeti endoskopski vođenom biopsijom pomoću specijalnog biopsera "alligator".

Histopatološka ispitivanja obuhvatala su detaljan opis morfoloških promena na biopsiranim uzorcima sluznice duodenuma (promene na crevnim resicama, stepen oštećenja crevnog epitela, postojanje proširenja kripti, prisustvo dilatiranih limfnih sudova i fibroze), kao i praćenje zastupljenosti intraepitelnih limfocita, limfocita, plazma ćelija, eozinofilnih granulocita i neutrofilnih granulocita u infiltratu sluznice. Tkivni uzorci su fiksirani u 10% neutralnom formalinu u trajanju od 48 do 72 sata. Posle fiksiranja, tkivo je procesovano u automatskom tkivnom

procesoru i uklopljeno u parafinske blokove sa mrežicom za biopsijske uzorke. Parafinski isecci debljine od 3 do 5 μ m bojeni su hematoksilin-eozin (HE) i *Giemsa* metodom.

REZULTATI/ RESULTS

Tokom oktobra, novembra i decembra 2011. godine, kod 14 pasa je dijagnostikovao limfocitno-plazmocitni ili limfocitni enteritis (tabela 4). Kod 10 pasa je dijagnostikovao limfocitno-plazmocitni enteritis, a kod četiri psa limfocitni duodenitis.

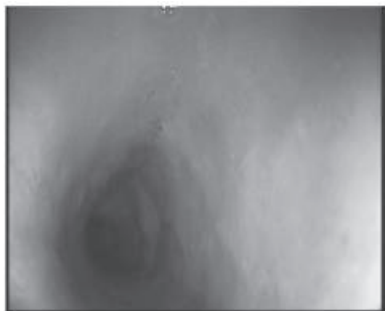
Tabela 4. Broj pasa sa dijagnostikovanim IBD-om u periodu oktobar–novembar 2011.

	oktobar	novembar	decembar
Mešanac		+	+
Rotvajler	+		
Nemački ovčar			+
Doga argentino	+		+
Doberman		+	
Ši-cu		+	
Irski seter	+		
Bišon malterzer			+
Pekinezer	+		
Rodezijski ridžbek			+
Patuljasti pinč			+
Haski	+		

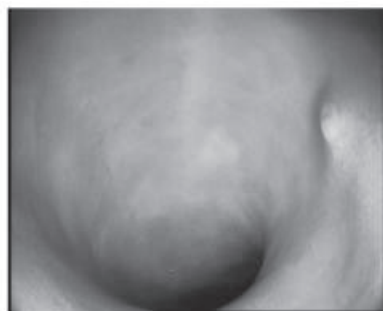
Psi koji su imali limfocitno-plazmocitni enteritis imali su kao kliničke simptome dijareju i povraćanje beličastog penušavog sadržaja.

Endoskopskim pregledom kod dva psa nisu uočene promene na sluznici

duodenuma (slika 1), dok je kod jednog psa zapažena blaga hiperemija (slika 2). Nakon histopatološkog pregleda uzoraka biopsije, kod sva tri psa je uočena infiltracija ćelija inflamacije (plazmocita i limfocita).



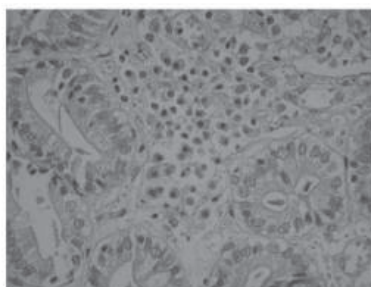
Slika 1. Fiziološki izgled sluznice duodenuma



Slika 2. Blaga hiperemija sluznice duodenuma

Kod ostalih sedam pasa sa limfocitno-plazmocitnim enteritisom (slika 3)

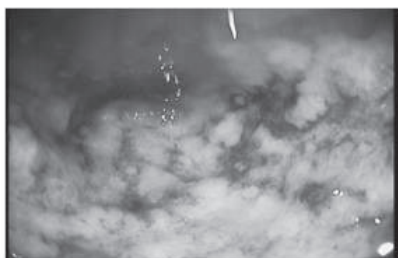
klinički simptomi su bili više izraženi (učestalije dijareje i povraćanje).



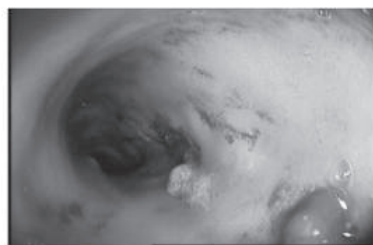
Slika 3. Infiltracija limfocita i plazma ćelija unutar lamine proprije duodenuma (HE)

Endoskopskim pregledom zapažena je umerena do jaka hiperemija sa hemoragičnim

poljima (slika 4), a u jednom slučaju su postojale i erozije sluznice duodenuma (slika 5).



Slika 4. Hemoragična polja na sluznici duodenuma

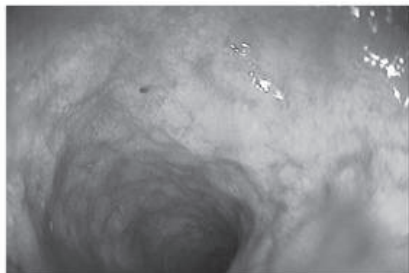


Slika 5. Erozije na sluznici duodenuma

Kod četiri psa, histopatološki je utvrđen limfocitni enteritis. Kod ova četiri slučaja od kliničkih simptoma bile su izražene

dijareje, povraćanje, dlaka bez sjaja koja se lako čupala, izgubljen turgor kože. Kod jednog psa, endoskopskim pregledom nisu

zapažene promene na sluznici duodenuma, dok su kod ostala tri uočene promene



Slika 6. Edem sluznice duodenuma

na sluznici duodenuma u vidu hiperemije i edema sluznice (slika 5. i slika 6).



Slika 7. Hiperemija i edem sluznice duodenuma

Za lečenje je u slučajevima sa blagim limfocitno-plazmocitnim enteritisom korišćen metronidazol u dozi 30 mg/kg 15 dana, ranitidin u dozi 2 mg/kg 10 dana i vitamin E 400-500 IU. Kod pacijenata sa jačim limfocitno-plazmocitnim enteritisom korišćena je ista terapija uz dodatak prednisona u dozi 2,2 mg/kg. Kod pasa sa limfocitnim enteritisom u terapiji je umesto ranitidina korišćen famotidin u dozi od 2,2mg/kg. Kod svih pacijenata primenjena je dijetetska ishrana, uz korišćenje hrane za oboljenja digestivnog sistema. Nakon primenjene terapije, svi pacijenti su pokazali poboljšanje opšteg stanja. Preporučena je kontrola za mesec dana, uz endoskopski pregled i histopatološko ispitivanje biopsiranih uzoraka. Nažalost, vlasnici se ni u jednom slučaju nisu javili nakon završetka terapije.

DISKUSIJA/ DISCUSSION

Hronične enteropatije čine više od polovine svih poremećaja probavnog sistema kod pasa. Inflamatorna bolest creva (IBD) jeste zajedničko ime za hronične enteropatije, koje se pre svega karakterišu zapaljenjem sluznice GIT-a i nespecifič-

nim simptomima (Đorđević i sar., 2012). Ovom studijom je obuhvaćeno 14 pasa, od čega je kod 10 dijagnostikovao limfocitni enteritis, a kod četiri limfocitno-plazmocitni enteritis. U inostranoj literaturi postoje podaci da su kod pasa kod kojih su dijagnostikovani različiti stepeni infiltracionih enteritisa, uz dugotrajnu i upornu terapiju, uz saradnju sa vlasnikom, klinički simptomi kontrolisani, i ovi psi su imali kvalitetan život. Poklapa se podatak da ne postoji rasna, starosna ili polna predispozicija za ovo oboljenje (Tams, 2003), kao i da postoje periodi poboljšanja, ali nažalost naše iskustvo sa ovim oboljenjem je vrlo malo i nemamo povratnu informaciju od strane vlasnika koja je ključna za praćenje i izučavanje ovog oboljenja. Samim tim, naša iskustva i rezultati sa ovom bolesti poklapaju se sa činjenicom da je ovo hronično oboljenje, da se često i lako može zameniti sa nekim drugim oboljenjem digestivnog trakta (Trailović, 2011). U dva slučaja, nivo ispoljavanja kliničkih simptoma nije bio u korelaciji sa nivoom infiltracije ćelija zapaljenja unutar lamine proprie (Tams, 2003). Usled nedostatka povratne

informacije od strane vlasnika ne možemo potvrditi da li je došlo do poboljšanja kod naših pacijenta, iako postoje podaci da su prognoze kod ovih pacijenata dobre.

IBD predstavlja zaista često oboljenje tankih creva koje je praćeno hroničnom dijarejom, povraćanjem, hipoproteinemijom i hipoalbuminemijom. Česte su faze remisija i egzacerbacije kliničkog stanja životinje (Jergens i sar., 2003).

Nivo ispoljenih kliničkih simptoma nije uvek u srazmeri sa nivoom infiltracije ćelija unutar lamine proprie, mada postoji blaga povezanost sa nivoom promena i konačnim ishodom (Allenspach i sar., 2007).

Nažalost, uzroci ovog oboljenja nisu dovoljno poznati i još uvek nije pronađena konkretna veza između etioloških činilaca i same bolesti, mada postoji sumnja na autoimunu etiologiju oboljenja. Kod deset pasa je dijagnostikovao limfocitno-plazmocitni infiltrat, pri čemu je kod sedam pasa registrovana teža simptomatologija IBD-a.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Allenspach, B.; Wieland, A. Gröne and F. Gaschen (2007): *Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome*, Journal of Veterinary Internal Medicine 21: 700–708.
2. Brearley, M. J.; Cooper, J. E. et al. (1991): *Color atlas of Small animal endoscopy*. Mosby, Year Book, Inc.
3. Brent, D. J. (1990): *Veterinary Endoscopy*. The Veterinary Clinics of North America.
4. Krstić, V. (2004): *Endoskopija: tehničke karakteristike i dijagnostičke mogućnosti fiberoptičkih endoskopa*. Zbornik radova Šestog međunarodnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja, pp. 272.
5. Đorđević, M.; Krstić, V.; Krstić, N.; Vasiljević, Maja; Ilić, V.; Vučićević, Ivana i Aleksić-Kovačević, Sanja (2012): *Morphological, immunophenotypic and clinical characteristic of dogs with lymphocytic-plasmacytic duodenitis*. Acta Veterinaria (Beograd) 62: 445–454.
6. Jergens, A.; C. A. Schreiner; Dagmar E. Frank; Yosiya Niyo; Franklin, E.; Ahrens, P. D. Eckersall; Tammy Benson; Richard Evans (2003): *A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 17: 291–297.
7. T. R. Tams (1999): *Small animal Endoscopy*. (Second edition), Mosby.
8. T. R. Tams (2003): *Handbook of Small Animal Gastroenterology* (Sec. Ed.). Saunders.
9. Trailović, R. D. (2011): *Gastroenterologija pasa i mačaka* (drugo izdanje). Eduvet, Beograd.

DOI: 10.7251/VETJ1401007M

UDK 539.16:504.5(497.11Kopaonik)

B. M. Mitrović,¹ G. Č. Vitorović,¹ M. Lazić¹

Originalni rad

SPECIFIČNA AKTIVNOST ^{40}K I ^{137}Cs U UZORCIMA ZEMLJE, SENA, MAHOVINE I MLEKA PRIKUPLJENIH SA PODRUČJA KOPAONIKA

Kratak sadržaj

Kopaonik je najviša planina Srbije sa odličnim uslovima za gajenje malih i velikih preživara. Obiluje brojnim prirodnim i kulturnim bogatstvima i jedan je od najvećih turističkih centara u Srbiji. Cilj istraživanja je bio da se odredi specifična aktivnost radionuklida ^{137}Cs i ^{40}K u životnoj sredini Kopaonika i da se dobijene vrednosti uporede sa rezultatima dobijenim godinu dana posle černobiljskog akcidenta. Uzorci zemlje, mahovine, sena i mleka su prikupljani na različitim nadmorskim visinama, sa šest lokacija u opštinama Raška i Brus. Rezultati istraživanja su pokazali da je radioaktivni ^{137}Cs i dalje prisutan u životnoj sredini Kopaonika, i to u uzorcima zemljišta i mahovina. U zemljištu je najviša specifična aktivnost ^{137}Cs detektovana na lokalitetu Jošanička banja (142 Bq/kg), a u mahovinama na lokalitetu Lisina (228 Bq/kg). U najvećem broju ispitivanih uzoraka zemljišta, specifična aktivnost ^{137}Cs je bila duplo manja u odnosu na vrednosti izmerene 1987. godine, što se podudara sa njegovim fizičkim vremenom poluraspada (30 godina). U uzorcima sena i mleka, specifična aktivnost ^{137}Cs je bila ispod praga detekcije, što ukazuje na to da ovaj radionuklid nije uključen u lanac ishrane.

Ključne reči: radioaktivnost, Kopaonik, ^{137}Cs , ^{40}K , zemljište, mahovine.

¹ Katedra za radiologiju i radijacionu higijenu Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Srbija.
Department of radioalogy and radiation hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar oslobodjenja 18, Belgrade, Serbia.
E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: marko.lazic.ue@gmail.com

B. M. Mitrović¹, G. Č. Vitorović¹, M. Lazić¹

Original paper

SPECIFIC CONCENTRATION OF ^{40}K AND ^{137}Cs IN SAMPLES OF SOIL, HAY, MOSS AND MILK COLLECTED ON KOPAONIK MOUNTAIN

Abstract

Kopaonik is the highest mountain in Serbia with excellent conditions for breeding large and small ruminants. It has many natural and cultural opulences and it's one of largest tourist center in Serbia. The aim of our research was to analyse specific concentration of ^{137}Cs and ^{40}K in enviroment of Kopaonik mountain, and to compare results with those mesured one year after the chernobyl accident on a same locations. Samples of soil, mosses, hay and milk were collected on a diferent altitude from six locations in townships Raška and Brus. Results have show that radioactive ^{137}Cs is still present in enviroment of Kopaonik in samples of soil and mosses. The highest specific concentration of ^{137}Cs in a soil has been mesured in Jošanička banja (142 Bq/kg), and in a mosses in Lisina (228 Bq/kg). In most samples of soil specific concentration of ^{137}Cs was half lower compared with obtained values from 1987. and it matches its physical half-life period of 30 years. In the samples of hay and milk specific concentration of ^{137}Cs was below detection limit, and it indicate that this radionuclide is not included in the food chain.

Key words: radioactivity, Kopaonik mountain, ^{137}Cs , ^{40}K , soil, mosses.

UVOD/ INTRODUCTION

Ubrzani tehnološki razvoj čovečanstva u poslednjih nekoliko decenija prošlog veka iziskivao je potrebu za većom proizvodnjom električne energije. Nuklearne elektrane predstavljaju jedan od najefikasnijih i najčistijih postupaka za dobijanje električne energije i danas su u upotre-

bi širom sveta. Međutim, potencijalni nuklearni akcidenti mogu predstavljati veliku opasnost po životnu sredinu i sva živa bića.

Poslednji nuklearni akcident na području Evrope se dogodio 1986. godine u Ukrajini, u nuklearnoj elektrani u Černobilju. Tada je usled eksplozije došlo

do oslobađanja velike količine fisioniх produkata u atmosferu. Smatra se da je ovaj akcident najveća ekološka katastrofa u istoriji korišćenja nuklearne energije (Dobrić i sar., 2006). Padavinama koje su nosile nuklearne čestice kontaminirana su ogromna prostranstva širom sveta. Akcident koji se dogodio 2011. godine u Japanu, zbog velike udaljenosti, nije doveo do značajne kontaminacije životne sredine Republike Srbije (Vitorović i sar., 2013).

Godinu dana posle nuklearnog akcidenta u Černobilju, urađeno je ispitivanje

prisustva radioaktivnih kontaminenata u životnoj sredini planine Kopaonik. Specifična aktivnost ^{137}Cs u zemljištu je bila i do sedam puta veća u odnosu na onu pre akcidenta (Mičić i sar., 1989). Područje Kopaonika je poznato kao turistički centar sa brojnim prirodnim i kulturnim bogatstvima, a zbog velikog prostranstva pod pašnjacima i livadama veoma je pogodno za gajenje malih i velikih preživara. Takođe, treba spomenuti i prirodna bogatstva flore i faune u okviru Nacionalnog parka Kopaonik.

Tabela 1. Specifična aktivnost 40K i 137Cs u uzorcima iz životne sredine sa različitih područja Kopaonika (Bq/kg) (Mičić i sar., 1989)

Lokalitet	Nadmorska visina (m)	40K	137Cs
<u>Zemlja</u>			
Brus	429	430±26	48±2,3
Jošanička banja	557	380±13	62±2,1
Đerekare	950	580±19	31±1,3
Brzeće	980	435±22	83±2,4
Lisina	1300	640±31	88±1,8
Gobelja	1934	402±15	192±1,8
<u>Seno</u>			
Brus	429	710±21	22±2,3
Jošanička banja	557	410±21	19±1,7
Đerekare	950	980±48	27±2,9
Brzeće	980	790±21	21±2,9
Lisina	1300	883±18	162±7,8
Gobelja	1934	761±75	1112±2,8
<u>Kravlje mleko</u>			
Jošanička banja	557		/
Đerekare	950		/
Brzeće	980		8±0,9
Lisina	1300		40±5,0

Radioekološka istraživanja određenog područja podrazumevaju sakupljanje uzoraka iz životne sredine, koji na najbolji način mogu da ukažu na potencijalnu opasnost po zdravlje stanovništva. U tu svrhu se obično uzimaju uzorci zemljišta, biljne mase i proizvoda domaćih životinja (Grdović i sar., 2010; Mitrović i sar., 2008; Strand i sar., 1996), meso divljih životinja, mahovine i gljive (Iurian i sar., 2011; Čučulović i sar., 2011).

Cilj našeg istraživanja je bio da se utvrdi specifična aktivnost radionuklida, i to prirodnog (^{40}K) i proizvedenog (^{137}Cs), u zemljištu, mahovinama, senu i mleku, kako bi se dobijeni rezultati uporedili sa literaturnim podacima objavljenim neposredno posle černobiljskog akcidenta.

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Uzorci neobradivog zemljišta, mahovina, sena i mleka prikupljeni su u jesen 2013. godine sa šest lokaliteta na području Kopaonika, u opštinama Raška i Brus, i to: Brus (429 m), Brzeće (980 m), Đerekare (950 m), Jošanička banja (557 m), Lisina (1300 m) i Gobelja (1934 m).

Uzorci zemljišta su sakupljeni sa dubine do 10 cm, a na istom terenu su sa-

kupljeni uzorci mahovina i sena. Sa četiri od šest navedenih lokaliteta su prikupljeni uzorci kravljeg mleka u količini od 1,5 l. Uzorci mleka nisu uzeti na Gobelji (jer je to ruralna sredina, koja se samo u toku leta koristi za ispašu) i Brusu (gradska sredina).

Po dopremanju u laboratoriju, uzorci zemlje su bili sušeni na temperaturi od 105°C do konstantne mase, usitnjeni, a zatim zapakovani u standardne Marineli posude zapremine 1 l. Uzorci mahovine i sena su sušeni na temperaturi od 105°C do konstantne mase, usitnjavani i pakovani u plastične posude zapremine 250 ml. Uzorci mleka su pakovani u Marineli posude od 1 l.

Za merenje svih uzoraka su korišćeni HPGe detektori (Ortec, USA), relativne efikasnosti 30% i 35%, sa energetsom rezolucijom 1,83KeV/1332,5 keV ^{60}Co , a dužina merenja uzorka bila je 60 000 s za mleko i zemljište i 250 000 s za mahovinu i seno.

REZULTATI I DISKUSIJA/ RESULTS AND DISCUSSION

Rezultati gamaspektrometrijskih analiza uzoraka zemlje, sena, mahovina i kravljeg mleka prikupljenih sa područja planine Kopaonik prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Specifična aktivnost 40K i 137Cs u uzorcima iz životne sredine sa različitih područja Kopaonika (Bq/kg)

Lokalitet	Nadmorska visina (m)	40K	137Cs
Zemlja			
Brus	429	526±16	30,6±0,9
Jošanička banja	557	269±8	142±4
Đerekare	950	920±27	6,0±0,2
Brzeće	980	620±19	32,3±0,9

Lisina	1300	730 ± 21	$79,4 \pm 2,3$
Gobelja	1934	722 ± 21	$29,8 \pm 0,9$
<u>Seno</u>			
Brus	429	244 ± 9	$0,5 \pm 0,2$
Jošanička banja	557	220 ± 8	$0,5 \pm 0,1$
Đerekare	950	518 ± 16	$< 0,3$
Brzeće	980	564 ± 18	$0,9 \pm 0,2$
Lisina	1300	499 ± 18	$< 0,7$
Gobelja	1934	244 ± 10	$1,7 \pm 0,3$
<u>Mahovina</u>			
Brus	429	386 ± 12	141 ± 4
Jošanička banja	557	104 ± 4	$21,4 \pm 0,7$
Đerekare	950	158 ± 6	$9,4 \pm 0,4$
Brzeće	980	348 ± 12	143 ± 4
Lisina	1300	222 ± 9	228 ± 7
<u>Kravlje mleko</u>			
Jošanička banja	557	$49,4 \pm 1,7$	$< 0,1$
Đerekare	950	$50,7 \pm 1,8$	$< 0,1$
Brzeće	980	$45,4 \pm 1,7$	$< 0,1$
Lisina	1300	$62,2 \pm 2,2$	$< 0,1$

Još od početka nuklearne ere, čovek je svojim delovanjem doveo do kontaminacije biosfere proizvedenim, fisionim radionuklidima. Radioaktivni ^{137}Cs prisutan u zemljištu je glavni izvor kontaminacije biljaka, jer se preko korenovog sistema resorbuje iz zemljišta i akumulira u biljkama. Usvajanje i migracija ^{137}Cs zavisi od fizičko-hemijskih karakteristika samog zemljišta, ali i od fizioloških karakteristika biljaka. Lanac zemljište–biljka–čovek predstavlja glavni put kontaminacije ljudi radionuklidima (IAEA, 2009).

U uzorcima ispitivanih zemljišta najviša specifična aktivnost ^{137}Cs (142 Bq/kg) i najniža specifična aktivnost ^{40}K (269 Bq/

kg) detektovana je u podnožju planine, na području Jošaničke banje (tabela 2). Na ostalim ispitivanim lokalitetima, specifična aktivnost ^{40}K je bila daleko veća u odnosu na specifičnu aktivnost ^{137}Cs , i to od 17 do 280 puta.

Na lokalitetu Gobelja, koji predstavlja najvišu nadmorsku visinu na kojoj smo prikupljali uzorke, specifična aktivnost ^{137}Cs je posle černobiljskog akcidenta iznosila 192 Bq/kg (Mičić i sar., 1989), a 2013. je bila manja za oko šest puta. Na najvećem broju ispitivanih lokacija, specifična aktivnost ^{137}Cs je u proseku duplo niža, što se objašnjava njegovim vremenom poluraspada (30 godina) i

geološkim karakteristikama ispitivanog zemljišta. Istraživanjima sprovedenim na području planina Tare i Maljen utvrđeno je da sa porastom nadmorske visine dolazi do povećanja specifične aktivnosti ^{137}Cs u zemljištu (Mitrović i sar., 2009), što nije potvrđeno na području Kopaonika, a može se objasniti različitim geološkim sastavom stena na ispitivanim lokacijama.

Rezultati koje su objavili Mičić i sar. (1989) posle černobilskog akcidenta pokazali su da se u senu sa područja Kopaonika specifična aktivnost ^{137}Cs kretala u opsegu od 19 Bq/kg (Jošanička banja) do 1112 Bq/kg (Gobelja), a u uzorcima kravljeg mleka od 8 Bq/kg (Brzeće) do 40 Bq/kg (Lisina), što je bilo posledica direktnog taloženja radiocezijuma putem radioaktivnih padavina. Rezultati gamaspektrometrijske analize iz 2013. godine pokazuju da je u svim ispitivanim uzorcima sena i mleka sa područja Kopaonika specifična aktivnost ^{137}Cs bila niska. Prema važećem pravilniku Republike Srbije („Sl. glasnik RS“ br. 86/11), granica sadržaja ^{137}Cs u mleku, kao osnovnoj životnoj namirnici, iznosi 15 Bq/kg, pa je ispitivano mleko bezbedno za ljudsku upotrebu. Takođe, treba istaći i da posle nuklearnog akcidenta 2011. u Japanu (Fukušima) nije došlo do kontaminacije životne sredine u Srbiji, što je potvrđeno analizom ovčijeg i kravljeg mleka sa različitih lokaliteta na teritoriji Republike Srbije (Vitorović i sar., 2013).

Mahovine predstavljaju dobre bioindikatore radioaktivnosti u životnoj sredini, jer u poređenju sa biljkama imaju veću sposobnost akumulacije radionuklida (Čučulović i sar., 2011; Grdović i sar., 2010; Iurian i sar., 2011). Brzina

akumulacije teških metala, radionuklida, pesticida i ostalih zagađivača može biti vrlo visoka, a sposobnost akumulacije zavisi od vrste i starosti mahovina i staništa na kojima se nalaze (Iurian i sar., 2006; Čučulović i sar., 2011). Apsorpciju hranjivih materija mahovine vrše preko cele površine tela, na listovima nemaju kutikulu ni stomu, a utvrđena je i jasna korelacija između njihovog rasta i brzine akumulacije (Grdović, 2005). Na području Kopaonika, najveća specifična aktivnost ^{137}Cs u mahovinama je zabeležena na lokalitetu Lisina (228 Bq/kg), a najniža na području Đerekare (9,4 Bq/kg), gde je u zemljištu specifična aktivnost ovog radionuklida bila niska (6 Bq/kg).

Specifična aktivnost ^{40}K u mahovinama je bila od 2,5 do 17 puta veća u odnosu na sadržaj ^{137}Cs , osim na lokalitetu Lisine, gde je specifična aktivnost oba ispitivana radionuklida bila približna. Poređenjem nivoa kontaminacije u mahovinama i zemljištu utvrdili smo da je u svim ispitivanim uzorcima mahovina specifična aktivnost ^{137}Cs bila veća u odnosu na zemljište, i to od 1,6 do 4,6 puta. Izuzetak su uzorci mahovina prikupljenih sa područja Jošaničke banje, gde je nivo specifične aktivnosti ^{137}Cs bio sedam puta manji nego u zemljištu, što se može objasniti starošću i vrstom ispitivanih mahovina.

ZAKLJUČAK/ CONCLUSION

Rezultati ovih istraživanja su pokazali da je radioaktivni ^{137}Cs i dalje prisutan u životnoj sredini Kopaonika, i to u zemljištu i mahovinama. Nizak nivo aktivnosti ^{137}Cs , skoro trideset godina posle černobilskog akcidenta, posledica je njegovog fizičkog vremena poluraspada, geoloških karakte-

ristika zemljišta, kao i uključivanja ovog elementa u procese kruženja materije.

U ispitivanim uzorcima sena i mleka dokazan je nizak sadržaj radioaktivnog Cs-137, odnosno ispod praga detekcije. Takođe je dokazano da posle nuklearnog akcidenta u Fukušimi (2011) nije došlo do nove kontaminacije ovog regiona.

ZAHVALNICA/ ACKNOWLEDGEMENT

Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS, koje je finansiranjem projekta TR 31003 omogućilo realizovanje ovog rada.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Čučulović, A.; Čučulović, R.; Cvetić-Antić, T.; Veselinović, D. (2011): *Mosses as biomonitors for radioactivity following the Chernobyl accident*. Arch Biol Sci, 63: 1117–1125.
2. Dobrić, S.; Đurović, B. (2006): *Nuklearni akcidenti u svetu od 1950. do 2005. godine*. Vojnosanitetski pregled, 63: 465–469.
3. Grdović, S. (2005): *Mahovine šireg područja Beograda i njihov bioindikatorski značaj*. Monografija, Zadužbina Andrejević, Beograd.
4. Grdović, S.; Vitorović, G.; Mitrović, B.; Andrić, V.; Petrujković, B.; Obradović, M. (2010): *Natural and anthropogenic radioactivity of feedstuffs, mosses and soil in Belgrade environment, Serbia*. Arch Biol Sci, 62: 301–307.
5. International Atomic Nuclear Agency (2009): *Quantification of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments for Radiological Assessments, IAEA-TCDOC-1616*, Vienna.
6. Iurian, A.R.; Hofmann, W.; Lettner, H.; Turk, R.; Cosma, C. (2011): *Long term study of Cs-137 concentrations in lichens and mosses*, Rom Journ Phys, 56: 983–992.
7. Mičić, G.; Drašković, M.; Bošnjak, H.; Draganović, B.; Benderać, R. (1989): *Radijacioni gama-FON i njegov značaj za stočarsku proizvodnju na Kopaoniku*. Vet. glasnik 43: 1113–1236.
8. Mitrović, B.; Vitorović, G.; Vitorović, D.; Pantelić, G.; Adamović, I. (2009): *Natural and anthropogenic radioactivity in the environment of mountain region of Serbia*. J Environ Monit 11: 383–388.
9. Strand, P.; Howard, B. J.; Averin, V. (1996): *Transfer of radionuclides to animals, their comparative importance under different agricultural ecosystems and appropriate countermeasures. International scientific collaboration on the consequences of the Chernobyl accident*. Experimental Collaboration Project No. 9 EUR 16539 EN157-193. ECSC-EC-EAEC, Brussels.
10. Službeni glasnik RS, 86/11. (2011): *Pravilnik o granicama sadržaja radionuklida u vodi za piće, životnim namirnicama, stočnoj hrani, lekovima, predmetima opšte upotrebe, građevinskom materijalu i drugoj robi koja se stavlja u promet*.
11. Vitorović, G.; Mitrović, B.; Pantelić, G.; Vitorović, D.; Stojanović, M.; Grdović, S.; (2013): *Radioaktivnost mleka u Srbiji od Černobilja 1986. do Fukušime 2011. godine*. Vet. glasnik 67: 237–244.

DOI: 10.7251/VETJ1401008P

UDK 616.993.19:636.7.087.6

Г. Параш,¹ С. Параш,² О. Вујиновић,³ О. Витковић,¹ Б. Лукач,¹ И. Чегар,¹
М. Баника,¹ И. Комленић¹*Originalni rad***АНАЛИЗА КЛИНИЧКИХ СЛУЧАЈЕВА БАБЕЗИОЗЕ ПАСА****Кратак садржај**

Бабезиоза паса је обољење проузроковано протозоом из рода *Babesia*, а посредници у преношењу ове болести су крпељи из рода *Ixodes* и *Dermacentor*. Обољење код паса се јавља најчешће у прољеће и јесен, када поприма карактер епидемије, док се спорадично јавља у току зиме. Циљ нашег истраживања је био да укажемо на промјене неких хематолошких параметара у крви паса обољелих од бабезиозе у конкретним случајевима из наше амбуланте. Жељели смо да укажемо на учесталију појаву случајева бабезиозе у нашем региону у датом периоду, који су дијагностиковани у амбуланти за кућне љубимце „МИМКООП“, Бања Лука.

Кључне ријечи: бабезиоза, пас, хематологија, терапија.

-
- 1 Ветеринарска амбуланта „МИМ КООП“, Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина.
Veterinary Clinic „ММ СООР“, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.
 - 2 Природно-математички факултет у Бањој Луци, Универзитет Бања Лука.
Faculty of Sciences, University of Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.
 - 3 Агенција за обиљежавање животиња БиХ, Бања Лука.
Agency for Animal Identification, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina.
Е-пошта кореспондентног аутора/ E-mail of the corresponding author: parasgoran@yahoo.com

G. Paras,¹ S. Paras,² O. Vujinović,³ O. Vitković,¹ B. Lukac,¹ I. Cegar,¹ M. Banika,¹
I. Komlenić¹

Original paper

ANALYSIS OF CLINICAL CASES OF BABESIOSIS IN DOGS

Abstract

Canine babesiosis is a disease produced by protozoa of the kind *Babesia*. Intermediaries in the transmission of these diseases are ticks of the kind *Ixodes* and *Dermacentor*. This disease occurs most often in the spring and autumn, when it takes character of the epidemic. Babesiosis occurs less in winter. Our study was to show the changes in some hematological parameters in blood of dogs, who suffer from babesiosis. We wanted to draw attention to the frequent occurrence of babesiosis in our region in the mentioned period, which were diagnosed in the clinic for pets „MIM“ COOP, Banja Luka.

Key words: babesiosis, dog, hematology, therapy.

УВОД/ INTRODUCTION

Бабезиоза је једна од заразних болести људи и животиња узрокована протозоама из рода *Babesia*, које преносе крпељи, а у организму домаћина паразитирају и размножавају се у његовим еритроцитима (Cleveland и сар., 2014). Ово обољење код паса изазивају врсте протозоа *Babesia canis* и *Babesia gibsoni*, с тим што се прва врста јавља у три подврсте различите патогености. Тако је подврста *Babesia canis rossi* најпатогенија, док су подврсте *Babesia canis canis* и *Babesia canis vogeli* много мање патогене (Taboada, J. M., 2000; Malešević и сар., 2005). У клиничкој слици бабезиозе паса по једним ауторима најчешће се јавља хипертермија,

бледило слuzница, усне дупље, апатија, а све је праћено хемоглобинуријом (Bus и сар., 1984; Bedrica и сар., 1998). Други аутори из своје праксе описују клиничку слику бабезиозе паса: изразито повишена телесна температура пса, хемолита, жутица, анемија и хемоглобинурија, уз обавезно пронађеног паразита у еритроцитима *Babesia canis* и на кожи крпеља *Dermacentor reticulatus* или *Ixodes ricinus*. У развоју бабезиозе у организму пса временом се јављају компликације везане за смањење функције крви (поремећено згрушавање крви, хемоконцентрације, хемоглобинемиа, повишене вриједности хематокрита, па и аутоимуна хемолитичка анемија), као и акутно смањење активности бубрега, хепатопатија, иктерус, поремећаји цен-

тралног нервног система и хипотензија (Bedrica и сар., 1998; Malešević и сар., 2005).

Пошто се Бања Лука са широм околином географски налази у климатском подручју са доста влаге, у прољеће и лето су регистроване веома високе средње дневне температуре и са бујном вегетацијом, што значи да има идеалне услове за развој болести бабезиозе паса. У нашем раду је обухваћена анализа свих обољелих паса са споменутог подручја у периоду 2012, 2013. и периоду 2014. год. од јануара до априла, у циљу бољег познавања, њеног распрострањења и алтернативе лијечења бабезиозе паса. Анализа обољења и лијечење паса обољелих од бабезиозе вршена је у амбуланти за кућне љубимце „МИМ КОП“, Бања Лука.

Као што је споменуто, бабезиоза паса је обољење које се све учесталије појављује на нашим просторима. У последњим годинама, топле зиме са

недовољним бројем хладних дана са температурама испод 0°C условиле су да се вектори у преношењу ове болести, крпељи *Dermacentor reticulatus* и *Ixodes ricinus* несметано размножавају и преживљавају временски период када би њихова популација природно требало да се смањи. Имајући у виду трансваријални пренос узрочника са женке крпеља на своје потомство, тиме се објашњава учесталија појава овог обољења (Божић, Т., 2007).

Бабезиоза паса је болест која се веома често среће код паса у нашој амбуланти, који су из Бање Луке и шире околине, поготово у периоду прољећа и лета, мада у последњим годинама фреквенција појављивања болести не јењава ни у зимском периоду. Обољели пси се заразе бабезиозом тако што крпељ (сл. 1) својим ретрактилним рилом (рострумом) пробије кожу и сише крв домаћина (Стојић, Р. Б., 1989).



Слика 1. Крпељ причвршћен за кожу пса (ориг.)

На тај начин из својих пљувачних жлезда крпељ убаци узрочника болести (*Babesia canis*) у крв пса. Процењује се да крпељ треба да проведе 48 сати на

домаћину да би могао да пренесе узрочника у крв домаћина. У крви домаћина се обавља шизогонични развој паразита који је веома интензиван, а настали ме-

розоити настанују неоштећене еритроците и доводе до њиховог пропадања и хемоллизе (Шибалић и Цветковић, 1990; Donald и сар., 2008).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ/ MATERIAL AND METHODS

У нашој амбуланти материјал који смо користили су узорци крви паса који су сумњиви на бабезиозу узети из *vene cefalice antebrachii*. Венепункција је рађена вакутајнером са EDTA антикоагулансом, а анализа узорка у хематолошком аналајзеру SCIL-vet. За биохемијску анализу узорака кориштен је REFLOVET биохемијски аналајзер. Вредности параметара паса обољелих од бабезиозе добијени хематолошком

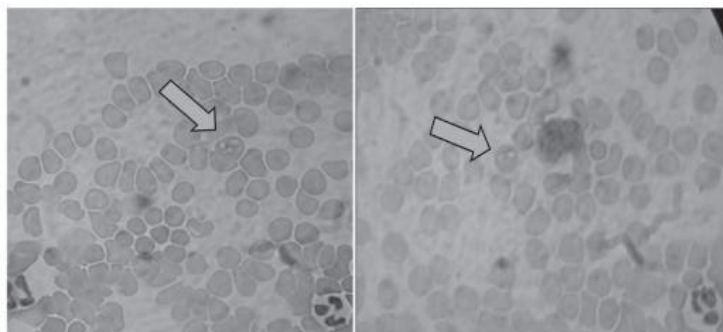
анализом обрађени су статистичким методама за средњу вриједност и процентним рачуном. У току 2012. год., у нашој амбуланти је клинички прегледано укупно 3224 пса, од чега је код 276 дијагностиковано обољење бабезиоза, што је у процентима 8,5%. Сљедеће године, 2013., прегледано је 3816 паса и 398 је било обољело од бабезиозе, што је 10,4%. Ове, 2014. године, од јануара до априла прегледано је 1218 паса и 112 било је обољело од бабезиозе, што је 9,4% за овај период од прва четири мјесеца. Овај проценат није коначан пошто обухвата само прва четири мјесеца 2014. године, од којих су два мјесеца зимског периода, а само два прољећног (таб. 1).

Табела 1. Преглед укупно прегледаних и обољелих паса за период од 2012. до априла 2014. године у амбуланти „МИМ КОП“

ГОДИНА	УКУПНО ПРЕГЛЕДАНИХ ПАСА	УКУПНО ОБОЉЕЛИХ	ПРОЦЕНАТ (%)
2012.	3224	276	8,5
2013.	3816	398	10,4
2014. (јануар–април)	1218	112	9,8

Из ових података види се да расте проценат паса обољелих од бабезиозе за само три анализиране године. Псима код којих се сумњало на бабезиозу узимана је ка-

пиларна крв из уха и прављени су крвни размази (сл. 2) који су бојени по Гимзи. На крвним размазима је брзо и лако потврђивано присуство паразита *Babesia canis*.



Слика 2. *Babesia canis* унутар еритроцита (спрелице). Гимза, x200, имерзија

Ослобођени хемоглобин улази у метаболизам жучних боја и када превазиђе капацитете обраде у јетри преко били-

рубина доводи до пребојавања слузница у жуто (слика 3).



Слика 3. Иктерична слузница ња (орит.)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА/ RESULTS AND DISCUSSION

На основу клиничких симптома и урађеног комплетног клиничког прегледа сваког пса већ имамо довољно сазнања на основу којих ћемо посумњати да се ради о бабезиози. Међутим, у нашој пракси смо често у ситуацији да зависно од стадијума болести немамо изражене све симптоме болести или, са друге стране, имамо већ веома изражено обољење са тешким стањима као што су хепаторенални, гастроинтестинални или церебрални синдроми. Инкубациони период бабезиозе траје од 4 до 8 дана, након чега долази до појаве првих симптома болести, повишене температуре 39–41°C, губитка апетита, малаксалости, успореног и отежаног кретања. Служница конјунктива паса у почетку је хеморагична, а касније иктерична. Блиједе су и служнице усне дупље, а

како болест одмиче, постају интензивно жуте (сл. 3). Палпацијом абдомена врло чест налаз је спленомегалија. Боја урина обољелих паса је интензивније жута до тамне боје због хемоглобинурије. Анална регија је запрљана жутиим изметом боје рђе, што клиничари често могу да виде у траговима на топлотјеру. Длака је наkostenијешена и без сјаја. Код оваквих стања постоје и коинцидентна стања када животиња болује од других болести, па је за диференцијалну дијагностику неопходно урадити хематолошке претраге. Зато од већине обољелих паса узимамо крв за додатне хематолошке анализе (таб. 2).

Код паса обољелих од бабезиозе установљено је да долази до леукопеније, тромбоцитопеније, пада концентрације хемоглобина, смањеног броја еритроцита, пада вриједности хематокрита. Промјењене су вриједности МСН (минимал-

ни корпускуларни хемоглобин), МСНС (минимална концентрација хемоглобина у еритроцитима), RDW (волумен и дист-

рибуција еритроцита) као и процентуални однос ћелија бијеле крвне лозе (Јездиминовић, Б. М., 2000; Taboada, J. М., 2000).

Табела 2. Приказ хематолошке анализе крви паса обољелих од бабезиозе

ПАРАМЕТРИ КРВИ	ДОБИЈЕНЕ ВРИЈЕДНОСТИ	РЕФЕРЕНТНЕ ВРИЈЕДНОСТИ
ЛЕУКОЦИТИ	5,6	6–12x10 ³
ЕРИТРОЦИТИ	2,78	5,40–8,50x10 ⁶
ХЕМОГЛОБИН	7,2	13–20 g/dl
ХЕМАТОКРИТ	21	37–57%
ТРОМБОЦИТИ	36	200–460x10 ³
МСН	20,9	17,0–23,0 pg
МСНС	28,9	31,0–36,0 g/dl
RDW	12,9	14,0–17,1%

У највећем броју случајева долази до леукопеније. Сматрамо да до тога долази због имуносупресивног дејства узрочника болести. Изузетно, леукопенија неће бити присутна уколико је организам већ раније оптерећен неким од упалних процеса (материце, коже, простате и др.), гдје ће резултат тих процеса бити леукоцитоза или чак физиолошки број леукоцита у крви. Сматрамо ово врло значајним због диференцијалне дијагнозе и праћења развоја болести, као и терапије. Пад броја еритроцита (еритропенија) изражајнији је како се болест развија, за разлику од ране фазе, када је у физиолошким границама. Концентрација хемоглобина је такође у сталном паду приликом развоја болести. MCV – просјечни волумен еритроцита у крви обољелих животиња у неким случајевима је нижи од физиолошког. МСНС – просјечна концентрација еритроцита код животиња које

су боловале од бабезиозе је смањена. Тромбоцитопенија је била изражена у 94% случајева, што се може сматрати поузданим знаком бабезиозе, уз остале симптоме на основу којих постављамо дијагнозу болести. На ово указује и параметар MPV – просјечни волумен тромбоцита, чија се вриједност мијења у крви обољелих паса. Еозинофилни гранулоцити су повишени, а крива на хемодијаграму ћелија бијеле крвне лозе је помјерена удесно, што значи да се у организму стварају млади леукоцити који улазе борбу са узрочником болести. Лимфоцити су у границама нормалних вриједности мјерени по милиметру кубном, док су процентуално заступљенији због пада броја леукоцита у укупној популацији ћелија бијеле крвне лозе.

Веома често долази до рецидива болести, односно исти симптоми се појаве

у периоду од 15 до 20 дана од почетка болести. Тада имамо поново исту клиничку слику, изјаву власника да његов љубимац носи ектоантипаразитик (огрлица, спот препарат) и да крпељи нису примијећени на животињи. Поново се дешавају промјене у крвној слици које такође одговарају појави ове опаке болести, због чега понављамо терапију. Ово се јавља због пада имунитета обољелог пса и остатка активних паразита у еритроцитима.

У терапији смо користили имидокарб дипропионат 6,6 мг на килограм тјелесне тежине, апликован мускуларно. Након његове апликације, због парасимпатикомиметичког дејства, редово долази до појачане саливације, повраћања, мучнине и дефекације. Употреба антибиотика има смисла због имуносупресивног дејства узрочника, а у потпорној терапији користили смо витамине Б-12, АД и комплекс витамина Б. Уколико су присутни симптоми едема плућа и слабости бубрега, корисно је давати кортикостероиде. Због поменутог рецидива болести, након 14 дана потребно је поновити апликацију имидокарбадипропионата обавезно. У периоду реконвалесценције треба контролисати крвну слику и посебно обратити пажњу на функционално стање бубрега јер се бубрежна инсуфицијенција често јави као компликација или посљедица овог обољења.

ЗАКЉУЧАК/ CONCLUSION

Бабезиоза је све присутније обољење паса на просторима Бање Луке и околине и треба дати што већи значај њеном сузбијању и едукацији власника о мје-

рама превентиве и заштите. У раду смо закључили да се повећава број обољелих животиња из године у годину, што је евидентирано у нашој амбуланти. То потврђује да климатски фактори и недостатак предатора крпељима условљава појаву болести. Превентива се састоји из уништавања вектора у спољној средини, употребом репелената који спречавају појаву крпеља на животињама, и редовним учесталим прегледом коже паса, нарочито послије шетње. Препорука власницима је да избјегавају мјеста на којима је већа могућност за инфестацију крпељима. Пракса наше амбуланте је давање имидокарбадипропионата превентивно псима који су изложени већем ризику уједа крпеља (ловачки пси, изложбе и смотре паса).

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Bedrica, L. J.; Harapin, D.; Sakar, D.; Grančar, I.; Kiš, D. (1998): *Liječenje babezioze pasa preparatom Oxopirvedine*. Veterinarski dani 98, Rovinj, Zbornik, 295–298.
2. Божић Татјана (2007): *Патолошка физиологија домаћих животиња*. Научна књига Београд.
3. Bus, H.; Caesar, Th.; Eckhardt, R.; Fischer, W.; Hartung, W.; Janssen, H.; Lasch, F.; Otto, W.; Remmele, E.; Schaefer, T. H.; Schondorf, H. J.; Stutte (1984): *Pathologie*. Springer-Lehrbuch, London.
4. Cleveland, C. W.; Peterson, D. S.; Latim, K. S. (2014): *An overview of canine babesiosis*. www.vet.uga.edu/CLERK.

5. Donald, M.; Mc Gavin, J.; Zachary, F. (2008): *Специјална ветеринарска патолоија*. Научна књига Београд.
6. Јездимировић Б., Миланка (2000): *Ветеринарска фармакологија*. Научна књига, Београд.
7. Malešević, M.; Ekert, M.; Mahnik, M.; Hajsig, D. (2005): *Babesia pasu*. Praxis veterinaria, 53 (1–2), 121–126.
8. Стојић Р., Велибор (1996): *Ветеринарска физиологија*. Научна књига Београд.
9. Taboada, J.; Mrchant, C. (2000): *Babesiosis of companion animals and man*. Small Anim Pract. 21, 103–123.
10. Шићалић, Слободан и Цветковић, Љубомир (1990): *Паразитске болести домаћих животиња*. Научна књига, Београд.



80 година

DOI: 10.7251/VETJ1401009H

UDK 636.7: 616.933

I. Hajzler,¹ N. Milčić Matic¹*Originalni rad***ISPITIVANJE VALIDNOSTI EMPIRIJSKOG TRETMANA
SUPERFICIJALNOG BAKTERIJSKOG FOLIKULITISA PASA****Kratak sadržaj**

Superficijalni bakterijski folikulitis predstavlja najčešću piodermiju pasa, i u najvećem broju slučajeva uzrokovana je gram-pozitivnom vrstom *Staphylococcus pseudintermedius*. Terapija ovog oboljenja obično obuhvata kombinaciju topikalne (antibakterijski šampon) i sistemske antibiotske terapije. Izbor antibiotika zavisi od mnogo faktora, pre svega da li se infekcija javlja prvi put ili je rekurentna, kao i od toga da li je fokalna ili generalizovana, površinska ili duboka. Najbolji je izbor antibiotika prema antibiogramu, ali kod nekomplikovanih superficijalnih infekcija možemo empirijski odabrati antibiotik. U našoj zemlji u skorije vreme nije rađena studija vezana za ispitivanje najčešćih uzročnika superficijalnih bakterijskih folikulitisa pasa, kao i njihove osetljivosti na određene antibiotike. U izvedenom ispitivanju, kod 87% pasa piodermiju su izazvali sojevi *Staphylococcus pseudintermedius* koji nisu pripadali kategoriji MRS, u 9% su izolovani sojevi meticilin-rezistentnih *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) i u 4% slučajeva (jedan soj) meticilin-rezistentan *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH). Svi sojevi (100%) *Staphylococcus pseudintermedius* koji nisu pripadali kategoriji MRSP bili su osetljivi na amoksisilin sa klavulanskom kiselinom, a 90% sojeva je bilo osetljivo na cefaleksin. Kod 80% ispitivanih sojeva, dokazana je osetljivost na gentamicin, 75% pokazalo je osetljivost na ciprofloksacin i enrofloksacin. Prema dobijenim rezultatima, prvi izbor u terapiji nekomplikovanih bakterijskih folikulitisa predstavljaju amoksisilin sa klavulanskom kiselinom i cefaleksin, koji su kod nas prisutni u vidu tableta i registrovani su za veterinarsku upotrebu.

Ključne reči: piodermija, folikulitis, stafilokoke, pas.

¹ Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Srbija.

Department for equids, carnivores, poultry and wild animal diseases, Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, Belgrade, Serbia.

E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: ninavet05@yahoo.com

I. Hajzler,¹ N. Milčić Matic¹

Original paper

EVALUATION OF EMPIRICAL TREATMENT OF DOGS WITH SUPERFICIAL BACTERIAL FOLLICULITIS

Abstract

Superficial bacterial folliculitis is the most common bacterial pyoderma of dogs, and in most cases is caused by the Gram-positive species *Staphylococcus pseudintermedius*. Treatment of this disease usually includes a combination of topical (antibacterial shampoo) and systemic antibiotic therapy. The choice of antibiotic depends on many factors, primarily if the infection occurs for the first time or it is recurring, and on whether it is focal or generalized, superficial or deep. The best choice of antibiotics is according to antibiogram but with uncomplicated superficial infections we can empirically select antibiotic. In our country, recently, have not been done studies regarding the most common causative agent of superficial bacterial folliculitis of dogs as well as their sensitivity to certain antibiotics. In the performed study 87% of dogs pyoderma was caused by strains of *Staphylococcus pseudintermedius* who did not belong to the category of MRS, 9% were strains of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) and in 4% (one strain) the causative agent was methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH). All strains (100%) of *Staphylococcus pseudintermedius* who did not belong to the category of MRSP were sensitive to amoxicillin with clavulanic acid, and 90% of tested strains were sensitive to cephalexin. With 80% of tested strains sensitivity to gentamicin has been proven, and 75% of tested strains have shown sensitivity to ciprofloxacin and enrofloxacin. According to the obtained results from this study the first choice in treatment of uncomplicated bacterial folliculitis are amoxicillin with clavulanic acid and cephalexin, which are present in our country in the form of tablets and are registered for veterinary use.

Key words: pyoderma, folliculitis, staphylococcae, dog.

UVOD/ INTRODUCTION

U dermatologiji, pod pojmom piodermije podrazumevamo gnojna bakterijska oboljenja kože i ona se ubrajaju u najčešća oboljenja kože pasa (Hill i sar., 2006). Primarni uzročnik piodermije pasa je *Staphylococcus pseudintermedius*, a pored njega u retkim slučajevima mogu se izolovati i *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus* ili u slučajevima sekundarne infekcije *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* i *Pseudomonas aeruginosa* (Zabel, 2011).

Staphylococcus pseudintermedius je prisutan u određenom procentu i na zdravoj koži većine pasa. Razlog ubrzanog razmnožavanja ove bakterije i kolonizacija kože je postojanje nekog bolesnog stanja koje dovodi do pada otpornosti kože, tako da možemo reći da su piodermije isključivo sekundarne bolesti i dodatna klinička manifestacija nekog već postojećeg oboljenja. Često se javljaju na mestu lokalne traume, ali i sekundarno, kod alergija, hormonskih disbalansa, infestacije ektoparazitima, seboreje i prilikom administracije imunosupresivne terapije (Popović i sar., 2003).

Piodermije se na osnovu dubine bakterijske infekcije klasifikuju na piodermije površina, superficijalne i duboke piodermije (Scott i sar., 2001). Piodermije površina i superficijalne piodermije su lokalizovane u epidermisu i epitelu dlačnih folikula, pri čemu ne dolazi do širenja infekcije u korijum, pa je bazalna membrana očuvana. To su eksudativne, površinske erozije koje karakteriše pojava papula, pustula, epidermalnih kolareta, uz često prisutan svrab. Duboke pioder-

mije su ozbiljne infekcije koje se spuštaju do dermisa, a često dopiru i do potkožnog tkiva.

Superficijalni bakterijski folikulitis predstavlja najčešću piodermiju pasa, gde dolazi do infekcije dlačnih folikula i u većini slučajeva prouzrokovao je vrstom *Staphylococcus pseudintermedius* (Devries i sar., 2005; Bannoehr i Guardabassi, 2012).

Osnovni simptom ovog oboljenja su male, upaljene pustule sa stablom dlake koja prominira iz njenog centra, koje je često teško pronaći jer lako prskaju, pogotovo ukoliko je prisutan svrab. Na mestu prsnute pustule nastaje krasta, najčešće zlatne boje. Od sekundarnih promena javljaju se epidermalne kolarete, hiperpigmentacija, ekzorijacija i opadanje dlake. "Bull's eye" lezije, koje se manifestuju fokalnom alopecijom, centralnom hiperpigmentacijom, epidermalnim kolaretama i eritematoznim oreolom su karakteristične kod hipersenzitivnosti na stafilokoke. Kod kratkodlakih pasa, prvi simptom superficijalnog folikulitisa je grupica spojenih dlaka uzdignutih iznad površine kože u inficiranim područjima, koja kasnije ispada iz folikula, pa se zapažaju mala, multipna bezdlačna područja zapaljene kože. U hroničnim slučajevima, alopecija zahvata veća područja, pa se uočava karakterističan izgled psa sa dlakom koju "kao da su pojeli moljci". Superficijalni folikulitis kod dugodlakih pasa se teže zapaža, pogotovo kada nema simptoma svraba. U početku se zapaža gubitak sjaja dlake u zahvaćenom području i pojačano linjanje. Kasnije je ljuspanje kože pojačano, zahvaćena dlaka ispada i uočavaju se karakteristične pustule.

Dijagnoza se postavlja na osnovu istorije bolesti, kliničke slike, mikroskopskog pregleda sadržaja papule ili pustule i histopatološkog pregleda inflamirane kože. U uzetom sadržaju mogu se naći kokoidne bakterije, neutrofili u različitim fazama sazrevanja i dokazi bakterijske fagocitoze. Histopatološki se zapaža eksudat pun neutrofilnih granulocita unutar dlačnog folikula, pri čemu bakterije mogu, ali i ne moraju biti prisutne.

Terapija superficijalnog bakterijskog folikulitisa obično obuhvata kombinaciju topikalne (antibakterijski šampon) i sistemske antibiotske terapije.

Za sistemsku antibiotsku terapiju bitni su izbor odgovarajućeg antibiotika, doza i dužina tretmana. Izbor antibiotika zavisi od mnogo faktora, pre svega od toga da li se infekcija javlja prvi put ili je rekurentna, kao i od toga da li je fokalna ili generalizovana, površinska ili duboka. Najbolji je izbor antibiotika prema antibiogramu, ali u pojedinim slučajevima možemo empirijski odabrati antibiotik. To se uglavnom radi kod nekomplikovanih superficijalnih infekcija, pogotovo u slučajevima superficijalnog bakterijskog folikulitisa. Kao što je napomenuto, najčešći uzročnik ovog oboljenja je *Staphylococcus pseudintermedius*, pa se u empirijskoj terapiji ovog oboljenja koriste antibiotici koji pokazuju visoku efikasnost za ovog uzročnika, i to cefadroksil, klindamicin, linkomicin, amoksicilin sa klavulanskom kiselinom i cefaleksin (Summers i sar., 2012). Nova ispitivanja koja se odnose na osetljivost *S. pseudintermedius* na nabrojane antibiotike ukazuju da ona dosta varira u različitim zemljama tokom

određenog vremenskog perioda (Authier i sar., 2006).

S obzirom na to da u našoj zemlji nije u skorije vreme rađena slična studija, cilj ovog rada je ispitivanje procentualne zastupljenosti *Staphylococcus pseudintermedius* u inflamiranoj koži pasa, kao i njegove osetljivosti na amoksicilin sa klavulanskom kiselinom i cefaleksin, koji se kod nas najčešće koriste prilikom empirijskog tretmana superficijalnog bakterijskog folikulitisa pasa.

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

U ispitivanju sprovedenom u periodu od decembra 2012. do marta 2013. godine u Ambulanti za kožne bolesti Klinike za bolesti malih životinja Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu, učestvovala su 23 psa kod kojih je kliničkim pregledom dijagnostikovao superficijalni bakterijski folikulitis. Od ovih pasa je uzet materijal za citološki pregled i mikrobiološku analizu. Materijal je uziman iz intaktne papule ili pustule. Pustula je otvarana sterilnom iglom, a materijal za citologiju je uziman otiskom mikroskopske pločice o promenjeno mesto na koži. Nakon toga, preparati su bojeni modifikovanom Wright metodom (Diff-Quick, Siemens Diff Quik Colour Kit) i odmah posmatrani pod mikroskopom (imerzioni objektiv, 100x).

Za mikrobiološke analize, uzimani su brisevi promenjenih delova kože. U tom cilju, korišćeni su sterilni brisevi (Spektar, Čačak) koji su potapani u transportni medijum (Port-A-Cul Tubes, Becton Dickinson) i u roku od 12h transportovani

do Katedre za mikrobiologiju Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu.

Brisevi su zasejavani na Columbia agar sa dodatkom 6% ovčije krvi (bioMerieux), MacConkey agar (Becton Dickinson), Sabouraud agar (Becton Dickinson) i hranljivi bujon (Becton Dickinson). Radi preliminarne identifikacije izolovanih mikroorganizama, korišćeni su plazma kunića (Veterinarski Zavod Zemun) i ONPG test (Biorad). Radi definitivne potvrde vrste izolovanog mikroorganizma, primenjeni su komercijalni identifikacioni sistemi BBL Crystal Gram positive ID Kit i API ID 32 Staph (bioMeriux).

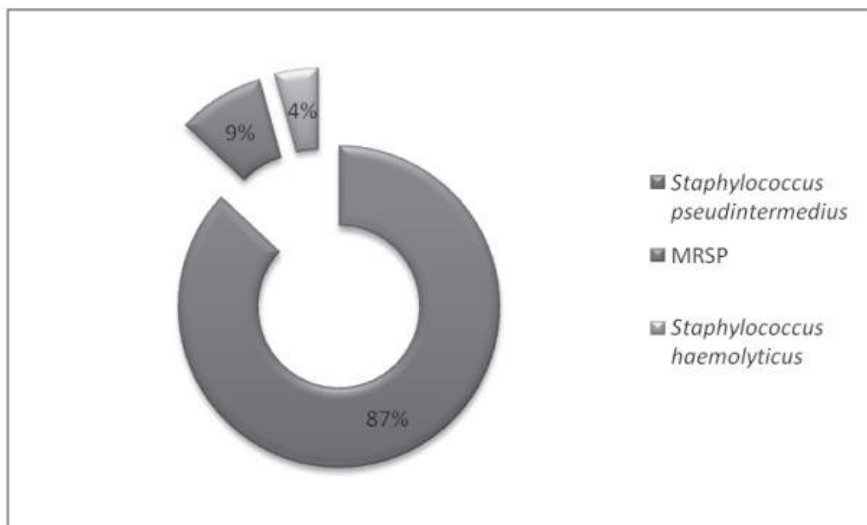
Za ispitivanje osetljivosti izolovanih bakterija na antibiotike upotrebljeni su Miler-Hinton agar (Becton Dickinson), kao i antibiogram diskovi istog proizvođača. Ispitivanje osetljivosti bakterija na antibiotike vršeno je primenom disk difuzije metode koja je izvođena na osnovu preporuka CLSI (Clinical and Laboratory

Standards Institute, USA, 2003), a očitavanje i interpretacija rezultata ovog dela ispitivanja vršeni su takođe na osnovu preporuka CLSI.

U cilju detekcije sojeva MRS (metiicilin rezistentne stafilokoke), korišćeni su antibiogram diskovi cefoksitina (30µg) i oksacilina (1µg). Za definitivnu potvrdu toga da se radi o sojevima MRS, primenjena je lateks-aglutinaciona metoda za otkrivanje PBP2A proteina (*penicillin binding protein 2A*) (MRSA Slidex kit).

REZULTATI/ RESULTS

U ispitivanju su učestvovala 23 psa sa kliničkim simptomima superficijalnog bakterijskog folikulitisa. Kod 20 pasa (87%), uzročnik piodermije je bio *Staphylococcus pseudintermedius*, u dva uzorka (9%) su izolovani sojevi metiicilin-rezistentnog *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP), dok je kod jednog psa nađen *Staphylococcus haemolyticus* (grafikon 1).



Grafikon 1. Procentualna zastupljenost uzročnika u uzorcima poreklom od obolelih pasa

Iz tabele 1. možemo videti da su svi sojevi *Staphylococcus pseudintermedius* koji ne pripadaju kategoriji MRS bili osetljivi na amoksicilin sa klavulanskom kiselinom, a 90% od ovih sojeva bilo je osetljivo

na cefaleksin. Kod 80% ispitanih sojeva dokazana je osetljivost na gentamicin, dok je 75% sojeva pokazalo osetljivost na ciprofloksacin i enrofloksacin.

Tabela 1. Osetljivost na antibiotike sojeva *Staphylococcus pseudintermedius* koji ne pripadaju kategoriji MRS

Naziv antibiotika	Procenat osetljivih sojeva
Amoksicilin sa klavulanskom kiselinom	100%
Cefaleksin	95%
Gentamicin	80%
Ciprofloksacin	75%
Enrofloksacin	75%
Fusidinska kiselina	55%
Hloramfenikol	50%
Tobramicin	50%
Sulfametoksazol+trimetoprim	40%
Klindamicin	35%
Amikacin	30%
Tetraciklin	25%
Eritromicin	20%
Ceftriakson	20%
Azitromicin	10%
Neomicin	10%

Kako je već navedeno, iz dva uzorka briseva bili su izolovani meticilin-rezistentni sojevi *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP). Sojevi MRSP bili su rezistentni na sve peniciline (uključujući i amoksicilin sa klavulanskom kiselinom), kao i na cefalosporine, i za potrebe nalaženja odgovarajućeg antibiotika za lečenje ovih pasa, lista antibiotika koji su ušli u ispitivanje bila je proširena. Oba izolovana soja MRSP bila su osetljiva na rifampicin, vankomicin, nitrofurantoin, amikacin i florfenikol.

Izolovani soj *Streptococcus haemolyticus* takođe je pripadao grupi meticilin-rezistentnih stafilokoka (MRSH) i bio je rezistentan na većinu ispitanih antibiotika, uključujući peniciline i cefalosporine, ali je pokazao osetljivost na klindamicin.

DISKUSIJA/ DISCUSSION

Prema dobijenim rezultatima, preko 90% superficijalnog bakterijskog folikulitisa pasa je uzrokovano gram-pozitivnom vrstom *Staphylococcus pseudintermedius*. Kod većine pasa, ova vrsta predstavlja

deo normalne mikroflore i ne dovodi do kliničkih simptoma. Usled promena u mikroklimatu kože, kao i imunološkog statusa domaćina, omogućena je adhezija bakterija na ćelije kože, što predstavlja prvi korak u patogenezi bakterijske infekcije. Kada je kontinuitet kože ili sluzokože jednom narušen, stafilokoke postaju visoko patogene i svojim enzima i toksinima mogu dovesti do znatnih oštećenja tkiva (Bannoehr i Guardabassi, 2012). Kod pasa, *stratum corneum* je znatno tanji i kompaktniji nego kod ljudi i drugih životinjskih vrsta, a takođe postoji i manja količina intercelularne emulzije. Infundibulum dlačnog folikula psa je otvoren i nedostaje mu lojni čep, što u kombinaciji sa prisustvom velikog broja bakterija na koži psa čini predisponirajuće faktore za nastanak piodermija (Ihrke, 2005).

Za uspešnu terapiju ovog oboljenja neophodno je pre svega definisati primarni uzrok nastanka piodermija, a zatim primeniti adekvatnu antibiotsku terapiju. Kao što je već napomenuto, izbor antibiotika zavisi od mnogo faktora: tipa i rasprostranjenosti infekcije, načina i frekvencija aplikovanja, kao i od same cene antibiotika. Nije uvek neophodno uraditi mikrobiološko ispitivanje i proveriti osetljivost uzročnika, već je moguće osloniti se na citološki pregled i empirijsku terapiju. To se najčešće radi u slučajevima kada infekcija ne ugrožava život, prvi put se javlja infekcija kože, ako promene koje su se pojavile odgovaraju površinskoj piodermiji i ako je citološkim pregledom postavljena sumnja na infekciju stafilokokama.

Prema navodima iz literature, prilikom empirijske terapije najčešće se koriste sledeći antibiotici: cefaleksin, amoksicilin sa klavulanskom kiselinom, klindamicin i linkomicin (Summers i sar., 2012), od kojih linkomicin u tabletama nije dostupan pa nije ni uvršćen u antibiogram.

Prema dobijenim rezultatima, amoksicilin sa klavulanskom kiselinom predstavlja najbolji izbor u lečenju superficijalnog bakterijskog folikulitisa, jer su ispitivani sojevi pokazali 100% osetljivost na ovaj antibiotik, što je u saglasnosti sa rezultatima ispitivanja Littlewood i sar. (1999). Baktericidno dejstvo β -laktamskih antibiotika, kao što je amoksicilin, realizuje se kroz blokadu sinteze ćelijskog zida bakterija. Neke bakterije proizvode β -laktamaze, enzime koji inaktiviraju β -laktamske antibiotike. Klavulanska kiselina, koju stvara *Streptomyces clavuligenus*, slične je hemijske strukture kao β -laktamski antibiotici, ali se ireverzibilno vezuje sa β -laktamazama, čime bakterija postaje osetljiva na dejstvo β -laktamskih antibiotika. Amoksicilin sa klavulanskom kiselinom se primenjuje u dozama od 12,5 do 25 mg/kg svakih 12 sati peroralno (Lloyd i sar., 1997).

Cefaleksin se ubraja u prvu generaciju cefalosporina i rezistentan je na stafilokoknu β -laktamazu. Deluje tako što sprečava stvaranje ćelijskog zida bakterije i tako dovodi do uništenja bakterije. U zidu bakterije postoje posebni proteini za vezivanje cefalosporina, i tim vezivanjem dolazi do inhibicije reakcija transpeptidacije, pa se time zaustavlja sinteza peptidoglikana, esencijalne komponente za ćelijski zid bakterije. Posle toga, dolazi do

inaktivacije inhibitora autolitičkih enzima u zidu bakterije ćelije. Nakon ova dva procesa, dolazi do kompletne lize bakterije. U dobijenim rezultatima, osetljivost ispitanih sojeva stafilocoka na cefaleksin je bila 95%, što je u saglasnosti sa već objavljenim rezultatima (Stegemann i sar., 2007; Six i sar., 2008). Cefaleksin se primenjuje u dozama od 22 do 30mg/kg svakih 12h ili u dozi od 30 do 40 mg svaka 24 h peroralno (Toma i sar., 2008).

Prema literaturnim podacima, klindamicin predstavlja dobar izbor u empirijskoj terapiji superficijalnih bakterijskih folikulitisa (Bloom i Rosser, 2001). Klindamicin se ubraja u grupu linkozamida koji su hlorovani derivati prirodnog antibiotika linkomicina izolovanog iz soja streptomiceta. Posle peroralne primene, 90% se resorbuje iz digestivnog trakta i deluje bakteriostatski, vezujući se za bakterijski ribozom i inhibišući sintezu proteina. Prema dobijenim rezultatima, zbog slabe osetljivosti *Staphylococcus pseudintermedius* (35%), klindamicin ne predstavlja dobar izbor u empirijskoj terapiji superficijalnih bakterijskih folikulitisa.

Gentamicin je aminoglikozidni antibiotik koji se usled slabe resorpcije peroralnom primenom mora primenjivati putem injekcija. Svoje baktericidno dejstvo ispoljava vezivanjem za bakterijske ribosome i inhibisanjem sinteze proteina bakterija. Ukoliko se primenjuje kod starih životinja, životinja sa povišenom telesnom temperaturom, kao i nakon primene duže od sedam dana, može ispoljiti nefrotoksične i ototoksične efekte, zbog čega ne predstavlja prvi lek izbora kod superficijalnih bakterijskih piodermija

iaako je osetljivost stafilocoka na njega dobijena ovim ispitivanjem iznosila 80% (Jezdimirovic, 2010).

Prema dobijenim rezultatima, *Staphylococcus pseudintermedius* pokazuje visoku osetljivost na fluorohinolone (ciprofloksacin 75%, enrofloksacin 75%). Fluorohinoloni su relativno novi antibiotici širokog spektra delovanja, koje bi trebalo koristiti samo u slučajevima ozbiljnih, dubokih, rekurentnih piodermija, kada nijedan drugi antibiotik ne pomaže i ne koristiti ih kao prvi izbor u terapiji superficijalnih folikulitisa zbog razvoja rezistencije (Scott i sar., 2006).

Fusidinska kiselina je lipofilni steroidni antibiotik dobijen iz gljivice *Fusidium coccineum*, koji svoje dejstvo ispoljava inhibicijom sinteze proteina bakterija. Uprkos visokom procentu osetljivosti dobijenom u ovom ispitivanju (55%), ovaj antibiotik se koristi isključivo za lokalnu terapiju (Ćupić, 2007).

Ostali ispitivani antibiotici su zastupljeni u manjem procentu pa ne predstavljaju dobar izbor u terapiji superficijalnog bakterijskog folikulitisa uzrokovanog *Staphylococcus pseudintermedius*.

Meticilin-rezistentni *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) karakteriše prisustvo *mecA* gena, koji kodira proizvodnju penicilin-vezujućih proteina sa slabim afinitetom za peniciline (PBP2 α). Ovaj izmenjeni protein omogućava rezistenciju prema svim β -laktamskim antibioticima, fluorohinolonima, tetraciklinima, makrolidima (Frank i Loeffler, 2012). Sa porastom učestalosti piodermija pasa koje su uzrokovane sojevima MRSP, terapija

ovih slučajeva postaje sve veći izazov. U ispitivanjima Brayan i sar. (2012), neki sojevi MRSP su pokazali osetljivost na hloramfenikol, amikacin i rifamicin, pri čemu je hloramfenikol lek izbora, što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovom ispitivanju.

ZAKLJUČAK/ CONCLUSION

Kod terapije nekomplikovanih superficijalnih bakterijskih folikulitisa, možemo se osloniti na empiriju i bez izrade antibiograma, koji predstavlja dodatni trošak za vlasnika, i prepisati dva antibiotika koja su kod nas registrovana za veterinarsku upotrebu – amoksicilin sa klavulanskom kiselinom i cefaleksin. Kontinuirano istraživanje i sveobuhvatna terapija ovih infekcija je neophodna od strane veterinara u cilju uspešnog lečenja bolesnih životinja i sprečavanja širenja visoko rezistentnih sojeva ovog patogena.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Arestrup, F. (2006): *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*, ASM Press, Washington DC, USA, 442 pp.
2. Authier, S.; Paquette, D.; Labrecque, O.; Messier, S. (2006): *Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in: Canada between 2 time points 10 years apart*, Canadian Veterinary Journal 47: 774–778.
3. Bannoehr, J.; Guardabassi, L. (2012): *Staphylococcus pseudintermedius in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity*, Veterinary Dermatology 23: 253–e52.
4. Bloom, P. B.; Rosser, E. J. (2001): *Efficiency of once-daily clindamycin hydrochloride in the treatment of superficial bacterial pyoderma in dogs*, Journal of American Animal Hospital Association 37: 537–542.
5. Bryan, J.; Frank, L. A.; Rohrbach, B. W.; Burgette, L. J.; Cain, C. L.; Bemis, D. (2012): *Treatment outcome of dogs with meticillin-resistant and meticillin-susceptible Staphylococcus pseudintermedius pyoderma*, Veterinary Dermatology 23: 361–e65.
6. Ćupić, V.; Muminović, M.; Kobal, S.; Velez, R. (2007): *Farmakologija za studente veterinarske medicine*, Heleta, 816 pp.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (2003): *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*; Approved standard – 6th edition. M7–A6, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, p. 14–25.
8. Devriese, L. A.; Vancanneyt, M.; Baete M.; Vanechoutte, M.; DeGraef, E.; Snauwaert, C.; Cleenwerck, I.; Dawyndt, P.; Swings, J.; Decostere, A.; i Haesebrouck, F. (2005): *Staphylococcus pseudintermedius sp nov, a coagulase-positive species from animals*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55: 1569–1573.
9. Frank, L. A.; Loeffler, A. (2012): *Meticillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius: clinical challenge and treatment options*, Veterinary Dermatology 23: 283–291.

10. Hill, P. B.; Lo, A.; Eden, C. A.; Huntley, S.; Morey, V.; Ramsey, S.; Richardson, C.; Smith, D. J.; Sutton, C.; Taylor, M. D.; Thorpe, E.; Tidmarsh, R.; Williams, V. (2006): *Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice*, Veterinary Record 22: 533–539.
11. Ihrke, P. (2005): *Bacterial skin disease in the dog a guide to canine pyoderma*, Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference, 274–275.
12. Isenberg, H. D. (2004): *Antimicrobial susceptibility testing* In: H.D. Isenberg (Ed.), *Clinical Microbiology Procedures Handbook Vol.2*. American Society for Microbiology Press, Washington DC, USA, 5.0.1.–5.15.1.
13. Jezdimirović, M. (2010): *Veterinarska farmakologija*, Kultura, Beograd, 597 pp.
14. Littlewood, J. D.; Lakhani, K. H.; Patterson, S. (1999): *Clindamycin hydrochloride and clavulanate-amoxycillin in the treatment of canine superficial pyoderma*, Veterinary Record 144: 662–665.
15. Lloyd, D. H.; Carlotti, D. N.; Koch, H. J.; Van den Broek, A. H. (1997): *Treatment of canine pyoderma with co-amoxyclav: a comparison of two dose rates*, Veterinary Record, 141, 439–441.
16. Popović, N.; Lazarević, M. (2003): *Bolesti kože malih životinja*, prvo izdanje, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 330 pp.
17. Popovic, N.; Ilic, V.; Stepanovic, P. (2003): *Piodermije pasa*, Zbornik radova, V savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja *Clinica veterinaria*, 77–86.
18. Scott, D. W.; Miller, W. H.; Griffin, C. E. (2001): *Bacterial skin infections* In: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology, 6th edition, W. B. Saunders, pp. 274–335.
19. Scott, D. W.; Miller, W. H.; Griffin, C. E. (2001): *Diagnostic methods* In: Muller and Kirks Small Animal Dermatology, 6th edition, WB Saunders, pp. 71–206.
20. Scott, D.W.; Peters, J.; Miller, W. H. (2006): *Efficacy of orbifloxacin tablets for the treatment of superficial and deep pyoderma due to Staphylococcus intermedius infection in dogs*, Canine Veterinary Journal, 47, 999–1002.
21. Six, R.; Cherni, J.; Chesebrough, R. et al. (2008): *Efficacy and safety of ceftiofur in treating bacterial folliculitis, abscesses, or infected wounds in dogs*, Journal of American Veterinary Medical Association 233: 433–439.
22. Stegemann, M. R.; Coati, N.; Passmore, C. A. (2007): *Clinical efficacy and safety of ceftiofur in the treatment of canine pyoderma and wound infections*, Journal of Small Animal Practice 48: 378–386.
23. Summers, J.; Brodbelt, D.; Forsythe, P.; Loeffler, A.; Hendricks, A. (2012): *The effectiveness of systemic antimicrobial treatment in canine superficial and deep pyoderma: a systematic review*.

- Veterinary Dermatology 23: 305–e61.
24. Toma, S.; Colombo, S.; Corneigliani, L.; Persico, P.; Galzerano, M.; Gianino, M. M.; Noli, C. (2008): *Efficacy and tolerability of once-daily cephalexin in canine superficial pyoderma: an open controlled study*, Journal of Small Animal Practice 49: 384–391.
25. Quinn, P. J.; Markey, B. K.; Carter, M. E.; Donnelly, W. J. C.; Leonard, F. C.; Maguire, D. (2002): *Veterinary microbiology and microbial disease*, 1st edition, Blackwell Science, UK, 648 pp.
26. Zabel, S. (2011): *Bacterial pyoderma*, Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress, 301–304.



1934–2014

DOI: 10.7251/VETJ1401010P

UDK 615.277.033:537.531

S. Paraš,¹ M. Manojlović, G. Paraš²

Originalni rad

UTICAJ ELEKTROMAGNETNOG ZRAČENJA NA MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE ENDOKRINO PANKREASA PACOVA WISTAR SOJA

Kratak sadržaj

Ispitivanje sprovedeno u ovom radu ima za cilj da odredi da li postoji uticaj elektromagnetnih polja tačno određenih karakteristika na endokrini pankreas. Posebna pažnja u esperimentu je usmerena na vrste ćelija koje grade endokrini pankreas, pošto je svaka vrsta spomenutih ćelija dala specifičan odgovor na delovanje pomenutih polja. Eksperimentalne životinje su bile mužjaci pacova soja *Wistar* i izlagane su u elektromagnetnom polju frekvencije od 50 Hz, indukcije od 500 μ T i jačine od 10 V/m, u trajanju od pet meseci. Posle žrtvovanja, pankreasi pacova su provedeni kroz standardnu proceduru za svetlosnu mikroskopiju i DAKO/LSAB⁺HRP imunocitohemijsku metodu za svaki tip ćelija. Za prikazivanje rezultata i izvođenje zaključaka primenjene su stereološke analize, a statistička značajnost razlika je procenjivana analizom varijanse za jedno obeležje (ANOVA). Značajnost razlika aritmetičkih sredina između grupa procenjivana je Tukeyovim testom. Rezultati u našem radu su pokazali da veštačka elektromagnetna polja imaju uticaj na rad endokrinog pankreasa kod pacova *Wistar* soja.

Ključne reči: pankreas, elektromagnetna polja, alfa i beta ćelije.

-
- 1 Prirodno-matematički fakultet u Banjoj Luci, Univerzitet Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina.
Faculty of Science, University in Banja Luka, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.
 - 2 Veterinarska ambulanta "MIMCOOP", Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina.
Veterinary Clinic "MIMCOOP" Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina.
E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: srpskiitebej@gmail.com

S. Paraš,¹ M. Manojlović,¹ G. Paraš²

Original paper

EFFECTS OF THE ELECTROMAGNETIC RADIATION TO MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ENDOCRINE PANCREAS IN WISTAR SPP. RAT

Abstract

The trial conducted in this study aimed to determine whether there was an influence of the electromagnetic fields of precisely determined characteristics to the endocrine pancreas. A special notice in the experiment was given to the types of cells that forms the endocrine pancreas, because each type of the given cells gave a specific response to the effect of the electromagnetic fields. The experimental animals were rat males of the Wistar spp. and were submitted to the electromagnetic field of 50Hz frequency, 500 μ T induction and 10 V/m of intensity in the period of five months. After scarifising, pancreases of the rats were submitted to the standard procedure for the light microscopy and DAKO/LSAB+HRP immunocytochemical method for each type of the cells. For presentation of the results and conclusions the stereological analyses were performed, while statistical significance of the differences was estimated by analyzing variable for one characteristic (ANOVA). The significance of differences in arithmetic means between the groups was estimated by Tukey's test. Results of our study showed that electromagnetic fields have effects on the endocrine pancreas in Wistar spp. rats.

Key words: pancreas, electromagnetic fields, alpha and beta cells.

UVOD/ INTRODUCTION

Istraživanja zasnovana na uticaju elektromagnetnih polja različitih karakteristika na organske sisteme daju veoma raznolike i kontradiktorne rezultate. Mnogobrojni naučni radovi ukazuju na negativan uticaj elektromagnetnih polja na žive organizme u isto vreme kada se ova polja koriste u dijagnostičke i tera-

pijske svrhe lečenja obolelih. Savremene bolnice i banje koriste elektromagnetna polja u lečenju oboljenja i oštećenja pankreasa (Adey i Pettis, 1997). Ova problematika se usložnjava činjenicom da je savremeni čovek okružen životnim prostorom koji je sve više zasićen veštačkim elektromagnetnim poljima. Urbanizacija i boravak ljudi u radnom okruženju koje je neprestano pod uticajem spomenutih

polja izaziva mnoge bolesti savremenog čoveka, a među njima i dijabetes (Lowerth i Morgan, 1998; Matthes, 2005).

Prvi koraci u morfološkoj i biohemij-skoj oceni endokrinog pankreasa pacova na elektromagnetna polja dati su u radovima u kojima su opisane promene nastale jednokratnim delovanjem promenljivog elektromagnetnog polja jačine 200mT i frekvencije 50 Hz u vremenskom intervalu od 6,5 ili 24 časa. Promene koje nestaju na endokrinom pankreasu su poremećaji hemodinamike u organu, destrukcija Langerhansovih ostrvaca, i to u prvom redu beta ćelija (Orci i sar., 1987).

Najistraženije i najinteresantnije ćelije endokrinog pankreasa u odnosu na uticaj elektromagnetnih polja su beta ćelije. *In vivo* eksperimenti na pankreasnim beta ćelijama omogućili su ispitivanje mehanizama ekspresije gena odgovornih za sazrevanje, formiranje i održavanje ovih ćelija u odnosu na spoljašnje faktore (Bani-Sacchi i Bani, 1985). Elektromagnetna polja koja su prisutna u urbanim sredinama, frekvencije od 50 do 60 Hz, kojima su ljudi okruženi svakodnevno, mogla bi biti jedan od uzroka koji dovode do sve većeg broja obolelih od dijabetesa (Yamaguchi i sar., 2001).

Promenljiva magnetna polja pri dužem i više puta ponovljenom delovanju izazivaju kod pacova hiperglikemiju i smanjenje količine insulina u krvi (Parkinson, 1984; Preece i sar., 2000). Višegodišnja ispitivanja uticaja elektromagnetnog polja na sekreciju insulina u krvi pri oralnom opterećenju životinja glukozom dala su rezultate o osetljivosti sekrecije insulina u odnosu na polja.

Pacovi su izlagani elektromagnetnim poljima jačine 20 mT i frekvencije 50 Hz ukupno pet puta po 6,5 časova. Detaljna obrada rezultata je pokazala da je lučenje insulina u intervalu od nula do dvadeset minuta signifikantno veće kod životinja izlaganih elektromagnetnim poljima nego kod kontrolnih (Parkinson, 1984; Preece i sar., 2000).

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Ispitivanje uticaja ENF-EMP-a na endokrini pankreas izvršeno je na mužjacima pacova soja Wistar. Životinje su bile podeljene u dve grupe: kontrolna grupa je imala deset životinja, dok je grupa izlagana EMZ-u imala devet životinja. Uslovi smeštaja za obe grupe životinja su bili isti, što znači da su sve životinje bile podvrgnute prirodnom dnevno-noćnom ritmu svetlosti i mraka i temperaturi vazduha od oko 22°C. Obe grupe životinja su hranjene standardnom peletiranom hranom za laboratorijske životinje, a vodu, koja je bila istog kvaliteta za obe grupe, uzimale su po potrebi. Tokom eksperimenta, životinje su bile smeštene po pet ili šest u jednom kavezu. Kontrolne životinje su držane u odvojenoj prostoriji, gde nije bilo nikakve mogućnosti da budu izložene uticaju elektromagnetnog polja korišćenog u eksperimentu. Izlaganje oglednih životinja elektromagnetnom polju počelo je 24 h nakon koćenja i trajalo je pet meseci. Životinje su izlagane sve u isto vreme elektromagnetnom polju sedam sati dnevno, pet dana u nedelji, s tim što su prvih nekoliko nedelja mladunci bili u poljima zajedno sa majkama. Nakon prestanka sisanja, pacovi muškog

pola su odvajani od majki i mladunaca ženskog pola i sa njima je postupak nastavljen istom dinamikom do starosti od pet meseci. Aparaturu pomoću koje je dobijeno elektromagnetno polje sačinjavao je kalem od žice debljine 2,5 mm namotane u 1320 namotaja na drvene ramove (Fabrika električnih namotaja „Novkabel“, Novi Sad, Srbija).

Disekcijom svih 19 životinja izvađeni su pankreasi i stavljeni u Bouinov rastvor. Fiksacija je trajala 48 sati, posle čega su pankreasi ispirani u 70% etanolu sa dodatkom joda, a zatim su prosleđeni kroz standardnu proceduru pripreme histoloških preparata za svetlosnu mikroskopiju. Najveći broj rezova, po 30 od svake životinja, bojili smo standardnom metodom hematoksilin-eozin i montirali u kanada balzamu. Manji broj rezova, po 10 rezova od svake životinje, bojili smo specijalnom trihromnom histohemijskom metodom Viktorija plavo 8GX-floksin-svetlozeleno za specifično prikazivanje pankreasnih ostrvaca i veziva. Takođe, manji broj rezova (po 10 rezova od svake životinje) bojili

smo metodom Mallory-Azan i Masson metodom zbog diferencijacije veziva, što nam je omogućilo da odredimo volumenske gustine veziva i kapilara Langerhansovih ostrvaca, kao i odnos egzokrinog i endokrinog pankreasa. Isti broj rezova bojen je imunocitohemijskom metodom za vizuelizaciju alfa, beta, D-ćelija i PP-ćelija endokrinog pankreasa, i to DAKO LSAB+/HRP tehnikom. Stereološka analiza strukturno-funkcionalne jedinice endokrinog pankreasa (Langerhansovo ostrvce) vršena je upotrebom Weibelovog mnogonamenskog testnog sistema sa 42 testne tačke i 21 testnom linijom.

РЕЗУЛТАТИ/ RESULTS

Iz tabele br. 1. vidi se da je volumenska gustina endokrinog pankreasa kod zračene grupe životinja smanjena u odnosu na kontrolnu grupu životinja. Ovo smanjenje je uslovljeno uvećanjem volumenskih gustina kapilara i veziva unutar i oko ostrvca zračene grupe životinja, kao i volumenskih gustina egzokrinog pankreasa.

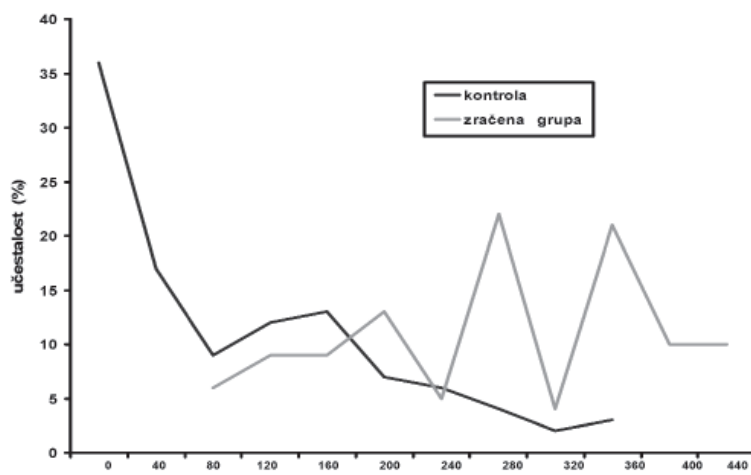
Tabela 1. Pregled svih vrednosti stereoloških parametara za pankreasna ostrvca kontrolne grupe životinja i zračene grupe životinja

	Kontrola	Zračena grupa	Značajnost	
			F-test	p
Volumenska gustina endokrinog pankreasa	0,008	0,007	8,91	<0,01
Volumenska gustina egzokrinog pankreasa	0,992	0,993	4,46	<0,05
Volumenska gustina ostrvaca	0,79	0,74	46,29	<0,001
Volumenska gustina kapilara	0,16	0,19	39,01	<0,001

Volumenska gustina veziva	0,05	0,07	50,79	<0,001
Broj ostrvaca	21,4	9,6	570,4	<0,001
Dijametar ostrvaca (μm)	136 ± 1,21	248 ± 35,02	11,22	<0,001
Numerička gustina ostrvaca	0,862 ± 0,044	0,803 ± 0,024	26,29	<0,001

U našem ispitivanju pratili smo promene u vezivnom tkivu koje se nalazi u ostrvcima i oko ostrvaca i na kapilarnoj mreži u ostrvcima u odnosu na ostale ćelije endokrinog pankreasa. Volumenska zapremina veziva zračene grupe životinja bila je veća (0,07) u odnosu na kontrolnu grupu (0,05). Prostor između beta i ne-beta ćelija Langerhansovih ostrvaca, kao i prostor na periferiji istog ostrva ispunjen je vezivnim tkivom koje ima povećanu ukupnu zapreminu kod životinja koje su zračene u elektromagnetnom polju. Primećeno je, takođe, i povećanje vezivnog tkiva oko većih krvnih sudova i nervnih vlakana u egzokrinom pankreasu zračenih životinja. Citološke promene konstati-

tivnih elemenata vezivnog tkiva nisu zapažene. U našem radu smo ustanovili da je došlo do smanjenja broja ostrvaca na preseku pankreasa kod životinja koje su boravile u elektromagnetnom polju u odnosu na kontrolnu grupu. Prosečan broj Langerhansovih ostrvaca po preseku za kontrolnu grupu životinja je bio 21,4, a za grupu životinja koje su boravile u polju bio je 9,6. U kontrolnoj grupi životinja, dijametar Langerhansovih ostrvaca je bio između 30 i 350 μm. Najbrojnija ostrvca su nađena u rasponu između 40 i 80 μm. Kod zračene grupe životinja, distribucija ostrvaca različitih dijametara je značajno promenjena, što je prikazano na grafikonu br. 1.

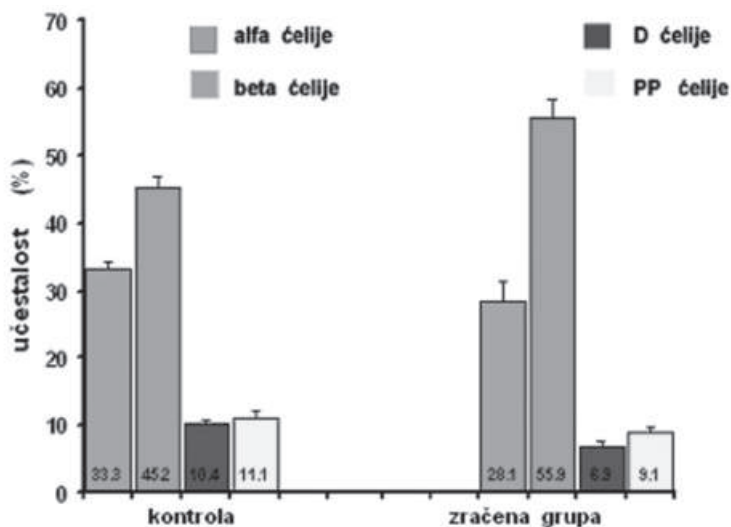


Grafikon 1. Procentualna zastupljenost ostrvaca različitih dijametara kontrolne i zračene grupe životinja

Tako je u našem ispitivanju pronađeno da su kod životinja koje su izlagane elektromagnetnom polju najbrojnija bila ostrvca dijametara između 280 i 320 μm . Srednja vrednost dijametara Langerhansovih ostrvaca kod zračene grupe je 248 μm , a kontrolne grupe životinja 136 μm . Elektromagnetno polje izazvalo je značajno uvećanje srednjih dijametara ostrvaca i to uvećanje je bilo direktno zavisno od jačine elektromagnetnog polja. Svi rezultati posmatranih parametara su imali pokazanu statističku značajnost između kontrolne grupe i zračene grupe životinja.

Imunocitohemijska bojenja na insulin, glukagon, somatostatin i pankreasni polipeptid pokazala su distribuciju i broj pojedinih endokrinih ćelija u ostrvcima kontrolne i zračene grupe životinja. Ovim bojenjem je bilo omogućeno da se sagleda učestalost pojedinih tipova endokrinih ćelija u ukupnom broju endokrinih ćelija

unutar ostrvca. Dobijeni rezultati (grafikon 2) za procentualno učešće broja pojedinih endokrinih ćelija pokazuju da je postojala tendencija smanjenja učestalosti α -ćelija u ukupnom broju ćelija ostrvaca kod životinja koje su bile u elektromagnetnom polju u odnosu na kontrolu. Rezultati tendencije smanjenja učestalosti α -ćelija ne pokazuju statističku značajnost. Ispitivanja su pokazala da je površina alfa ćelija bila uvećana zbog dejstva elektromagnetnog zračenja i da je ovo uvećanje bilo statistički značajno (grafikon 1) u odnosu na kontrolnu grupu. Dobijeni rezultati pokazuju da je značajno uvećano procentualno učešće broja beta ćelija u ukupnom broju ostrvskih ćelija kod zračene grupe životinja u odnosu na kontrolnu grupu životinja. Ovo uvećanje procentalnog učešća broja beta ćelija je statistički značajno, što je utvrđeno analizom varijanse za jedno obeležje.



Grafikon 2. Procentualno učešće broja pojedinih endokrinih ćelija u ukupnom broju ostrvskih ćelija kontrolne i ozračene grupe životinja

Procentualno učešće D-ćelija u ukupnom broju endokrinih ćelija ostrvaca (grafikon 2) značajno je smanjeno kod Langerhansovih ostrvaca koja su bila u elektromagnetnom polju u odnosu na kontrolnu grupu. Značajno smanjenje procentualnog učešća broja PP-ćelija kod zračene grupe životinja u odnosu na kontrolnu grupu pokazano je takođe u grafikonu br. 2. Ovo smanjenje procentualnog učešća broja PP-ćelija u odnosu na ukupan broj ostrvskih ćelija nije statistički značajno.

DISKUSIJA I ZAKLJUČCI/ DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Cilj naših istraživanja je bio da se ispituju isključivo histološke karakteristike endokrinog pankreasa i ćelija koje izgrađuju ostrvca, kako bi se razjasnili mogući uzroci poremećaja nivoa glukoze i insulina u krvi koje su raniji autori našli posle dugotrajnog izlaganja životinja elektromagnetnom zračenju (Matthes, 2005). Stoga su, po prvi put, u ovom radu, primenjene stereološke i različite histohemijske metode i imunohistohemija.

Rezultati istraživanja su pokazali da se pod uticajem elektromagnetnog zračenja egzokrina komponenta pankreasa uvećala usled uvećanja vezivnog tkiva između acinusa i kanala, kao i oko Langerhansovih ostrvaca. Uvećanje vezivne komponente u tkivima i organima pod uticajem elektromagnetnog zračenja, kao i povećanje mitoze ćelija vezivnog tkiva nađeni su i u drugim radovima (Parkinson, 1984; Preece i sar., 2000).

Dugotrajno izlaganje pacova elektromagnetnim poljima izazvalo je smanjenje

volumenske gustine endokrinog pankreasa, što je direktno rezultat smanjenja broja ostrvaca. To se odrazilo i na numeričku gustinu, koja je takođe bila smanjena kod zračene grupe pacova u odnosu na kontrolnu. Za razliku od broja ostrvaca, koji se smanjivao kod životinja koje su boravile u elektromagnetnom polju, veličina ostrvaca se povećavala kod iste grupe životinja. Veličina ostrvaca najverovatnije kompenzuje smanjenje broja ostrvaca i smanjenje numeričke gustine ostrvaca. Životinje koje su boravile u elektromagnetnom polju imale su uvećane i dilatirane krvne sudove u obe pankreasne komponente. Time je pokazan direktan uticaj elektromagnetnih polja na krvne sudove, a slični rezultati su nađeni i kod drugih autora (Ravnborg i sar., 1990; Mohd, 2003).

Veličina i distribucija ostrvaca je značajno bila izmenjena posle dugotrajnog delovanja elektromagnetnog zračenja. Kod kontrolne grupe, najbrojnija ostrvca su nađena u rasponu između 40 i 80 μm , dok su najbrojnija ostrvca kod životinja koje su boravile u elektromagnetnom polju bila od 280 do 320 μm . Izuzetno velika ostrvca, preko 800 μm , za koja se pretpostavlja da su nastala fuzijom većeg broja manjih ostrvaca (Bonner-Weir i Orci, 1982) pronađena su kod grupe životinja koje su zračene u elektromagnetnom polju, dok kod kontrolne nisu. Objašnjenje uvećanja volumena ostrvaca pod dejstvom elektromagnetnog zračenja, što je nađeno i u ovom eksperimentu, verovatno je grupisanje i spajanje malih ostrvaca. Na mogućnost spajanja pankreasnih ostrvaca u gigantska ukazali su ranije Bonner-Weir i Orci (1982).

Beta ćelije nisu pokazale razliku između kontrolne i zračene grupe u pogledu volumenskih gustina, ali se njihov broj značajno uvećao kod zračenih životinja. Procentualno učešće beta ćelija u ukupnom broju ćelija ostrvaca bilo je povećano kod zračene grupe životinja u odnosu na kontrolnu. Istovremeno je nađeno smanjenje površina beta ćelija kod životinja koje su boravile u elektromagnetnom polju u odnosu na kontrolu. Pokazano je da nove beta ćelije mogu nastati transformacijom acinusnih ili centroacinusnih ćelija (Halsei i Henric, 2010), zatim od epitelskih ćelija malih kanala ili od postojećih matičnih ćelija koje su lokalizovane u epitelu malih izvodnih kanala (Orci i Unger, 1975; Bonner-Weir i sar., 1993). Uvećan broj beta ćelija uz istovremeno smanjenje njihovih površina posle delovanja elektromagnetnog zračenja, kako je nađeno u ovom eksperimentu, ukazuje ne njihovu brzu proliferaciju, zbog čega ćelije nisu mogle da dostignu svoju optimalnu veličinu. U kontrolnoj grupi pacova, velika ostrvca su imala prosvetljene beta ćelije u centru ostrvaca. Periferni deo beta ćelija koje su u kontaktu sa drugim ne-beta ćelijama i beta ćelije u malim ostrvcima su bile sa jakom imunoreakcijom. Ovakav nalaz je u skladu sa ranijim podacima iz literature o heterogenosti beta ćelija i ostrvaca (Orci i Unger, 1975; Weir i Bonner-Weir, 1990; Cieslar i sar., 1996). Centralno lokalizovane ćelije osetljivije su na niže koncentracije glukoze od periferno postavljenih beta ćelija (Weir i Bonner-Weir, 1990; Ravnborg i sar., 1990; Mohd, 2003). U ovom eksperimentu, i mala i velika ostrvca koja su izlagana

elektromagnetnim poljima, za razliku od kontrolnih su pokazala izuzetno jaku reakciju na insulin. Karakteristično je još da velika ostrvca zračenih životinja nisu imala prosvetljeni centralni deo beta ćelija kao kod kontrole. Ovakav rezultat može ukazivati ili na poremećaj izlučivanja insulina ili na veoma brzu sintezu i nagomilavanje granula unutar ćelija.

Kod životinja, kako kontrolnih, tako i onih koje su izlagane elektromagnetnom zračenju, beta ćelije su uočavane i van ostrvaca, unutar acinusa ili u sklopu epitela izvodnih kanala (Weir i Bonner-Weir, 1990; Grünewald i sar., 2000). Pod dejstvom elektromagnetnog polja nije se značajno uvećao broj ćelija van ostrvaca.

Dugotrajno izlaganje pacova dejstvu elektromagnetnog zračenja dovelo je do značajnih promena na alfa ćelijama. Značajno uvećanje volumenskih gustina alfa ćelija uzrokovano je istovremenim značajnim uvećanjem broja i površina ovih ćelija kod zračene grupe u odnosu na kontrolnu grupu. Uvećanje broja i površina alfa ćelija može ukazivati na njihovu povećanu aktivnost u sintezi i izlučivanju glukagona, što bi bilo u skladu sa ranijim podacima o povećanom nivou glukoze u krvi kao posledice elektromagnetnog zračenja (Ravnborg i sar., 1990). Imunoreakcijska ispitivanja su pokazala jaču imunoreakciju u alfa ćelijama većih ostrvaca nego kod manjih u zračenim životinjama u odnosu na kontrolnu grupu. U radovima drugih autora (Grünewald i sar., 2000; Yamaguchi i sar., 2001) ukazuje se na povećan odnos između alfa i beta ćelija kao značajnog parametra koji ukazuje na pojavu dijabetesa. U našem eksperimentu, odnos alfa i

beta ćelija je bio povećan i iznosio je 0,75 za grupu životinja koje su zračene u elektromagnetnom polju, dok je kod kontrolne grupe bio 0,55. Zapravo, naši rezultati su pokazali da su najburnije reagovalе alfa ćelije na dugotrajno izlaganje elektromagnetnom zračenju.

Volumenska gustina somatostatinskih ćelija je bila neznatno smanjena pod dejstvom elektromagnetnog zračenja, kao što je bio značajno smanjen i njihov broj. Učešće D-ćelija u ukupnom broju ostrvskih ćelija je bilo značajno smanjeno, što, zajedno sa značajnim smanjenjem površina ćelija, može ukazivati na smanjenu sintezu i izlučivanje somatostatina, a samim tim i na smanjenje njegovog inhibitornog dejstva. U ovom eksperimentu sa dugotrajnim izlaganjem pacova elektromagnetnom polju, uočena je nešto veća brojnost D-ćelija u egzokrinom delu pankreasa kod životinja koje su bile izlagane spomenutim poljima u odnosu na kontrolu.

Dugotrajno dejstvo elektromagnetnog zračenja u ovom eksperimentu nije izazvalo nikakve promene na PP-ćelijama svih ispitivanih stereoloških i morfometrijskih parametara. Imunocitohemijska analiza je pokazala da nema nikakvih razlika u imunoreakciji između kontrolne i zračene grupe životinja. Van ostrvaca, PP-ćelije su uočavane samo u acinusima, njihovo prisustvo u malim egzokrinim kanalima nije bilo primećeno.

Sveobuhvatno gledajući, EMZ je imalo uticaja na alfa, beta i D-ćelije, dok su PP-ćelije ostale, prema morfološkim, stereološkim i morfometrijskim pokazateljima, bez promena. Takođe je pokazano u ovom

radu da slabo i jako dugotrajno dejstvo EMZ-a dovodi do različitih fenomena, ali sigurno jednako deluje na broj i veličinu ostrvaca.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Adey, W. R.; Pettis, J. L. (1997): *Horizons in science: physical regulation of living matter as an emergent concept in health and disease. Second World Congress for Electricity and Magnetism in Biology and Medicine*, Bologna, Abstract Book p. 7.
2. Bani-Sacchi, T.; Bani, D. (1985): *New views on the identification of the various cell types in pancreatic islets of the rat*. Acta Anat, 122: 1–17.
3. Bonner-Weir, S.; Baxter, L. A.; Schuppin, G. T.; Smith, F. E. (1993): *A second pathway for regeneration of the adult exocrine and endocrine pancreas: a possible recapitulation of embryonic development*. Diabetes, 42: 1715–1720.
4. Cieslar, G.; Sieron, A.; Zajecki, W. (1996): *Influence of alternating magnetic fields on Langerhans islets morphology and glucose level in experimental animals*. Baln. Polish, 37: 5–9.
5. Grünwald, K.; Lyons, J.; Fröhlich, A.; Feichtinger, H.; Weger, R. A.; Schwab, G.; Janssen, J. W. G.; Bartram, C. R. (2000): *High frequency of Ki-ras codon 12 mutations in pancreatic adenocarcinomas*. J Nat Cancer Inst, 2, 92 (15): 1260–1266.
6. Halsei, R.; Henric, J. (2010): *Clinical impressions and speculations on the use of high frequency pulsed EMF*. J Clinic Investi, 68: 14–22.

7. Loweth, A. C.; Morgan, N. G. (1998): *Methods for the study of nitric oxide-induced apoptosis in cultured beta cells*. Meth Molec Biol, 1000(30): 313–322.
8. Matthes, R. (2005): *Developing and implementing protective measures for ELF EMF sources and exposures*. In: International workshop on base stations and wireless networks, WHO Pub, 69–83.
9. Mohd, Y.; Mohd, A.; Rozaimah, A. R.; Mohd, A. A. M.; Mohd, A. N. (2003): *Numerical evaluations on the interaction of electromagnetic fields with animals and biological tissues*. Proc ICNIR, 434–447.
10. Orci, L.; Unger, R. H. (1975): *Functional subdivision of islets of Langerhans and possible role of D-cells*. Lancet, 2: 1243–1244.
11. Orci, L.; Thorens, B.; Ravazzola, M.; Lodish, H. F. (1987): *Localization of the pancreatic beta cell glucose transporter to specific plasma membrane domains*. Science, 245: 295–297.
12. Parkinson, W. C. (1984): *Comments on the use of electromagnetic fields in biological studies*. Calcif Tissue Int, 37(2): 198–207.
13. Preece, A. W.; Hand, J. W.; Clarke, R. N.; Stewart, A. (2000): *Power frequency electromagnetic fields and health. Where's the evidence?* Phys Med Biol, 45(9): 139–154.
14. Ravnborg, M.; Knudsen, G. M.; Blinkenberg, M. (1990): *No effect of pulsed magnetic stimulation on the blood-brain barrier in rats*. Neuroscience 38(1): 277–280.
15. Yamaguchi, N. (2001): *Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide enhances glucose-evoked insulin secretion in the canine pancreas in vivo*. JOP, 2(5): 306–316.
16. Weir, G., Bonner-Weir, S. (1990): *Islets of Langerhans: The Puzzle of Intra-islet Interactions and Their Relevance to Diabetes*. Am Soci Clin Inves, 85: 983–987.



80 година

DOI: 10.7251/VETJ1401011Z

UDK 636.2.09:616.981.42

A. Zorić,¹ I. Krdžić¹

Originalni rad

UPOREDNA ANALIZA SEROLOŠKIH METODA U DIJAGNOSTICI BRUCELOZE GOVEDA

Kratak sadržaj

Bruceloza je zarazno oboljenje domaćih, divljih životinja i ljudi, rašireno u celom svetu. Dijagnostika bruceloze putem izolacije uzročnika je veoma teška, dugotrajna i predstavlja rizik od infekcije. Iz tih razloga, serološke metode predstavljaju metode izbora.

Cilj rada je bila uporedna analiza specifičnosti i osetljivosti testova za dijagnostiku bruceloze koji se rutinski koriste na teritoriji Republike Srbije.

Ukupno je ispitano 120 uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo specifičnih antitela protiv *Brucella spp.* Svi serumi su prvo ispitani primenom Rose Bengal testa. Uzorci koji su pokazali pozitivnu reakciju su zatim ispitivani primenom iELISA i cELISA testa. Izračunavanje osetljivosti i specifičnosti seroloških testova je sprovedeno na osnovu dobijenih rezultata.

Analizom osetljivosti i specifičnosti zaključeno je da su obe metode (Rose Bengal test, iELISA test) visoko osetljive (100%, 92%) sa razlikom od 8% u korist iELISA testa, koji se pokazao i kao daleko specifičnija metoda (91%) u odnosu na Rose Bengal test (69%).

Uporednom analizom rezultata dobijenih u ispitivanju osetljivosti i specifičnosti Rose Bengal testa i indirektne imunoenzimske metode (iELISA) u otkrivanju specifičnih antitela protiv *Brucella spp.* u krvnim serumima goveda, utvđena je veća osetljivost i specifičnost metode iELISA u odnosu na Rose Bengal test.

Ključne reči: bruceloza, serološki testovi, osetljivost, specifičnost.

¹ Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Republika Srbija.
Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, Republic of Serbia.

E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: krki.kv@gmail.com

A. Zorić,¹ I. Krdžić¹

Original paper

A COMPARATIVE EXAMINATION OF SEROLOGICAL METHODS IN DIAGNOSTICS OF BOVINE BRUCELLOSIS

Abstract

Brucellosis is a contagious disease that occurs worldwide, affecting a large number of domestic and wild animals along with people. Isolation of the causative agent is arduous, time-consuming and hazardous. For these reasons, serological tests are normally preferred.

The aim of this study was to compare the specificity and sensitivity of diagnostic tests for brucellosis commonly used in Serbia.

A total of 120 bovine serum samples were used in order to detect the presence of anti - *Brucella* antibodies. All sera were firstly examined using the Rose Bengal test. Sera that demonstrated positive reactions were additionally tested using indirect ELISA and competitive ELISA. Based on the analysis of the results obtained, evaluation of sensitivity and specificity of these tests was conducted.

Both Rose Bengal and iELISA tests demonstrated to be highly sensitive (100%, 92%), while iELISA test proved to be markedly more specific (91%) than Rose Bengal test (69%).

By comparison of the results of Rose Bengal test and iELISA, iELISA proved to be more sensitive and specific.

Key words: brucellosis, serological tests, sensitivity, specificity.

UVOD/ INTRODUCTION

Bruceloza je zarazno oboljenje domaćih, divljih životinja i ljudi koje predstavlja globalno značajnu zooantroponozu sa više od 500.000 oboljelih ljudi godišnje (Matović i sar., 2008; Seleem i sar., 2010). Kod životinja se najčešće manifestuje reproduktivnim smetnjama. Abor-

tus, često samo nakon prve gestacije, ili rađanje mrtvih, slabo vitalnih mladunaca su najčešći klinički simptomi kod ženki, dok se kod muških životinja razvijaju orhitis i epididimitis sa posledičnom pojavom steriliteta (Rahman i sar., 2006; Godfroid i sar., 2010). S obzirom na hroničan tok bolesti koji je uobičajen kod

životinja i atipičnu kliničku sliku, ovu bolest je teško kako kontrolisati, tako i dijagnostikovati. Kontrola bruceloze je naročito značajna u zemljama mediteranskog endemskog područja, kojima pripada i Srbija (Matović i sar., 2008). Dijagnostika bruceloze putem izolacije uzročnika je veoma teška, dugotrajna i predstavlja rizik od infekcije (Poester i sar., 2010). Ovi patogeni su jedni od najčešćih uzročnika laboratorijskih infekcija i predstavljaju profesionalni hazard u veterinarskoj praksi (Agasthya i sar., 2007; Seleem i sar., 2010). Iz tih razloga, serološke metode predstavljaju metode izbora i najčešće se koriste za dijagnostiku bruceloze goveda i malih preživara na nivou zapata (Poester i sar., 2010). Metod brze aglutinacije, odnosno *Rose Bengal* test se koristi kao *screening* test s obzirom na svoju jednostavnost i brzinu, a pre svega senzitivnost. Reakcija vezivanja komplementa (RVK) jeste metoda preporučena od strane OIE-a (*Office International des Epizooties*) kao referentni test. Nedostaci ove metode su što za njeno izvođenje mora postojati specijalizovana laboratorija, teško se standardizuje, vreme izvođenja je dugo i nepogodna je za ispitivanje velikog broja uzoraka, tako da je ista sve više potisnuta upotrebom imunoenzimskih (ELISA) testova (Godfroid i sar., 2010). Imunoenzimске metode se dele u dve kategorije: indirektni ELISA test (iELISA) i kompetitivni ELISA test (cELISA). Indirektna imunoenzimска metoda – iELISA kao antigen sadrži *Brucella*-LPS (lipopolisaharid, endotoksin) i predstavlja visoko senzitivан test, međutim, moguća je unakrsna reakcija sa nekim vrstama gram-negativnih

mikroorganizama (soj O3 i O9 *Yersinia enterocolitica*, soj OX19 *Proteus vulgaris* i dr.), što ima za posledicu dobijanje lažno pozitivnih rezultata koji mogu da dovedu do nanošenja ozbiljnih ekonomskih šteta, s obzirom na to da se bruceloza eradikuje pomoću striktnih veterinarsko-sanitarnih mera. Povećanju specifičnosti seroloških testova znatno je doprineo razvoj cELISA testa, u kome se koriste monoklonska antitela specifična za epitope *Brucella*-LPS (lipopolisaharidni antigen). Kompetitivni imunoenzimski test (cELISA) specifičniji je u odnosu na iELISA i *Rose Bengal* test (Matović i sar., 2008; Godfroid i sar., 2010). S obzirom na moguće greške u dijagnostici bruceloze sa ozbiljnim posledicama, dijagnostičке procedure se moraju konstantno ispitivati i unapređivati (Nicoletti, 1976; Matović i sar., 2008).

Cilj ovog rada je bila uporedna analiza specifičnosti i osetljivosti testova za dijagnostiku bruceloze koji se rutinski koriste na teritoriji Republike Srbije.

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Ukupno je ispitano 120 uzoraka krvnog seruma goveda na prisustvo specifičnih antitela protiv *Brucella* spp.

Navedeni uzorci krvnog seruma su ispitivani *Rose Bengal* testom, indirektnim (iELISA) testom i kompetitivnim (cELISA) testom. Svi serumi su prvo ispitani primenom *Rose Bengal* testa. Uzorci koji su pokazali pozitivan reakciju su zatim ispitivani primenom iELISA i cELISA testa.

Za reakciju brze aglutinacije korišćen je antigen BAB-VZ ANTIGEN® произвођача Veterinarski zavod Zemun, Srbija. Pri izvođenju iELISA testa, korišćen je set kit Prio-CHECK *Brucella* Ab i-ELISA произвођача Prionics, Švajcarska. Za izvođenje cELISA testa je korišćen set kit Svanovir *Brucella*-Ab cELISA произвођача Svanova, Švedska.

Rose Bengal test je sproveden po proceduri propisanoj od strane Međunarodne organizacije za epizootije (OIE Manual, 2009). Izvođenje iELISA i cELISA testova i interpretacija rezultata su sprovedeni prema uputstvu произвођача. Izračunavanje osetljivosti i specifičnosti seroloških metoda izvršeno je prema modelu prikazanom u tabeli 1.

Tabela 1. Računanje osetljivosti i specifičnosti seroloških testova korišćenih u dijagnostici

Testiranje i rezultati		Status životinje (Referentni test)		Zbir rezultata Σ
		Inficirana životinja (Poz. (+) vrednost)	Neinficirana životinja (Neg. (-) vrednost)	
Rezultati	Poz. (+)	TP	FP	TP + FP (manifestna prevalenca)
	Neg. (-)	TN	FN	TN + FN
Zbir rezultata Σ		TP + FN (stvarna prevalenca)	TN + FP	N
Osetljivost (Se) Specifičnost (Sp)		Se= TP / (TP+FN)	Sp= TN / (TN + FP)	

TP – stvarno pozitivni uzorci; FP – lažno pozitivni uzorci; FN – lažno negativni uzorci; TN – stvarno negativni uzorci; N – ukupan broj uzoraka oba testa; Se – osetljivost testa; Sp – specifičnost testa

REZULTATI/ RESULTS

Rezultati ispitivanja uzoraka krvnog seruma goveda prikazani su u tabeli 2. i tabeli 3.

Od 120 ispitanih uzoraka seruma, 45 je pokazalo pozitivnu reakciju brze aglu-

tinacije *Rose Bengal* testom, a u 12 uzoraka su pomoću iELISA testa detektovana antitela protiv *Brucella* spp. (tabela 2). Procenat pozitivnih seruma ispitanih *Rose Bengal* testom je za 27,5% veći od procenta pozitivnih na iELISA testu.

Tabela 2. Rezultati Rose Bengal testa i iELISA testa

Test	Broj ispitanih seruma	Broj pozitivnih	Broj negativnih	% pozitivnih
Rose Bengal	120	45	75	37,5
iELISA	120	12	108	10

Od ukupno 45 uzoraka krvnog seruma ispitanih iELISA testom, odbačeno je 22 uzorka, od kojih je 12 bilo pozitivnih, a 10 sumnjivo na prisustvo specifičnih antitela protiv *Brucella spp.*

Od 22 uzorka seruma ispitanih cELISA testom, ustanovljeno je 11 pozitivnih uzoraka seruma, što je za 4,54% manje od vrednosti dobijenih iELISA testom (tabela 3).

Tabela 3. Rezultati iELISA i cELISA testa

Test	Broj ispitanih seruma	Broj pozitivnih	Broj negativnih	% pozitivnih
iELISA	22	12	10	54,54
cELISA	22	11	9	50

Izračunavanje osetljivosti i specifičnosti metoda korišćenih u ispitivanjima izvršeno je primenom jednačina navedenih u poglavlju Metode (tabela 1).

Osetljivost i specifičnost *Rose Bengal* testa su izračunati na osnovu rezultata dobijenih pomoću iELISA testa kao referentnog. Rezultati su prikazani u tabeli 4.

Osetljivost, $Se = TP / (TP + FN) = 12 / (12 + 1) = 12/13 = 0,92 \times 100 = 92\%$

Specifičnost, $Sp = TN / (TN + FP) = 74 / (74 + 33) = 74/107 = 0,69 \times 100 = 69\%$

Tabela 4. Osetljivost i specifičnost Rose Bengal testa

iELISA			
RBT	Pozitivni	Negativni	Ukupno
Pozitivni	12	33	45
Negativni	1	74	75
Ukupno	13	107	120
Osetljivost RBT	0.923076923		
Specifičnost RBT	0.691588785		

Osetljivost i specifičnost iELISA testa su izračunati na osnovu rezultata dobijenih pomoću cELISA testa kao referentnog. Rezultati su prikazani u tabeli 5.

$$\text{Osetljivost, Se} = TP / (TP + FN) = 11 / (11 + 0) = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$$

$$\text{Specifičnost, Sp} = TN / (TN + FP) = 10 / (10 + 1) = 10/11 = 0,91 \times 100 = 91\%$$

Tabela 5. Osetljivost i specifičnost iELISA testa

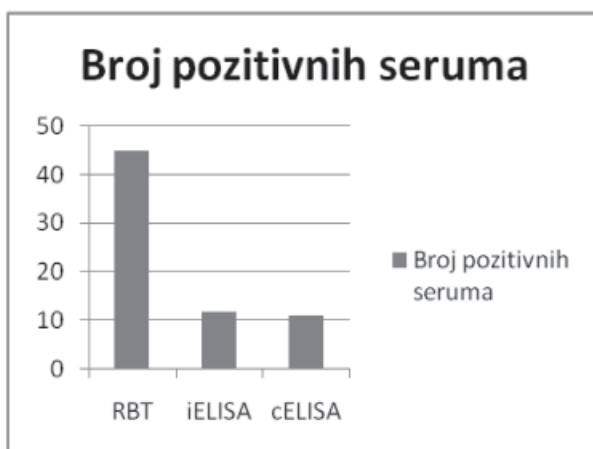
cELISA			
iELISA	Pozitivni	Negativni	Ukupno
Pozitivni	11	1	12
Negativni	0	10	10
Ukupno	11	11	22
Osetljivost iELISA	1		
Specifičnost iELISA	0.909090909		

Analizom osetljivosti i specifičnosti zaključeno je da su obe metode (*Rose Bengal* test, iELISA test) visoko osetljive (100%, 92%), sa razlikom od 8% u korist iELISA testa, koji se pokazao i kao daleko specifičnija metoda (91%) u odnosu na *Rose Bengal* test (69%).

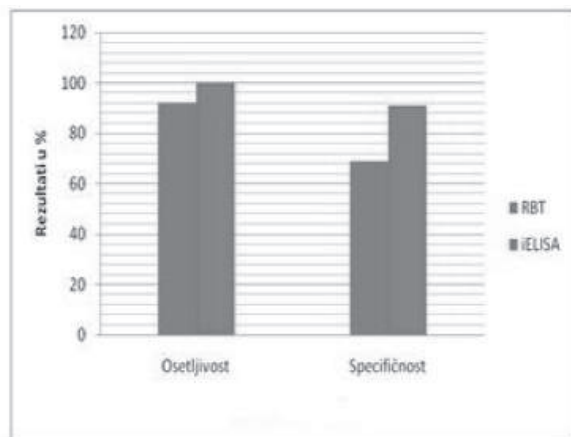
Uporedni prikaz broja seruma koji su pokazali pozitivnu reakciju primenom

Rose Bengal testa, iELISA testa i cELISA testa (grafikon 1).

Zbirni prikaz rezultata ispitivanja osetljivosti i specifičnosti korišćenih metoda u otkrivanju prisustva specifičnih antitela protiv *Brucella spp.* u uzorcima krvnih seruma goveda (grafikon 2).



Grafikon 1. Uporedni prikaz broja seruma koji su pokazali pozitivnu reakciju primenom *Rose Bengal* testa, iELISA testa i cELISA testa



Grafikon 2. Prikaz rezultata ispitivanja osetljivosti i specifičnosti korišćenih metoda u otkrivanju prisustva specifičnih antitela protiv *Brucella* spp.

DISKUSIJA/ DISCUSSION

Klinička dijagnoza bruceloze se ne postiže jednostavno, s obzirom na prirodu bolesti. Primena laboratorijskih testova je neophodna za brzo i pouzdano otkrivanje ove zoonoze kod ljudi i životinja. Najpouzdanija dijagnostika ovog oboljenja postiže se izolacijom i identifikacijom uzročnika, za šta je potreban duži vremenski period, kao i uspostavljanje biosigurnosnog nivoa 3 u laboratorijama. Na osnovu ispitivanja velikog broja dijagnostičkih metoda, može se zaključiti da svaka ima svojih prednosti i mana. Brza aglutinacija *Brucella* će zasigurno ostati osnova u dijagnostici bruceloze kao *screening* test. Pored ovog testa, indirektna imunoenzimski metoda (iELISA), kao i kompetitivna imunoenzimski metoda (cELISA) zbog svoje specifičnosti i osetljivosti našle su široku primenu u serološkoj dijagnostici bruceloznih infekcija kod životinja (Nicoletti, 1976; Poester i sar., 2010; Godfroid i sar., 2010). Rezultati analize efikasnosti

lančane reakcije polimeraze (PCR) ukazuju na veliku pouzdanost ove metode za *screening* obolelih grla, posebno u kombinaciji sa iELISA testom, kada kombinovana osetljivost ovih metoda dostiže 100% (Romero i sar., 1995; Mukherjee i sar., 2007). U studiji koju su McGiven i sar. izvršili 2003. godine, prikazane su prednosti fluorescentnog polarizacionog testa (FPA) kao novije metode u odnosu na serum aglutinacioni test (SAT) i RVK koje su već dugo u upotrebi.

Od ukupno 120 uzoraka krvnog seruma goveda, 45 je bilo pozitivno na prisustvo specifičnih antitela primenom Rose Bengal testa, odnosno 12 uzoraka primenom iELISA testa. Razlika od 33 uzorka se pripisuje lažno pozitivnim rezultatima kao posledica niže specifičnosti Rose Bengal testa, odnosno najverovatnije ukrštene reakcije sa antigenski srodnim mikroorganizmima (Corbel i Cullen, 1970). Dvanaest uzoraka krvnog seruma ispitanih metodom iELISA bilo je pozitivno na prisustvo specifičnih antitela

protiv *Brucella spp.*, dok je primenom cE-LISA testa utvrđeno 11 pozitivnih uzoraka. Ovi rezultati ukazuju na razliku u specifičnosti ovih metoda, što potvrđuju i radovi drugih autora (Gall i sar., 1998; Samartino i sar., 1999; Portranti i sar. 2006; Tardepalli i sar., 2009; Godfroid i sar., 2010; Perrett i sar., 2010).

Na osnovu rezultata ispitivanja seruma, može se zaključiti da oba prethodno navedena testa imaju veću osetljivost i specifičnost od metode brze aglutinacije na pločici (Paweska i sar., 2002; Gall i sar., 2004; Matović i sar., 2008).

Tabela 6. Uparedni prikaz izračunatih osetljivosti i specifičnosti *Rose Bengal* i iELISA testova po autorima

Serološki testovi		Naši rezultati	Sanogo i sar. (2013)	Matović i sar. (2008)	Muma i sar. (2007)	Mainar-Jaime i sar. (2005)	Paweska i sar. (2002)	Uzal i sar. (1995)
<i>Rose Bengal</i> test	Se	92%	54,9%	96%	93%	100%	/	/
	Sp	69%	97,7%	71,3%	81%	86,4%	/	/
iELISA	Se	100%	96,1%	100%	/	98,9%	100%	98,07%
	Sp	91%	95%	96,07%	/	100%	99,8%	97,2%

Poređenjem naših rezultata sa drugim autorima ne zapažaju se znatnije razlike. Matović i sar. (2008) vršili ispitivanje seroloških metoda u dijagnostici bruceloze goveda, pri čemu su izračunata specifičnost *Rose Bengal* testa (69%), kao i osetljivost, odnosno specifičnost iELISA testa (100% i 91%) najsličniji našim rezultatima. U analizi koju su izvršili Paweska i sar. (2002), osetljivost iELISA testa takođe iznosi 100%, dok je izračunata specifičnost ovog testa 99,8%, što je vrednost veća nego u našem ispitivanju (91%). Izračunata osetljivost *Rose Bengal* testa (Muma i sar., 2007) iznosila je 93%, što predstavlja vrednost blisku rezultatu dobijenom u našem istraživanju (92%), dok je specifičnost (81%) nešto viša. Rezultati ispitivanja Mainar-Jaime

i sar. (2005) pokazali su da je osetljivost i specifičnost *Rose Bengal* testa iznosila 100% odnosno 86,4%, a specifičnost iELISA testa 100%. Rezultati navedenih autora se u pogledu osetljivosti i specifičnosti razlikuju od rezultata dobijenih u našem ispitivanju. U svojim ispitivanjima, Sanogo i sar. (2007) ustanovili su da je specifičnost i osetljivost *Rose Bengal* testa iznosila 97,7%, odnosno 54,9% što se procentualno najviše razlikovalo kako od rezultata naših ispitivanja, tako i od rezultata drugih autora.

ZAKLJUČAK/ CONCLUSION

Uparednom analizom rezultata dobijenih u ispitivanju osetljivosti i specifičnosti *Rose Bengal* testa i indirektne imunoenzimske metode (iELISA) u otkriva-

nju prisustva specifičnih antitela protiv *Brucella spp.* u krvnim serumima goveda, utvrđena je veća osetljivost i specifičnost metode iELISA u odnosu na *Rose Bengal* test.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Agasthya, A. S.; Isloor, S.; Prabudhas, K. (2007): *Brucellosis in high risk group individuals*, Indian J Med Microbiol 25: 28–31.
2. Corbel, M. J.; Cullen, G. A. (1970): *Differentiation of the serological response to Yersinia enterocolitica and Brucella abortus in cattle*, J Hyg 68: 519–530.
3. Gall, D.; Colling, A.; Marino, O.; Moreno, E.; Nielsen, K.; Perez, B.; Sammartino, L. (1998): *Enzyme Immunoassays for Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis: A Trial in Latin America*, Clin Vaccine Immunol 5: 654–661.
4. Gall, D.; Nielsen, K. (2004): *Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison*, Rev Sci Tech 23: 989–1002.
5. Godfroid, J.; Nielsen, K.; Saegerman, C. (2010): *Diagnosis of Brucellosis in Livestock and Wildlife*, Croat Med J 51: 296–305.
6. Mainar-Jaime, R. C.; Munoz, P. M.; Miguel, M. J.; Grillo, M. J.; Marin, C. M.; Moriyon, I.; Blasco, J. M. (2005): *Specificity dependence between serological tests for diagnosing bovine brucellosis in Brucella-free farms showing false positive serological reactions due to Yersinia enterocolitica O:9*, Can Vet J 46: 913–916.
7. Matović, K.; Ašanin, R.; Radojičić, S.; Lako, B.; Žarković, A. (2008): *Examination of sensitivity and specificity of some serological tests in diagnostics of bovine brucellosis*, Acta Vet (Beograd) 58: 467–476.
8. McGiven, J. A.; Tucker, J. D.; Perrett, L. L.; Stack, J. A.; Brew, S. D.; MacMillan, A. P. (2003): *Validation of FPA and cELISA for the detection of antibodies to Brucella abortus in cattle sera and comparison to SAT, CFT, and iELISA*, J Immunol Methods 278: 171–178.
9. Mukherjee, F.; Jain, J.; Patel, V.; Nair, M. (2007): *Multiple genus-specific markers in PCR assays improve the specificity and sensitivity of diagnosis of brucellosis in field animals*, J Med Microbiol 56: 1309–1316.
10. Muma, J. B.; Toft, N.; Oloya, J.; Lund, A.; Nielsen, K.; Samui, K.; Skjerve, E. (2007): *Evaluation of three serological tests for brucellosis in naturally infected cattle using latent class analysis*, Vet Microbiol 125: 187–192.
11. Nicoletti, P. (1976): *Problems in the diagnosis of bovine brucellosis*, Dev Biol Stand 31: 131–135.
12. OIE Manual (2009): *Chapter 2.4.3. Bovine brucellosis*, OIE Terrestrial manual 2012: manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, World Organisation for Animal Health, Paris, France: 616–650.

13. Paweska, J. T.; Potts, A. D.; Harris, H. J.; Smith, S. J.; Viljoen, G. J.; Dungu, B.; Brett, O. L.; Bubb, M.; Prozesky, L. (2002): *Validation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against Brucella abortus in cattle sera using an automated ELISA workstation*, Onderstepoort J Vet Res 69: 61–77.
14. Perrett, L. L.; McGiven, J. A.; Brew, S. D.; Stack, J. A. (2010): *Evaluation of Competitive ELISA for Detection of Antibodies to Brucella Infection in Domestic Animals*, Croat Med J 51: 314–319.
15. Poester, F. P.; Nielsen, K.; Samartino, L.; Yu, W. L. (2010): *Diagnosis of Brucellosis*, The Open Vet Sci J 4: 46–60.
16. Portanti, O.; Tittarelli, M.; Di Febo, T.; Luciani, M.; Mercante, M. T.; Conte, A.; Lelli, R.; (2006): *Development and validation of a competitive ELISA kit for the serological diagnosis of ovine, caprine and bovine brucellosis*, J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 53: 494–8.
17. Rahman, M. S.; Uddin, M. J.; Park, J.; Chae, J.; Rahman, M. B.; Islam, M. A. (2006): *A short history of brucellosis: Special emphasis in Bangladesh*, Bangl J Vet Med 4: 1–6.
18. Romero, C.; Pardo, M.; Grillo, M. J.; Diaz, R.; Blasco, J. M.; Lopez-Goni, I. (1995): *Evaluation of PCR and in direct enzyme-linked immunosorbent assay on milk samples for diagnosis of brucellosis in dairy cattle*, J Clin Microbiol 33: 3198–3200.
19. Samartino, L.; Gall, D.; Gregoret, R.; Nielen, K. (1999): *Validation of enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of bovine brucellosis*, Vet Microbiol 70: 193–200.
20. Sanogo, M.; Thys, E.; Achi, Y. L.; Fretin, D.; Michel, P.; Abatih, E.; Berkvens, D.; Saegerman, C. (2013): *Bayesian estimation of the true prevalence, sensitivity and specificity of the Rose Bengal and indirect ELISA tests in the diagnosis of bovine brucellosis*, Vet J 195: 114–120.
21. Seleem, M. N.; Boyle, S. M.; Sriranganatan, N. (2010): *Brucellosis: A re-emerging zoonosis*, Vet Microbiol 140: 392–398.
22. Tadepalli, M.; Rajendra, L.; Bhavesh, T.; Thiagarajan, D.; Srinivasan, V. A. (2011): *Development and Comparative Evaluation of a Competitive ELISA with Rose Bengal test and a Commercial Indirect ELISA for Serological Diagnosis of Brucellosis*, Indian J Microbiol 51: 528–530.
23. Uzal, F. A.; Carrasco, A. E.; Echaide, S.; Nielsen, K.; Robles, C. A. (1995): *Evaluation of an Indirect ELISA for the Diagnosis of Bovine Brucellosis*, J Vet Diagn Invest 7: 473–475.

DOI: 10.7251/VETJ1401012T

UDK 636.4.082.456

Z. Tomić,¹ N. Stojanac,² O. Stevančević,² I. Stančić²

Originalni rad

ZNAČAJ PRIMENE KLOPROSTENOLA NA REPRODUKTIVNU EFIKASNOST KRMAČA

Kratak sadržaj

Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita efikasnost primene luteolitičkog preparata –kloprostenola u tretmanu krmača posle prašenja, ulaskom krmača u estrus unutar sedam dana posle zalučenja i uticaj na fertilitet krmača izražen kroz broj oprašenih krmača i procenat (%) prašenja. Ispitivanjem su bile obuhvaćene krmače od trećeg do šestog pariteta. Od ukupnog broja zalučenih krmača u oglednoj grupi „O“ (n=55), u prvih sedam dana posle zalučenja osemenjene su 53 krmače, što predstavlja 96,36%, dok je u kontrolnoj grupi „K“ (n=55), od 55 krmača, u prvih sedam dana posle zalučenja osemenjeno 47 krmača, što predstavlja 85,45%. Naročito treba naglasiti direktan uticaj kloprostenola na matericu i regeneraciju endometrijuma jer evakuiše sadržaj iz materice pojačavajući njene kontrakcije, a pored toga indukuje i lizu žutog tela. Rezultati u ovom istraživanju jasno ukazuju da primena kloprostenola kod krmača posle prašenja utiče na brže uspostavljanje estrusa posle zalučenja. Primena kloprostenola kod krmača nakon prašenja predstavlja dobar preduslov za ostvarivanje visokog broja oprašenih krmača i procenat prašenja.

Ključne reči: krmače, kloprostenol, reproduktivna efikasnost.

1 AD Neoplanta, Farma svinja, Sentandrejski put 323, Novi Sad, Republika Srbija.
AD Neoplanta, Swine Farm, Sentandrejski put 323, Novi Sad, Republic of Serbia.

2 Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad, Republika Srbija.
Department for Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 8, Novi Sad, Republic of Serbia.

E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: zdravtomvet87@gmail.com

Z. Tomić,¹ N. Stojanac,² O. Stevančević,² I. Stančić²

Original paper

THE IMPORTANCE OF CLOPROSTENOL USING ON THE REPRODUCTIVE EFFICIENCY OF SOWS

Abstract

The aim of this study was to discover the efficacy of luteolytic preparation - cloprostenol in sows treatment after farrowing, providing sows entering oestrus within 7 days after weaning and the effect on fertility of sows expressed through a number of farrowed sows and percent of farrowing. The study involved sows of parity from 3 to 6 weeks. Of the total number of weaned sows in the experimental group "O" – 55, in the first 7 days after weaning, 53 sows were inseminated, which is 96.36%, while in the control group "K", in the first 7 days after weaning sows inseminated 47 of 55 sows, which is 85.45%. In particular, it should be emphasized, the direct effect of cloprostenol on the uterus and regeneration of the endometrium because of the content evacuation of the uterus, reinforcing its contractions, and in addition, inducement of lysis of the corpus luteum. The results of this study clearly indicate that the use of cloprostenol in sows after farrowing affects the rapid establishment of estrus after weaning. Also, the use of cloprostenol in sows after farrowing is a good precondition for achieving a high number of farrowed sows and percent of farrowing.

Key words: sows, cloprostenol, reproductive efficiency.

UVOD/ INTRODUCTION

Uspešnost intenzivne proizvodnje свиња, мерене натуралним и економским параметрима, примарно зависи од репродуктивне ефикасности крмача у репродуктивном запату. Репродуктивна ефикасност крмача се мери бројем залучене прасди по крмачи годишње (Mc Pherson и сар.,

2004). Ова вредност је примарно одређена трајањем једног репродуктивног циклуса и величином легла код праћења (Kim и сар., 2013). Један репродуктивни циклус или интервал између два праћења обухвата: период гестације, период лактације и период од залучења легла до фертилног осеменјаванја (Stančić, 2008). Величина

legla kod prašenja zavisi od: ovulacione vrednosti u fertilnom estrusu, vrednosti koncepcije, prenatalnog i postnatalnog mortaliteta plodova (Gagrčin i sar., 2007). Kako je trajanje gestacije biološka konstanta, a trajanje laktacije se, u proizvodnim uslovima, može skraćivati ili povećavati u dosta ograničenom obimu, to se na trajanje jednog reproduktivnog ciklusa može uticati preko trajanja intervala od zalučenja do fertilnog estrusa (Moody i Speer, 1971). Prosečno trajanje ovog intervala zavisi od uspostavljanja postlaktacijskog estrusa, odnosno trajanja intervala od zalučenja do prvog estrusa (IZE), kao i od fertiliteta kрмача, izraženog u broju oprašenih kрмача od ukupnog broja procenta osemenjenih (procentat oprašenih kрмача) nakon prvog postlaktacijskog estrusa (Castagna i sar., 2003). Na trajanje IZE utiče veliki broj paragenetskih i genetskih činilaca. Među paragenetskim činiocima se ističu: paritet prašenja, ishrana, mikotoksini, trajanje laktacije, godišnja sezona, faktori ambijenta, patologija reprodukcije, egzogeni gonadotropini, te različiti poremećaji i oboljenja (Langendijk i sar., 2000; Gagrčin i Lončarević, 1998; Stančić i sar., 2000). Genetski činioci su rasa, linija i individua. Pored ovih činilaca, značajnu ulogu u produženom trajanju IZE, a samim tim i slabijoj produktivnosti zapata koja se manifestuje niskim fertilitetom kрмача izraženim u smanjenom procentu prašenja, doprinosi i učestala pojava endometritisa (Tummaruk i sar., 2009; Martinez i sar., 2008). Ključni činioci za povećanje fertiliteta kрмача (procenta prašenja) su: starost zapata, kvalitetna ishrana, dobra telesna kondicija kрмача

tokom suprasnosti, održavanje zdravlja i imuniteta kрмача na visokom nivou, optimalni mikroklimatski uslovi i svakodnevno praćenje farmskog menadžmenta (Kugonza i Mutetikka, 2005).

Cilj ovog rada je da se ispita:

1. efikasnost primene luteolitičkog preparata kloprostenola u tretmanu kрмача после праšenja;
2. uticaj kloprostenola na ulazak kрмача u estrus unutar sedam dana после zalučenja i
3. delovanje luteolitičkog preparata kloprostenola na fertilitet kрмача izražen kroz broj oprašenih kрмача i procentat prašenja.

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Ispitivanje je obavljeno na farmi svinja industrijskog i zatvorenog tipa koja raspolaže sa 2500 kрмача ($n=2500$). Metodom slučajnog izbora je odabrano 110 kрмача od trećeg do šestog pariteta, rase landras i meleza F1 generacije velikog jokšira i landrasa. Kрмаče su bile подељене u две групе по 55 ($n=55$) kрмача. Kрмаče огледне групе (O) су u prasilištu 24 časa po prašenju tretirane parenteralno, i/m sa 0,7 ml kloprostenola (1ml rastvora za injekciju sadrži kloprostenol 250 mcg u obliku kloprostenol-natrijuma 263 mcg), a lokalno je vršena lavaža materice sa 2% rastvorom povidon joda u dozi od 100 ml. Kрмаčama kontrolne групе (K) je u prasilištu 24 časa po prašenju vršena samo lavaža materice sa 2% rastvorom povidon joda u dozi od 100 ml bez primene kloprostenola. Sve kрмаče

огледне и контролне групе држане су у истом објекту у истим производним условима и хранјене истом храном. Оброк је оптимално изbalansiran, са свим потребним витаминско-минералним dodacima, принцип хранjenja је такав да су се храниле два пута дневно, ујутро у седам часова и поподне у 14 часова, с тим да је количина хране углавном износила од 5 до 6 kg дневно. Исто тако, све neophodne профилактичке мере биле су спроведене за крмаче које су биле у огледу. Period laktacije код обе групе крмача је трајао 28 дана. Након завршетка laktacionog периода, крмаче су пребаћене у букариште, где су биле смештене у групним боксевима. Групе су организоване како би се омогућило крмачима да успоставе svakodnevni контакт са nerastом и да буду изложене што jačem интензитету осветљенја. Otkrивање еструса је вршено двапут дневно, ујутро и увече, počevši од трећег дана по prispeću у букари-

ште. Крмаче које су manifestовале estrus смештене су у индивидуалне боксове, где је вршен процес inseminacije, и ту су боравиле до 28. дана gestacije када је вршена контрола suprasnosti ултразвучним апаратом. Potvrда suprasnosti omogućila је prebacivanje крмача у čekalište, где је вршена организација група од по осам крмача у зависности од kondicije и паритета. У čekalištu су крмаче биле смештене до 110- дана gestacije, после чега су пребаћене у прасилиште.

Rezultati су обрађени deskriptivnom statistikom. За обраду података је коришћен *Excel 2010*.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА/ RESULTS AND DISCUSSION

У табели 1. приказани су резултати у процентима (%) осеменjenih крмача код обе групе unutar седам дана после залуčenja.

Табела 1. Број и проценат осеменjenih крмача unutar седам дана након залуčenja

Група	Број залуčenih крмача	Број осеменjenih крмача	%
Огледна група „О“	55	53	96,36
Контролна група „К“	55	47	85,45

Крмаче огледне групе су имале significantно већи улазак у estrus од контролне групе у првих седам дана након залуčenja.

У табели 2. приказани су број опрашених крмача и проценат (%) праšенја код огледне и контролне групе.

Табела 2. Број опрашених крмача и проценат праšенја

Група	Број осеменjenih крмача	Број опрашених крмача	% праšенја
Огледна група „О“	53	43	81,13
Контролна група „К“	47	38	80,85

Od ukupnog broja osemenjenih kрмача, u oglednoj grupi „O“ – 53, oprашeno je 43 (81,13%), a u kontrolnoj grupi „K“, od 47 kрмача, oprашeno je 38 (80,85%).

Nije bilo signifikantne razlike između dve ispitivane grupe u procentu (%) prašenja kрмача.

Dobijeni rezultati ispitivanja ulaska kрмача u estrus unutar sedam dana после залуčenja su u velikoj meri rezultat primene kloprostenoла после prašenja (tabela 1). Ova primena je prihvaćena u celom свету, o чему govore brojna истраживања (Morrow i sar., 1996; Fraser i Connor, 1984). U prilog njegovoj ефикасности govori direktan uticaj kloprostenoла на материчу i регенерацију ендометријума jer евакуише садржај из материце појачавајући njene контракције, a поред тога индукује i лизу жутог тела (Jana i sar., 2007). Истраживања многих аутора показују да примена клопростенала код крмача после prašenja омогућава брже успостављање постлактацијског еструса (Steverink i sar., 1999; Eissen i sar., 2003), што представља сличне резултате као u нашем испитивању. Апликација клопростенала после prašenja доводи до побољшања репродуктивних перформанси крмача, нарочито u летњем периоду током изложености крмача топлотном стресу u запатима где je проценат prašenja низак (Kirkwood i sar., 2007). U значајној мери, проценат prašenja зависи од оптималног времена inseminacije (Kemp i Soede, 1996). Negativnu korelaciju između трајања IZE i проценат prašenja установили су бројни аутори, a разлог за ово може бити различито трајање еструсног периода (Knox i Zas, 2001;

Poleze i sar., 2006; Vanderhaeghe i sar., 2008). Резултати испитивања осеменјивања крмача u првих седам дана после залуčenja указују на висок проценат prašenja између 80% i 90% (Pena i sar., 2001). Добijени резултати испитивања наведених аутора одговарају резултатима нашег истраживања (tabela 2).

ZAKLJUČAK/ CONCLUSION

Dobijeni rezultati u ovom истраживању govore da примена клопростенала код крмача после prašenja утиче на брже успостављање еструса после залуčenja.

Примена клопростенала код крмача након prašenja представља добар предуслов за остваривање високог процента prašenja.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Castagna, C. D.; Peioxoto, C. H.; Bertolozzo, F. P.; Wentz, I.; Ruschel, F.; Neto, G. B. (2003): *The effect of post-ovulatory artificial insemination on sow reproductive performance*. Reprod Domest Anim 5: 373–6.
2. Eissen, J. J.; Apeldoorn, E. J.; Kanis, E.; Verstegen, M. W. A.; de Greef, K. H. (2003): *The importance of a high feed intake during lactation of primiparous sows nursing large litters*. J Anim Sci 3: 594–603.
3. Fraser, D.; Connor, M. L. (1984): *Effect of Dosage of Cloprostenol on Induction of Farrowing and Body Temperature of Sows* Effect of Dosage of Cloprostenol on Induction of Farrowing and Body Temperature of Sows.. The Can Vet J 11: 421–423.

4. Gagrčin, M.; Lončarević, A. (1998): *Problemi reprodukcije u intenzivnoj proizvodnji svinja*. I savetovanje, Reproductivne bolesti svinja, Arandjelovac, str. 77.
5. Gagrčin, M.; Stančić, B.; Popov, R.; Jurakić, Ž. (2007): *Uticaj nivoa mrtvorodene prasadi na reproduktivnu efikasnost krmača*. Zbornik kratkih sadržaja, Herceg Novi, 24. jun – 1. jul, str. 41.
6. Jana, B.; Kucharski, J.; Dzienis, A.; Deptula, K. (2007): *Changes in prostaglandin production and ovarian function in gilts during endometritis induced by Escherichia coli infection*. Anim Reprod Sci 97: 137–50.
7. Kemp, B.; Soede, N. M. (1996): *Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows*. J Anim Sci 74: 944–949.
8. Kim, S. W.; Weaver, A. C.; Shen, Y. B.; Zhao, Y. (2013): *Improving efficiency of sow productivity: nutrition and health*. J Anim Sci and Biotechnology 4: 26.
9. Kirkwood, R. N.; De Rensis, F.; Silva, P.; Gherpelli, M.; Alegre, B.; Dominguez, J. C. (2007): *Effect of Cloprostenol Treatment at Artificial Insemination on Sow Fertility*. Reprod Domest Anim 42: 26–8.
10. Knox, R. V.; Zas, S. L. (2001): *Factors influencing estrus and ovulation in weaned sows as determined by transrectal ultrasound*. J Anim Sci 79: 2957–2963.
11. Kugonza, D. R.; Mutetikka, D. (2005): *Weaning strategies to improve the performance of sows and their progeny under smallholder farming conditions*. South African J Anim Sci 4: 244–249.
12. Langendijk, P.; Soede, N. M.; Kemp, B. (2000): *Effects of boar contact and housing conditions on estrus expression in weaned sows*. J Anim Sci 4: 871–8.
13. Martinez, T.; Nevel, A.; Twomey, D.; McGowan, M. (2008): *Poor Reproductive performances in pigs – a case series study*. Pig Journal 61: 49.
14. Mc Pherson, R. L.; Ji, F.; Wu, G.; Blanton, J. R.; Kim, S. W. (2004): *Growth and compositional changes of fetal tissues in pigs*. J Anim Sci 82: 2534–2540.
15. Moody, N. W.; Speer, V. C. (1971): *Factors Affecting Sow Farrowing Interval*. J Anim Sci 32: 510–514.
16. Morrow, M.; Britt, J.; Belschner, A.; Neeley, G.; O'Carroll, J. (1996): *Effect of injecting sows with prostaglandin F2 immediately postpartum on subsequent reproductive performance*. J Swine Health Prod 4: 73–74.
17. Pena, F. J.; Gil, M. C.; Pena, F. (2001): *Effect of vulvomucosal injection of D-cloprostenol at weaning and at insemination on reproductive performance of sows during the low fertility summer season under field conditions*. Anim Reprod Sci 68: 77–83.
18. Poleze, E.; Bernardi, M. L.; Amaral Wilha, W. S.; Wentz, I.; Bortolozzo, F. P. (2006): *Consequences of variation in weaning-to-estrus interval on reproductive performance of swine females*. Livest Sci 103: 124–130.

19. Stančić, B.; Radović, I.; Gagrčin, M. (2000): *Interval zalučenje–estrus i nje-gov uticaj na fertilitet krmača*. Journal of Scientific Agricultural Research 61: 85–92.
20. Stančić, B. (2008): *Reprodukcija do-maćih životinja*, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 53–54.
21. Steverink, D. W.; Soede, N. M.; Groen-land, G. J.; van Schie, F. W.; Noordhu-izen, J. P.; Kemp, B. (1999): *Duration of estrus in relation to reproduction results in pigs on commercial farms*. J Anim Sci 77: 801–9.
22. Tummaruk, P.; Kedsangakonwut, S.; Prapasarakul, N.; Kaeoket, K. (2010): *Endometritis in gilts: reproductive da-ta, bacterial culture, histopathology, and infiltration of immune cells in the endometrium*. Comp Clin Pathol 19: 575–584.
23. Vanderhaeghe, C.; Dewulf, J.; Daems, A.; van Soom, A.; de Kruf, A.; Maes, D. (2008): *Influence of Postpartum Cloprostenol Treatment in Sows on Subsequent Reproductive Performance under Field Conditions*. Reprod Do-mest Anim 43: 484–9.



1934–2014

DOI: 10.7251/VETJ1401013DJ

UDK 616.98:579.843.9

Д. Ђурђевић Милошевић,¹ В. Калаба,² А. Костић,¹ А. Николић,¹ М. Стијепић,³
Ј. Глушац³*Оригинални рад***ПРОЦЕНА ПРОШИРЕНЕ МЕРНЕ НЕСИГУРНОСТИ
ПРИ ОДРЕЂИВАЊУ БРОЈА КУЛТУРАБИЛНИХ
МИКРООРГАНИЗАМА У ВОДИ****Кратак садржај**

Микробиолошка исправност воде за пиће је велики изазов у постојећем систему здравствене заштите и, сходно томе, микробиолошке методе су саставни део мониторинга квалитета воде.

Стандардна метода *SRPS EN ISO 6222:2010* идентична је са *EN ISO 6222:1999* и намењена је за мерење практичне делотворности поступка третирања воде за пиће за јавну употребу, а такође има општу примену за све типове воде, укључујући воде у затвореним посудама, као и природну минералну воду.

Циљ овог рада је био да се одреди проширена мерна метода *SRPS EN ISO 6222:2010* у оквиру унутарлабораторијске студије. Контаминирани су узорци стерилизоване воде суспензијом бактерије *Escherichia coli* ATCC 25922 и проведена процедура процене репродукцибилности методе. Добијени резултати су коришћени за прорачун стандардне девијације репродукцибилности, и из ње изведене проширене мерне несигурности. Добијени резултати су показали да је граница репродукцибилности за инкубацију плоча на $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ била 0,429, а проширена мерна несигурност 0,306. Граница репродукцибилности за инкубацију плоча на $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ била је 0,321 *cfu log* 10, а проширена мерна несигурност 0,229 *cfu log* 10.

Кључне речи: културабилни микроорганизми, вода, проширена мерна несигурност.

¹ МП Лаб, МП Био д.о.о., Прокупачка 41, Београд, Србија.
MP Lab, MP, Bio doo, Prokupacka 41, Belgrade, Serbia.

² ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бранка Радичевића 18, Бања Лука, Босна и Херцеговина
PI Veterinary Institute of Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan” Branka Radicevica 18, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

³ Висока медицинска школа, Николе Пашића 4а, Приједор, Република Српска, Босна и Херцеговина
High Medicial School, Nikole Pasica 4a, Prijedorm, Republic of Srspska, Bosnia and Herzegovina
Адреса коресподентног аутора / Adress of the corresponding author: vesna.kalaba@virsyb.com

D. Đurđević Milošević,¹ V. Kalaba,² A. Kostić,¹ A. Nikolić,¹ M. Stijepić,³ J. Glušac³

Original paper

ESTIMATION OF EXPANDED MEASUREMENT UNCERTAINTY OF CULTURABLE MICROORGANISMS IN WATER

Abstract

Microbiological safety of water is great challenge to the existing health protection system and accordingly the microbiological methods are consistent part of water quality monitoring.

Standard method *SRPS EN ISO 6222:2010* is identical to *EN ISO 6222:1999* and is intended to measure the operational efficiency of the treatment process of public drinking water supplies and for general application to all types of water. It is particularly applicable to the examination of water intended for human consumption, including water in closed containers and to natural mineral waters.

The aim of this paper was to determine the levels of measurement uncertainty obtained in interlaboratory study of method *SRPS EN ISO 6222:2010*. Samples of sterilized water were spiked with suspension of *Escherichia coli* ATCC 25922 and applied the procedure of estimation of measurement uncertainty. The obtained data were analysed are used to determine the standard deviations of reproducibility and reproducibility limit based on log₁₀ colony count values, and thence the relative measures of expanded uncertainty. Obtained results showed reproducibility limit 0.306 cfu log₁₀, and expanded uncertainty 0.22 cfu log₁₀, based on for incubation of plate at 22±2°C, and reproducibility limit 0.321 cfu log₁₀, and expanded uncertainty 0.229 cfu log₁₀ for incubation of plate at 36±2°C.

Key words: culturable microorganisms, water, expanded measurement uncertainty.

УВОД/ INTRODUCTION

Према информацијама Светске здравствене организације (WHO), болести које су повезане са микробиолошким небезбедном водом, санитацијом и хигијеном изазову око 1,7 милиона смртних исхода на годишњем нивоу (Prentice, 2002). Имајући то у виду, микробиолошка исправност воде за пиће је велики изазов како за друштвене заједнице, тако и за произвођаче флаширане воде, а микробиолошке методе су неизоставан део мониторинга квалитета воде.

Одређивање броја хетеротрофних микроорганизама у води први је развио Роберт Кох 1881. године, као једну од првих техника за анализу воде (Koch, 1893). Од тада, одређивање хетеротрофа користи се и препоручује као метода за мониторинг микробиолошког квалитета воде. У принципу, ова метода открива све микроорганизме који могу да формирају видљиве колоније на хранљивој подлози на одређеним температурама инкубације, а интернационална и национална регулатива је препоручују за добијање информација о ефектима третмана воде за пиће (WHO, 2002) и променама микробиолошког квалитета воде у готовој води за пиће током њене дистрибуције и складиштења (Sartory, 2004; WHO, 2002).

Стандардна метода *SRPS EN ISO 6222:2010* идентична је са *EN ISO 6222:1999* и намењена је за мерење практичне делотворности поступка третирања воде за пиће за јавну упо-

требу. Такође, има општу примену за све типове воде, укључујући воде у затвореним посудама, као и природну минералну воду. Овом методом се одређује број културабилних микроорганизама у води рачунањем броја колонија формираних на хранљивој агар подлози за култивацију након икубације на $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ и $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Anon., 2010).

Приликом провођења метода добијају се резултати који могу бити последица и различитих систематских и случајних грешака. Због тога је пожељно извршити процену мерне несигурности методе. Мерна несигурност представља величину која карактерише расипање вредности резултата, као последица различитих извора грешака, од којих је у микробиолошким испитивањима најзначајнији сам микроорганизам због непредвидивости метаболичких процеса у различитим условима средине. Мерна несигурност се добија као стандардна девијација репродукцибилности.

Репродуцибилност представља блискост слагања између појединачних резултата испитивања на идентичном узорку, користећи исту методу од стране различитих аналитичара у различитим лабораторијама користећи различиту опрему – међулабораторијска репродукцибилност, или различитих аналитичара у истој лабораторији – унутарлабораторијска репродукцибилност.

Према *ISO/TS 19036:2006* (Anon., 2006), приоритет се даје стандардној девијацији репродукцибилности добије-

ној на основу резултата унутар лабораторије. Осим ње, може се одредити и стандардна девијација репродукцибилности изведена из међулабораторијских студија и стандардна девијација репродукцибилности изведена из међулабораторијског тестирања оспособљености (*proficiency testing*). У овом раду, мерна несигурност је изведена из унутарлабораторијских експеримената, а тиме и на основу унутарлабораторијске репродукцибилности.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ/ MATERIAL AND METHODS

Засејавањем узорак стерилисане воде према захтевима методе SRPS EN ISO 6222 (Anon., 2010) установљено је

одсуство микроорганизама и да се узорак може користити у даљој процедури процене репродукцибилности методе и проширене мерне несигурности према ISO 16140 (Anon., 2003) и ISO/TS 19036 (Anon., 2006).

За процену репродукцибилности направљена је суспензија *Escherichia coli* ATCC 25922 у физиолошком раствору густине 3,9 McFarland скале. Направљена је серија децималних разређења до 10^{-8} . Из разређења 10^{-5} , 10^{-6} и 10^{-7} одређен је број бактерија у ml (по две плоче) према SRPS EN ISO 8199 (Anon., 2011), засејавањем 1 ml и наливањем хранљивог агара, након инкубације 72 сата на 37°C. Резултати су дати у табели 1.

Табела 1. Резултати засејавања разблажења суспензије за контаминацију

Разблажење	x_1 (cfu/ml)	x_2 (cfu/ml)
10-6	220	281
10-7	22	18
10-8	1	1
Пројектовани број <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922: $2,5 \times 10^8$ cfu/ml суспензије		

Узорак стерилне воде (100 ml) контаминиран је са 0,5 ml из разблажења 10^{-4} припремљене суспензије за контаминацију. Контаминирани узорак је хомогенизован и из хомогената је одмерено по 1 ml у два пута по 14 петри шоља. Петри шоље су наливене отопљеним и на од 45°C до 47°C охлађеним Квашчевим екстракт агаром за одређивање укупног броја културабилних микроорганизама у води према методи SRPS EN ISO 6222:2010. После завршене инкубације 14 петри плоча на $36 \pm 2^\circ\text{C}$ у трајању од $44 \pm 4\text{h}$,

пребројане су колоније, а добијени резултати коришћени за процену критеријума прецизности.

Критеријум прецизности је израчунат према формули:

$$R_{sr} = \frac{\sum R}{n},$$

где је

n – број анализираних узорак,

R – апсолутна вредност разлике логаритама резултата.

$$R = |\log x_1 \text{ и } \log x_2|$$

x_1 и x_2 – резултати два техничара

Ако је $R < R_{sr} \times 3,267$, резултат је прихватљив. Ако је $R > R_{sr} \times 3,267$, резултат је неприхватљив, тј. постоји више од 99% вероватноће да је варијабилност прекомерна. Ако се установи неприхватљив критеријум прецизности, потребно је идентификовати и решити аналитички проблем, а резултати добијени за репродукцибилност не могу се користити за процену мерне несигурности.

Након одређивања критеријума прецизности, контаминирани су узорци и урађени по двадесет понављања у дупликату, за сваку од тражених температура инкубације, од стране сваког од аналитичара који изводе испитивање, по истој процедури као за одређивање репродукцибилности. Резултати су презентовани у табелама 4. и 5, а на основу њих је одређена стандардна девијација репродукцибилности, граница репродукцибилности и проширена мерна несигурност.

Прорачун мерне несигурности је извршен према ISO 19036 (Anon., 2006):

$$S_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}}$$

где су:

y_{ij} – резултати трансформисани у логаритме, тј. $\log_{10} (cfu/g)$ или $\log_{10} (cfu/ml)$,

i – индекс узорка, $i = 1$ до n , при чему је $n \geq 10$,

j – индекс услова репродукцибилности $j = A$ или B ,

A и B – ознаке за аналитичаре.

Проширена мерна несигурност се добија као вредност стандардне девијације репродукцибилности помножена корекционим фактором 2, за ниво поверења од 95%.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА/ RESULTS AND DISCUSSION

Приликом осмишљавања експеримента коришћена је стерилисана вода, да би се избегао позадински раст, за контаминацију суспензија комерцијалне културе *Escherichia coli* ATCC 25922. Иако је препорука ISO/TS 19036 (Anon., 2006) да се приликом дизајна експеримената користе природно контаминирани узорци, будући да се на такав начин добија реалистичнија вредност мерне несигурности, на овакав начин је избегнута варијација у броју и врсти микроорганизама.

Након експерименталне процедуре наведене у методама рада, пребројане су колоније са инкубираних петри плоча и подаци су презентовани у табелама 2. и 3, а на основу њих је одређен критеријум прецизности за репродукцибилност на $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

Табела 2. Резултати процене критеријума прецизности за репродукцибилности на 22 ± 2 оС

Број мерења	Резултати мерења		$\log X_1$	$\log X_2$	$ \log X_1 - \log X_2 $	Прихватљивост
	X_1 (cfu)	X_2 (cfu)				
1.	166	90	2,220	1,954	0,266	П
2.	195	101	2,290	2,004	0,286	П
3.	172	100	2,236	2,000	0,236	П
4.	113	134	2,053	2,127	0,074	П
5.	165	149	2,217	2,173	0,044	П
6.	111	110	2,045	2,041	0,004	П
7.	105	171	2,021	2,233	0,212	П

П – прихватљиво Н – неприхватљиво

Према прорачуну из поглавља Материјал и методе, средња вредност апсолутних разлика је 0,160, а $3,267R_s$

је 0,523, па се резултати за репродукцибилност могу користити за процену проширене мерне несигурности.

Табела 3. Резултати процене критеријума прецизности за репродукцибилности на 36 ± 2 оС

Број мерења	Резултати мерења		$\log X_1$	$\log X_2$	$ \log X_1 - \log X_2 $	Прихватљивост
	X_1 (cfu)	X_2 (cfu)				
1.	123	152	2,090	2,182	0,092	П
2.	194	134	2,288	2,127	0,161	П
3.	151	146	2,179	2,164	0,015	П
4.	145	141	2,161	2,149	0,012	П
5.	152	120	2,182	2,079	0,103	П
6.	212	166	2,326	2,220	0,106	П
7.	251	167	2,400	2,223	0,177	П

П – прихватљиво Н – неприхватљиво

Према прорачуну из поглавља Материјал и методе, средња вредност апсолутних разлика је 0,118, а $3,267R_s$ је 0,387, па се резултати за репродукцибилност могу користити за проце-

ну проширене мерне несигурности. У табелама 3. и 4. су презентовани резултати за процену репродукцибилности два аналитичара унутар лабораторије.

Табела 4. Резултати за репродукцибилности на 22 ± 2 оС

Број мерења	Резултати мерења		$\log X_1$	$\log X_2$	$ \log X_1 - \log X_2 $
	X_1 (cfu)	X_2 (cfu)			
1.	124	185	2,093	2,267	0,174
2.	204	167	2,310	2,223	0,087
3.	222	77	2,346	1,886	0,460

4.	194	100	2,288	2,000	0,288
5.	170	83	2,230	1,919	0,311
6.	196	112	2,292	2,049	0,243
7.	190	127	2,279	2,104	0,175
8.	205	205	2,312	2,312	0,000
9.	84	215	1,924	2,332	0,408
10.	162	169	2,210	2,228	0,018
11.	190	212	2,279	2,326	0,048
12.	106	195	2,025	2,290	0,265
13.	184	193	2,265	2,286	0,021
14.	109	83	2,037	1,919	0,118
15.	129	72	2,111	1,857	0,253
16.	139	173	2,143	2,238	0,095
17.	138	206	2,140	2,314	0,174
18.	164	214	2,215	2,330	0,116
19.	132	180	2,121	2,255	0,135
20.	174	116	2,241	2,064	0,176

X_1 – број колонија, аналитичар А X_2 – број колонија, аналитичар В

На основу прорачуна презентова-
 ног у поглављу Материјали и методе
 добијено је да је на температури инку-
 бације $22\pm 2^\circ\text{C}$:

- стандардна девијација репродукци-
 билности $0,153 \text{ cfu log } 10$,
- граница репродукцибилности $0,429$
 $\text{cfu log } 10$, а
- проширена мерна несигурност $0,306$
 $\text{cfu log } 10$,

док је за температуру инкубације
 $36\pm 2^\circ\text{C}$:

- стандардна девијација репродукци-
 билности $0,115 \text{ cfu log } 10$,
- граница репродукцибилности $0,321$
 $\text{cfu log } 10$, а
- проширена мерна несигурност $0,229$
 $\text{cfu log } 10$.

Табела 5. Резултати за репродукцибилности на $36\pm 2^\circ\text{C}$

Број мерења	Резултати мерења		$\log X_1$	$\log X_2$	$ \log X_1 - \log X_2 $
	$X_1 \text{ (cfu)}$	$X_2 \text{ (cfu)}$			
1.	93	183	1,968	2,262	0,294
2.	165	90	2,217	1,954	0,263
3.	144	70	2,158	1,845	0,313
4.	123	67	2,090	1,826	0,264
5.	168	91	2,225	1,959	0,266
6.	117	112	2,068	2,049	0,019

7.	156	106	2,193	2,025	0,168
8.	104	91	2,017	1,959	0,058
9.	99	107	1,996	2,029	0,034
10.	161	156	2,207	2,193	0,014
11.	198	216	2,297	2,334	0,038
12.	128	117	2,107	2,068	0,039
13.	134	146	2,127	2,164	0,037
14.	122	133	2,086	2,124	0,037
15.	198	161	2,297	2,207	0,090
16.	73	105	1,863	2,021	0,158
17.	111	73	2,045	1,863	0,182
18.	96	91	1,982	1,959	0,023
19.	78	86	1,892	1,934	0,042
20.	89	128	1,949	2,107	0,158

X_1 – број колонија, аналитичар А X_2 – број колонија, аналитичар В

Израчуната мерна несигурност експериментално добијених унутарлабораторијских резултата испитивања културабилних микроорганизама у води је карактеристика која се може придружити резултатима при извештавању проведених анализа. Међутим, мора се водити рачуна, с обзиром на целокупан мониторинг квалитета воде, да је метода SRPS EN ISO 6222:2010 ограничена на културабилне микроорганизме, тј. на оне микроорганизме који могу да формирају колоније на специфичном хранљивом агару. Осим њих, постоје и микроорганизми чије ћелије су способне да преживе, метаболички су активне, али не формирају колоније на подлози. Сматра се да у води из животне средине и земљишта има око 1% оваквих микроорганизама (Bracina and Arana, 2009) и да су неки од њих природни резервоар патогена за људе (del Mar Lleo и сар., 2007). Неке од патогених бактерија које могу

постићи метаболички активно стање, а да се не могу култивисати су (Oliver, 2010):

Aeromonas hydrophila, *Agrobacterium tumefaciens*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (укључујући EHEC), *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Streptococcus faecalis*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, и *Vibrio vulnificus* (тип 1 и тип 2). Додатни проблем представља то што поједини патогени у већ третираној води могу да преживе као биофилм на славинама за воду, где их заштитни слој полисахарида одржава у метаболички активном стању (Keevil, 2002). Око 95% микробних ће-

лија присутних у дистрибутивном систему воде за пиће егзистира као биофилм на површини славина, а само 5% се појављује у воденој фази (Flemming, 2002).

У сваком случају, предуслов развоја добре аналитике у лабораторијама је да су резултати испитивања provedени у различитим лабораторијама уједначени, а тиме процена проширене мерне несигурности унутарлабораторијских испитивања представља незаобилазан параметар успешно уведене методе.

ЗАКЉУЦИ/ CONCLUSIONS

Мониторинг квалитета воде претпоставља и коришћење микробиолошких метода, од којих се метода SRPS EN ISO 6222:2010 користи за одређивање броја културабилних микроорганизама у води и није применљива на микроорганизме који су метаболички активни, али немају способност формирања колонија на подлогама.

Предуслов за увођење методе у лабораторију јесте одређивање унутарлабораторијске репродукцибилности, а самим тим и проширене мерне несигурности методе.

Наши експериментални резултати за репродукцибилност и проширену мерну несигурност методе SRPS EN ISO 6222:2010 показали су прихватљивост и уједначеност резултата без обзира на температуру инкубације засејаних плоча.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Anon. (2003): *Microbiology of Food and Animal Feedingstuffs – Protocol for*

the Validation of Alternative Methods. ISO 16140:2003.

2. Anon. (2006): *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.* ISO/TS 19036:2006.
3. Анон. (2011): *Квалификације воде. Описне смернице за бројање култивацијом микроорганизама.* SRPS EN ISO 8199:2011.
4. Анон. (2010): *Квалификације воде. Одређивање броја културабилних микроорганизама. Бројање колонија засејавањем у подлогу храниви агар.* SRPS EN ISO 6222:2010.
5. Barcina, I. and I. Arana (2009): *The viable but nonculturable phenotype: a crossroads in the life-cycle of non-differentiating bacteria?*, Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 8: 245–255.
6. M. del Mar Lleò; D. Benedetti; M. C. Tafi; C. Signorello and P. Canepari (2007): *Inhibition of the resuscitation from the viable but non-culturable state in Enterococcus faecalis*, Environmental Microbiology, 9: 2313–2320.
7. Keevil, C. W. (2002): *Pathogens in environmental biofilms.* In: Bitton G., editor. *The encyclopaedia of environmental microbiology.* New York: Wiley Interscience, pp. 2339–2356.
8. Flemming, H. C. (2002): *Biofouling in water systems – cases, causes and countermeasures.* Applied Microbiology and Biotechnology, 59: 629–640.

9. Oliver, J. D. (2010): *Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria*, FEMS Microbiology Reviews, 34: 415–425.
10. Prentice, T. (2002): *Overview*. In: Murray, C.; Lopez, A. editors. *The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life*. Geneva: World Health Organization, pp. 7–14.
11. Sartory, D. P. (2004): *Heterotrophic plate count monitoring of treated drinking water in the UK: a useful operational tool*. Int. J. Food Microbiol 92: 297–306.
12. WHO (2002): *Expert Consensus*. In: J. C. J. Bartram, M. Exner, C. R. Fricker and A. Glasmacher (eds.) *Heterotrophic Plate Count and Drinking-Water Safety IWA Publishing*, London.
11. Sartory, D. P. (2004): *Heterotrophic plate count monitoring of treated*



80 година

DOI: 10.7251/VETJ1401014H

UDK 636.75:616.12-008.331.1-06

E. Hadžiahmetović Jurida,¹ J. Ferizbegović¹*Originalni rad***HUMORALNA ULOGA RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON
SISTEMA U GENEZI HIPERTENZIJE KOD LOVAČKIH PASA****Kratak sadržaj**

Danas je poznato da su u svijetu upravo bolesti kardiovaskularnog sistema vodeći uzrok mortaliteta. Jedan od kapitalnih parametara koji nam na jednostavan način i u kratkom vremenu daje mnogo vrijednih pokazatelja zdravlja pacijenata je mjerenje krvnog pritiska. To je jedan od načina da se dobije objektivan uvid u zdravstveno stanje pacijenta i stanje njegovog kardiovaskularnog sistema. Općenito, hipertenzija se može definisati kao hronično povećanje sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, uz napomenu da je hipertenzija nerazdvojivo povezana sa funkcionalnim i strukturnim promjenama u zidovima krvnih sudova. Fiziološke vrijednosti krvnog pritiska kod pasa kreću se u rasponu od 118 do 149 mmHg, sistolni, i 66–88 mmHg, dijastolni. Uzimajući u obzir dob, rasu i spol, ustanovljeni su kriterijumi, odnosno protokol, koji su prihvaćeni od Svjetskog udruženja veterinara (World Veterinary Association, WVA).

Našim istraživanjem je obuhvaćeno i ispitano ukupno 60 pasa različitih pasmina na prostoru općine Tuzla. Tretirani psi označeni su kao grupa A, a čine je nelovački psi različitih pasmina koji su podijeljeni u četiri podgrupe sa po 15 pasa, označene sa A1–A4, na bazi različite dobne kategorije.

Tokom rutinske pretrage, kao parametri pomoću kojih je izvršena detekcija hipertenzije, uzeti su sistolni, dijastolni krvni pritisak, frekvencija pulsa te starosna dob psa, kao i procedura neophodna za mjerenje koncentracije renina i aldosterona. Kod svih grupa pasa, detektovani su blagi, srednji i teški tip hipertenzije. Kod ispitivanih pasa, blaga hipertenzija je zastupljena kod 14 pasa (23,3%), srednja kod 10 (16,6%), i teška kod samo tri psa (5%). Kod 33 psa (55%) nije registrovan niti jedan tip hipertenzije.

Naša istraživanja su ukazala i na činjenicu koliko je bitno, prilikom svakoga pregleda pacijenta, provesti rutinsko mjerenje krvnog pritiska koje nam služi kao *screening* za poduzimanje sljedećeg koraka, bilo dijagnostičkog ili terapijskog.

Ključne riječi: renin, aldosteron, pas.

¹ Prirodno-matematički fakultet Univerziteta z Tuzli, Bosna i Hercegovina.

Faculty of Science, University of Tuzla, Bosnia and Herzegovina.

E-pošta korespondentnog autora/ E-mail of the corresponding author: elvira.lonic@untz.ba

E. Hadžiahmetović Jurida,¹ J. Ferizbegović¹

Original paper

THE HUMORAL ROLE OF THE RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM IN THE GENESIS OF HYPERTENSION OF HUNTING DOGS

Abstract

Today, it is universally known that cardio-vascular diseases are the leading cause of mortality. One of the major parameters which, in a simple manner and a short period, produce a number of particularly significant indicators of patients' health is blood pressure measurement. This is one of the ways of obtaining an objective overview of the patient's health status, and the patient's cardio-vascular system status.

Generally speaking, hypertension can be defined as chronic increase in systolic and diastolic blood pressure, keeping in mind that hypertension is inseparably linked with functional and structural changes in blood vessel walls.

Physiological values of blood pressure in dogs vary from 118-149 mmHg for systolic pressure, and 66-88 mmHg for diastolic pressure. Taking into consideration the age, sex and race, criteria, i.e. protocols, are established by the World Veterinary Association (WVA). The research we conducted encompassed a total of 60 examined dogs of various breeds in Tuzla municipality. Targeted dogs were marked as group A (non-hunting dogs of various breeds), further divided into four subgroups with 15 dogs in each subgroup, marked with A1-A4, based on the age category.

During routine check-ups, the parameters that helped detect hypertension were systolic blood pressure, diastolic blood pressure, pulse rate, and age, as well as the procedure required for measuring the concentration of the hormones - renin and aldosterone.

Mild, moderate and severe hypertension was detected in all groups of dogs. Mild hypertension was observed in 14 dogs (23.3%), moderate hypertension in 10 dogs (16.6%), while severe hypertension was observed in only 3 dogs (5%). In 33 dogs (55%), there was no type of hypertension observed.

The research we conducted pointed to the fact that it is highly important to make the routine blood pressure measurement during every examination, which can thus serve as a screening for undertaking further steps, be it diagnostic or therapeutic.

Key words: renine, aldosterone, dogs.

UVOD/ INTRODUCTION

Još devedesetih godina prošlog vijeka, veći broj autora isticao je i ukazivao na neophodnost procjene krvnog pritiska prilikom uobičajenog kliničkog pregleda ljudi i životinja, cijeneći da se hipertenzija javlja kao prateći simptom za vrijeme različitih bolesnih stanja. Danas je poznato da su u svijetu upravo bolesti kardiovaskularnog sistema vodeći uzrok mortaliteta. Jedan od kapitalnih parametara koji nam na jednostavan način i u kratkom vremenu daje iznimno mnogo vrijednih pokazatelja zdravlja pacijenata je mjerenje krvnog pritiska. To je jedan od načina da se dobije objektivni uvid u zdravstveno stanje pacijenta i stanje njegovog kardiovaskularnog sistema. U veterinarskoj medicini, generalno je prihvaćeno da se neka životinja može smatrati hipertenzivnom ukoliko izmjereni sistolni odnosno dijastolni pritisci prelaze vrijednosti 180/100 mmHg. U humanoj medicini te vrijednosti su nešto niže, tačnije rečeno, hipertenzija se definiše vrijednostima krvnog pritiska koji je veći od 140/90 mmHg.

Cilj koji zauzima prvo mjesto u liječenju hipertenzije je pravovremena dijagnostika, adekvatna terapija i rehabilitacija i, naravno, ukoliko je moguće, normalizacija krvnog pritiska i sprečavanje oštećenja organa.

Normalne vrijednosti za pse su specifične za svaku pasminu. Pritisci za zlatne retrivere, labradore i velike pasmine teže da budu manji od ukupne srednje vrijednosti, dok je kod lovačkih pasa generalno pritisak nešto viši. U literaturi se uzima da prosječan krvni pritisak pasa ima vrijednost 133/75 (Carr, 2000).

Krvni pritisak za mačke nije specifičan po pasminama. Normalni krvni pritisak za mačke iznosi 124/84 mmHg.

Prema kriterijima Svjetskog veterinarskog udruženja, o hipertenziji kod pasa govorimo ukoliko vrijednosti krvnog pritiska prelaze 150 mmHg za sistolni i 95 mmHg za dijastolni krvni pritisak (Montoya i sar., 2006), odnosno 160/100 mmHg (Nelson i sar., 2003), što se vidi u tabeli 1.

Tabela 1. Podjela hipertenzije prema vrijednostima krvnog pritiska za pse i mačke

Klasifikacija hipertenzije	Psi i mačke	Specifične razlike vrsta
blaga hipertenzija	>150/ 95	+ ~ 20 mmHg
srednja hipertenzija	>160/ 100	+ ~ 30 mmHg
teška hipertenzija	>180/ 120	+ ~ 50 mmHg

MATERIJAL I METODE/ MATERIAL AND METHODS

Istraživanjem je obuhvaćeno i ispitano ukupno 60 pasa različitih pasmina na

prostoru općine Tuzla. Tretirane pse čine lovački psi različitih pasmina.

Grupa A, koju čine lovački psi različitih pasmina, sastoji se od četiri podgrupe, i to u zavisnosti od dobne kategorije:

- A1 – psi starosne dobi 1–3 godine,
- A2 – psi starosne dobi 3–6 godina,
- A3 – psi starosne dobi 6–9 godina,
- A4 – psi starosne dobi 9–12 godina.



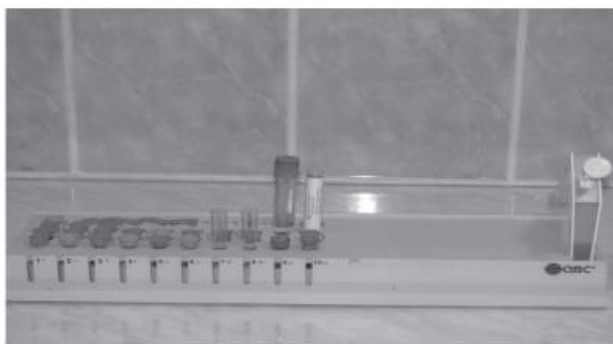
Slika 1. Ispitivani psi

Prema naučnoj metodologiji, ispitane grupe pasa su obrađene po principu i shemi kliničke pretrage:

- opis životinje (nacional): vrsta, pol, dob, boja, znakovi, ime, identifikacioni čip ili oznaka;
- anamneza;
- *status praesens* (opće stanje, habitus, temperatura, puls, disanje, vidljive sluznice i limfni čvorovi).

Takođe, medicinska obrada podrazumijeva kod svih ispitivanih pasa u tretiranim grupama objektivno mjerenje krvnog pritiska te obradu podataka.

Nakon obrade pasa, analizirani su relevantni podaci vezani za vrijednosti krvnog pritiska, pulsa, te starosne dobi pasa, kao i procedura neophodna za mjerenje koncentracije hormona renina i aldosterona.



Slika 2. Prikupljeni uzorci krvi pasa



Slika 3. Mjerenje krvnog pritiska na prednjoj nozi psa

REZULTATI/ RESULTS

Tabela 2. Vrijednosti starosne dobi, krvnog pritiska i pulsa kod pasa iz podgrupe A1 (psi starosne dobi 1–3 godine)

Redni broj psa Podgrupa A1	Starosna dob (mjeseci)	Krvni pritisak (mmHg) Sistolni	Krvni pritisak (mmHg) Dijastolni	Tip hipertenzije	Frekvencija pulsa (bt/min)
1.	36	137	81	-	104
2.	20	151	87	Blaga hipertenzija	123
3.	12	155	105	Blaga hipertenzija	106
4.	30	177	115	Srednja hipertenzija	94
5.	30	137	88	-	125
6.	36	136	91	-	121
7.	24	129	97	-	98
8.	36	134	97	-	101
9.	24	137	88	-	96
10.	36	127	100	-	99
11.	36	137	95	-	101
12.	24	205	109	Teška hipertenzija	103
13.	36	141	91	-	96
14.	36	166	96	Srednja hipertenzija	99
15.	36	125	91	-	99

Tabela 3. Nivoi koncentracije renina i aldosterona kod pasa iz podgrupe A1

<i>Redni broj psa Podgrupa A1</i>	<i>Nivo koncentracije renina (nmol/l)</i>	<i>Nivo koncentracije aldosterona (nmol/l)</i>
1.	0,001	1,034
2.	0,308	0,002
3.	0,309	0,003
4.	0,312	0,004
5.	0,001	0,217
6.	0,024	0,002
7.	0,002	0,035
8.	0,005	0,022
9.	0,004	0,230
10.	0,004	0,341
11.	0,003	0,005
12.	1,510	0,008
13.	0,003	0,050
14.	0,312	0,006
15.	0,309	0,210

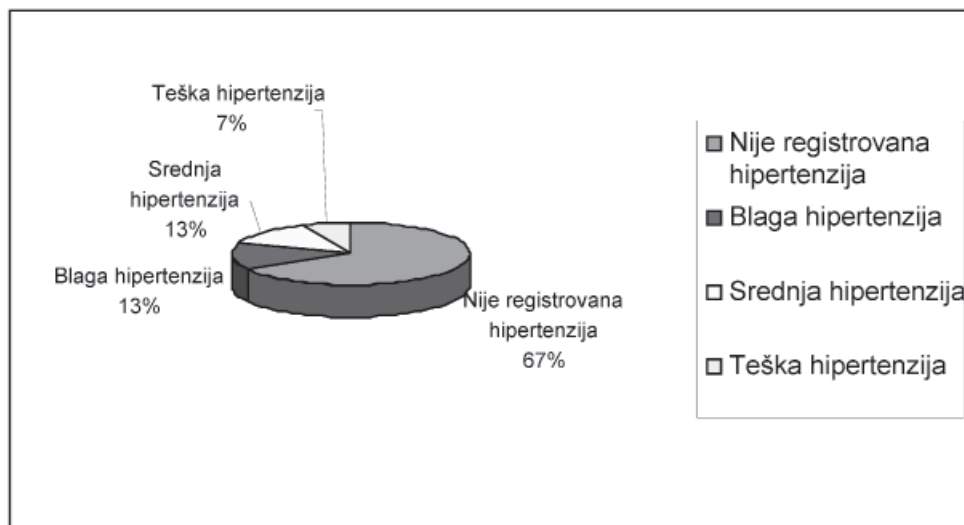
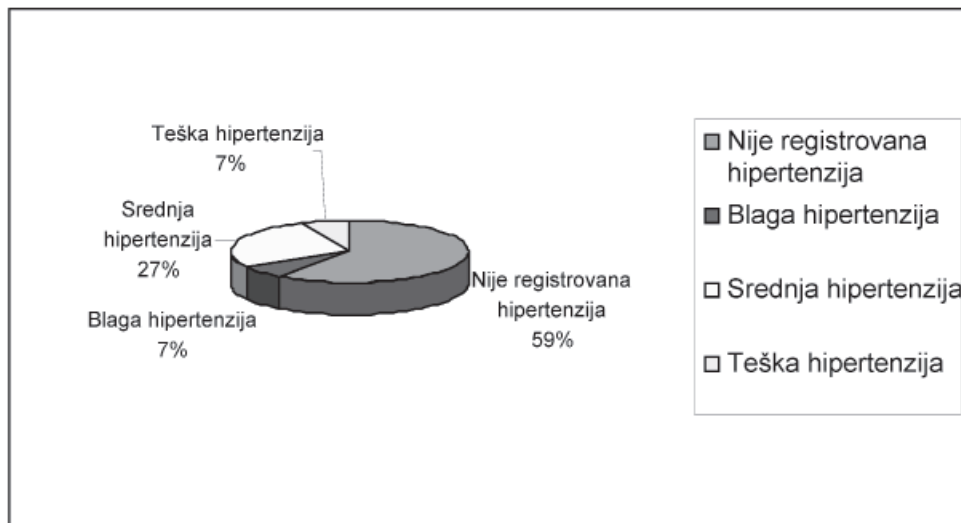
**Grafikon 1.** Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta hipertenzije kod podgrupe A1

Tabela 4. Vrijednosti starosne dobi, krvnog pritiska i pulsa kod pasa iz podgrupe A2
 (psi starosne dobi 3–6 godina)

Redni broj psa Podgrupa A2	Starosna dob (mjeseci)	Krvni pritisak (mmHg) Sistolni	Krvni pritisak (mmHg) Dijastolni	Tip hipertenzije	Frekvencija pula (bt/ min)
1.	48	126	90	-	97
2.	48	129	95	-	100
3.	72	137	89	-	89
4.	48	141	95	-	101
5.	48	160	99	Srednja hipertenzija	101
6.	72	139	80	-	103
7.	72	132	84	-	109
8.	72	128	69	-	96
9.	72	152	92	Blaga hipertenzija	108
10.	48	160	99	Srednja hipertenzija	101
11.	72	132	78	-	114
12.	48	169	98	Srednja hipertenzija	99
13.	72	139	97	-	85
14.	72	163	104	Srednja hipertenzija	150
15.	72	191	128	Teška hipertenzija	143

Tabela 5. Nivoi koncentracije renina i aldosterona kod pasa iz podgrupe A2

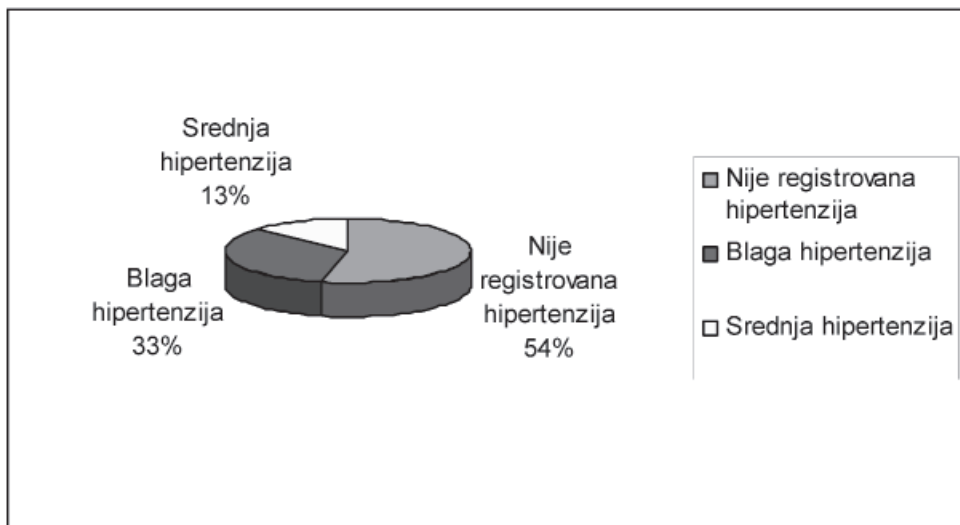
Redni broj psa Podgrupa A2	Nivo koncentracije renina (nmol/l)	Nivo koncentracije aldosterona (nmol/l)
1.	0,005	0,013
2.	0,004	0,110
3.	0,950	0,006
4.	0,003	0,138
5.	0,309	0,003
6.	0,480	1,673
7.	1,430	0,011
8.	0,340	0,067
9.	0,302	0,004
10.	0,301	0,005
11.	1,100	0,049
12.	0,312	0,004
13.	0,308	0,006
14.	0,310	0,012
15.	0,315	0,002

**Grafikon 2.** Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta hipertenzije kod podgrupe A2**Tabela 6.** Vrijednosti starosne dobi, krvnog pritiska i pulsa kod pasa iz podgrupe A3 (psi starosne dobi 6–9 godina)

Redni broj psa Podgrupa A3	Starosna dob (mjeseci)	Krvni pritisak (mmHg) Sistolni	Krvni pritisak (mmHg) Dijastolni	Tip hipertenzije	Frekvencija pula (bt/min)
1.	90	151	107	Blaga hipertenzija	125
2.	96	137	84	-	103
3.	72	151	98	Blaga hipertenzija	100
4.	84	157	97	Blaga hipertenzija	100
5.	72	140	96	-	101
6.	84	139	80	-	103
7.	72	147	103	-	100
8.	84	148	98	-	103
9.	84	155	95	Blaga hipertenzija	100
10.	84	123	76	-	101
11.	96	160	100	Srednja hipertenzija	100
12.	96	108	87	-	118
13.	96	139	97	-	85
14.	84	167	90	Srednja hipertenzija	97
15.	96	151	98	Blaga hipertenzija	103

Tabela 7. Nivoi koncentracije renina i aldosterona kod pasa iz podgrupe A3

Redni broj psa Podgrupa A3	Nivo koncentracije renina (nmol/l)	Nivo koncentracije aldosterona (nmol/l)
1.	0,303	0,009
2.	0,303	0,002
3.	0,303	0,004
4.	0,304	0,013
5.	0,004	0,006
6.	2,830	0,466
7.	0,009	0,040
8.	0,004	0,002
9.	0,303	0,003
10.	0,070	0,001
11.	0,303	0,083
12.	0,450	0,035
13.	0,350	0,007
14.	0,309	0,004
15.	0,305	0,004



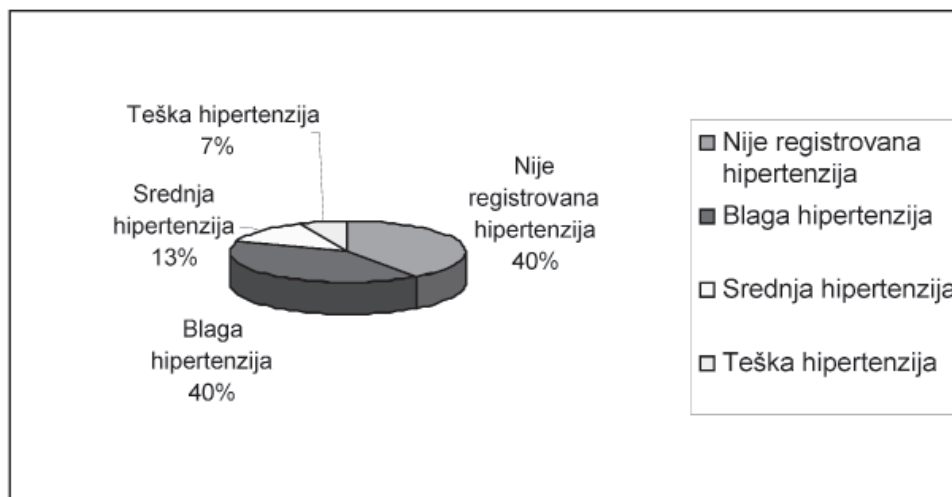
Grafikon 3. Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta hipertenzije kod podgrupe A3

Tabela 8. Vrijednosti starosne dobi, krvnog pritiska i pulsa kod pasa iz podgrupe A4 (psi starosne dobi 9–12 godina)

<i>Redni broj psa Podgrupa A4</i>	<i>Starosna dob (mjeseci)</i>	<i>Krvni pritisak (mmHg) Sistolni</i>	<i>Krvni pritisak (mmHg) Dijastolni</i>	<i>Tip hipertenzije</i>	<i>Frekvencija pula (bt/min)</i>
1.	108	151	127	Blaga hipertenzija	125
2.	108	158	111	Blaga hipertenzija	106
3.	108	136	87	-	89
4.	120	182	98	Teška hipertenzija	106
5.	108	153	134	Blaga hipertenzija	120
6.	120	151	110	Blaga hipertenzija	106
7.	108	132	84	-	109
8.	120	167	113	Srednja hipertenzija	105
9.	108	152	92	Blaga hipertenzija	108
10.	132	156	99	Blaga hipertenzija	98
11.	108	132	78	-	114
12.	120	139	97	-	105
13.	108	139	97	-	85
14.	120	147	97	-	98
15.	108	166	99	Srednja hipertenzija	101

Tabela 9. Nivoi koncentracije renina i aldosterona kod pasa iz podgrupe A4

<i>Redni broj psa Podgrupa A4</i>	<i>Nivo koncentracije renina (nmol/l)</i>	<i>Nivo koncentracije aldosterona (nmol/l)</i>
1.	0,303	0,003
2.	0,302	0,004
3.	0,004	0,148
4.	0,313	0,007
5.	0,302	0,004
6.	0,304	0,003
7.	1,470	0,004
8.	0,307	0,004
9.	0,301	0,001
10.	0,303	0,002
11.	0,303	0,001
12.	0,001	0,007
13.	0,305	1,650
14.	0,002	0,002
15.	0,308	0,005



Grafikon 4. Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta hipertenzije kod podgrupe A4

DISKUSIJA/ DISCUSSION

U savremenim fiziološkim istraživanjima, smatra se da je hipertenzija jedna od najčešćih bolesti današnjice kako kod ljudi tako i kod životinja. Uzroci hipertenzije su višestruki, tako da, pored onih koji su genetske etiologije, nastanku i razvoju hipertenzije značajno doprinose faktori sredine (misli se na sve veću urbanizaciju, stanje okoliša, način ishrane, fizičku aktivnost, stres i još mnoge druge).

Ako vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska pripadaju različitim kategorijama kod procjene ukupnog kardiovaskularnog rizika te uvođenja terapije, ravnamo se prema višoj izmjerenoj vrijednosti – tvrde Pavlečić Peršić i saradnici (2010), što je, sa sigurnošću možemo tvrditi, slučaj i sa podacima naših istraživanja, te tipizaciji i kvalifikaciji hipertenzije na osnovu vrijednosti sistolnog i dijastolnog pritiska.

Istraživanja u ovom radu pokazuju da je već pri sistolnom krvnom pritisku

od 150 mmHg dijagnosticiran blagi oblik hipertenzije. Slične rezultate dobio je i Stepien (2002), koji je kao kriterij za dijagnosticiranje hipertenzije koristio izvore Svjetskog udruženja veterinarara, što je slučaj i kod naših istraživanja. Međutim, Ettinger i saradnici (1995) u svojim radovima hipertenziju dijagnosticiraju pri sistolnom pritisku iznad 180 mmHg. Njegovi rezultati su u značajnoj koliziji sa rezultatima naših istraživanja, gdje je hipertenzija dijagnosticirana već pri sistolnom pritisku od 150 mmHg.

Bodey i Michell (1996) svojim istraživanjem su potvrdili da je blago povećanje krvnog pritiska zabilježeno s porastom starosne dobi pasa. Druge studije, kao što su studije Stepiena i Rapoport (1999) tvrde da starosna dob i krvni pritisak nisu u značajnoj korelaciji. Rezultati naših istraživanja su u skladu sa rezultatima Bodey i Michella (1996), a u značajnoj koliziji sa rezultatima Stepiena i Rapoport. Naime, postoji statistički značajna

razlika srednjih vrijednosti kada je u pitanju starost prema rezultatima naših istraživanja.

Hipertenzija ne zahtijeva uvijek liječenje. U blagim, a nekad i umjerenim hipertenzijama, dovoljno je liječiti bolest, dok se nastavlja pratiti krvni pritisak. Liječenje teških hipertenzija je obavezno da bi se spriječilo oštećenje organa (Brovida, 2007).

Naša istraživanja su ukazala na činjenicu koliko je pri svakom pregledu pacijenta bitno rutinsko mjerenje krvnog pritiska koje nam služi kao *screening* za poduzimanje sljedećeg koraka, bilo dijagnostičkog ili terapijskog.

ZAKLJUČCI/ CONCLUSIONS

Na temelju ukupnih rezultata, u tražanju za odgovorima na pitanja koja su postavljena u cilju ovog rada, moguće je formulisati više bitnih zaključaka:

- Od ukupnog uzorka od 60 pasa, kod njih 27 (45%) konstatovana je hipertenzija. Detektovani su blagi, srednji i teški tip hipertenzije.
- Podgrupa lovačkih pasa starosti 3–6 godina predstavlja podgrupu pasa sa najvišim izmjerenim vrijednostima za nivo koncentracije renina, čije su vrijednosti 0,431 nmol/l.
- Kod ispitivanih lovačkih pasa, blaga hipertenzija je zabilježena kod 14 ispitivanih pasa (23,3%), srednja kod 10 (16,6%) i teška kod samo tri psa (5%).
- Srednje vrijednosti sistolnog pritiska se blago povećaju kada je riječ o lovačkim psima svrstanim u kategorijama

po starosnoj dobi pasa. Najviša srednja vrijednost registrovana je kod lovačkih pasa starosti 9–12 godina, i iznosi 146,97 mmHg. Kad je u pitanju sistolni pritisak, u ovom slučaju $p=0,0650$, te se stoga ne smatra visoko statistički značajnim.

- Takođe, srednje vrijednosti za dijasistolni krvni pritisak se blago eksponencijalno povećavaju, te su najviše registrovane kod lovačkih pasa starosti 9–12 godina, u vrijednosti od 97,03 mmHg.
- Podgrupa lovačkih pasa starosti 3–6 godina predstavlja podgrupu pasa sa najvišim izmjerenim vrijednostima za nivo koncentracije renina, čije su vrijednosti 0,431 nmol/l.
- Srednje vrijednosti renina eksponencijalno se povećaju kada je riječ o podgrupama lovačkih pasa, svrstanim u kategorijama po starosnoj dobi pasa. Najviša srednja vrijednost registrovana je kod lovačkih pasa starosti 6–9 godina, i iznosi 0,303 nmol/l.
- Takođe, srednje vrijednosti za aldosteron se blago eksponencijalno povećavaju te su najviše registrovane kod podgrupe lovačkih pasa starosti 9–12 godina, u vrijednosti od 0,178 nmol/l.
- Kod mnogih pasmina pasa, posebno velikih pasmina, uključujući lovačke pse, često se pojavljuje srčani problem koji je praćen i povišenim vrijednostima krvnog pritiska, te poremećajem sistema renin-angiotenzin-aldosteron. Rutinskim ispitivanjem neophodno je pravovremeno uspostaviti ranu dijagnozu te uvesti sve moguće mjere

prevalencije. Prevalencija hipertenzije u populaciji pasa na području Bosne i Hercegovine je jako niska, što potvrđuju i rezultati naših istraživanja prema kojima je od ukupno 120 pasa kod njih 41 konstatovana hipertenzija.

LITERATURA/ REFERENCES

1. Bodey, A. R.; Michell, A. R. (1996): *Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs*. Royal Veterinary College, North Mymms, Hatfield, Hertfordshire.
2. Carr, A. (2000): *Hypertension in der Kleintierpraxis*. Kleintiermedizin, 263–267.
3. Ettinger, J. S.; Feldman, E. C. (1995): *Textbook of veterinary internal medicine*. Fourth edition Volume I, 93–96.
4. Montoya, J. A.; Penelope, J. M.; Immaculada, B.; Candelaria, M. J.; Suarez, L.; Pena, C.; Hackett, R. M.; Rawlings, J. (2006): *A risk factor associated with weight status in dogs*. The WALTHAM International sciences symposia innovations in companion animal nutrition.
5. Nelson, W. R.; Cuoto, C. G. (2003): *Small animal internal medicin*. 198–203.
6. Pavletić Peršić, M.; Vuksanović Mikušić, S. i Rački, S. (2010): *Arterijska hipertenzija*. Medicina Fluminensis 46: 376–389
7. Stepien, R. L. (2002): *Hypertension in cats and dogs: Prevalence and importance of systemic hypertension*. Waltham/OSU Symposium: Small Animal Cardiology.
8. Stepien, R. L.; Rapoport, G. S. (1999): *Clinical comparison of three methods to measure blood pressure in non-sedated dogs*. J Am Vet Med Assoc 215: 1623–1628.



1934–2014

DOI: 10.7251/VETJ1401015B

UDK 636.4.085.1:579.862

Р. Бабић,¹ С. Николић,¹ Д. Н. Недић,¹ О. Стевановић,¹ В. Сантрач,¹ Ј. Марић,¹
С. Вељовић²

Приказ случаја

STREPTOCOCCUS SUIС ТИП I – УЗРОЧНИК ФАТАЛНЕ ХЕМОРАГИЧНЕ СЕПТИКЕМИЈЕ ПРАСАДИ?

Кратак садржај

Стрептококоза свиња је узгојно обољење узроковано бактеријском врстом *Streptococcus suis* које се карактерише септикемијом, бронхопнеумонијом, менингитисом, полисерозитисом и полиартритисом. Познато је да стрептококоза не изазива појаву високог морталитета у запату. За разлику од *Streptococcus suis* тип II, не постоје конкретни литературни подаци који указују на то да *Streptococcus suis* тип I посједује изражен ендотелни тропизам који посљедично резултира хеморагичним синдромом. У овом раду је приказан случај хеморагичне септикемије у неколико легала прасади на сиси која су држана у екстензивним фармским условима. Клинички и патолошки налаз су упућивали на општи хеморагични синдром. На основу клиничке слике, патоморфолошког налаза и лабораторијских анализа закључено је да је до угинућа дошло због септикемије проузроковане са *Streptococcus suis* тип I. Налаз хеморагичне септикемије, која је посљедица инфекције са *Streptococcus suis* тип I иде у прилог чињеници да се стрептококоза свиња не смије диференцијално дијагностички изузети из каузитета синдрома хеморагичних налаза код свиња са посебним освртом на класичну кугу свиња.

Кључне ријечи: хеморагична септикемија, свиња, *Streptococcus suis* тип I.

¹ ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске “Др Васо Бутозан” Бања Лука, Босна и Херцеговина.

PI Veterinary Institute of Republic of Srpska “Dr Vaso Butozan” Banja Luka, Bosnia and Herzegovina.

² Ветеринарска станица „Трговет“ Дубраве, Градишка.

Veterinary Practice “Trgovet” Dubrave, Gradiška.

Е-пошта кореспондентог аутора/ E-mail of the corresponding author: radovan.babic@virsvb.com

R. Babić,¹ S. Nikolić,¹ D. N. Nedić,¹ O. Stevanović,¹ V. Santrač,¹ J. Marić,¹ S. Veljović²

Case report

STREPTOCOCCUS SUIIS TYPE I – A CAUSATIVE AGENT OF LETHAL HAEMORRHAGIC SEPTICAEMIA IN PIGLETS?

Abstract

Swine streptococcosis is a disease caused by bacterial species *Streptococcus suis* characterized by: septicaemia, bronchopneumonia, meningitis, polyserositis and polyarthritis. It is widely known that streptococcosis does not cause high mortalities in a flock. Unlike records related to *Streptococcus suis* type II, there are no relevant literature data to show that *Streptococcus suis* type I is prominently endotheliotropic, which would eventually cause haemorrhagic syndrome. The paper describes a case of haemorrhagic septicaemia in several litters of sucking piglets bred in unfavourable farming conditions. Clinical and pathological findings suggested general haemorrhagic syndrome. Based on clinical examination, autopsy findings and further laboratory tests, it is concluded that mortality was to be attributed to septicaemia caused by *Streptococcus suis* type I. Occurrence of haemorrhagic septicaemia initiated by *Streptococcus suis* type I proves that swine streptococcosis should not be ruled out from the group of etiologic agents of hemorrhagic syndrome, which is particularly important in classical swine fever differential diagnosis.

Key words: haemorrhagic septicaemia, pig, *Streptococcus suis* type I.

УВОД/ INTRODUCTION

Стрептококоза свиња је узгојно обољење узроковано бактеријском врстом *Streptococcus suis* које се карактерише септикемијом, бронхопнеумонијом, менингитисом, полисерозитисом и полиартритисом. Позната су два типа овог микроорганизма, и то: *Streptococcus suis* тип I и *Streptococcus suis* тип II. Иако

се званично класификација узрочника своди на два типа исте врсте бактерија, до данас је изоловано девет серотипова врсте *Streptococcus suis* (Шаманц, 2009). Морбидитет, као и mortalитет болести је низак у креће се око 20% у леглу прасади на сиси, која најчешће оболевају (Cloutier и сар., 2003). Најчешће оболевају прасад стара 5–10 седмица (Cloutier и сар., 2003).

Уопштено речено, стрептококоза код свиња не изазива велике губитке у производњи и ветеринари који се баве одржавањем здравственог статуса свиња лако могу изаћи на крај са овим обољењем. Нешто је другачија слика ако је проблем комплексан, односно када је стрептококоза само посљедица примарног проблема. У свим овим случајевима се не смије олако приступити дијагнози, што је, нажалост, у пракси чест случај.

Евентуално, стрептококне инфекције код прасади могу да буду фаталне у случају перакутног тока, када долази до менингоенцефалитиса и сепсе (Higgins и Gotschallk, 2006). Опис клиничке слике и патоморфолошких промјена код стрептококозе се разликује по референтној литератури, али се може запазити да до сада нису описане тешке септикемичне промјене које завршавају тешким хеморагијама по унутрашњим органима. Ово је посебно важан податак јер није доказано да *Streptococcus suis* тип I посједује васкуларно-ендотелни тропизам, док је, с друге стране, додуше у експерименталним условима, потврђено да *Streptococcus suis* тип II има афинитет према васкуларним ћелијама човјека (Charland и сар., 2000).

Из овог податка произлази и специфичност овог случаја. Епидемиолошки подаци, клиничка слика и патолошки налаз обољелих нису указивали на појаву стрептококозе. Ипак, на основу лабораторијско-дијагностичке елиминације других спорних обољења свиња и изолације *Streptococcus suis* типа I, наведени приказ случаја добија на клиничкој вриједности.

ОПИС СЛУЧАЈА/ CASE DESCRIPTION

Фебруара 2014. године, на захтјев власника и уз сагласност регионалног ветеринара, запослени ЈУ Ветеринарског института „Др Васо Бутозан“ Бања Лука су извршили епидемиолошки увиђај са клиничким прегледом обољелих животиња и прикупљањем узорака.

Анамнеза и клинички преглед

Према анамнестичким подацима, животиње су из властитог узгоја. Изузетак је нераст који је на имање допремљен у току јесени. Иако власник посједује нераста, донедавно га није користио за приплод. Легла у којима се јавља проблем нису поријеклом од нераста који се налази на имању, већ су крмаче транспортоване на припуст на сусједна имања.

Према власнику, проблем се појавио прије пет мјесеци. Тада је угинуло цијело легло непосредно након прашења. У задња два легла, проценат угинућа врло је висок (и до 100%). Прасад угину са 20-ак дана старости. Примиијетио је отежано дисање, оток вратне регије и главе. Укупно је угинуло око 50 прасади у посљедњих пет мјесеци. Нису примијећени побачаји у запату.

Просјечно кондиционо стање животиња је осредње. Дојне крмаче нису претјерано мршаве. Прасад су током сисања мирна и ваљано распоређена на вимену. Јасно видљиви „бркови“ од млијека током сисања указују на то да су доступне знатне количине млијека за прасад. Боја прасади је нешто блеђа. Поједине животиње убрзано дишу. Повремено се чује кашаљ, нарочито у групи залучене

прасади. Клиничким прегледом афектиране прасади установљена је летаргија, инапатенца, атаксија, афонија и изражен оток конјунктива. Код једне животиње установљен је оток главе и вратне регије, оток језика, егзофталмус, оток очних

капака, те крварења на вежњачи. Животиња је паретична. У питању је прасе које је, према изјави власника, старо око 20 дана. Мјерењем температуре код појединих свиња није утврђено присуство хипертермије.



Слика 1. Ошок очних капака и језика код прасећа са клиничким симптомима



Слика 2. Крварења по вежњачи и анемија слузнице очног капка

Узорковано је наведено живо болесно прасе, којем је, прије угинућа, извађена крв за хемокултуру и за микроскопски преглед. Након жртвовања, у секционој сали Института обављена је обдукција и узорковани су органи за патохистолошку и бактериолошку анализу.

Патоморфолошки налаз

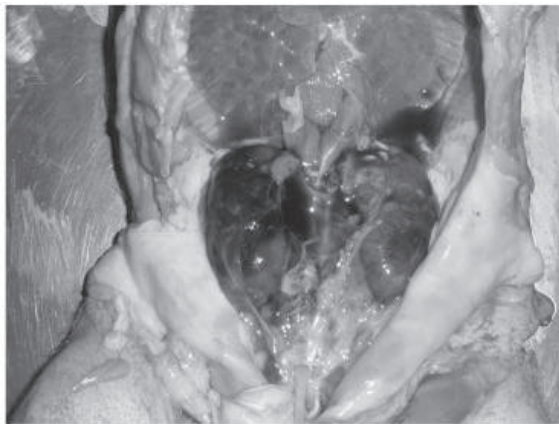
Готово на свим унутрашњим органима и слузницама грудне и трбушне дупље су доказане патоморфолошке промјене. Доминантне патолошке промјене су биле у виду дифузних и тачкастих крвављења на поткожју, мускулатури и унутрашњим органима, са

већом количином хеморагичног екссудата у тјелесним шупљинама. Лимфни чворови су углавном хеморагични и увећани, мраморирани. Најмаркантија промјена након отварања леша била је јасно видљива спленомегалија, која је била посљедица едема и хиперемije слезине. Промјене у виду

хиперемije и едема су дијагностиковане код јетре и плућа. Већи степен кривављења је запажен на срцу (хемоперикард) и бубрезима – у виду обилних супкапсуларних хеморагија. Тачкаста кривављења су била евидентна и на слузницама танких цријева и мокраћне бешике.



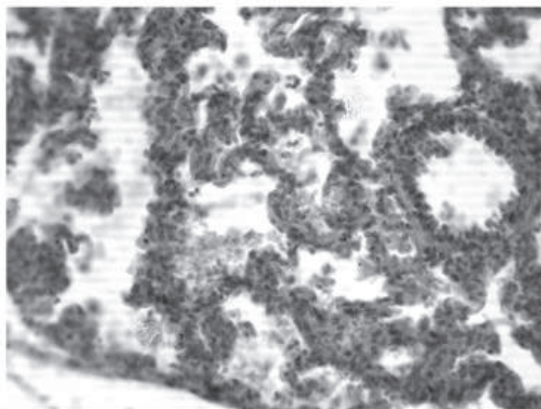
Слика 3. Спленомегалија код обдукованог прасета



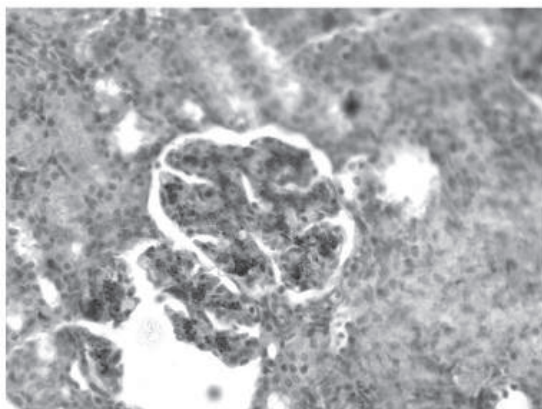
Слика 4. Ојсежна субкапсуларна кривављења на бубрезима

Хистолошким прегледом је обухваћен већи број органа. На свим паренхиматозним органима, посебно на јетри, слезини, плућима и бубрезима, промјене су биле идентичне: хеморагије са хемосидерозом

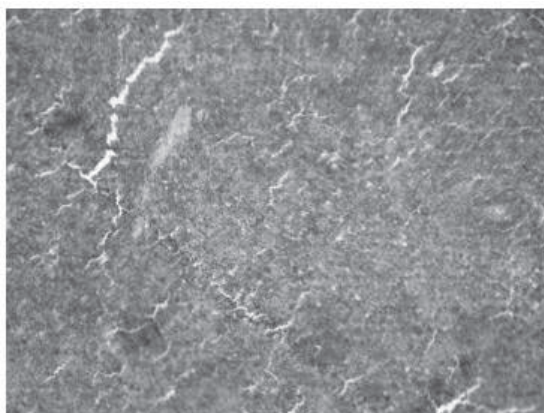
и конгестија крвних судова, те спорадичан налаз некротичних фокуса (слике 5, 6. и 7). Такође, на хистолошком исјечку можданог ткива су уочене промјене у форми криварења и конгестије крвних судова.



Слика 5. Хистолошки налаз крвављења у плућима



Слика 6. Хемосидероза бубрега



Слика 7. Конгестија слезине

Изолација и идентификација узрочника

Стерилно узети материјали крви за хемокултуру обрађени су стандардно, култивисањем на хранљиве медијуме без обogaћивања. Аеробно култивисан, крвни агар са 5% овчије крви дао је богат раст у чистој култури. Овако, примарно изолована двадесетчетворочасовна култура, послата је због хитности на даљу брзу идентификацију у КБЦ Бања Лука, на аутоматизован систем VITEK®2 Compact™, гдје је већ након 18 часова потврђен налаз изолата *Streptococcus suis* тип I.

ДИСКУСИЈА/ DISCUSSION

Дијагноза стрептококозе прасади се поставља на основу клиничке слике, патоморфолошког налаза, изолације бактерије у чистој култури и микробиолошке идентификације исте (Шаманц, 2009). Код стрептококне инфекције свиња, патогенеза и патоморфолошке промјене зависе од степена инфекције, вируленције узрочника, имунолошког статуса и старости свиња. Промјене могу да буду локализоване на различитим органима, па су тако описани: артритис, бронхопнеупонија, ендокардитис, ринитис, вагинитис, серозитис и менингитис (Higgins и Gotschallk, 2006). Неријетко, код инфекције са *Streptococcus suis* тип II, може да се јави септикемија. И поред тога што су хеморагичне промјене код инфекције стрептококама описане у литератури (Reams и сар., 1994), интензитет крварења у нашем случају није наводио на сумњу да се ради о стрептококози.

Епизотиолошке одлике обољења и клиничка слика обољења у прегледаном леглу прасади на наведеној фарми су указивали прво на едемску болест за коју су карактеристични афонија, едеми на глави, атаксија, некоординисано кретање и нагла угинућа (Шаманц, 2009). Међутим, до сада су ријетки налази масовних крвављења по унутрашњим органима прасади који настају као посљедица инфекције бактеријом *Escherichia coli*. Сматра се да такве промјене могу да настану ако је инфекција изазвана високо вирулентним сојем бактерије *Escherichia coli*, што је и описано у свјетској литератури о хеморагичној септикемији (Reiner и сар., 2010). У нашем случају *Escherichia coli* није изолована нити из крви, нити из органа. Исти је случај са другим бактеријским обољењима свиња: пастерелозом, Гласеровом болести итд.

Налаз мраморираних лимфних чворова код свиње у нашем случају наводи на класичну кугу свиња, али је иста искључена на основу епидемиолошке анамнезе, односно података о вакцинацији, клиничког прегледа (отоци код прасади на сиси су ријетки код ККС-а), патолошког налаза и лабораторијских тестова (негативан налаз на ЕЛИСА антиген тест, *Real Time PCR*).

Од других вирусних инфекција важно је навести ПРПС и циркувирусне инфекције као могућа обољења која су могла да утичу на описано клиничко стање прасади у леглу. Код циркувирусних инфекција прасади, клиничка слика је атипична, са заостајањем у расту. Сматра се да главну клиничку екпри-

мацију код прасади чине: прогресиван губитак тежине, слаб прираст, убрзано и површно дисање са упадљивим експиријумом, профузни пролив, кржљавост, плаветнило ушију, оток очних капака итд. (Иветић и сар., 2002). Патолошки налаз хеморагичног синдрома није карактеристичан за цирковирусну инфекцију, већ евентуално налази лезија на лимфним чворовима, који су хипертрофични (посебно ингвинални), бубрежма, на којима се могу наћи супкапсуларна тачкаста некротична поља, и плућима, која су шарене боје и гумасте конзистенције. Микроскопски, преовладавају лезије у лимфоидним органима у облику хистиоцитних и грануломатозних промјена. Слично се може рећи и за ПРРС инфекцију код прасади, која је такође атипична. Може се примијетити већи број неонаталних дијареја, дехидрација, губитак масе, анемија, пурulentни конјунктивитис и ексцесивне хеморагије (Радојичић и сар., 2002). И у случају ПРРС синдрома, стрептококоза може да буде секундарно обољење.

Поред едемске болести, класичне куге свиња и других вирусних болести које су узете, примарно диференцијалнодијагностички, у обзир при разликовању од стрептококне инфекције, и концентрована храна је органолептички и токсиколошки прегледана, али је прегледана и на присуство микотоксина. Резултати су били негативни.

Све наведено наводи на закључак да је главни узрок описане клиничке слике и патоморфолошких промјена управо системска инфекција са *Streptococcus suis* тип I, која се, у овом случају,

појављује у атипичној септикемичној форми. Ралог такве патогенезе ове инфекције може бити различит. Прва могућност је ванредна вирулентност и патогени потенцијал узročника, што је довело до великих губитака у запату. Друга, и можда вјероватнија могућност, јесте постојање одређеног предиспонирајућег фактора који је довео до тога да се стрептококна инфекција експримира на овако необичан начин. Наиме, постоји могућност да је дошло до слабљења имуног система прасади, што треба приписати, прије свега, лошијим условима држања. При томе не треба у потпуности искључити ни могућност супклиничке инфекције вирусом ПРРС-а, за који је познато да може да проузрокује значајнију имуносупресију. Треба имати у виду и то да се ове двије могућности не искључују, већ напротив, могу да дјелују синергистички, што би могло да објасни велике губитке који карактеришу овај случај.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Cloutier, G.; Allaire, S.; Martinez, G.; Surprenant, C.; Lacouture, S.; Gottschalk, M. (2003): *Epidemiology of Streptococcus suis serotype infection in a pig herd with and without clinical disease*. Vet Microbiol 97: 135–151.
2. Charland, N.; Nizet, V.; Rubens, C.; Kim, K.; Lacouture, S.; Gottschalk, M. (2000): *Streptococcus suis serotype 2 interactions with human brain microvascular endothelial cells*. Infect Immun 68: 637–643.
3. Higinns, R. and Gottschalk, M. (2006): *Streptococcal infection*. In: Straw, B.

- E.; Zimmerman, J. J.; Allaire, S. D.; Taylor, D. J. (Eds). Disease of Swine, 9th Edition, Blackwell Publishing pp. 769–785.
4. Rainer, G.; von Berg, S.; Hillen, S.; Clemens, N.; Huisinger, M.; Burkhardt, E.; Weiss, R.; Reinacher, M. (2010): *Haemorrhagic septicaemia in a pig caused by extraintestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC) as a differential diagnosis in classical swine fever--case report and review of the literature*. Berl Munch Tierarz Wochenschr 123: 119–124.
5. Reams, R. Y.; Glickman, L. T.; Harrington, D. D.; Thacker, H. L.; Bowersock, T. L. (1994): *Streptococcus suis infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms*. J Vet Diagn Invest 6: 326–334.
6. Иветић, В.; Савић, Б.; Валтер, Д.; Милошевић, Б. (2002): *Цирковирусне инфекције свиња*. Ветеринарски гласник 55: 33–40.
7. Радојичић, Б.; Ђуричић, Б.; Гргичин, М. (2002): *Енизоошолошки и дијагностички значај репродуктивне и респираторне синдрома свиња*. Ветеринарски гласник 56: 21–31.
8. Шаманц, Х. (2009): *Болести свиња*. Научна КМД, Београд.



80 година

УПУТСТВО АУТОРИМА ЗА ПРИПРЕМАЊЕ РУКОПИСА

Ветеринарски журнал Републике Српске је научно-стручни часопис који издаје Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука. Часопис је основан 2001. године од стране Друштва ветеринара Републике Српске. Излази два пута годишње. Штампан се у 300 примјерака, а доступан је *on line* на интернет страници Института: www.virsvb.com. Часопис објављује радове на српском књижевном језику са кратким садржајем на енглеском језику. Радови иностраних аутора се објављују на енглеском језику са кратким садржајем на српском језику.

У часопису се публикују: оригинални и стручни научни радови, прегледни радови, кратка саопштења и рад у форми приказа случаја водећих стручњака из области ветеринарске медицине и биомедицинских наука, али других области од значаја за основну област. У Ветеринарском журналу Републике Српске се могу наћи рубрике у форми научно-популаризујућих текстова и информативних чланака из области ветеринарске медицине у Републици Српској и региону.

Сви приспјели рукописи на адресу часописа се прослеђују на стручну рецензију. Овисно од теме рукописа главни и одговорни уредник бира најмање двочлану рецензију, а по потреби и више рецензираних. Рецензија је анонимна. Уколико рецензенти процијене и предложе корекције, уредник враћа рад са наглашеним сугестијама рецен-

зираних за преправке. Коначна рецензија може бити: позитивна, негативна и условно позитивна. Дефинитивну одлуку о публикацији рукописа доноси главни и одговорни уредник са редакционим одбором.

Ваше рукописе можете слати путем *on line* поште на адресу главног и одговорног уредника: drago.nedic@virsvb.com.

Молимо све уважене ауторе да своје радове пишу јасно, концизно, граматички исправно и да се придржавају следећих упутстава. Радови који не испуњавају следеће критеријуме неће бити прихваћени.

ОПШТА УПУТСТВА

Текст рукописа треба да се припреми у програму *MS Word* ћирилицом или латиницом (*Serbian Cyrilic, Serbian Latin*). Фонт треба да буде *Times New Roman*, величина фонта *12 pt* са једноструким проредом. Све маргине подесити на *2,54 mm*, а величине странице на *A4* са обостраним поравнавањем са увлачењем сваког пасуса. Текст рада не треба да буде дужи од 15 страница са прилозима.

У тексту избјегавати скраћенице и непотребне симболе. Избјегавати стране ријечи, а ако је нужно треба их превести на српски језик. Латинске називе писати у италику, а за називе лијекова користити генеричка имена. Апарати и уређаји се наводе под оригиналним трговачким именима и са именом произвођача. Бројеве треба писати са зарезом и са минимално двије децимале. Користити мјерне једи-

нице Међународног система јединица – SI систем. Фотографије, графиконе и табеле треба уврстити у рад, али због квалитета штампе је повољно слати их и у посебном фолдеру уз рад. Пожељно је да илустрације имају висок квалитет.

Уз рад треба доставити декларацију аутора која се може преузети са сајта часописа.

СТРУКТУРА РАДА

Ветеринарски журнал Републике Српке објављује само научно-стручне радове који испуњавају критеријуме декларисане у Правилнику о публикавању научних публикација Министарства науке и технологије Републике Српске.

Оригинални научни рад треба да посједује следеће дијелове: насловну страну, кратак садржај, увод, материјал и методе, резултате, дискусију, закључак и списак литературе. По потреби је потребно написати захвалницу и напомену ако је истраживање финансирано са пројекта.

Насловна страна

На насловној страни написати:

- назив чланка - треба бити кратак и информативан; Пише се искључиво великим словима. Величина слова 12 (pt). У наслову не наводити скраћенице.
- имена аутора - написати испод наслова. Обавезно нагласити пуна имена и презимена аутора. У суперкрипту нагласити бројеве који означавају у фусноти институцију у којима су аутори запослени.

- име и презиме коресподентног аутора – навести на дну странице са контактом (e-mail и/или телефон) и институцијом гдје је аутор запослен;

Краћак садржај

Кратак садржај куцати на посебној страници у обиму до 250 ријечи. Поред наслова рада и имена аутора кратак садржај треба да посједује најбитније информације из рада. Испод кратког садржаја навести 3-6 кључних ријечи. Кратак садржај се пише на српском и енглеском језику.

Увод

У уводу рада описати тему којој је рад посвећен. Нагласити најновије чињенице и научне проблеме са образложењем циља сопствених испитивања. Увод не смије да буде опширан. Препоручује се да у уводу буду наглашени најновији литературни подаци. Увод мора да оправда истраживање.

Материјал и методе

Материјал и методе морају да јасно и концизно опишу оглед, материјал и животиње на којима су експерименти изведени, као и методе које су коришћене у огледу.

Резултати

Резултати се требају приказати у виду текста, табела, графикона и одређених илустрација. Табеле треба да буду јасне и прегледне, са обавезном легендом у којој је дато објашњење скраћеница и симбола. Сваки прилог треба да има наслов (изнад табела, односно испод графикона и слика) у коме треба бити јасно назначено шта прилог приказује.

Дискусија

У дискусији извршити компарацију сопствених резултата са резултатима страних и домаћих аутора који су обрађивали проблем и тематику истих или сличних тема.

Закључак

У закључку се доносе коначна разматрања аутора на основу обрађене теме.

Литература

Користи се Харвардски начин навођења литературе. Референце морају да буду што новије и актуелније. Због смањења могућности грешака имена страних аутора се пишу на латиници у италику. Када се литература наводи у тексту пише се презиме аутора и година публикације (Недић, 2012). Ако су и питању два аутора пишу се презимена оба аутора и година публикације (*Spelly and Morgan*, 1998), а у случају више аутора после првог аутора додаје се скраћеница „и сар.“ (Недић и сар., 2011).

У списку литературе референце нумерисати арапским бројевима и сложити их по азбучном (ћирилица) или абecedном (латиница) реду.

Наводе се на следећи начин:

Научни чланак:

Недић Д., Тешић М., Балтић М., Плавшић Б., Тајдић Н., Мириловић М. (2011): *Management and control program for suppression and eradikation of classical swine fever in Serbia*. Acta Vet 61:295-307.

Књига:

Тешић М., Недић Д. (2011): Менаџмент ветеринарске праксе, Факултет ветеринарске медицине, Београд.

Поглавље рада:

Alderson GLH (1991): *A system to maximize the maintenance of genetic variability in small populations*. In: Alderson L. (Eds.) *Genetic Conservation of Domestic Livestock*, CAB International, Wallingford, str.18-29

Монографија:

Алексић-Ковачевић Сања (2005): Лимфоми паса и мачака. Младост биро, Београд

Рад или кратак садржај из Зборника радова:

Ђупић В., Траиловић Д., Добрић С., Велев Р. (2005): Значај рационалне примене лекова у ветеринарској медицини. *Proceeding of Workshop Clinica Veterinaria Ohrid*, Македонија, 3-7. септембар 207-9.

Хвала на сарадњи!

АДРЕСА ЧАСОПИСА:

ЈУ Ветеринарски институт
Републике Српске
„Др Васо Бутозан“
Бања Лука

Бранка Радичевић 18,
78000 Бања Лука

Телефон/факс: +387 229-210

E-mail: drago.nedic@virsvb.com

Web: www.virsvb.com

